

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

STEFHANIE BARRETO DE SOUSA

**DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E ANÁLISES
FÍSICO-QUÍMICAS DE SUCOS NATURAIS.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2019

STEFHANIE BARRETO DE SOUSA

**DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E
ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE SUCOS NATURAIS.**

Trabalho de Curso submetido à Universidade Tecnológica Federal do Paraná como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Tecnóloga em Tecnologia em Alimentos.

Orientador: Prof^o Dr^o Eduardo Bittencourt
Sydney

PONTA GROSSA

2019

TERMO DE APROVAÇÃO



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Ponta Grossa
Coordenação de Alimentos
Tecnologia em Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

DETERMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE SUCOS NATURAIS

por

STEFHANIE BARRETO DE SOUSA

Este(a) Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em 05 de Julho de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

*(Prof.º Dr.º Eduardo Bittencourt Sydney)
Prof.º Orientador(a)*

*(Prof.ª Dr.ª Simone Bowles)
Membro titular*

*(Barbara Barretti)
Membro titular*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, meu bem maior, meu amado, que me sustenta e me sustentou de todas as maneiras, além de me dar esperanças de um futuro melhor.

Aos meus amigos que me incentivaram a continuar e oraram por mim.

Agradeço a minha família que investiu tempo em mim e me amaram desde sempre.

Ao meu namorado que sempre acreditou na minha capacidade e me compreendeu nos momentos bons e ruins.

Ao meu orientador, que com dedicação e atenção me ajudou a idealizar esse trabalho e colocá-lo em prática.

A Deus, que me lembrou todos os dias que não sou dos que retrocedem e são destruídos, mas dos que creem e continuam. (Hebreus 10:3)

RESUMO

SOUZA, Stefhanie Barreto de; **DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE SUCOS NATURAIS.** 2019 31 f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

A busca pela qualidade de vida, saúde e praticidade fez com que a população buscasse cada vez mais investir na produção e comercialização desse produtos naturais. Sabendo que muitas vezes são produzidos de maneira artesanal, este trabalho visa analisar a qualidade microbiológica e o possível fator de deterioração do suco ao qual ocasiona um tempo inferior ao fornecido pelo fabricante para consumo do produto. Foram analisados três sucos mistos de diferentes composições, sendo suco A: laranja, espinafre, salsa, salsinha, gengibre e hortelã, B: manga, maracujá, maçã, hortelã e alface e C: manga, limão, laranja, gengibre e linhaça, todos sem adição de água, açúcares e conservantes. As análises físico-químicas incluíram pH, °Brix e absorvância. Enquanto as análises microbiológicas foram para coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e *salmonella ssp.* Os resultados obtidos mostraram crescimento de bolores e leveduras, porém sem contaminação de coliformes totais e fecais nem *salmonella ssp.* Cada suco possuiu um valor de pH e absorvância, o °Brix se manteve estável. Os sucos se encontraram de acordo com a legislação vigente relacionado aos padrões microbiológicos, porém acredita-se ser necessário uma atualização na resolução que regulamenta os sucos, devido à presença significativa de leveduras, as quais são responsáveis pela fermentação.

Palavras – chave: sucos naturais, bolores e leveduras, microbiologia em sucos.

ABSTRACT

SOUZA, Stefhanie Barreto de; **DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY AND PHYSICAL-CHEMICAL ANALYZES OF NATURAL JUICES**. 2019 31 f. Completion of course work (Food Technology) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

The quest for quality of life, health and practicality has made the population seek more and more to invest in the production and commercialization of these natural products. Knowing that they are often produced in an artisan way, this work aims to analyze the microbiological quality and the possible deterioration factor of the juice, which results in a shorter time than the one provided by the manufacturer for consumption of the product. Three mixed juices of different compositions were analyzed: orange juice, spinach, celery, parsley, ginger and mint, B: mango, passion fruit, apple, mint and lettuce and C: mango, lemon, orange, ginger and linseed, all without added water, sugars and preservatives. Physical-chemical analyzes included pH, ° Brix and absorbance. While the microbiological analyzes were for total and fecal coliforms, molds and yeasts and salmonella. The results showed growth of molds and yeasts, but without contamination of total and fecal coliforms nor salmonella. Each juice had a pH value and absorbance, ° Brix remained stable. Juices were found in accordance with current legislation related to microbiological standards, but it is believed that an update is required in the resolution that regulates the juices due to the significant presence of yeasts, which are responsible for the fermentation.

Key words: natural juices, molds and yeasts, microbiology in juices.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação microbiológica de sucos naturais	21
Tabela 2 - Determinação microbiológica de sucos naturais	21
Tabela 3 - Determinação microbiológica de sucos naturais	21
Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos de sucos naturais	21
Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos de sucos naturais	21
Tabela 6 - Parâmetros físico-químicos de sucos naturais	21
Tabela 7 - Análise de curva de absorvância	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Plaqueamento Sobrecamada para Coliformes Totais	15
Figura 2 – Representação Esquemática do funcionamento de um espectrofotômetro	16

LISTA DE ABREVIATURA

mL	Mililitros
g	Gramas
VRBA	Ágar Vermelho Violeta Bile
LIA	Ágar Lisina Ferro
BGA	Ágar Verde Brilhante
SS	Ágar Samonella Shigella
YA-LYS	Ágar Extrato de Levedura e Lisina
UFC	Unidade Formadora de Colônias
HMF	Hidroxi-metil-furfural

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 DEFINIÇÃO DE SUCO	3
2.1.1 Classificação dos sucos	3
2.2 REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DOS PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE	4
2.2.1 Suco de manga	4
2.2.2 Suco de maracuja	4
2.2.3 Suco de limão	4
2.2.4 Suco de laranja	5
2.3 PADRÃO MICROBIOLÓGICO	5
2.4 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES	6
2.5 SALMONELLA	7
2.6 BACTÉRIAS FERMENTADORAS	7
3. METODOLOGIA	8
3.1. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.2. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	8
3.3. ANÁLISES FÍSICO QUÍMICAS	9
3.3.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)	9
3.3.2. Sólidos Solúveis	9
3.3.3 Absorbância	9
4. RESULTADOS/DISCUSSÃO	11
4.1 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	11
4.2 PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	13
4.3 ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA	15
5. CONCLUSÃO	17
6. REFERÊNCIAS	18

1. INTRODUÇÃO

O primeiro suco era um concentrado a vácuo que quando congelado tinha seu sabor mantido e para torná-lo suco era apenas necessário descongelar e adicionar água. A necessidade pela hidratação sempre esteve vinculada a sobrevivência dos seres humanos. No período entre 100.000 e 200.000 anos atrás os primeiros *Homo sapiens* encontrados na África já faziam relação entre a água e outras fontes de bebida como frutas, legumes e verduras, desde então os cuidados com os alimentos tornaram-se frequentes para a humanidade. Milhares de anos depois, a indústria foi incentivada a manter a durabilidade dos sucos por mais tempo devido a Segunda Guerra Mundial, quando o governo norte-americano criou um programa de incentivo para sucos industrializados. Esses avanços e estudos foram realizados e concretizados pela Florida Citrus Commission, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Em função da comissão, houve a criação da companhia Flórida Foods que depois passou a se chamar Minute Maid.

De acordo com dados da Sociedade Nacional de Agricultura (SNA) mesmo com a crise financeira que o Brasil enfrentou, chegando a um extremo em 2016, a produção de sucos e a sua comercialização cresceu no mínimo 2% ao ano e tem uma perspectiva de aumento podendo alcançar seu recorde em até 2021 (EXAME, 2018)

O mercado internacional e nacional busca cada vez mais um consumo de frutas e hortaliças, dando ênfase a indústria dos sucos. Em 2009, Brasil alcançou o terceiro lugar como maior produtor de frutas com uma produção de 41 milhões de toneladas e o primeiro lugar na produção de laranja com cerca de 25% da produção do mundo. A combinação de sabores de sucos é um método utilizado para melhorar a aceitabilidade diante do consumidor e a qualidade nutricional de determinados sucos. A quantidade de vitaminais e minerais nas frutas e vegetais contidos nos sucos podem aumentar de acordo com a qualidade da fruta e do vegetal utilizado na produção. No caso, dependendo da mistura feita para obter o suco, suas qualidades nutricionais podem ser aumentadas ou até mesmo diminuídas, causando também uma qualidade nutricional maior ou menor (SOBRINHO, 2015).

A alta procura por esses produtos tem feito a indústria investir intensamente em tecnologia para formular novos ingredientes e aditivos relacionados às características funcionais, evitando o uso de conservantes químicos que desqualificam a imagem funcional do suco. O crescimento da indústria fabricante de sucos naturais se dá pelo fato de que o armazenamento da fruta (refrigeração) e também a perecibilidade dela tem um alto custo.

Depois de a fruta ser processadas, os produtos oriundos dela como sucos, polpas congeladas ou néctares são facilmente conservados e armazenados, além de poderem ser comercializados durante o ano todo mesmo que sua matéria prima possua sazonalidade (CAMARGO, 2007).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DEFINIÇÃO DE SUCO

Segundo a Lei regulamentar nº 8.918 – 14 de julho de 1994 “ Suco é a bebida não fermentada, não concentrada (com exceção de casos especificados) e não diluída em água. É obtido a partir da fruta sadia e madura, ou parte do vegetal original, por processamento tecnológico adequado e submetido a tratamento que assegure a sua qualidade e conservação até o momento de consumo”.

De acordo com a legislação o suco não deve conter substâncias que não pertençam naturalmente a ele, se o mesmo passar por algum processo de desidratação, deve ser chamado de “suco desidratado”. A quantidade de suco possível a ser adicionada deve ser de acordo com a quantidade máxima permitida para cada suco, devendo conter ao máximo de 10% em peso, sendo este percentual calculado através dos níveis de sólidos solúveis naturais do suco, também é proibida a adição de corantes artificiais e aromas. No caso de sucos desidratados e concentrados adoçados, quando reconstituídos, necessitam manter os níveis de sólidos solúveis máximos pré-estabelecidos para seus respectivos padrões de identidade e qualidade, exceto o percentual de açúcar adicionado. Caso ocorra adição de açúcar, torna-se necessário que mencione no rótulo “adoçado” (BRASIL, 1994).

2.1.1 Classificação dos sucos

Suco desidratado: é o suco no seu estado sólido, oriundo da desidratação do suco integral, devendo estar mencionado como “suco desidratado” (BRASIL, 1994).

Suco integral: é o suco sem adição de açúcar e encontrado em sua concentração natural. Sucos reconstituídos não podem ser designados de tal forma (BRASIL, 1994).

Suco misto: é o suco resultante da mistura de duas ou mais frutas ou da parte comestível de dois ou mais vegetais ou de seus sucos. Sua denominação deve ser suco seguida das frutas e vegetais que nele contem, de maneira decrescente da quantidade presente na mistura (BRASIL, 1994).

Suco reconstituído: é o suco obtido pela diluição do suco desidratado ou concentrado até obter a concentração original do suco integral ou a quantidade de sólidos solúveis mínimo determinado pelos respectivos padrões de identidade e qualidade para cada variação de suco

integral. Em sua rotulagem é obrigatório conter a origem do suco utilizado, se concentrado ou desidratado, porém sendo opcional o uso da expressão “reconstituído” (BRASIL, 1994).

2.2 REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DOS PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE

Segundo a Instrução Normativa N° 37, de 01 de outubro de 2018

2.2.1 Suco de manga

O suco de manga é o produto definido no art. 18 do Decreto n° 6.871, de 2009 obtido da parte comestível da manga (*Mangifera Indical*) por meio de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2018).

Os parâmetros exigidos para padrão de identidade e qualidade para suco de manga são sólidos solúveis em °Brix a 20°C com valor mínimo de 11, pH 3,5, acidez total expressa em ácido ascórbico (g/100g) de 0,3, açucares totais (g/100g) com valor máximo de 16 e ácido ascórbico (mg/100g) com valor mínimo de 6,1.

2.2.2 Suco de maracujá

O suco de maracujá é o produto definido no Art. 18 do Decreto n° 6.871, de 2009, obtido da parte comestível do maracujá (*Passifloraspp.*) por meio de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2018).

Os parâmetros exigidos para padrão de identidade e qualidade para suco de maracujá são sólidos solúveis em °Brix a 20°C com valor mínimo de 11, pH 2,7, acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g) 2,5 e açucares totais (g/100g) com valor máximo de 18.

2.2.3 Suco de limão

O suco de limão é o produto definido no Art. 18 do Decreto n° 6.871, de 2009, obtido da parte comestível do limão (*Citrus limon L., Citrus Latifolia, Citrus limonia e Citrus Aurantifolia*), por meio de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2018)

Os parâmetros exigidos para padrão de identidade e qualidade para suco de maracujá são acidez titulável em ácido cítrico (g/100g) com valor mínimo de 5, ácido ascórbico (mg/100g) com valor mínimo de 20 e óleo essencial de limão (%v/v) com valor máximo de 0,025.

2.2.4 Suco de laranja

O suco de laranja é o produto definido no Art. 18 do Decreto nº 6.871, de 2009, obtido da parte comestível da laranja (*Citrus Sinensis*), por meio de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2018).

Os parâmetros exigidos para padrão de identidade e qualidade para suco de laranja são sólidos solúveis em °Brix a 20°C com valor mínimo de 10, relação de sólidos solúveis em °brix/ acidez em g/100g de ácido cítrico anidro de 7, ácido ascórbico (mg/100g) de no mínimo 25, açúcares totais naturais da laranja (g/100g) de no máximo 13 e óleos essenciais da laranja (% v/v) de no máximo 0,035.

2.3 PADRÃO MICROBIOLÓGICO (CONTROLE MICROBIOLÓGICO)

A qualidade do produto está diretamente envolvida com a liberação do produto até o consumidor e a avaliação microbiológica é um fator essencial para um desempenho adequado quando se refere a segurança, eficácia e aceitabilidade dos produtos. Falhas nesses processos pode resultar em produtos inadequados para o consumo, comprometendo o consumidor de alguma maneira. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige que as empresas tenham implantadas em cada setor, normas de boas práticas de fabricação conforme as normas já pré-estabelecidas e dentro dessas normas, está a exigência de análises de controle de qualidade em todas as fases do processo de fabricação (YAMOTO, 2004).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são oriundas de agentes que se inserem no organismo humano através da ingestão de água ou alimentos contaminados, estes agentes podem ser biológicos, como os microrganismos patogênicos, ou podem ser químicos, como os pesticidas, porém os alimentos contaminados por agentes biológicos são a maior causa das enfermidades (NOTERMANS & VERDEGAAL, 1992).

Segundo a RESOLUÇÃO – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, sucos e refrescos “in natura”, incluindo água de coco, caldo de cana, de açaí e similares, isolados ou em mistura, precisam passar por análises de Coliformes a 45°C/mL contendo no máximo valores de 10² para tolerância para amostras indicativas. É necessário também a análise de *Salmonella* sp/25 mL, com ausência em tolerância para amostras indicativas.

2.4 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

Bactérias indicadoras comumente utilizadas para determinar qualidade de água e alimentos, são classificadas como gram-negativas, sua morfologia indica o formato de bacilos e não formadores de esporos, podem fermentar a lactose com produção de ácidos e gases quando incubadas a 35-37°C. Comumente encontradas em ambientes aquáticos como as *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia* em sua maioria maiorias são encontradas em água potável, assim como podem ser encontradas no solo, na vegetação, porém, estão presentes unanimemente em fezes de animais de sangue quente. Como são consideradas bactérias indicadoras não costumam causar doenças graves, no entanto sua adaptação e crescimento é fácil e com isso sua presença é utilizada para indicar possíveis presenças de outros microrganismos patogênicos de origem fecal. Existem dois tipos de coliformes: totais e fecais. Os totais compõem o grupo das bactérias gram-negativas podendo ser aeróbias ou anaeróbias, não produzem esporos e fermentam a lactose, sua principal característica é a produção de gás e ácido à 35-37°C (FUNASA, 2013)

Os coliformes fecais conhecidos também como “termotolerantes” pelo fato de suportarem temperaturas superiores à 40°C são um grupo restrito de bactérias que fermentam lactose produzindo gases. São encontradas em gado, porcos, gatos e demais animais de sangue quente. Este grupo engloba bactérias como a *Escherichia coli*, gram-negativa, que quando ingerida pode causar gastroenterites assim como desconfortos brandos ou intensos, dependendo da concentração ingerida no alimento contaminado. A presença de coliformes totais e/ou termotolerantes em alimentos pode ser usado para indicar a falta de higiene durante a produção e contaminação pós processo em alimentos pasteurizados. Isso o torna um indicador muito utilizado para os manipuladores de alimentos na implementação ou avaliação das boas práticas de fabricação (FUNASA, 2013).

A presença de coliformes em água potável pode ser considerada uma contaminação oriunda de uma falha no tratamento. Como são aplicados como referência para indicador de contaminação de água, o grupo coliforme tem sido utilizado para monitoramento da potabilidade. Além de tudo, comparada com as análises para detecção de patógenos específicos, as análises de coliformes são consideradas mais viáveis economicamente por serem de fácil realização e de fácil detecção (CASTANHEIRA, 2010).

2.5 SALMONELLA

Bactérias patogênicas consideradas uma das maiores causadoras de toxinfecções alimentares. Esse tipo de contaminação pode acontecer pela manipulação errada dos alimentos, temperatura inadequada ou também por contaminação cruzada quando há o contato entre o alimento cru com o processado. Se multiplica no alimento até obter uma quantidade mínima infecciosa e por esse motivo não é exigido um valor mínimo de contagem pois sua presença independentemente da quantidade de UFC significa que o produto não deve ser consumido (PIETROWSKI, 2008, p.52).

Bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, em sua maioria móveis, possuem flagelos peritríquios, não formadoras de esporos, não capsuladas em sua maioria não fermentadoras de lactose. Atualmente se tem conhecimento de mais de 2.300 sorotipos. O trato intestinal de humanos e animais é o habitat mais comum deste patógeno, sendo as aves o principal veículo de transmissão. Sua temperatura ideal de crescimento está entre 7 a 48°C, porém sua temperatura ótima oscila entre 35 e 37°C. Não se multiplicam sob refrigeração mas resistem ao congelamento, já o processo de pasteurização é eficaz na sua eliminação, porém em alimentos com teores altos de gordura e baixo aW a eficácia dos tratamentos térmicos é limitada. O pH para crescimento de *Salmonella spp* é variável, podendo se desenvolver entre 4,5 a 9,3-possuindo pH ótimo de 6,5 a 7,5, com aW ideal de 0,93 (ASAE, 2019).

2.6 BACTÉRIAS FERMENTADORAS

Esse grupo heterogêneo compreende em bacilos gram-negativos que fermentam a glicose, presente nesse grupo estão atualmente cerca de 42 gêneros e mais de 100 espécies, algumas delas são patogênicas, já outros podem ser patógenos oportunistas comumente associado à assistência à saúde. As características das enterobactérias envolvem: bacilos gram-negativos, fermentadores de glicose com ou sem produção de gás, aeróbios e anaeróbios facultativos, a maioria é redutor de nitrato e nitrito, a maioria é oxidase negativa e catalase positiva, podem ser mover através de flagelos peritriquios ou serem imóveis e tem um bom crescimento em meio de cultura simples (ANVISA, 2019).

São encontradas basicamente em solos, plantas, na água e no trato gastrointestinal de animais e humanos, porém algumas espécies como a *Salmonella* sorotipo *typhi* que causa febre tifoide é encontrada apenas em humanos. Enterobacteriaceae são causadoras de algumas infecções como abscessos, pneumonia, meningites, septicemias e infecções de feridas no trato urinário e no trato gastrointestinal (ANVISA, 2019).

3. METODOLOGIA

3.1 MATERIAL E MÉTODO

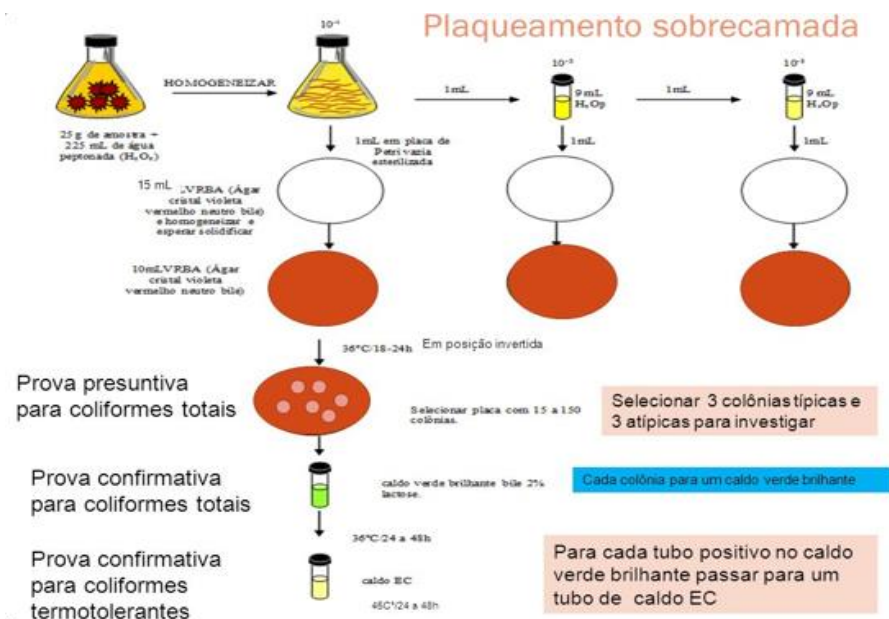
As análises foram feitas no laboratório de fermentações da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa. Os sucos utilizados foram fornecidos por empresa local, congelados e foram mantidos até o início das análises. Foram selecionados três sucos com sabores e componentes distintos sendo suco A (laranja, espinafre, salsa, salsinha, gengibre e hortelã), suco B (manga, maracujá, maçã, hortelã e alface) e suco C (manga, limão, laranja, gengibre e linhaça). As análises se sucederam durante 4 dias determinados em função da data de validade do suco estabelecida pelo fabricante.

3.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas conforme a Resolução de 02 de janeiro de 2001 que prevê para sucos mistos a contagem total de coliformes e *Salmonella sp*, incluindo a metodologia realizada por (PIETROWISKI, 2011) para contagem de bolores e leveduras.

Para análise de contagem de coliformes foi utilizado o método de contagem padrão de placas, onde realizou-se diluição seriada de 10^{-1} a 10^{-4} , com plaqueamento direto através do método Pour Plate com sobre camada utilizando-se Agar Vermelho Violeta Bile (VRBA) como meio de cultura e incubação da amostra em estufa a 45°C por 48 horas (BRASIL, 2001).

Figura 1: Plaqueamento Sobrecamada para Coliformes Totais



Para análise de salmonela, foram retirados 25 mL da amostra e diluído em 225 mL de água destilada peptonada tamponada 1%, incubado a 35°C por 24 horas. Após isso, em dois tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport foi acrescentado 0,2 mL e 1 mL de meio em cada um respectivamente. Os tubos foram incubados com os inóculos a temperatura de 41°C por 24 horas. Depois das 24 horas os tubos foram retirados da estufa. Em quatro placas duas contendo meio Ágar Salmonella Shigella (SS) e duas com Ágar Verde Brilhante (BGA) foi realizado o repique das amostras presentes nos tubos de caldo Rappaport, através de estriamento descontínuo e posteriormente incubados a 35°C por 24 horas. As provas bioquímicas foram realizadas em tubos de invertidos contendo meio específico Ágar Lisina Ferro, incubados a 35°C por 24 horas (PIETROWSKI, 2008).

Para análise de leveduras, foram repicadas de Ágar Nutriente (AN) colônias típicas e transferidas para placas contendo Meio YA-LYS, incubadas à 25°C por 48 horas (PIETROWSKI, 2011).

3.3 ANÁLISES FÍSICO QUÍMICAS

3.3.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)

As análises de pH foram realizadas em triplicata no equipamento Even PHS3E calibrado com as soluções tampão de pH 4 e pH 7.

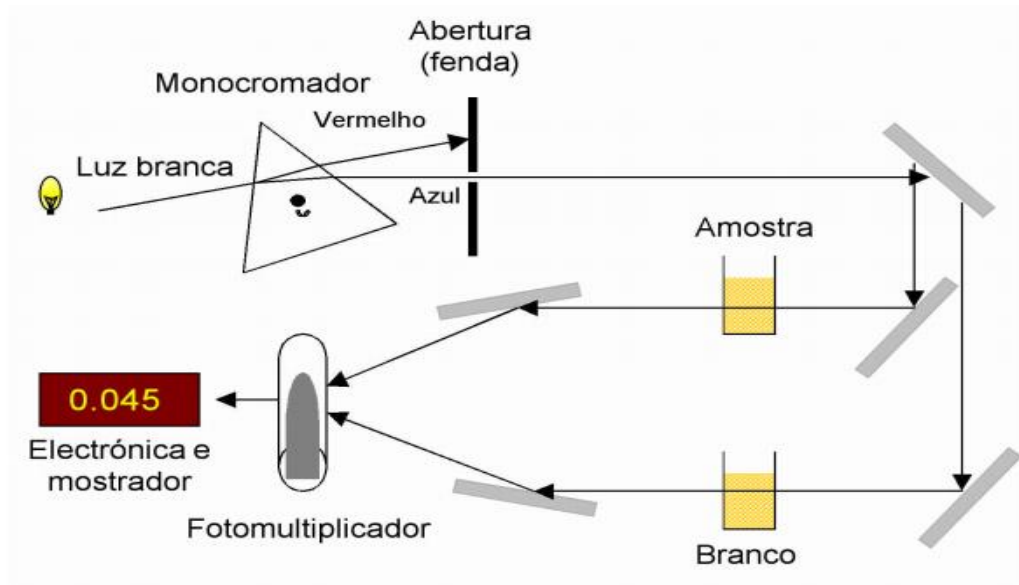
3.3.2. Sólidos Solúveis

Análise de sólidos solúveis foram realizadas através da medição do grau Brix ° em refratômetro Nr 03711 RR12. O brix (°Bx) é uma escala que mede a quantidade de sólidos solúveis essencialmente açúcar ou sacarose (APPC).

3.3.3. Absorbância

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro Quimis modelo Q898DPT com faixa de 720 nm. O espectrofotômetro é um aparelho que mede luz monocromática e capaz de detectar a quantidade de luz absorvida por uma amostra a um determinado comprimento de onda conforme imagem (CRISTÓVÃO).

Figura 2: Representação Esquemática do funcionamento de um espectrofotômetro



Fonte: CRISTÓVÃO, 2019

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão representados os resultados microbiológicos das amostras dos sucos naturais A (laranja, espinafre, salsa, salsinha, gengibre e hortelã), B (manga, maracujá, maçã, hortelã e alface) e C (manga, limão, laranja, gengibre e linhaça) durante quatro dias seguidos. Ambas as amostras do suco A, B e C observou-se ausência de coliformes a 35°C e a 45°C e ausência de *Salmonella sp*, porém observou-se crescimento de leveduras em todas as placas, comprovando sua presença nas amostras.

De acordo com FOYET e TCHANGO TCHANGO, a acidez de sucos como os de maracujá impossibilita a proliferação de microrganismos patogênicos, dificultando nesse caso a presença de *Escherichia coli*, estreptococos ou estafilococos patogênicos, podendo apresentar, no entanto fungos, leveduras e bactérias lácticas não-patogênicas.

Mesmo com a afirmação de Ruschel et al. (2001) dizendo que contaminação por bolores e leveduras não indica grandes riscos à saúde por não serem ideais para produção de micotoxinas, Sheidegger; Pietrzak; Frei (1993) aconselham ter cuidado pois podem ocorrer infecções severas de Candidíase em pessoas imunodeprimidas. Além disso, a contaminação diminui o tempo de prateleira do produto, ocasionando problemas de logística e prejuízo financeiros.

Esses resultados e a presença da levedura na amostra podem estar relacionados a problemas com a limpeza das frutas antes de serem espremidas ou a higienização das máquinas extratoras. Em outro estudo onde se obteve valores altos de bolores e leveduras esses foram os fatores que indicaram melhores conclusões sobre a presença das leveduras em sucos de laranja industrializados não pasteurizados (DE BRITO, 2005).

De acordo com os valores indicados pela RDC nº 12, 02 de janeiro de 2001 os valores apresentados nas análises estão todos dentro dos padrões legais vigentes, tanto para coliformes a 35°C e 45°C quanto para *Salmonella sp*.

Tabela 1 – Determinação microbiológica de sucos naturais

MICROORGANISMO	SUCO A			
	1° DIA	2° DIA	3° DIA	4° DIA
Coliformes a 35°C (UFC/mL)	< 10	< 10	< 10	<10
Coliformes a 45°C (UFC/mL)	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella sp.</i>	Aus	Aus	Aus	Aus
Leveduras	Pres	Pres	Pres	Pres

UFC/mL: Unidade Formadora de Colônia por mililitro.

Fonte: autoria própria

Tabela 2 – Determinação microbiológica de sucos naturais

MICROORGANISMO	SUCO B			
	1° DIA	2° DIA	3° DIA	4° DIA
Coliformes a 35°C (UFC/mL)	< 10	< 10	< 10	<10
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella sp.</i>	Aus	Aus	Aus	Aus
Leveduras	Pres	Pres	Pres	Pres

UFC/mL: Unidade Formadora de Colônia por mililitro. NMP/mL: Número Mais Provável por mililitro.

Fonte: autoria própria

Tabela 3 – Determinação microbiológica de sucos naturais

MICROORGANISMO	SUCO C			
	1° DIA	2° DIA	3° DIA	4° DIA
Coliformes a 35°C (UFC/mL)	< 10	< 10	< 10	<10
Coliformes a 45°C (UFC/mL)	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella sp.</i>	Aus	Aus	Aus	Aus
Leveduras	Pres	Pres	Pres	Pres

UFC/mL: Unidade Formadora de Colônia por mililitro. NMP/mL: Número Mais Provável por mililitro.

Fonte: autoria própria

4.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Nas tabelas 4, 5 e 6 podem ser analisados os resultados dos parâmetros físico-químicos de pH, °Brix e Absorbância obtidos pelas amostras de sucos naturais A (laranja, espinafre, salsão, salsinha, gengibre e hortelã), B (manga, maracujá, maçã, hortelã e alface) e C (manga, limão, laranja, gengibre e linhaça) durante quatro dias seguidos.

Tabela 4: Parâmetros físico-químicos de sucos naturais

FÍSICO-QUÍMICA	SUCO A			
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	4º DIA
Ph	5,5	4	4	4
°Brix a 20°C	9,0%	9,0%	9,0%	9,0%

Fonte: autoria própria

Verificando a tabela 4, observou-se que o suco A obteve valores de pH entre 5,5 a 4. A relação sólidos solúveis totais (°Brix) não apresentou variação nenhuma, se manteve na marca de 9%. O valor de absorbância do suco aumentou nos três primeiros dias sendo 3.542, 3.632 e 5.284 respectivamente e no quarto dia teve queda de 0,569 pontos, estabilizando em 4.715, tendo uma média de 4.293.

Como se trata de uma mistura, se baseando no ingrediente principal do suco A sendo a laranja, os valores não se encontram dentro dos padrões de identidade e qualidade no que diz respeito ao °Brix (>10) (BRASIL, 1994) porém seu pH encontra-se de acordo.

Tabela 5: Parâmetros físico-químicos de sucos naturais

FÍSICO-QUÍMICA	SUCO B			
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	4º DIA
pH	5	3,5	4	4
°Brix a 20°C	10%	10%	10%	10%

Fonte: autoria própria

Analisando a tabela 5, observou-se que o suco B obteve valores de pH entre 5 a 4 com queda no segundo dia para 3,5. A relação sólidos solúveis totais (°Brix) não apresentou variação nenhuma, se manteve em 10%. O valor de absorvância do suco no primeiro e segundo dia foi 10.314 e 13.286 respectivamente, porém, diminuiu no terceiro e quarto dia com valores de 11.529 e 9.800, tendo uma média de 11.232.

Também considerando o suco B uma mistura contendo como ingrediente principal a manga, os valores não se encontram dentro dos padrões de identidade e qualidade no que diz respeito ao °Brix (>11) e seu pH apenas estava de acordo no segundo dia de análise, nos demais dias estava acima do permitido (BRASIL, 1994)

Se considerarmos os outros ingredientes secundários como o maracujá e a maçã, apenas a maçã se encontra mais próxima de acordo com o padrão de identidade e qualidade (>10,5) (BRASIL, 1994)

Tabela 6: Parâmetros físico-químicos de sucos naturais

FÍSICO-QUÍMICA	SUCO C			
	1° DIA	2° DIA	3° DIA	4° DIA
pH	5	3	4	4
°Brix a 20°C	12%	12%	12%	12%

Fonte: autoria própria

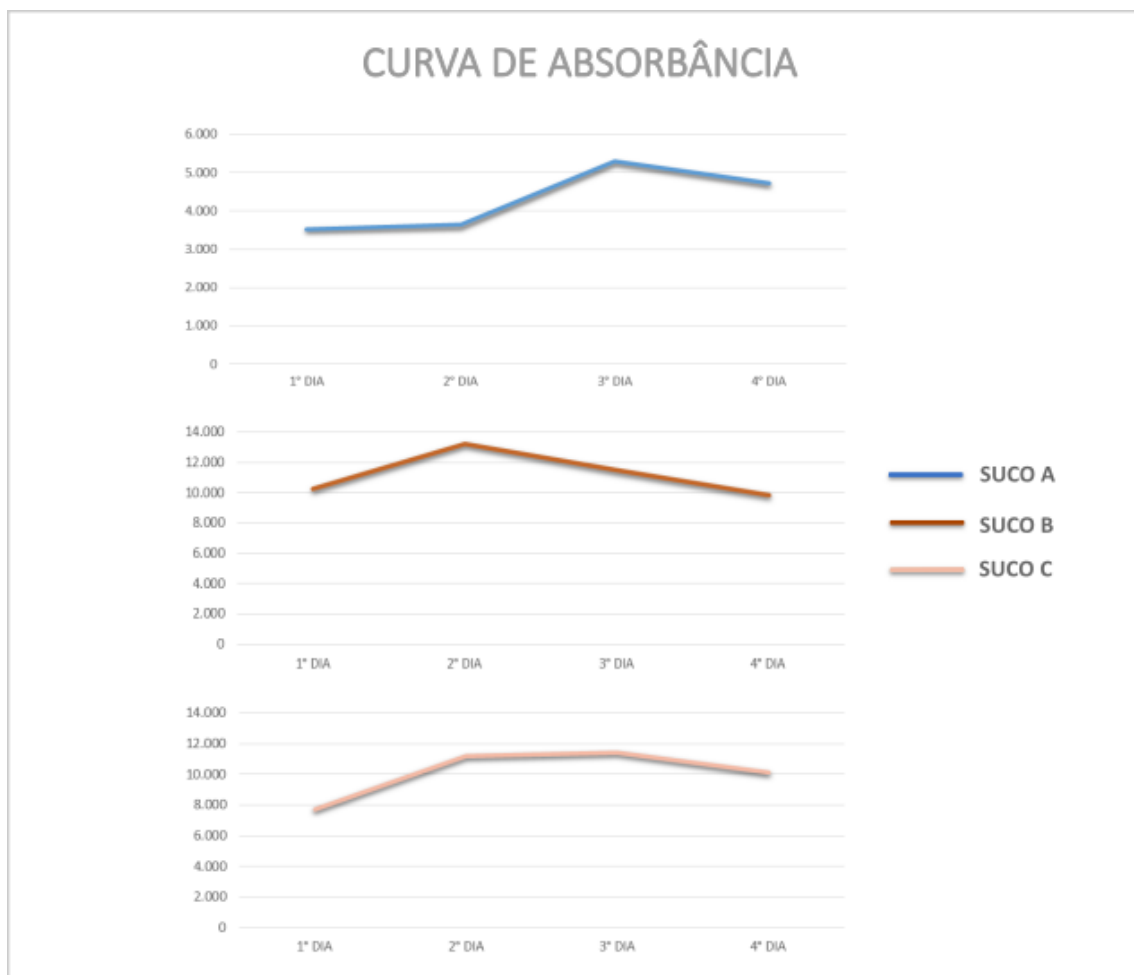
Na tabela 6, observou-se que o suco C obteve valores de pH de 5 a 4. A relação sólidos solúveis totais (°Brix) não apresentou variação, se mantendo em 12%. O valor de absorvância do suco C aumentou até o terceiro dia, sendo 7.772, 11.238 e 11.466 respectivamente, mas teve queda no quarto dia com valor de 10.152, tendo uma média de 10.157.

Nesse caso, sendo a manga também um dos principais ingredientes, o suco C se encontra de acordo com os padrões de identidade e qualidade no que diz respeito ao °Brix (>11) (BRASIL, 1994) o pH continua fora dos padrões. Considerando os outros ingredientes, limão e laranja também não se encontram de acordo com o padrão de identidade e qualidade estabelecido.

4.3 ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA

Para os resultados de absorvância, segundo JOHNSON *et al.* contrastam já em valores maiores de escurecimento em sucos de laranja durante o aquecimento com a quantidade de sólidos encontrados, fazendo com que esse teor aumente com o aumento dos sólidos. Conforme a tabela 7 nos mostra, os valores de absorvância tiveram pouca variação durante o processo de análise, o que pode nos indicar baixa oxidação pois a alta quantidade de sólidos soluveis pode resultar numa maior velocidade de escurecimento.

Tabela 7: Análise de curva de absorvância



Fonte: Autoria própria.

No entanto em não sucos cítricos, o escurecimento não enzimático ou reação de Maillard, pouco importa, pois os valores de pH baixos não favorecem que a reação aconteça. Todavia, os ácidos orgânicos, como por exemplo, o ácido cítrico, causam deterioração dos açúcares contidos no suco formando hidroximetil-furfural (HMF) e fufural. Esses compostos tem a

capacidade de se decompor em sub produtos que possuem cor escura e que também contribuem para a produção de compostos de odor não agradável (LEE, 1988).

Como o ácido ascórbico pode ser encontrado como componente no suco, ele também é um fator de escurecimento quando decomposto (SINCLER, 1972). No entanto podemos observar que os dados apresentados nos mostram a baixa oxidação durante o processo de análise, o que atesta que o período estabelecido pelo fabricante para a duração de seu produto não é afetado pela oxidação.

5. CONCLUSÃO

Pela formulação variável dos sucos A B e C, cada um obteve resultados diferentes quando comparados. Cada um deles possui ingredientes próprios e específicos, caracterizando assim o seu sabor, textura, cor e inclusive sua microbiota, conseqüentemente influenciando sua forma de degradação e seu tempo.

Em relação às análises microbiológicas, esperava-se que houvesse crescimento de algum microrganismo que explicasse a deterioração do suco em tempo menor que o estabelecido pelo fabricante mesmo estando em condições adequadas de temperatura. Observou-se então que todos os sucos estavam em desacordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras quando os resultados foram comparados com os determinados pela legislação vigente. As análises de coliformes totais e fecais, porém, estavam de acordo com a determinação permitida pela legislação.

Portanto as análises indicaram que os sucos se encontram de acordo com a legislação vigente com relação a padrões microbiológicos, porém revela que atualizações devem ser realizadas na resolução que regulamenta os sucos, devido a presença significativa de leveduras, as quais são responsáveis pela fermentação. Com relação as demais análises acredita-se que mais estudos devem ser realizados para que um padrão de identidade e qualidade seja estabelecido para sucos mistos sem adição de água ou outros compostos.

6. REFERÊNCIAS

ANVISA. **Bactérias Gram negativas fermentadoras**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/MODULO2/introducao.htm. Acesso em: 29 mai. 2019.

APPC. **O que é grau Brix**. Disponível em: <http://appc.coop.br/o-que-e-grau-brix/>. Acesso em: 18 jun. 2019.

ASAE. **Autoridade de Segurança Alimentar e Economia**. Disponível em: <http://www.asae.gov.pt/?cn=541054135462AAAAAAAAAAAAA>. Acesso em: 29 mai. 2019.

BRASIL, Lei n. 8918, de 15 de julho de 1994. DISPÕE SOBRE A PADRONIZAÇÃO, A CLASSIFICAÇÃO, O REGISTRO, A INSPEÇÃO, A PRODUÇÃO E A FISCALIZAÇÃO DE BEBIDAS. DIÁRIO OFICIAL DA REPUBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 25.

CAMARGO, Gisele Anne et al. Bebidas naturais de frutas: Perspectivas de mercado, componentes funcionais e nutricionais/natural fruits beverages: Market outlook, functional and nutritional components. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 1, n. 2, p. 179-205, 2007.

CASTANHEIRA, A. C. G. **Manual Básico de Controle de Qualidade de Leite e Derivados** – comentado. São Paulo: Cap. Lab, 2010.

CRISTÓVÃO, Armando; RAMALHO, João. Departamento de Zoologia da Universidade de Coimbra.

DE BRITO, Cristiane Silveira; ROSSI, Daise Aparecida. Bolors e leveduras, coliformes totais e fecais em sucos de laranja in natura e industrializados não pasteurizados comercializados na cidade de Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 1, 2005.

EXAME. **Mercado de sucos naturais apresenta oportunidade de negócio**. Disponível em: <https://exame.abril.com.br/negocios/dino/mercado-de-sucos-naturais-apresenta-oportunidades-de-negocio/>. Acesso em: 30 Jun. 2019

FOYET, M. e TCHANGO TCHANGO, J. Transformation de la goyave et de la grenadille extraction de pulpe, formulation et conservation de nectars. *Fruits*, v. 49, n. 1, p. 61-70, 1994.

FUNASA. **Manual Prático de Análise de Água**. 4. Ed. Brasília, 2013. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf.

JOHNSON, J. R.; BRADDOCK, R. J.; CHEN, C. S. Kinetics of ascorbic acid loss and enzymatic browning in orange juice serum: experimental rate constant. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 502-505, 1995.

LEE, H. S.; NAGY, S. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. *Food Technology*, v. 42, n. 11, p. 91-94, 1988

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/documentos/01_09-secao-1-portaria-86.pdf. Acesso em: 30 mai. 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Instrução Normativa nº 37, de 01 de outubro de 2018**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-37-de-1o-de-outubro-de-2018.pdf/view>. Acesso em: 30 mai. 2019.

NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. Existing and emergin foodborne diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 15, p. 197-205, 1992.

PIETROWSKI, 2008, p.52

PIETROWSKI, Giovana de Arruda Moura. Isolamento, seleção, identificação e aplicação de leveduras não-convencionais com potencial para a produção de aromas em fermentado de maçã. 2011.

RUSCHEL, C. K.; CARVALHO, H. H.; SOUZA, R.B.; TONDO. E, C; Qualidade Microbiológica e Físico Química de Sucos de Laranja Comercializados nas Vias Públicas de Ponto Alegre/ RS. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v.21, n..1, p.94-97, jan./abr.2001.

SHEIDEGGER, C.; PIETRZAK, J.; FREI, R. Methadone diluted with contaminated orange juice or raspberry syrup as a potential source of disseminated candidíasis in

drug abusers. **European Journal Clinical Microbiology Infection and Disease**, v.12, p.229-231, 1993.

SILVEIRA, Márcia Liliane Rippel; BERTAGNOLLI, Silvana Maria Michelin. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE COMERCIALIZAÇÃO DE SUCOS DE LARANJA IN NATURA Microbiological and hygienic-sanitary evaluation of in natura orange juice trading. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 23, n. 3, p. 466, 2013.

SINCLAIR, Walton B. **The grapefruit: its composition, physiology & products**. UCANR Publications, 1972.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R. Fundamentos de Química Analítica. 8ª edição, editora Thomson Learning, 2005.

Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. Princípios de análise Instrumental, 5ª edição editora Thomson Learning, 2002.

SOBRINHO, Paulo de Souza Costa et al. Estabilidade de Características Físico-Químicas em Sucos Naturais de Cenoura e Laranja Armazenados sob Refrigeração. **Vita et Sanitas**, v. 9, n. 2, p. 63-72, 2015.

YAMOTO, C. H. et al. Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. In: **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária**. 2004.