QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS REFRIGERANTES COMERCIALIZADOS NA
REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

FERNANDO LEITE HOFFMANN*
CRISPIN HUMBERTO GARCIA CRUZ*
TÂNIA MARIA VINTURIM*
ROSINÊS LUCIANA DA MOTTA*

Determinou-se o número e os principais grupos de microrganismos contidos em vinte e cinco amostras de refrigerantes obtidas junto ao comércio varejista da região de São José do Rio Preto - SP. De acordo com os resultados obtidos não foi detectada a presença de coliformes totais, o que atende aos padrões exigidos. Quanto a contagem de bolores e leveduras todos os produtos encontraram-se de acordo com a legislação federal, entretanto, com relação à legislação estadual, sete (28%) das vinte e cinco amostras (100%) não atenderam aos padrões estabelecidos. Embora a legislação brasileira não esbabeleça padrões para a contagem de microrganismos aeróbios estritos e facultativos viáveis, bactérias ácidos produtoras e coliformes fecais, tais análises foram realizadas para se verificar a presença destes microrganismos.

1 INTRODUÇÃO

Os refrigerantes e refrescos são bebidas não alcoólicas, obtidas pela dissolução, em água potável, de açúcares, sucos de frutas, extratos de sementes e de outras partes de vegetais inócuos, além de outras substâncias permitidas. A bebida gaseificada com CO₂ é denominada refrigerante, já o refresco é aquele de consumo imediato (10).

*Professores do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista.

Os refrigerantes podem ser classificados, de acordo com seu tipo e composição, em: água gaseificada, soda, soda limonada, (ou soda laranjada), água tônica, refrigerante de frutas, de fantasia, guaraná, cola, chá, mate e café (10).

Os refrigerantes devem ser preparados com água potável, e matérias-primas sãs, limpas e isentas de matéria terrosa, detritos animais ou vegetais, e ainda não devem conter substâncias estranhas a sua composição normal (10).

Os refrigerantes de guaraná, cola, chá mate e café não poderão conter corantes artificiais, sendo permitida a adição de caramelo e de essências (10).

Neste trabalho foi determinado o número e/ou principais grupos de microrganismos (bactérias aeróbias mesófilas, bactérias ácido produtoras, bolores e leveduras e coliformes totais e fecais) contidos em amostras de diferentes bebidas carbonatadas não alcoólicas (refrigerantes tipo cola, cotuba, guaraná, tônica, laranja, limão e uva), obtidas junto ao comércio varejista de São José do Rio Preto - SP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Coletou-se amostras de refrigerantes junto ao comércio varejista da região de São José do Rio Preto - SP, as quais foram transportadas em condições adequadas até o laboratório para análise imediata.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Agitou-se ou inverteu-se a garrafa de refrigerante por vinte e cinco vezes. Pipetou-se assepticamente 1,0 ml da amostra e colocou-se num tubo de ensaio com 9,0 ml de água peptonada a 0,1% (diluição 10^{-1}). Homogeneizou-se e pipetou-se 1,0 ml para outro tubo de ensaio contendo 9,0 ml do mesmo diluente (diluição 10^{-2}). Repetiu-se esta operação até a obtenção das diluições necessárias (2,6).

2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

2.3.1 Enumeração de bactérias aeróbias mesófilas

Pipetou-se assepticamente 1,0 ml das diluições preparadas e colocou-se em placas de Petri devidamente identificadas. Adicionou-se a seguir 15,0 ml de ágar para contagem padrão ou Plate Count Agar (PCA) em cada placa. Homogeneizou-se,

esperou-se solidificar e incubou-se a 35°C por 48 horas. Calculou-se as unidades formadoras de colônias (6). Procedeu-se também a semeadura em ágar soro de laranja ou Orange Serum Agar (OSA), com tempo e temperatura adequados (1,6).

2.3.2 Enumeração de bolores e leveduras

Pipetou-se assepticamente 1,0 ml das diluições e distribuiu-se em placas de Petri identificadas. Adicionou-se a cada placa 15,0 ml de ágar de batata dextrose ou Potato Dextrose Agar (PDA), acidificado com ácido tartárico a 10% (pH 4,0) com homogeneização. Após solidificação incubou-se a 25°C por cinco dias. Calculou-se, de acordo com as diluições as unidades formadoras de colônias (5,11).

2.3.3 Determinação do número mais provável de coliformes totais

Foram inoculadas três séries de três tubos contendo 9,0 ml de caldo lauril sulfato triptose ou Lauryl Triptose Broth com 1,0 ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Homogeneizou-se e incubou-se a 35°C durante 48 horas. O cálculo do número mais provável (NMP) de coliformes totais foi realizado com o auxílio da tabela de Hoskins (11).

2.3.4 Determinação do número mais provável de coliformes fecais

Foi usada a técnica dos tubos múltiplos, utilizando-se caldo EC ou EC Medium. Após a inoculação, os tubos foram incubados a 44,5°C por 24 horas (5,11). O Cálculo dos coliformes fecais foi efetuado também com o auxílio da tabela de Hoskins (11).

2.3.5 Pesquisa de Escherichia coli

Uma alçada dos tubos contendo caldo EC, que apresentavam turbidez, com ou sem gás no interior do tubo de Durham, foi semeada em placas de Petri contendo ágar eosina azul de metileno ou Eosine Methylene Blue Agar.

2.3.6 Enumeração das bactérias ácido produtoras

Pipetou-se assepticamente porções de 1,0 ml das diluições selecionadas, transferindo-as para placas de Petri devidamente identificadas. Adicionou-se a cada placa 15,0 ml de ágar para contagem padrão acrescido de púrpura de bromocresol (como indicador). Homogeneizou-se cuidadosamente, em movimentos de vai e vem (2). Incubou-se as placas invertidas a 32°C por 48 horas. Após a incubação, as placas foram selecionadas, as colônias contadas e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra (6,11).

2.4 DETERMINAÇÃO DE MEDIDAS FÍSICO-QUÍMICAS

Foi também realizada a determinação do pH eletrométrico e da acidez titulável nas diferentes amostras estudadas (4,8).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão demonstrados nas Tabelas 1 e 2. Na Tabela 1 pode ser observado ao final do período de incubação (48 horas), que das vinte e cinco amostras analisadas (100%) em relação à contagem de bactérias aeróbias mesófilas em ágar soro de laranja, somente nove delas (36%) apresentaram unidades formadoras de colônias (UFC).

No que se refere a enumeração de bactérias aeróbias mesófilas em ágar para contagem padrão, foi constatado que dezessete amostras (68%) apresentaram unidades formadoras de colônias.

Neste estudo o ágar para contagem padrão foi mais eficaz que o ágar soro de laranja para a análise de bactérias aeróbias mesófilas.

Apesar de não existir padrão na legislação brasileira para contagem destas bactérias neste tipo de produto, tal enumeração pode fornecer uma idéia de sua provável vida de prateleira, uma vez que, maior número de microrganismos poderá diminuí-la (7,9,11).

Com relação à contagem de bactérias ácido produtoras, vinte amostras (80%) apresentaram unidades formadoras de colônias. Apesar da legislação brasileira não possuir padrão para este tipo de bactéria no produto, neste estudo as mesmas foram determinadas, para se ter uma idéia da contaminação por estes microrganismos.

Não foi detectada a presença de coliformes (totais e fecais) e evidentemente E.coli em nenhuma das vinte e cinco amostras analisadas (100%), portanto todas enquadraram-se dentro dos padrões exigidos pelas legislações estadual e federal (3,10).

Com relação à contagem de bolores e leveduras, ao término do período de incubação (5 dias) foi constatado que as vinte e cinco amostras analisadas (100%) estavam de acordo com padrão estabelecido na legislação federal (3). Entretanto, considerando-se o padrão da legislação estadual (10), sete (28%) das vinte e cinco amostras (100%) estavam em desacordo com o mesmo.

TABELA 1 - REPRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS DURANTE AS DIFERENTES ANÁLISE MICROBIOLÓGICAS

Marca	Amostra	Bactérias aeróbias mesófilas (OSA) UFC/ml 24 h 48 h	Bactérias aeróbias mesófilas (PCA) UFC/ml 24 h 48 h	Bactérias ácido produtoras UFC/ml 24 h 48 h	Bolores e Leveduras UFC/ml 24 h 48 h	Coliformes totais NMP/ml 24 h 48 h	Coliformes fecais NMP/ml 24 h 48 h	E. coli confir-mativo
I	Guaraná	<1	3	8	1	5	<1	<3
	Laranja	<1	3	8	1	4	<1	<3
	Limão	<1	3	4	4	4	1	<3
	Tônica	<1	4	6	1	2	<1	<3
II	Cotuba	<1	1	1	1	1	<1	<3
	Guaraná	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<3
	Laranja	<1	6	6	2	3	<1	<3
	Limão	<1	<1	<1	1	1	2	<3
	Tônica	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<3
	Uva	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<3
III	Guaraná	<1	3	8	2	2	<1	<3
	Laranja	<1	6	9	4	7	<1	<3
	Limão	<1	1	1	5	8	<1	<3
	Tônica	<1	<1	1	1	3	<1	<3
IV	Cola	<1	<1	<1	<1	<1	1	<3
	Guaraná	<1	10	<1	<1	2	6	<3
	Laranja	<1	<1	3	1	3	<1	<3
	Limão	<1	1	1	1	2	<1	<3
	Uva	<1	7	8	1	1	<1	<3
V	Guaraná	<1	1	1	2	2	<1	<3
	Limão	<1	1	2	<1	3	<1	<3
VI	Guaraná	<1	3	4	2	5	<1	<3
VII	Guaraná	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<3
	Laranja	<1	<1	<1	1	1	1	<3
	Limão	<1	1	1	<1	1	<1	<3
Padrão Estadual (10)		ausência em 1 ml					ausência em 5 porções de 10 ml	
Padrão Federal (3)		20/ml máximo					ausência em 50 ml (máximo)	

TABELA 2 - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES DE pH ELETROMÉTRICO E ACIDEZ TITULÁVEL NAS DIFERENTES AMOSTRAS DE REFRIGERANTES A TEMPERATURA DE 25°C

MARCA	AMOSTRA	pH ELETROMÉTRICO	ACIDEZ TITULÁVEL
I	Guaraná	3,0	2,0
	Laranja	3,25	9,0
	Limão	2,8	3,0
	Tônica	2,5	4,0
II	Cotuba	3,25	2,0
	Guaraná	3,0	3,0
	Laranja	3,15	6,0
	Limão	3,1	2,0
	Tônica	2,65	7,0
	Uva	3,1	5,0
III	Guaraná	3,1	3,0
	Laranja	3,0	11,0
	Limão	2,85	5,0
	Tônica	2,6	6,0
IV	Cola	2,65	2,0
	Guaraná	3,0	4,0
	Laranja	3,4	5,0
	Limão	3,0	4,0
	Uva	3,2	5,0
V	Guaraná	2,8	2,0
	Limão	3,35	1,0
VI	Guaraná	3,3	3,0
VII	Guaraná	2,95	4,0
	Laranja	3,25	5,0
	Limão	3,0	6,0
Padrão Estadual (10)		Mínimo 1,8	Máximo 4,3 v/v

Do ponto de vista microbiológico pode-se considerar como melhores as três amostras seguintes: tônica e uva da marca II e guaraná da marca VII (12%), uma vez que nenhuma delas apresentou desenvolvimento ou crescimento dos microrganismos pesquisados.

De acordo com a Tabela 2 verifica-se que o pH eletrométrico de todas as vinte e cinco amostras (100%) estavam dentro do estabelecido na legislação estadual (10). Já com relação a acidez titulável verifica-se que onze (44%) das vinte e cinco amostras (100%) estavam em desacordo com o padrão estabelecido na legislação estadual (10). Tal fato pode estar relacionado com a possível ocorrência de reações químicas e/ou microbiológicas que levariam ao aumento da acidez titulável.

4 CONCLUSÃO

Dentre as vinte e cinco amostras analisadas (100%), somente uma (4%), a de Guaraná da marca VII, pode ser classificada como a melhor, quer sob o ponto de vista microbiológico, como do ponto de vista químico (pH eletrométrico e acidez titulável).

Abstract

In this paper the number and main groups of microorganisms were determined included in twenty-five samples of soft drinks in the retail trade in the region of São José do Rio Preto - SP. From each sample aliquotes of 1.0 ml were taken and the necessary decimal dilutions were carried out. They were spread in appropriate culture media for the counting of mold and yeast and for the determination of total coliforms, being incubated at advised time and temperature. According to the obtained results, the presence of total coliforms was not detected, being therefore within the required standards. As for the counting of mold and yeast all the products were according to the federal legislation; however, as regards the state legislation, seven (28%) of twenty-five samples (100%) were not according to the established standards. Although Brazilian legislation does not establish standards for counting of strict and viable facultative aerobic microorganisms, acid producting bacteria and fecal coliforms, such analyses were carried out to find out the presence of microorganisms.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Métodos recomendados para o exame microbiológico de alimentos. São Paulo : Polígono, 1972. p. 13-20.

- 2 BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: I. métodos microbiológicos. Brasília, 1981.
- 3 BRASIL. Portaria nº 001 de 28 de janeiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 25 de fevereiro de 1987.
- 4 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2. ed. São Paulo, 1976. v. 1.
- 5 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganisms in foods: 2. sampling for microbiological analysis - principles and specific applications. Toronto : University of Toronto, 1974.
- 6 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. Toronto : University of Toronto, 1978.
- 7 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microbial ecology of foods. New York : Academic Press, 1980. v. 2.
- 8 JACOBS, M.B. Manufacture and analysis of carbonated beverages. New York : Chem. Publ., 1959.
- 9 LEITÃO, M.F.F., DELAZARI, I., UBOLDI EIROA, M.N., ARIMA, H.K. Avaliação de sucos, refrigerantes, refrescos, nectares e xaropes em face dos padrões microbiológicos brasileiros. Boletim do ITAL, Campinas, v. 49, p. 75-91, jan./fev. 1977.
- 10 SÃO PAULO. Decreto nº 12.486 de 20 de outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. Diário Oficial, São Paulo, 21 de outubro de 1978.
- 11 SPECK, M.L. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington : American Public Health Association, 1976. 702 p.