

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E TECNOLOGIA  
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



YNARA DA COSTA FONSECA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MICROSCÓPICA DO  
CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR COMERCIALIZADO EM  
FEIRAS E SUPERMERCADOS DE BELÉM-PA.**

BELÉM

2019

YNARA DA COSTA FONSECA

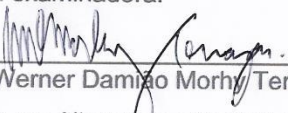
**Avaliação microbiológica e microscópica do caldo de cana-de-açúcar comercializado em feiras e supermercados em Belém-PA.**

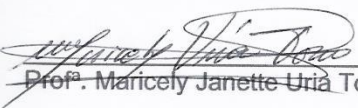
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção de grau de Tecnólogo (a) em Alimentos, da Universidade do Estado do Pará.

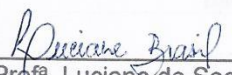
Orientador (a): Werner Damiano Morhy Terrazas.

Data de aprovação: 18 / 10 / 2019

Banca examinadora:

  
Orientador  
Prof. Werner Damiano Morhy Terrazas  
Doutor em Alimentos e Nutrição  
Universidade do Estado do Pará

  
- Membro  
Prof.ª Maricely Janette Uriá Toro  
Doutora em Química  
Universidade do Estado do Pará

  
- Membro  
Prof.ª Luciane do Socorro Nunes dos Santos Brasil  
Doutora em Química  
Universidade do Estado do Pará

BELÉM  
2019

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

---

- F676a Fonseca, Ynara da Costa  
Avaliação microbiológica e microscópica do caldo de cana-de-açúcar comercializado em feiras e supermercados de Belém-PA / Ynara da Costa Fonseca. – Palmas, 2019.  
74 f.
- Monografia (TCC) – Universidade do Estado do Pará, Curso de Tecnologia em Alimentos, 2019.  
Orientador: Prof. Dr. Werner Damião Morhy Terrazas.
1. Caldo de cana. 2. Condições Higiênico-sanitárias. 3. Comercialização.  
I. Título.

**CDD 806.92**

---

**Bibliotecária: Maria Elza Coêlho Simões  
CRB-2 / 806**

**Todos os Direitos Reservados – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do código penal.**

A minha querida família, a qual estive ao meu lado nos meus melhores e piores momentos, me dando forças quando eu acreditava não ser capaz;

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, pela força e resignação para concluir esta etapa.

Aos meus professores que foram os principais instrumentos pelo saber dentro da universidade, em especial ao meu orientador Werner pela ajuda durante este trabalho.

A minha família em especial, minha mãe Alessandra de Fátima, minha avó Maria Luiza e minha irmã Yasmin Luiza, pelo amor, carinho, apoio, em todos os momentos de minha vida, por terem me ensinado a valorizar os estudos e possibilitado eu chegar até aqui.

Aos meus amigos de longa data, em especial Flaviana Oliveira e Marvin Garcia, meus irmãos de vida, aos feitos nesta universidade, Amanda Ramos, Camila Luz, Fernanda Borges, Gleuciane Melo, Matheus Brito, Pâmela Costa, Yasmim Rodrigues e Yara Ramos, e ao longo da vida, Cássia Beatriz, Karen Beatriz, Lauro Junior, Leonardo Martins, Luciana Mendes, Rebeca Cardoso, por me mostrarem o verdadeiro valor da amizade.

Ao meu namorado Gabriel Patrick pelo carinho e paciência, nos momentos difíceis.

A toda a equipe do LACEN-PA, Adriane Trindade, Augusto César, Ana Paula Lima, Danielle Salgado, Edgleuma Costa, Ednilza Santos, Gleice Cabral, Graciete Soares, Ivanete Costa, Joanna Santos, Karin Gonçalves, Lucila Pereira, Maria Izabel Estrela, Maria Suzete de Souza, Sabino Alves, e todos os outros funcionários por todo carinho recebido desde o estágio, e também por toda a ajuda que recebi durante as análises deste trabalho, todos foram muito importantes.

Ao meu primo/irmão Lucas Matheus Cardoso da Costa por todo o seu apoio.

A minha querida tia Maria Elza Coêlho Simões, por toda a ajuda e carinho recebidos durante a elaboração deste trabalho.

## RESUMO

FONSECA, YNARA DA COSTA. **Avaliação microbiológica e microscópica do caldo de cana-de-açúcar comercializado em feiras e supermercados de Belém-PA.** 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação de Tecnologia em Alimentos) - Universidade do Estado do Pará, Belém, 2019.

O caldo de cana-de-açúcar é uma bebida de baixo custo, refrescante, energética e muito popular no Brasil, rica em vitaminas do complexo B e vitamina C, fósforo, sódio, cálcio, ferro, potássio e magnésio, estando presente, também, a sacarose, frutose e amido, os quais são nutrientes adequados para a multiplicação de microrganismos. O presente trabalho avaliou a qualidade microbiológica e microscópica quanto ao isolamento de *Salmonella spp.*, contagem de coliformes a 45 °C, detecção de bolores e leveduras e pesquisa de matérias estranhas, nos caldos de cana-de-açúcar comercializado em feiras e supermercados de Belém-PA. Com relação a metodologia, a pesquisa pautou-se essencialmente, no estudo exploratório ou pesquisa bibliográfica e em uma pesquisa laboratorial, foram avaliados o total de 30 amostras de caldo de cana *in natura* no Laboratório Central do Estado do Pará, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019. Os resultados demonstraram que 1 (3,33%) amostra apresentou *Salmonella spp.*, 14 (33,33%) apresentaram valores maiores ou igual a 1100 NMP/mL, de acordo com a tabela de NMP, os bolores e leveduras variaram de  $4,2 \times 10^2$  a  $2,0 \times 10^5$  UFC/mL e 7 (23,33%) amostras apresentaram sujidades e materias estranhas. Após a realização das análises, os resultados evidenciaram falhas higiênico-sanitárias no processo de obtenção, produção do alimento e comercialização do mesmo, expondo o consumidor a elevados riscos de contaminação por DTAs, pois a qualidade microbiológica e microscópica dos caldos de cana analisados encontra-se fora dos padrões da legislação vigente no Brasil.

**Palavras chaves:** Caldo de cana; Condições Higiênico-sanitárias; Comercialização.

## ABSTRACT

FONSECA, YNARA DA COSTA. **Microbiological and microscopic evaluation of sugarcane juice marketed in fairs and supermarkets of Belém-PA.** 2019. Course conclusion paper (Food Technology Graduation) - Pará State University, Belém, 2019.

Sugarcane juice is a low cost, refreshing, energetic and very popular drink in Brazil, rich in B vitamins and vitamin C, phosphorus, sodium, calcium, iron, potassium and magnesium, also sucrose, fructose and starch, which are suitable nutrients for the multiplication of microorganisms. The present work evaluate the microbiological and microscopic quality of *Salmonella spp.* isolation, coliform counting at 45 °C, detection of mold and yeast and foreign matter research in sugar cane juice marketed in Belém-PA fairs and supermarkets. Regarding the methodology, the research was essentially based on the exploratory study or bibliographic research and a laboratory research, were evaluated the total of 30 samples of fresh sugarcane juice in the Central Laboratory of the State of Pará, in the period of November. 2018 to February 2019. The results showed that 1 (3.33%) sample presented *Salmonella spp.*, 14 (33.33%) presented values greater than or equal to 1100 MPN / mL, according to the MPN table, the molds and yeasts varied from 4 ,  $2 \times 10^2$  to  $2.0 \times 10^5$  CFU / mL and 7 (23.33%) samples presented dirt and foreign matter. After the analyzes, the results showed hygienic-sanitary failures in the process of obtaining, producing the food and marketing it, exposing the consumer to high risks of contamination by DTAs, because the microbiological and microscopic quality of the analyzed sugarcane juice was found. outside the standards of the legislation in force in Brazil.

**Keywords:** Sugarcane juice; To evaluate; Hygienic-sanitary; Commercialization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Estrutura da cana-de-açúcar. ....	18
<b>Figura 2</b> – Estrutura morfológica do colmo da cana-de-açúcar. ....	18
<b>Figura 3</b> – Bolores e leveduras observados no microscópio, após a coloração. ....	26
<b>Figura 4</b> – Placas de XLD e HE, apresentando o crescimento de bactérias atípicas a <i>Salmonella</i> . ....	30
<b>Figura 5</b> – Placas de HE e XLD apresentando crescimento de colônias típicas e atípicas a <i>Salmonella spp.</i> . ....	31
<b>Figura 6</b> – Meios de triagem para a determinação de <i>Salmonella spp.</i> . ....	32
<b>Figura 7</b> –Formaçãode gás nos tubos contendo LST. ....	34
<b>Figura 8</b> – Ausência de gás nos tubos contendo caldo EC. ....	35
<b>Figura 9</b> –Placa de EMB apresentando colônias típicas de <i>E. coli</i> . ....	35
<b>Figura 10</b> – Teste bioquímico INVIC negativo. ....	36
<b>Figura 11</b> – Aglutinação das células somáticas pelo antissoro O. ....	40
<b>Figura 12</b> –Testes bioquímicos para <i>Salmonella spp</i> e <i>E. coli</i> ....	40
<b>Figura 13</b> –Placa de DRBC apresentado crescimento de bolores e leveduras na diluição 10 <sup>-1</sup> ....	44
<b>Figura 14</b> –Contagem de bolores e leveduras. ....	44
<b>Figura 15</b> – Fragmento de inseto encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	46
<b>Figura 16</b> – Fragmento de artrópode encontrado nas amostras de caldo de cana. ...	46
<b>Figura 17</b> – Ovo de inseto encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	47
<b>Figura 18</b> – Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	47
<b>Figura 19</b> – Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	48
<b>Figura 20</b> – Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	48
<b>Figura 21</b> – Ácaro vivo encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	49
<b>Figura 22</b> – Exemplo de filamento de plástico encontrado nas amostras de caldo de cana. ....	49
<b>Quadro 1</b> – Resultado das provas bioquímicas para <i>E. coli</i> . ....	36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Composição do caldo de cana em 100 mL da amostra. ....	19
<b>Tabela 2</b> – Padrões microbiológicos sanitários para sucos e refrescos não alcoólicos.....	22
<b>Tabela 3</b> – Avaliação microbiológica dos caldos de cana comercializados por supermercados e ambulantes na cidade de Belém/PA.....	39
<b>Tabela 4</b> – Tipos de matérias estranhas encontradas nas amostras de caldos de cana comercializados por supermercados e ambulantes na cidade de Belém/PA. ....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AOAC</b>	- Association of Official Analytical Chemists
<b>APHA</b>	- American Public Health Association
<b>CONAB</b>	- Companhia Nacional de Abastecimento
<b>DRBC</b>	- Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol
<b>DTA</b>	- Doença Transmitida por Alimentos
<b>EC</b>	- <i>Escherichia coli</i>
<b>BEM</b>	- Ágar eosina azul de metileno
<b>ETA</b>	- Enfermidades Transmitidas por Alimentos
<b>g</b>	- Grama
<b>He</b>	- Ágar Entérico de Hecktoen
<b>IBGE</b>	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IEA</b>	- Instituto de Economia Agrícola
<b>INVIC</b>	- Indol, VMVP e Citrato
<b>kcal</b>	- Quilocalorias
<b>LACEN-PA</b>	- Laboratório Central do Estado do Pará
<b>LIA</b>	- Ágar Lisina e Ferro
<b>LST</b>	- Lauril sulfato triptose
<b>MAPA</b>	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
<b>min</b>	- Minuto
<b>mg</b>	- Miligrama
<b>mL</b>	- Mililitro
<b>MR-VP</b>	- Vermelho de metila- Voges-Proskauer
<b>NMP</b>	- Número Mais Provável
<b>PA</b>	- Pará
<b>pH</b>	- Potencial Hidrogeniônico
<b>RDC</b>	- Resolução Diretoria Colegiada
<b>s</b>	- Segundo
<b>spp</b>	- Espécies
<b>SCI</b>	- Síndrome de Cólon Irritado
<b>TSI</b>	- Ágar Ferro e Açúcar Tríplice
<b>UHT</b>	- Ultra High Temperature
<b>RDC</b>	- Resolução Diretoria Colegiada
<b>XLD</b>	- Ágar Salmonella-Shigella

## LISTA DE SÍMBOLOS

- °Brix - Graus Brix
- °C - Graus Celsius
- % - Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1. Objetivo Geral</b> .....	16
<b>2.2. Objetivos Específicos</b> .....	16
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
<b>3.1. Cana-de-açúcar</b> .....	17
<b>3.2. Caldo de cana-de-açúcar</b> .....	19
<b>3.3. Análises Microbiológicas</b> .....	22
3.3.1. <i>Salmonella spp.</i> .....	22
3.3.2. Coliformes fecais a 45 °C .....	24
3.3.3. Bolores e Leveduras .....	25
<b>3.4. Análises Microscópicas</b> .....	26
<b>3.4.1. Matérias estranhas e Sujidades</b> .....	<b>26</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
<b>4.1. Material</b> .....	29
<b>4.2. Métodos</b> .....	29
4.2.1. Análises Microbiológicas .....	29
4.2.1.1. <i>Salmonella spp.</i> .....	29
4.2.1.2. Coliformes fecais a 45 °C .....	33
4.2.1.3. Bolores e Leveduras.....	37
4.2.2. Análises Microscópicas .....	37
4.2.2.1. Pesquisa de sujidades e matérias estranhas .....	37
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	50
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	51
<b>ANEXOS</b> .....	58

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), gramínea originária do Sudeste Asiático, é considerada uma das culturas agrícolas mais importantes das regiões tropicais e subtropicais, para a obtenção de açúcar, álcool e aguardente. Alguns de seus produtos, como o caldo de cana, o melaço e a rapadura são muito consumidos no Brasil devido ao seu baixo custo e elevados potencial energético. (PRADO et al., 2010).

O caldo de cana é uma bebida rica em sacarose, não alcoólica, nutritiva, saborosa e com preço baixo, considerada bastante refrescante e consumida em épocas mais quente do ano, caracterizada como um líquido viscoso e opaco, com cor variando de cinza clara a verde-escuro (MANIKANTAN et al., 2017; OLIVEIRA, 2009). Apresenta valores significativos de carboidratos e minerais (potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro) e vitaminas (complexo B e C), sendo um produto energético (80-100 kcal/100 mL) e com pH variando de 4 a 5 (SUGANTHI; BHUVANESWARI; RAMYA, 2018).

A presença de açúcares, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e a alta atividade da enzima polifenoloxidase provocam fermentação rápida e aparência acastanhada escura ao produto, resultando em um produto não comercializável apenas algumas horas após a extração (MATTOS; MEIRA-STREJEVITCH; MARCIANO, 2017; NISHAD; SELVAN; MIR, 2017). Além disso, a degradação da qualidade devido à deterioração microbiana também é um fator de preocupação (SREEDEVI; RAO; KAMESWARI, 2017).

O estilo de vida da atual sociedade demonstra que um expressivo número de pessoas consome alimentos e bebidas fora de seus domicílios em ambientes próprios para esse fim ou em pontos improvisados e de fácil acesso, como praças, pontos de ônibus, ruas e ambientes de comércio, distribuído pelas ruas das principais cidades do país, segmento da alimentação conhecido ambulante (AMSON, 2005).

Esses ambientes geralmente são caracterizados por precárias instalações e condições higiênicos sanitários e a falta de conhecimento dos vendedores sobre manipulação de alimentos pode representar riscos à saúde da população, devido ao fato dos alimentos poderem ser facilmente contaminados por microrganismos,

ocasionando sérios riscos à saúde da população (BRYAN et al., 1988; SILVA JR, 1995; LUCCA; TORRES, 2002).

Nesse contexto, o caldo de cana amplamente consumido nas ruas de Belém do Pará, tal como em outras capitais do país, através de seus manipuladores podem ser considerados como fonte de transmissão de microrganismos patogênicos, visto que a bebida é extraída em máquinas de moer e acondicionado em jarras que geralmente são plásticas, a mesma é filtrada em coador ou peneiras plásticas e o gelo utilizado na bebida é armazenado em caixas de isopor (FRANÇA, 2005).

Para a limpeza e higienização das mãos e moendas é feita sem nenhum parâmetro de higiene apenas com água, em algumas situações. Os panos de prato podem ser utilizados para secar as mãos no intervalo de entrega do copo com o caldo ao consumidor e o recebimento do dinheiro e este tipo de conduta favorecem a contaminação e proliferação de microrganismos patogênicos (OLIVEIRA; RIBEIRO; PAULO, 2008).

Prado et al. (2010), destaca que os microrganismos de importância a serem considerados em estudos envolvendo o caldo de cana são, essencialmente, aqueles oriundos do solo e de vegetais, dentre os quais se destacam os bolores, as leveduras, as bactérias lácticas e esporuladas. Além disso, os resíduos do processo são geralmente deixados perto da moenda atraindo insetos e animais, fatores estes que podem favorecer a ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), e a contaminação dos alimentos por sujidades e matérias estranhas.

Material estranho é qualquer contaminante associado às condições inadequadas de produção, estocagem e distribuição, tais como sujidades, material decomposto, areia, terra, ferrugem, vidro, excluindo-se as contagens microbianas. As sujidades são materiais advindos de contaminação animal, os quais evidenciam condições não sanitárias de manuseio: pelos de roedores, fragmentos de insetos, ovos, larvas, excrementos (OLIVEIRA et al., 2015; RODRIGUES; ATUI; CORREIA, 1999; FONTES; FONTES, 2005; BARBIERI et al., 2001).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a qualidade microbiológica e microscópica do caldo de cana-de-açúcar comercializado em Belém-PA.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Realizar a pesquisa de *Salmonella spp*;

Realizar a determinação de coliformes a 45 °C;

Avaliar a presença ou ausência de *Escherichia coli*;

Realizar a determinação de bolores e leveduras;

Pesquisar matérias estranhas e sujidades presentes no caldo de cana-de-açúcar.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Cana-de-açúcar

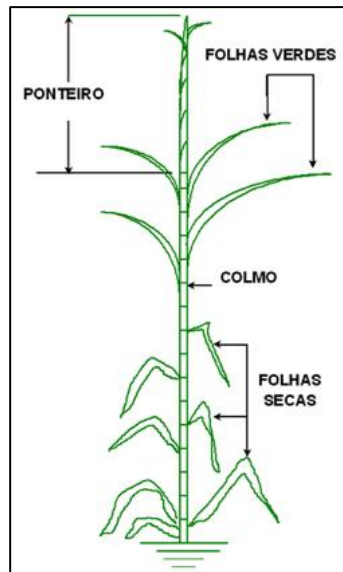
A cana é uma planta de grande porte que forma rizomas e touceiras, produzem caules suculentos divididos em nós e entrenós, com folhas alternas e bainha aberta e longa (cobre completamente o talo, prolongando-se sobre pelo menos um entrenó completo), inflorescência do tipo panícula, com flores hermafroditas e fruto do tipo cariopse oblonga e pontiaguda (MULLER; GILBERT, 2009).

A cana-de-açúcar foi uma das principais bases para a construção do território brasileiro, pois a partir do século XVII a lavoura canavieira havia possibilitado o rápido crescimento demográfico e econômico de assentamentos agrícolas de estilo europeu, no qual funcionaram como centros de controle e expansão territorial no primeiro século da colonização portuguesa. (PRADO JÚNIOR, 2012; FURTADO, 1971; SCHWARTZ, 1988; FREYRE, 2004; CABRAL, 2014).

Segundo o IBGE (2017), afirma a grande importância histórica dos canaviais no período colonial, os quais modelaram grande parte da história do Brasil e seus resquícios podem ser encontrados em inúmeras paisagens e manifestações culturais do país, entre elas destacam-se o Maracatu Rural e o Cavalo Marinho, que nasceram entre os escravos dos canaviais e engenhos, durante o período colonial.

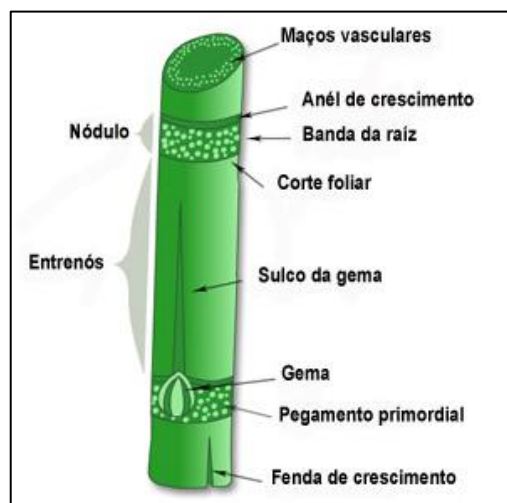
A cana-de-açúcar é destinada para produção de diversos produtos, tanto no ramo alimentício quanto para a geração de energia e alimentação animal. Dentre os derivados de maior visibilidade estão o açúcar e o etanol (CONAB, 2016).

Segundo Lima (2011), esta planta pertence à mesma família do milho, sorgo, arroz e muitas outras gramas. As principais características dessa família são a forma da inflorescência (espiga), o crescimento do caule em colmos, e as folhas com lâminas de sílica em suas bordas e bainha aberta. A cana é composta essencialmente de duas partes: uma subterrânea constituída pelos rizomas e pelas raízes e outra aérea, constituída pelo colmo, folhas e flores (Figura 1).



**Figura 1**– Estrutura da cana-de-açúcar.  
 Fonte: Sucre, 2016.

A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que compreende uma parte chamada de fibra sólida e uma parte líquida, suco, contendo água e sacarose (Figura 2). A composição química dos colmos é extremamente variável em função de diversos fatores como: variedade, condições climáticas, condições do solo e adubação, tipo de cultivo, estágio de desenvolvimento, entre outros (CRUZ; GERASEEV; CARMO, 2014; IEA, 2017; SILVA et al., 2012).



**Figura 2** – Estrutura morfológica do colmo da cana-de-açúcar.  
 Fonte: Agricultura em foco, 2011.

Os principais fatores climáticos que influenciam diretamente no crescimento da cana-de-açúcar, são estes: luminosidade, umidade e temperatura. Sendo a faixa

de temperatura mínima entre 14 a 16 °C e a temperatura ótima em torno de 30 °C. (IEA, 2017).

Conforme o MAPA (2018) a taxa média anual de crescimento para a produção de açúcar foi de 3,3% no período de 2017/2018 a 2027/2028, o que equivalera a aproximadamente 49,7 milhões de toneladas na próxima década.

Nosso país encontra-se sendo o maior produtor a nível mundial de cana-de-açúcar. Dados da CONAB (2019) apontam que a produção de cana-de-açúcar, na safra 2019/20, está estimada em 615.978,9 mil toneladas, apontando redução de 0,7% em relação à safra passada.

Para a safra da região Centro-Sul do país a expectativa é que a região produza cerca de 566.732,3 mil toneladas de cana-de-açúcar, representando 92% de toda produção nacional. Já a Região Norte/Nordeste, a estimativa é de 49.246,6 mil toneladas colhidas, simbolizando 8% da safra brasileira (CONAB, 2019).

### 3.2 Caldo de cana-de-açúcar

A tabela 1 apresenta a composição do caldo de cana em 100 mL da amostra.

**Tabela 1** – Composição do caldo de cana em 100 mL da amostra.

Referência	NECA/UNICAMP (2006)	IBGE (2009)	TACO (2011)
Calorias (Kcal)	0	73,58	65
Umidade (g)	0	78,8	81,6
Carboidratos (g)	0	19,97	18,2
Proteínas (g)	0,6	-	-
Lipídeos (g)	0	-	-
Fibras (mg)	-	-	0,1
Cinzas (g)	0	-	0,1
Magnésio (mg)	12	1	12
Cálcio (g)	9	5,6	9
Fosforo (mg)	5	-	-
Ferro (mg)	0,8	-	-
Sódio (mg)	-	18,34	-
Potássio (mg)	18	1	-
Vitamina B6- piridoxina (mg)	0,03	-	-
Vitamina C- ácido ascórbico (mg)	2,8	-	-

Fonte: Autor, 2019.

Normalmente o caldo de cana-de-açúcar apresenta uma proporção de sólidos solúveis entre 15 e 25°Brix, o que ocorre em função de aspectos ambientais (MARTUCCI, 1983).

O caldo de cana é obtido por extração em moedores elétricos, ou manuais, coado em peneiras metálicas e servido com ou sem gelo, podendo ser consumido puro ou com suco de limão, abacaxi ou até maracujá. No entanto, nem sempre estas condições são adequadas sob o ponto de vista higiênico-sanitário, ficando o consumidor sujeito às possíveis contaminações que o produto venha trazer (SHIAN; OSMAN, 2000; KUNITAKE, 2012).

Os microrganismos de importância considerados em estudos envolvendo o caldo de cana são, essencialmente, aqueles oriundos do solo de vegetais, dentre os quais se destacam os bolores, as leveduras, as bactérias lácticas e esporuladas (GALLO, 1989; GALLO; CANHOS, 1991).

Entre os mais frequentes estão as *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* e *Corynebacterium*. Como leveduras, podem-se citar *Torulopsis*, *cândida*, *Saccharomyces*, *Torula*, e *Pichia* (FRANÇA, 2008).

No caldo extraído da cana, os microrganismos podem ser originados não só da cana como também de focos de contaminação nas moendas e em outros equipamentos (SILVA; CANHOS, 1990). Os manipuladores de alimentos assumem também importante papel ao atuarem como fonte de disseminação de microrganismos patogênicos (VANZO; AZEVEDO, 2003).

Silva e colaboradores (2011) descrevem o processamento industrial para obtenção do caldo de cana da seguinte forma: O processo para a obtenção de caldo de cana inicia-se na lavoura, onde as canas-de-açúcar maduras são cortadas manualmente ou mecanicamente por colheitadeiras e separa-se a palha dos colmos de cana, sendo estes direcionados a veículos que realizam o transporte até a unidade de processamento (ALVES; COSTA, 2011).

No local onde ocorre o processamento, os colmos são higienizados em água, para remoção de impurezas e sujidades advindas da lavoura. As hastes de cana-de-açúcar são direcionadas a equipamentos cilíndricos, rotativos, equipados com facas, nas quais cortam os bastões em pequenos pedaços. Em seguida, a matéria-prima passa através da moenda, que é composta de três cilindros metálicos com ranhuras, dispostos triangularmente. Além dos três cilindros, uma moenda pode possuir mais

dois rolos, um de alimentação e outro de pressão, sendo esse conjunto chamado de terno de moenda.

Durante a passagem da cana-de-açúcar por entre o equipamento, por efeito mecânico, ocorre a separação da fase sólida (bagaço) da líquida (caldo) que escoam entre as ranhuras dos cilindros (ADEWOLE; ADAMOLEKUN; AKINNUSI, 2015; PIACENTE; SILVA; BIAGGI, 2016).

Posteriormente sofrerá um tratamento térmico, o qual poderá ser a pasteurização ou o tratamento UHT (do inglês Ultra High Temperature). A pasteurização é um dos processos mais aplicados na conservação de polpas e sucos de frutas, pois a combinação apropriada da temperatura e do tempo permite destruir microrganismos e inativar enzimas, com isto, aumentando a vida útil do produto. A acidez do produto influencia em que tratamento utilizar, pois, geralmente, os sucos de baixa acidez ( $\text{pH} > 4,6$ ) são aquecidos a uma temperatura mais alta que  $100^{\circ}\text{C}$  (esterilização); enquanto que os sucos ácidos ( $\text{pH} < 4,6$ ) requerem o tratamento térmico abaixo de  $100^{\circ}\text{C}$  (pasteurização) (FELLOWS, 2006; AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

O tratamento UHT, emprega o uso de alta temperatura por um período muito reduzido de tempo, é um processo contínuo destinado a gerar um produto “comercialmente estéril”, isto é, um produto no qual os microrganismos não crescerão nas condições normais de armazenamento quando embalado assepticamente. Envolve o aquecimento a temperaturas superiores a  $130^{\circ}\text{C}$  (geralmente  $138-145^{\circ}\text{C}$ ) para um tempo de espera de 1-10 s (geralmente 3-5 s) (DEETH; DATTA, 2011).

A escolha do tipo de tratamento térmico depende da sensibilidade ao calor do produto. Geralmente, o binômio tempo temperatura inapropriado pode desencadear reações químicas que comprometem a qualidade nutricional, como degradação de compostos bioativos, e reações de coloração, como reação de Maillard, afetando características sensoriais (AZEVEDO; LIMA; MELO, 2014; CHITGAR; AALAMI; MAGHSOUDLOU, 2017).

Com isso, foram realizados diversos estudos para averiguar a eficiência do tratamento térmico na conservação de produtos, destacando-se o realizado por Chauhan; Singh; Tyagi (2002) que avaliaram caldo de cana pasteurizado e tratado com ácido cítrico, ácido ascórbico e metabisulfito de potássio. Os autores verificaram que após o processo de pasteurização houve ausência de coliformes.

Outra pesquisa de destaque e a de Karmakar; Ghosh; Gangopadhyay (2011) observaram que a pasteurização (90°C/ 4 min) foi eficiente para garantir segurança microbiológica ao caldo de cana durante 25 dias de armazenamento refrigerado (4°C).

Após o tratamento térmico o produto é submetido a arrefecimento, onde se atingem temperaturas de refrigeração convencional (7°C). A associação de diferentes métodos de conservação garante a inibição ou inativação de microrganismos deteriorantes (MUKHOPADHYAY; GORRIS, 2014). As etapas finais são de armazenamento e distribuição entregando ao consumidor final um produto de maior durabilidade.

### 3.3 Análises Microbiológicas

Segundo a legislação brasileira, o caldo de cana está na categoria de bebida preparada com vegetais, classificado como substância ou mistura de substâncias obtidas da polpa ou de outras partes de vegetais, acrescida ou não de outros ingredientes, destinada ao consumo (BRASIL, 2001). A tabela 2 apresenta os padrões microbiológicos para sucos e refrescos não alcoólicos.

**Tabela 2**– Padrões microbiológicos sanitários para sucos e refrescos não alcoólicos.

<b>Amostra</b>	<b>Microrganismos</b>	<b>Contagem*</b>
Caldo de cana	Coliformes a 45°C	10 NMP/mL
	<i>Salmonella spp.</i>	Ausência/25 MI

\*Tolerância para amostra indicativa  
Fonte: RDC nº12, janeiro de 2001.

#### 3.3.1 *Salmonella spp*

O Ministério da Saúde (2011) afirma que as bactérias chamadas de salmonelas são pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, morfologicamente são bastonetes Gram negativos, geralmente móveis, capazes de formar ácido fermentando a glicose, com exceção de *S. typhi*, *S. pullorum* e *S. gallinarum*, suas características gerais são de possuir oxidase negativa, catalase positivo, indol,

Voges Proskauer – VP, Vermelho de Metila – VM, malonato e ureia negativa. Possuem a capacidade de produzir gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase.

A taxonomia do gênero *Salmonella* baseasse na composição de seus antígenos de superfície, os quais são os somáticos (O) ou flagelares (H) (HOLT et al, 2000).

O grupo de salmonelas possui como habit natural, locais divididos em três categorias com base na especificidade do hospedeiro e são: adaptadas ao homem, destacando a *S. Typhi* e *S. paratyphi* A, B e C, agentes da febre entérica (febre tifoide e paratifoide); adaptadas aos animais, representadas por *S. dublin* (bovinos), *S. choleraesuis* e *S. typhisuis* (suínos), *S. abortusequi* (equinos), *S. pullorum* e *S. gallinarum* (aves), e a terceira categoria inclui sorovares que atingem o homem e os animais, são as salmonelas zoonóticas, as quais são responsáveis por quadro de gastroenterite (enterocolite) ou por doenças de transmissão alimentar (Ministério da Saúde, 2011).

Esta bactéria é eliminada em grande número nas fezes, sendo responsável pela contaminação do solo e da água no meio ambiente, está bactéria pode sobreviver por muito tempo, principalmente em matéria orgânica, particularmente fezes secas podendo resistir mais de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses no estrume bovino, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal (Ministério da Saúde, 2011).

As salmonelas podem se proliferar em valores de pH entre 7.0 e 7.5, valores superiores a 9.0 e inferiores 4.0 são bactericidas, a temperatura varia de 35°C a 37°C, sendo a mínima 5°C e a máxima 47°C, podendo estes valores variarem com o sorotipo (HOLT et al, 2000; JAY, 2005).

As concentrações necessárias para uma pessoa sadia adquirir uma salmonelose, conhecida como uma DTAs deve variar de  $10^5$  a  $10^8$  células e a sua manifestação clínica inclui quadros entéricos agudos ou crônicos, além de localização extraintestinal, como infecções septicêmicas, osteomielite, artrite, hepatite etc (JAY, 2005; Ministério da Saúde, 2011).

Qualquer alimento que contenha *Salmonella spp.* é um risco potencial para o consumidor, cuja veiculação é facilitada, na atualidade, pela mudança nos hábitos alimentares da população. A necessidade, cada vez maior, de elevar a

produção/oferta de alimentos leva ao aumento dos fatores de risco, resultantes de falhas quanto ao manuseio, transporte muitas vezes em condições inadequadas, aliados à ausência de critérios básicos de higiene e saneamento, os quais favorecem a disseminação (Ministério da Saúde, 2011).

### 3.3.2 Coliformes fecais a 45 °C

Os coliformes a 45°C, ou termotolerantes são bactérias da família *Enterobacteriaceae*, Gram negativos, em forma de bastonetes, oxidase negativos, não formadores de esporos, pertencentes ao grupo dos coliformes totais e caracterizados pela presença da enzima  $\beta$ -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas à temperatura de 45°C em meios contendo sais biliares ou outros agentes tensoativos com propriedades inibidoras semelhantes.

Guerra (2015) descreve os coliformes como um grupo de microrganismos, o qual sua presença nos alimentos fornece evidência indireta sobre a qualidade da matéria prima, condições de processamento, condições do armazenamento e transporte ao qual este alimento foi submetido, além de indicarem evidências indiretas sobre higiene, também evidenciam a possibilidade da veiculação de microrganismos patogênicos pelos alimentos, dentro dele podemos destacar a *Escherichia coli*.

*Escherichia coli* é uma bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a 45 °C em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidrolisa a ureia e apresenta atividade das enzimas  $\beta$  galactosidase e  $\beta$  glucuronidase, sendo considerado o mais específico indicador de contaminação fecal além de indicar a possível presença de organismos patogênicos em água ou alimentos contaminados (FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE, 2013).

Esta bactéria possui forma de bastonetes móveis e compreende as espécies: *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* e a *Escherichia vulneris*, a *Escherichia coli* é a espécie tipo do gênero e podem ser classificadas em grupos, de acordo com as características individuais de patogenicidade: ETEC (enterotoxigênica), EPEC (enteropatogênica), EHEC (enterohemorrágica), STEC (shigatoxigênica), EIEC (enteroinvasiva), EAEC

(enteroagregativa) e DAEC (difusamente aderente) (NATARO; KAPER, 1998; OLIVEIRA, 2017).

Apresenta como reservatório natural o trato intestinal do ser humano e animais de sangue quente desenvolvem-se facilmente em alimentos de origem vegetais frescos, alimentos de origem animais frescos e alimentos processados. Sua ingestão em determinada quantidade pode desencadear uma infecção alimentar, sendo este valor de  $10^7$  a  $10^8$  UFC, os sintomas mais comuns são infecções do trato urinário, bacteremia, meningite e doenças diarreicas (BOOP et al., 1999; OLIVEIRA, 2017).

### 3.3.3 Bolores e Leveduras

Os fungos ou bolores são organismos multinucleados que aparecem como filamento (Figura 3). O corpo ou talo de um fungo filamentoso consiste em um micélio e nos esporos. Cada micélio é uma massa de filamentos chamada hifa. Cada hifa é formada pela reunião de muitas células. As paredes rígidas das hifas são formadas de quitina, celulose e glicose (TANIWAK; SILVA, 2001).

Os bolores e leveduras constituem um grande grupo de microrganismos, que em sua maioria, podem ser encontrados no solo e no ar, estes microrganismos são frequentemente encontrados como contaminantes em alimentos e equipamentos de processo sanitizados de maneira inadequada, assim como em alimentos in natura e subprocessados. Possuem a característica de iniciar seu crescimento em pHs ácidos, crescendo numa faixa de 2 a 11, e em uma ampla faixa de temperatura, variando de 5°C a 35°C e com espécies podendo crescer abaixo e acima destes valores (EIROA, 1985; TOURNAS, 1994; MISLIVEC; BECHAUT; COUSIN, 2001).

Estes podem estar relacionados com o processo deteriorante na recontaminação pós-processo ou em casos de processos térmicos deficientes, em diferentes alimentos. Os principais produtos da fermentação, causada pelas leveduras, são o CO<sub>2</sub> e o etanol e podem estar relacionados com o estufamento de embalagens (PORRETA, 1992).

As leveduras e os fungos podem causar diferentes níveis de decomposição que variam conforme o grau de invasão. Sendo o seu crescimento se manifestar por pontos de podridão, formação de crostas, secreção limosa, micélio branco ou de cores variadas, bem como, presença de esporos, em diversos alimentos, sua

presença pode-se torna um perigo para a saúde pública, pois os mesmos são capazes de produzir micotoxinas (MISLIVEC et al., 2001; OLIVEIRA, 2017).



**Figura 3**– Bolores e leveduras observados no microscópio, após a coloração.  
Fonte: Autor, 2019.

Segundo, Valmorbida (2016), as micotoxinas, são metabólitos secundários de fungos, os quais estão presentes no solo, na água, ou na forma de esporos, estes por sua vez, quando encontram as condições (tempo, temperatura e substrato) adequadas para sua multiplicação, desenvolvem-se exponencialmente e podem gerar as micotoxinas, diversas pesquisas revelam os efeitos neurotóxicos, hepatotóxicos e/ou carcinogênicos das micotoxinas em humanos e animais, pela ingestão de alimentos contaminados.

### **3.4 Análises Microscópicas**

#### **3.4.1 Matérias estranhas e Sujidades**

De acordo com a RDC N° 14, de 28 de Março de 2014, a qual dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, e seus limites de tolerância:

“Matéria estranha pode ser qualquer” material não constituinte do produto associado a condições ou práticas inadequadas na produção, manipulação, armazenamento ou distribuição e podem ser divididas

em relação ao seu tamanho e em relação à fabricação dos alimentos.

[Quanto à] Classificação em relação ao tamanho: 3.4.1.1 Matérias estranhas macroscópicas: são aquelas detectadas por observação direta (olho nu), podendo ser confirmada com auxílio de instrumentos ópticos; 3.4.1.2 Matérias estranhas microscópicas: são aquelas detectadas com auxílio de instrumentos ópticos, com aumento mínimo de 30 vezes. [Quanto à] Classificação em relação à fabricação do produto: 3.4.1.3 Matérias estranhas inevitáveis: são aquelas que ocorrem no alimento mesmo com a aplicação das Boas Práticas; 3.4.1.4 Matérias estranhas indicativas de falhas das Boas Práticas: são aquelas detectadas macroscopicamente e/ou microscopicamente, as quais abrangem: a) Partes indesejáveis da matéria-prima; b) Pelos humanos e de outros animais; c) Areia, terra e outras partículas macroscópicas; d) Artrópodes considerados próprios da cultura e do armazenamento, em qualquer fase de desenvolvimento, vivos ou mortos, inteiros ou em partes; e) Fungos filamentosos e leveduriformes que não sejam característicos dos produtos; e contaminações incidentais: animais vertebrados ou invertebrados. 3.4.1.5 Matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana: são aquelas detectadas macroscopicamente e/ou microscopicamente, capazes de veicular agentes patogênicos para os alimentos e/ou de causar danos ao consumidor, as quais abrangem: a) Insetos: baratas, formigas, moscas que se reproduzem ou que tem por hábito manter contato com fezes, cadáveres e lixo, bem como barbeiros, em qualquer fase de desenvolvimento, vivos ou mortos, inteiros ou em partes; b) Roedores: rato, ratazana e camundongo, inteiros ou em partes; c) Outros animais: morcego e pombo, inteiros ou em partes; d) Excrementos de animais, exceto os de artrópodes considerados próprios da cultura e do armazenamento; e) Parasitos: helmintos e protozoários, em qualquer fase de desenvolvimento, associados a agravos a saúde humana; f) Objetos rígidos, pontiagudos e ou cortantes, que podem causar lesões ao consumidor, tais como: fragmentos de osso e metal; lasca de madeira; e plástico rígido; g) Objetos rígidos, com diâmetros, que podem causar lesões ao consumidor, como: pedra, metal, dentes, caroço inteiro ou fragmentado; h) Fragmentos de vidro de qualquer tamanho ou formato; i) Filmes plásticos que possam causar danos à saúde do consumidor. Ainda de acordo com a legislação, o termo sujidades pode ser definido como: partes de vegetais ou de animais que interferem na qualidade do produto, como cascas, pedúnculos,

pecíolos, cartilagens, aponevroses, ossos, penas e pelos animais e partículas carbonizadas do alimento advindas do processamento ou não removidas pelo mesmo". (RDC N° 14, 2014).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Foram avaliadas 30 amostras de caldo de cana *in natura*, sem gelo, adquiridas de vendedores ambulantes e supermercados, destas 28 foram provenientes de vendedores ambulantes e 2 de supermercados, as quais não passaram pelo processo de UHT, distribuídos em diferentes pontos de comercialização no município de Belém-PA, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019.

As amostras foram coletadas em sacos estéreis de 500 mililitros da marca Twirl'em, sendo transportados em um isopor pequeno com gelo e gelox, no período após a sua aquisição e mantidos sob refrigeração até o início das análises, por semana foram levadas de três a quatro amostras, as análises foram realizadas nos Setores de Microbiologia e Microscopia de Alimentos do LACEN-PA – Laboratório Central do Estado do Pará.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Análises Microbiológicas

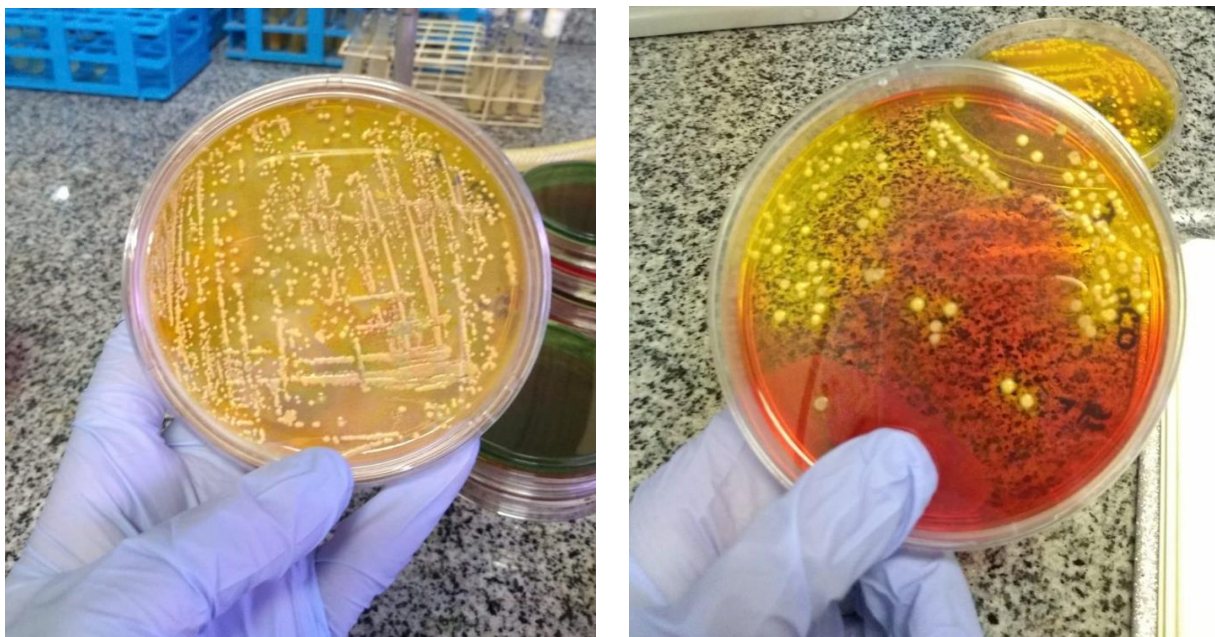
##### 4.2.1.1 *Salmonella spp*

As análises microbiológicas de *Salmonella spp.* foram determinadas de acordo com o método descrito por Silva e Silveira (2017), modificado pelo Laboratório Central do Estado do Pará, que consiste na fase de pré-enriquecimento de 25 g da amostra, adicionando-a em 225 ml de água peptonada a 1,0% tamponada, e um meio seletivo rico em nutrientes para o crescimento e proliferação destas bactérias, posteriormente, a amostra foi incubada a 35 °C por 24 horas.

Em seguida, foi realizada a etapa do enriquecimento seletivo, que possui a função de enriquecimento seletivo determinar o aumento contínuo de *Salmonella*, restringindo a proliferação da microbiota acompanhante, em que se transferirá 0,1ml desta diluição para um tubo de ensaio contendo 10 ml de caldo tetratoato, sua seletividade depende de sua capacidade de restringir a multiplicação de coliformes e

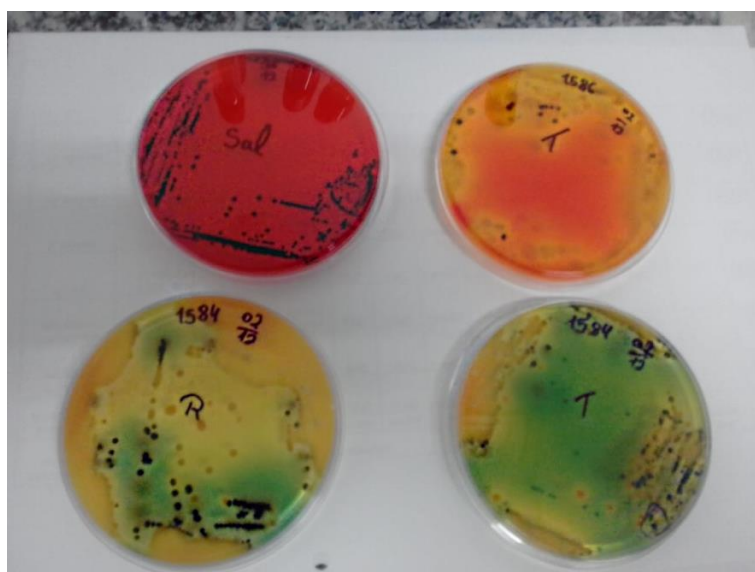
determinados sorovares de *Salmonella* (exceto *S. choleraesuis*, *S. typhisuis*, *S. gallinarum* e *S. pullorum*) possuem a enzima tetrionato-redutase e, conseqüentemente, são capazes de multiplicar-se no meio, incubado a 37 °C por 24 horas, e sendo 1 ml transferirá para um tubo contendo caldo rapapport, ou Caldo Cloreto De Magnésio Verde Malaquita, o mesmo vem demonstrando eficácia na detecção de *Salmonella spp.* A associação do cloreto de magnésio com um corante bacteriostático (verde malaquita) constituiu-se no meio de enriquecimento para a maioria dos sorovares de *Salmonella*, incubado a 42 °C por 24 horas.

A partir dos tubos dos caldos anteriores, retirou-se uma alçada de cada um dos tubos do enriquecimento seletivo e foi realizada a inoculação em placas de Petri, contendo os meios Ágar Salmonella-Shigella (XLD) e Ágar Entérico de Hecktoen (He) (Figuras 4 e 5), os quais são meio seletivo-indicadores, com a função de isolar e diferenciar a *Salmonella spp.* de outras bactérias, em função de suas propriedades inibitórias, as quais foram incubadas a 35 °C por 24 horas.



**Figura 4** – Placas de XLD e HE, apresentando o crescimento de bactérias atípicas a *Salmonella*.

Fonte: Autor, 2019.



**Figura 5** – Placas de HE e XLD apresentando crescimento de colônias típicas e atípicas a *Salmonella spp.*

Legenda: Placa de HE com colônias típicas de Salmonela, placa de HE com colônias típicas e atípicas de Salmonela, placa de XLD com colônias típicas e atípicas de Salmonela, placa de XLD com colônias típicas e atípicas de Salmonela, de cima para baixo e esquerda para direita respectivamente.

Fonte: Autor, 2019.

Uma vez selecionadas colônias sugestivas nos meios indicadores seletivos, estas foram transferidas para meios de triagem, tais como Ágar ferro triplo açúcar – Ágar TSI e Ágar Lisina Ferro – LIA lactose (Figura 6), entre outros, e foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Utiliza-se o Ágar TSI devido, este ser utilizado para diferenciação de bastonetes Gram negativos com base na fermentação e produção de gás dos carboidratos: glicose, lactose e sacarose e produção de sulfeto de hidrogênio, permite verificar a fermentação da glicose por meio do aparecimento de coloração amarela na base e a produção de gás, indicada pela formação de bolhas ou rachaduras no meio.

Quando a lactose e/ou sacarose não são fermentados, o ápice permanece com a cor original (âmbar). A produção de H<sub>2</sub>S é indicada pela cor negra na base da porção central do tubo. Microrganismos como *Proteus mirabilis*, *Edwardsiella tarda*, *Citrobacter freundii* e *Salmonella spp.* podem apresentar perfil de comportamento semelhante.

O Ágar LIA é usualmente empregado em associação com outro meio de triagem para identificação presuntiva de enterobactérias, visando ofertar maior número de informações para a identificação presuntiva. A descarboxilação da lisina é evidenciada pela coloração púrpura (alcalina) da base e, quando esta não ocorre,

a cor amarela aponta somente a fermentação da glicose. A desaminação da lisina é visualizada no ápice (vermelho-cobreado) e a produção de H<sub>2</sub>S (negro), usualmente, da base até a porção central do tubo.



**Figura 6** – Meios de triagem para a determinação de *Salmonella spp.*

Legenda: Meio TSI positivo (alcalino, ácido com H<sub>2</sub>S) e LIA negativo, da esquerda para a direita respectivamente.

Fonte: Autor, 2019.

Posteriormente deve ser realizado um teste bioquímico complementar, para descartar a possibilidade de serem outras bactérias, no LACEN-PA, realizam-se os testes da ureia e da fenilalanina.

- a) Hidrólise da Ureia- A urease é uma enzima presente em muitas espécies de microrganismos que podem hidrolisar a ureia. A ureia é uma diamina do ácido carbônico; todas as aminas são facilmente hidrolisadas com liberação de amônia e de dióxido de carbono. A amônia reage em solução para formar carbonato de amônio, resultando na alcalinização e aumento do pH do meio.
- b) Fenilalanina desaminase- A fenilalanina é um aminoácido que, por desaminação, forma um cetoácido, o ácido fenilpirúvico. O teste da fenilalanina é baseado na detecção de ácido fenilpirúvico, o qual é liberado no meio, após o crescimento do organismo teste. Sua presença é visualizada pela adição de uma solução de cloreto férrico a 10%, quando aparece uma cor verde.

De acordo com os resultados negativos, as amostras foram transferidas para o Ágar nutriente e encubados a 35 °C por 24 horas e posteriormente foi realizada a sorologia, com soros específicos, os quais são o antissoro com o antígeno “O” ou somática e o antissoro com o antígeno “H” ou flagelar, a qual será o teste confirmatório.

No procedimento laboratorial para a confirmação antigênica, a aglutinação das células bacterianas (somática ou antígeno “O”) pelo antissoro específico apresenta como característica a formação de grânulos finos não dissociáveis pela agitação, e o antígeno flagelar ou antígeno “H” (Hauch) apresenta a aglutinação flagelar como característica a formação de grumos espessos que se dissociam rapidamente por meio de agitação.

#### 4.2.1.2 Coliformes fecais a 45 °C

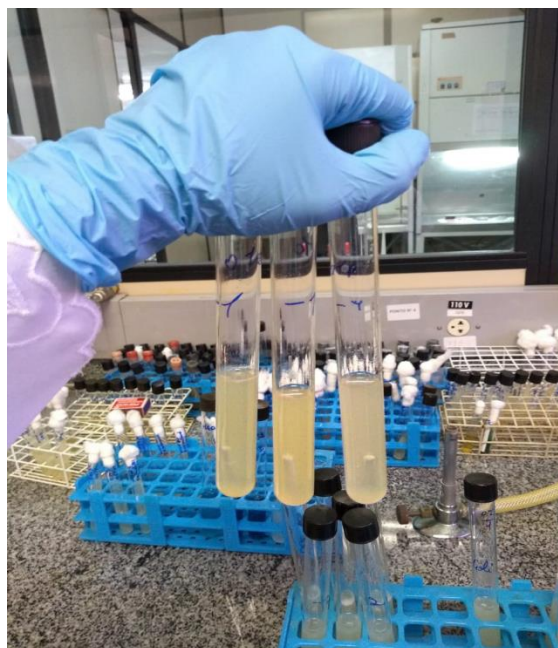
Para contagem de coliformes a 45 °C foi utilizado o Método técnica do Número Mais Provável (NMP), conforme descrito por Silva e Silveira (2017) e modificado pelo Laboratório Central do Estado do Pará, no qual foi realizado empregando-se três séries de três tubos a qual é realizada em duas etapas: fase presuntiva e fase confirmativa.

A fase presuntiva deve ser realizada tanto para os coliformes a 35°C e 45°C, para realizá-la deve-se pesar 25 g ou pipetar 25 mL (alimentos líquidos) e adicionar 225 mL de diluente água peptonada a 0,1% ou diluente apropriado. Homogeneizar e preparar pelo menos mais duas diluições decimais transferindo 1 mL de cada diluição para tubos contendo 9 mL do mesmo diluente.

De cada diluição, inocular alíquotas de 1 mL em série de três tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio e tubo de Duhran para evidenciar a produção de gás. Incubar os tubos em estufa a 36°C por 48 horas. Os tubos positivos são evidenciados pela presença de gás no interior do tubo de Duhran, devido fermentação da lactose com produção de ácido e gás (Figura 7). Posteriormente deve-se realizar o teste confirmatório para coliformes a 35°C ou 45°C.

Torna-se importante destacar a função do caldo LST ou lauril sulfato triptose contém uma mistura de fosfatos que lhe confere um poder tamponante, impedindo a acidificação. A seletividade do meio é devido à presença do lauril sulfato de triptose,

um agente surfactante aniônico que atua na membrana citoplasmática de microrganismos Gram positivos, inibindo o seu crescimento. O resultado deve ser expresso com auxílio de uma Tabela de Número Mais Provável, a qual se encontra no anexo A, pois a análise trata-se de um número estatístico.

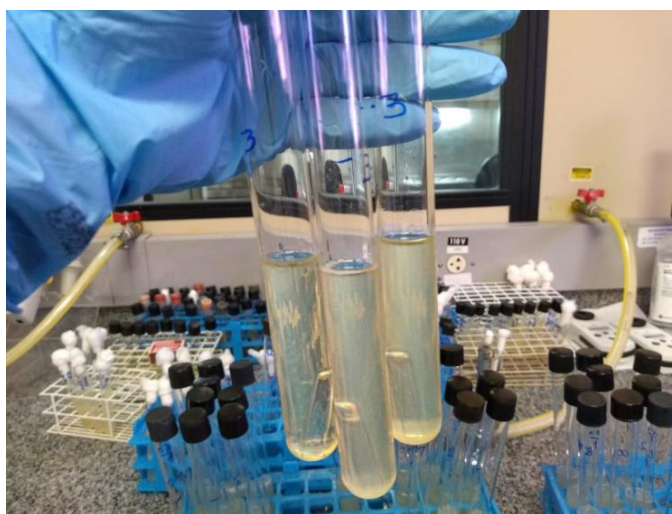


**Figura 7** –Formação de gás nos tubos contendo LST.

Fonte: Autor, 2019

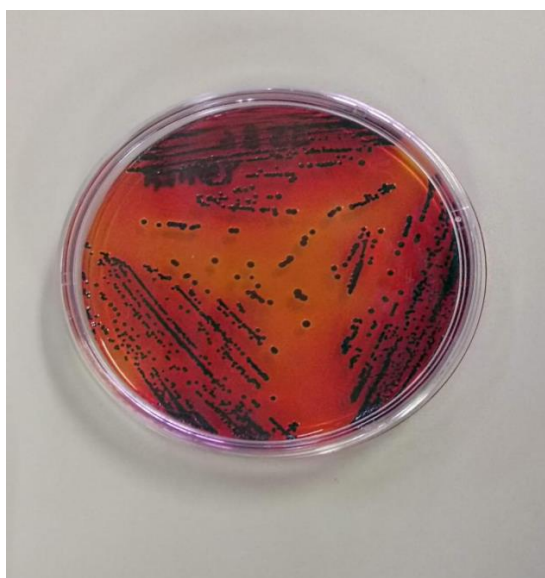
A fase confirmativa de coliformes a 45 °C dá-se a partir dos tubos positivos da fase presuntiva, na qual se deve transferir uma alçada de cada tubo para outro contendo caldo EC ou *Escherichia coli*. Incubar os tubos em banho-maria a  $45 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Os tubos positivos são evidenciados pela presença de gás no interior do tubo de Duhran devido fermentação da lactose com produção de ácido e gás (Figura 8).

A seletividade do meio, caldo *Escherichia coli* se deve à presença de sais biliares, responsável pela inibição dos microrganismos Gram positivos e pela temperatura de incubação, ou seja, somente bactérias Gram negativas e que sobrevivam a esta temperatura se desenvolveram no meio seletivo.



**Figura 8** – Ausência de gás nos tubos contendo caldo EC.  
Fonte: Autor, 2019.

Em seguida foi realizado o teste para detectar a presença de *Escherichia coli* na amostra, que consiste no plaqueamento das amostras positivas de EC, para placas de Ágar eosina azul de metileno (EMB) pela técnica de esgotamento – estria, encubadas a 35 °C por 24 horas (Figura 9).



**Figura 9** –Placa de EMB apresentando colônias típicas de *E. coli*.  
Fonte: Autor, 2019.

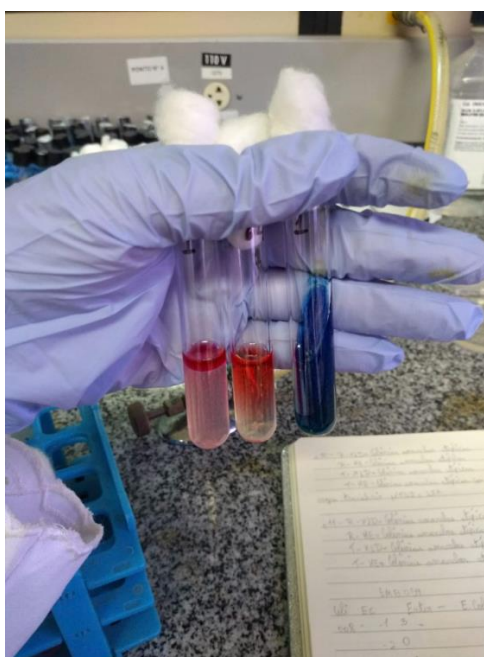
Caso surjam colônias típicas, as colônias serão transferidas para o Ágar nutriente e encubadas a 35 °C por 24 horas e posteriormente foram realizados os testes bioquímicos confirmatórios, chamado de INVIC (INDOL, VMVP e CITRATO) (Quadro 1).

**Quadro 1** – Resultado das provas bioquímicas para *E. coli*.

Indol	VM	VP	Citrato	Tipo
+	+	-	-	<i>E. coli</i> típica
+	+	-	+	<i>E. coli</i> atípica

Legenda: VM – Vermelho de Metila; VP – Voges-Proskauer.

Fonte: Marques, 2017.



**Figura 10** – Teste bioquímico INVIC negativo.

Legenda: Indol positivo, VM positivo, VP negativo e Citrato positivo, da esquerda para a direita respectivamente.

Fonte: Autor, 2019.

Os testes bioquímicos (Figura 10) são realizados da seguinte forma:

- Teste de produção de Indol – transferir uma alçada para um tubo com água peptonada triptofano. Incubar em estufa a 36°C por 24 h, após adicionar algumas gotas de reativo de kovac's. *Escherichia coli* típica produz indol a partir do triptofano fazendo que a cor do tubo mude para vermelho ao adicionar reativo de kovac's.
- Teste do vermelho de metila – transferir uma alçada para um tubo com caldo MR-VP. Incubar em estufa a 36 °C por 24 h, após adicionar algumas gotas de vermelho de metila. *Escherichia coli* típica produz ácido e conseqüentemente mudança de cor para vermelho quando adicionado indicador vermelho de metila, caso a coloração não mudasse, o teste do VM será negativo, indicando que o teste VP (Voges-Proskauer) será positivo.

- c) Teste do uso de citrato – inocular uma alçada sobre a superfície inclinada do tubo contendo ágar citrato de Simmon's. Incubar a 36 °C por 24 horas. *Escherichia coli* típica não utiliza o citrato, ou seja, a coloração não mudara.

#### 4.2.1.3 Bolores e Leveduras

As análises realizadas para contagem de bolores e leveduras foram realizadas segundo a metodologia descrita no *American Public Health Association* (APHA, 2001), no qual também é utilizada no Laboratório Central do Pará.

Com os tubos da realização do teste presuntivo para coliformes, retirou-se 0,1 mL de cada diluição para realizar o plaqueamento em placas contendo Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) previamente preparadas, espalhando o inóculo com auxílio da alça de Drigalski e incubando a 22-25 °C/7 dias, a contagem da população de bolores e leveduras nas placas foi realizada entre o terceiro e quarto dia de inoculação.

#### 4.2.2 Análises Microscópicas

##### 4.2.2.1 Pesquisa de sujidades e matérias estranhas

A determinação de sujidades e matérias estranhas foi determinada através do método descrito pela *Association of Official Analytical Chemists* (A.O.A.C), modificado pelo LACEN-PA, a mesma metodologia utilizada para o açaí.

A qual consiste na retirada de uma alíquota de 50 mL da amostra em um béquer de 100 mL, transferirmos essa alíquota com 100 mL de água destilada quente (70°C a 90°C) para o frasco armadilha de Wildman. Após foi adicionado 2,5 mL de ácido clorídrico PA, e o frasco foi aquecido sob agitação magnética por cinco minutos. Posteriormente o frasco foi resfriado sob temperatura ambiente e adicionou-se água filtrada até o ponto indicando 800 mL do frasco, juntamente de 25 mL de heptano, em seguida adicionou-se água filtrada até a altura do gargalo do

frasco, após realizou-se três mexeduras as duas primeiras com repouso de cinco minutos e a última com repouso de dez minutos.

Posteriormente ocorreu a transferência da solução de heptano contendo as sujidades e matérias estranhas para um béquer de 100 mL, com o auxílio de água destilada quente (70°C a 90°C), em seguida a solução foi filtrada a vácuo em um papel de filtro e transferido para uma placa de Petri, para ser examinado no microscópio Scope com aumento de 4 a 100 vezes e estereoscópico Motic com aumento até 40 vezes, as sujidades e matérias estranhas foram transferidas para lâminas para serem observadas com cautela.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados analíticos obtidos em relação às análises microbiológicas estão expressos na tabela 3.

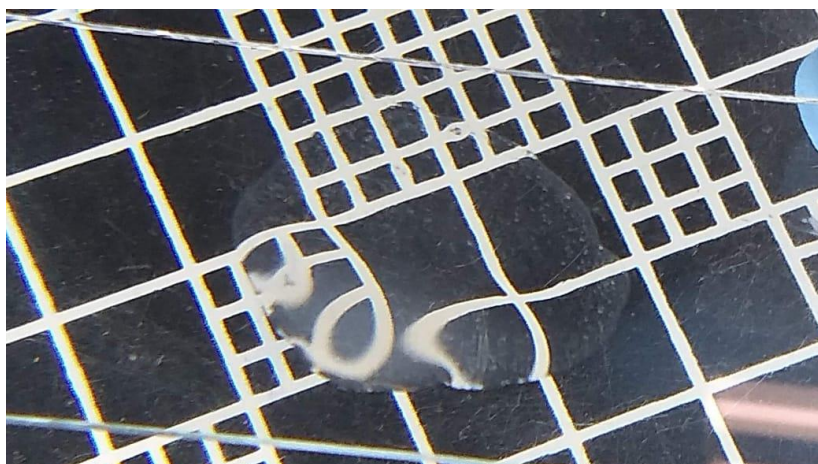
**Tabela 3**– Avaliação microbiológica dos caldos de cana comercializados por supermercados e ambulantes na cidade de Belém/PA.

Amostra	Coli a 45°C (NPM/mL)	Pesquisa de <i>E.coli</i>	Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	Bolores e leveduras (UFC/mL)
1	< 3	Ausência	Ausência	2,0 X 10 <sup>5</sup>
2	< 3	Ausência	Ausência	4,6 X 10 <sup>4</sup>
3	> 1100	Ausência	<b>Presença</b>	1,9 X 10 <sup>4</sup>
4	> 1100	Ausência	Ausência	4,2 X 10 <sup>2</sup>
5	> 1100	Ausência	Ausência	3,0 X 10 <sup>4</sup>
6	> 1100	<b>Presença</b>	Ausência	1,8 X 10 <sup>5</sup>
7	93	Ausência	Ausência	1,6 X 10 <sup>5</sup>
8	> 1100	Ausência	Ausência	3,6 X 10 <sup>4</sup>
9	4	Ausência	Ausência	6,4 X 10 <sup>4</sup>
10	23	Ausência	Ausência	7,8 X 10 <sup>4</sup>
11	43	<b>Presença</b>	Ausência	4,5 X 10 <sup>4</sup>
12	1100	Ausência	Ausência	1,2 X 10 <sup>4</sup>
13	> 1100	Ausência	Ausência	4,5 X 10
14	240	<b>Presença</b>	Ausência	9,2 X 10 <sup>4</sup>
15	< 3	Ausência	Ausência	2,7 X 10 <sup>3</sup>
16	460	Ausência	Ausência	5,2 X 10
17	460	<b>Presença</b>	Ausência	5,4 X 10 <sup>4</sup>
18	93	<b>Presença</b>	Ausência	5,6 X 10 <sup>4</sup>
19	150	Ausência	Ausência	6,3 X 10 <sup>4</sup>
20	< 3	Ausência	Ausência	> 10 <sup>4</sup>
21	1100	Ausência	Ausência	1,2 X 10 <sup>4</sup>
22	> 1100	Ausência	Ausência	2,2 X 10 <sup>4</sup>
23	23	Ausência	Ausência	2,2 X 10 <sup>4</sup>
24	23	Ausência	Ausência	> 10 <sup>3</sup>
25	460	Ausência	Ausência	7,0 X 10 <sup>4</sup>
26	> 1100	Ausência	Ausência	5,5 X 10 <sup>4</sup>
27	460	<b>Presença</b>	Ausência	6,4 X 10 <sup>4</sup>
28	1100	<b>Presença</b>	Ausência	6,9 X 10 <sup>4</sup>
29	43	<b>Presença</b>	Ausência	2,2 X 10 <sup>4</sup>
30	43	<b>Presença</b>	Ausência	1,3 X 10 <sup>4</sup>

Fonte: Autor, 2019.

Das amostras analisadas, foi detectada a presença de *Salmonella spp.* em apenas uma amostra, correspondendo a 3,33% do total, a confirmação de *Salmonella* pode ser observada com a aglutinação das células bacterianas (somática

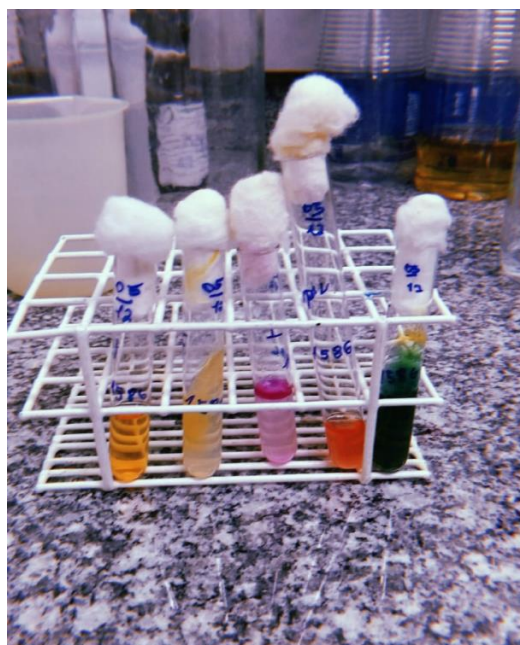
ou antígeno “O”) pelo antissoro específico, formando grânulos finos não dissociáveis pela agitação (Figura 11).



**Figura 11** – Aglutinação das células somáticas pelo antissoro O.

Fonte: Autor, 2019.

Dentre as 30 amostras verificadas, 14 apresentaram valores maior ou igual a 1100 NMP/mL, de acordo com a tabela de NPM, valor este muito superior ao estabelecido como limite de 10 NMP/mL, na RDC 12/2001, correspondendo a 46,66% do total. Vale-se ressaltar que dentre este valor, 10 amostras apresentaram a bactéria *E. coli*, valor este de 33,33% do total.



**Figura 12** – Testes bioquímicos para *Salmonella spp* e *E. coli*

Legenda: Ureia negativa, Fenilalanina negativa, Indol positivo, VM positivo, VP negativo e Citrato negativo, da esquerda para a direita respectivamente.

Fonte: Autor, 2019.

A figura 12, representa o teste bioquímico complementar para *Salmonella spp.*, o qual apresentou ureia negativa e fenilalanina negativa, representando a ausência de *Salmonella spp.*, e o teste bioquímico INVIC para *E. coli*, o qual apresentou Indol positivo, VM positivo, VP negativo e Citrato negativo, representando a presença de *E. coli* na amostra, da direita para a esquerda respectivamente.

As análises microbiológicas referente às amostras de caldo de cana adquiridas de supermercado apresentaram ausência da bactéria *Salmonella spp.*, não apresentaram crescimento para coliformes a 45 °C, a avaliação para a presença ou ausência de *Escherichia coli* apresentou resultados negativos, contudo os valores obtidos para a contaminação por bolores e leveduras foi maior ou igual as amostras adquiridas por vendedores ambulantes.

Contudo é escasso na literatura brasileira, pesquisas que avaliam o comércio de caldo de cana, dentre as mesmas destacam-se autores como: Soccol; Schwab; Katsoka (1990) analisaram 100 amostras de caldo de cana, adquiridos de 50 pontos de venda na cidade de Curitiba-PR, os autores observaram que 39 dos estabelecimentos (78%) mostraram-se em desacordo com as especificações legais vigentes na época. As amostras apresentaram contagem de coliformes fecais ou a 45°C, acima de 10/mL, limite máximo permitido pela Portaria nº 01, de 28 de janeiro de 1987.

Kitoko et al. (2004) avaliaram amostras de caldo de cana, comercializadas em 50 estabelecimentos de Vitória-ES e constataram que 96% deles apresentaram-se em desacordo com os padrões legais vigentes estabelecidos pela RDC 12/2001, o Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais variou entre  $4,3 \times 10^1$ /mL e  $2,4 \times 10^4$ /mL.

Oliveira et al. (2006) avaliaram 24 pontos de venda ambulante de caldo de cana em São Carlos-SP e observaram que 25% das amostras analisadas revelaram-se em condições sanitárias insatisfatórias para consumo humano por apresentarem níveis de coliformes a 45 °C acima do limite máximo permitido pela Resolução RDC 12/2001. Entre as amostras, analisadas não foi detectada a presença de *Salmonella sp* e nem de parasitos.

No ano de 2007 dois artigos avaliaram as condições microbiológicas do caldo de cana, o primeiro realizado por Carvalho e Magalhães, no qual avaliaram 20 amostras de caldo de cana, comercializados por ambulantes, em Itabuna-BA, e

constataram que 90% das amostras apresentaram coliformes a 35°C acima do estabelecido na legislação e 75% coliformes a 45°C; desses, 65% com presença de *E. coli*. Os autores observaram práticas de higiene inadequadas nos locais de preparo e comercialização das amostras.

O outro realizado por Gandra et al. (2007), em Umuarama-PR, o qual realizaram a contagem de bactérias mesófilas aeróbias, coliformes a 35 e 45 °C, bolores e leveduras além de estafilococos coagulase positiva, em 24 amostras de caldos de cana provenientes de estabelecimentos comercializadores desses produtos, além de coliforme a 45 °C em valores acima do permitido pela legislação brasileira, em 58,3% das amostras, o que indicou condições higiênico-sanitárias inadequadas das amostras analisadas, não sendo essas aptas para comercialização.

Em Salvador-BA, Silva et al. (2010) investigaram a contaminação microbiológica do caldo de cana, comercializado na orla marítima, foram analisadas 07 amostras quanto à determinação de coliformes totais, termotolerantes, e teste confirmativo de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* Os resultados demonstraram que 100% das amostras apresentaram coliformes a 45°C acima do permitido na legislação.

Prado et al. (2010), na cidade Ribeirão Preto-SP avaliaram 90 amostras de caldo de cana *in natura* quanto à presença de *Salmonella spp.*, contagem de coliformes a 35 °C e a 45 °C, detecção de bolores e leveduras e pesquisa de matérias estranhas. Do total de amostras avaliadas, 31,0% apresentaram coliformes a 45 °C acima de 2 (NMP/mL), porém *Salmonella spp.* não foi isolada em nenhuma das amostras.

Felipe e Miguel (2011) avaliaram as condições microbiológicas de 15 amostras de caldo de cana, em Itumbiara-GO, foi constatado que 100% delas apresentaram coliformes a 35 °C; 20% coliformes a 45°C e todas apresentaram *E. coli*.

Em 2016, Brezovsky et al., avaliaram o caldo de cana comercializado em Ji-Paraná-RO, com o objetivo de se verificar a presença de *Salmonella spp.* e *Shigella spp.*, quantificação de coliformes a 35 °C e pesquisa microscópica, 15 amostras de 5 pontos comerciais diferentes.

Na análise de detecção de *Salmonella spp.* houve presença em três dos cinco pontos analisados (60%), já a presença de *Shigella spp.* foi constatada em quatro

pontos (80%). Neste estudo, 20% das amostras apresentaram contagem de coliformes a 35°C na ordem  $10^5$ , valores superiores ao estabelecido pela legislação.

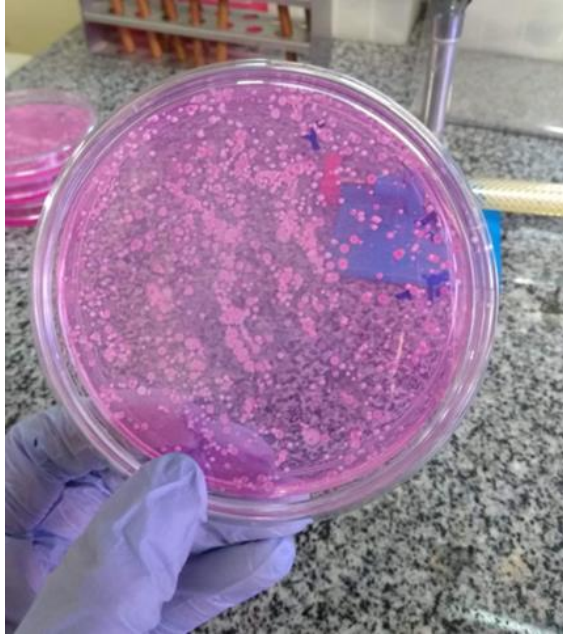
Neste estudo, o caldo de cana *in natura*, apresentou elevados valores na contagem de bolores e leveduras, os quais variam de  $4,2 \times 10^2$  a  $2,0 \times 10^5$  UFC/mL, valores inferiores encontrados por Kitoko et al. (2004) onde a contagem de bolores e leveduras variou de  $1,6 \times 10^5$  a  $7,6 \times 10^6$  UFC/mL, indicando a existência de condições higiênico-sanitárias deficientes no processo de obtenção ou armazenamento do caldo de cana comercializado.

Oliveira et al. (2007) encontrou valores de  $10^6$  UFC/mL, para a contagem de fungos filamentosos, bolores e leveduras em amostras de caldo de cana, valor inferior encontrado por Rezzadori (2010) no qual avaliou amostras de caldo de cana e as mesmas obtiveram para a contagem de mesofilos, bolores e leveduras valores entre  $1,7 \times 10^4$  a  $1,2 \times 10^6$  UFC/mL.

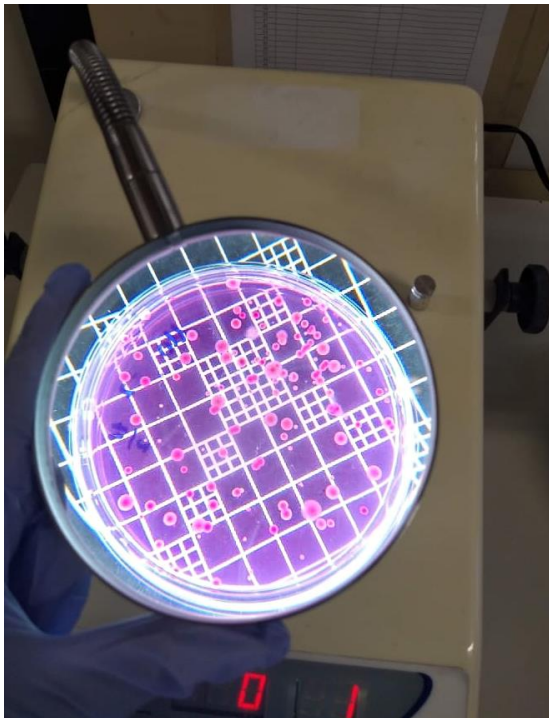
Valor inferior ao encontrado por Marcolino (2003) os quais variaram de  $5,55 \times 10^6$  a  $9,53 \times 10^6$  UFC/mL em sucos de uva, pesquisa também realizada por Malletroit et al. (1991) demonstraram que sucos de uva, possuem contaminação de  $10^3$  a  $10^7$  UFC/mL.

Segundo Leitão (1973) e Uboldi-Eiroa (1989), a ocorrência de fungos filamentosos em sucos termoprocessados deve-se, geralmente, ao subprorcessamento ou à recontaminação, pois as leveduras utilizam ácidos orgânicos para o seu desenvolvimento, resultando em elevação do pH, produção de  $\text{CO}_2$ , etanol, acetaldeído, que contribuem para o odor fermentado.

Cabe ressaltar que a presente pesquisa se propôs a identificar a presença (Figura 13) e a contagem de bolores e leveduras (Figura 14), não cabendo então suas identificações.



**Figura 13** – Placa de DRBC apresentado crescimento de bolores e leveduras na diluição  $10^{-1}$   
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 14** –Contagem de bolores e leveduras.  
Fonte: Autor, 2019.

Os resultados da análise microscópica encontram-se dispostos na tabela 4.

**Tabela 4**–Tipos de matérias estranhas encontradas nas amostras de caldo de canas comercializado por supermercados e ambulantes na cidade de Belém/PA.

<b>Tipo de matéria estranha encontrada</b>	<b>Amostras</b>
Fragmento de artrópode	1
Fragmento de inseto	20
Ovo de inseto	5
Ácaro vivo	20
Ácaro morto	3, 11 e 15
Filamentos de plástico	23

Fonte: Autor, 2019.

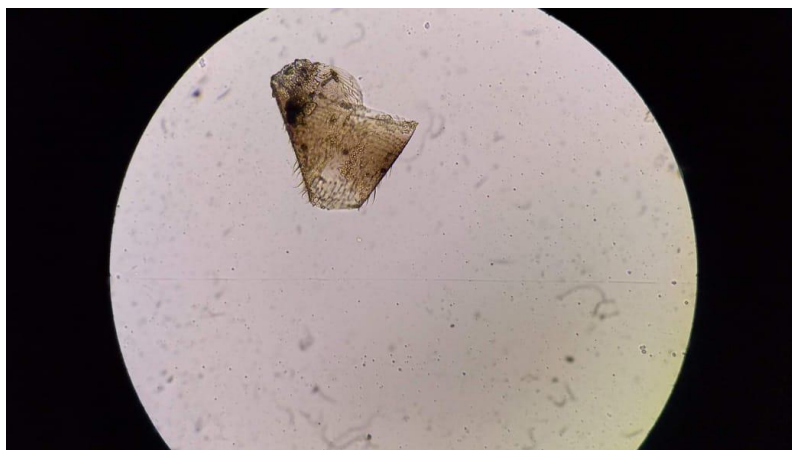
Em relação aos resultados obtidos, das 30 amostras avaliadas, sete apresentam sujidades e matérias estranhas, correspondendo a 23,33% do total, sendo uma das amostras adquirida de supermercado, as sujidades e matérias estranhas foram: fragmento de inseto (Figura 15), fragmento de artrópode (Figura 16), um ovo de inseto (Figura 17), ácaros inteiros mortos (Figuras 18, 19 e 20), um ácaro vivo (Figura 21), e um filamento de plástico (Figura 22). Porém, a RDC N° 14, de 28 de Março de 2014, não estabelece valores de tolerância para fragmentos de insetos em determinados grupos de alimentos, sendo o caldo de cana um desses alimentos. A mesma estabelece limite de tolerância para ácaros mortos em grupos de alimentos, em alimentos em geral o máximo e de 5 na alíquota analisada de acordo com as recomendações das metodologias, como encontra-se disposto no anexo B.

As análises microscópicas referentes às amostras de caldo de cana adquiridas de supermercado apresentaram sujidades e matérias estranhas em uma das duas amostras.

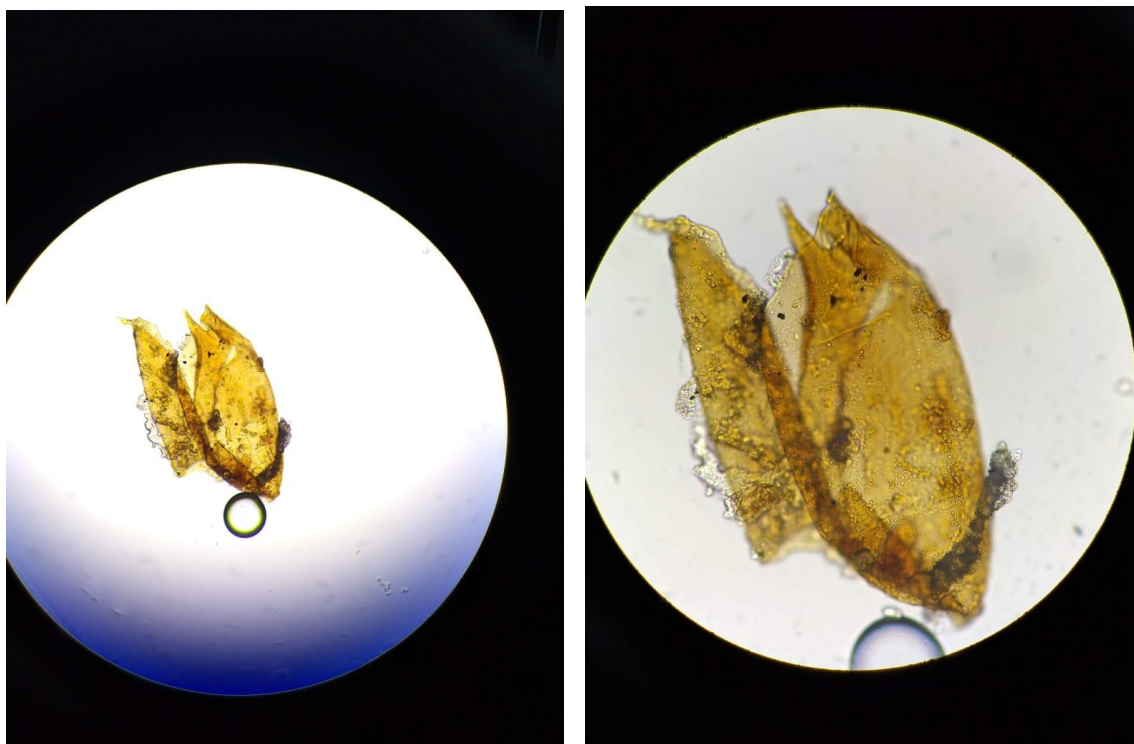
Brezovsky et al. (2016), avaliaram microscopicamente o caldo de cana comercializado em Ji-Paraná-RO e foi possível detectar a presença de matérias estranhas em todas as amostras analisadas, correspondendo a 100%.

Prado et al. (2010) avaliou 90 amostras de caldo de cana, e 29 apresentavam sujidades e matérias estranhas, correspondendo a 32,2% contudo a presença de matérias estranhas não são considerados indicativos de risco, representam indicativos de falhas das boas práticas na fabricação, manipulação e armazenamento dos produtos.

Estes insetos e fragmentos podem ser advindos de locais próximos às moendas de extração, utensílios utilizados e aos resíduos do lixo e dos bagaços de cana, sendo importante ressaltar que estudos como este, que avaliam a contaminação por pragas e vetores contribuem de maneira significativa para a melhoria de alimentos/bebidas à base de vegetais.



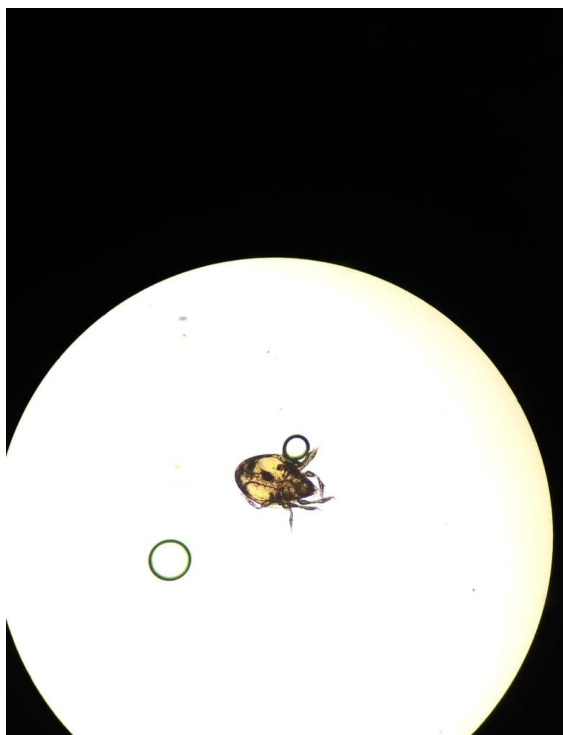
**Figura 15** – Fragmento de inseto encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 16** – Fragmento de artrópode encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



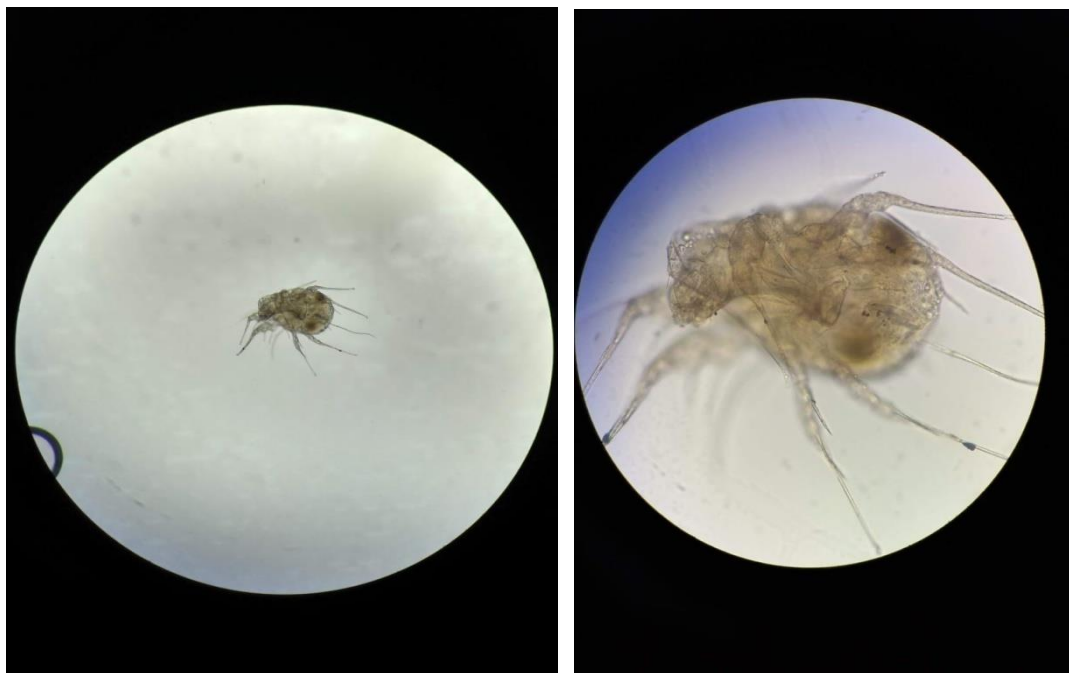
**Figura 17** – Ovo de inseto encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



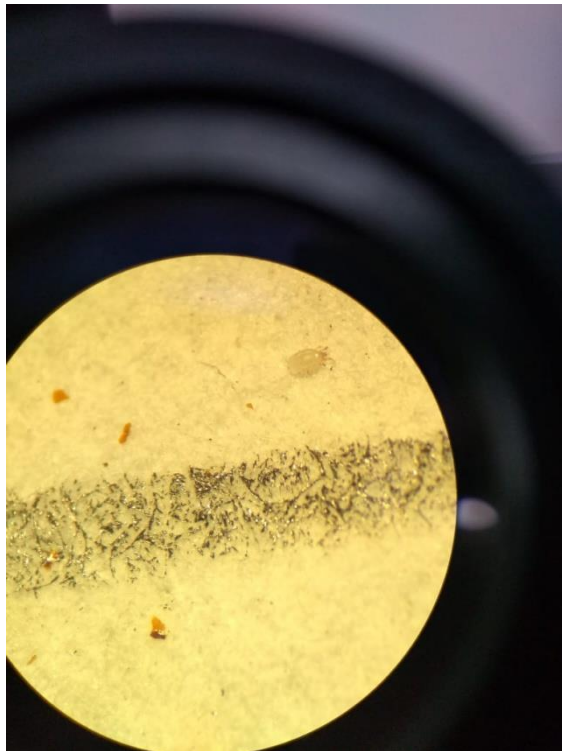
**Figura 18** – Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 19** - Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 20** – Ácaro inteiro morto encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 21** – Ácaro vivo encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.



**Figura 22** – Exemplo de filamento de plástico encontrado nas amostras de caldo de cana.  
Fonte: Autor, 2019.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados observados neste estudo indicaram a ocorrência de déficits higiênicos sanitários no processo de produção do caldo de cana comercializado na cidade de Belém/PA. A constatação de diversas amostras contaminadas colocam em risco a saúde do consumidor, pois o caldo de cana serve como uma fonte de patógenos causadores de DTAs.

As deficiências higiênicas-sanitárias provavelmente estão relacionados ao processo de obtenção, produção do alimento e comercialização do mesmo, expondo o consumidor a elevados riscos de contaminação por DTAs, pois as qualidades microbiológicas e microscópicas do caldo de cana, provenientes de supermercados e de vendedores ambulantes analisados encontram-se em caráter insatisfatório.

Com isso, as amostras adquiridas de supermercados apresentaram respostas positivas em quase todos os pontos da avaliação microbiológica, contudo os altos valores obtidos para a contaminação por bolores e leveduras, as tornam insatisfatórias para o consumo, pois representam riscos à saúde do consumidor. Em relação à avaliação microscópica, as mesmas apresentam resultados insatisfatórios, pois de duas amostras, uma apresentou sujidades e matérias estranhas.

Conclui-se que, as amostras adquiridas de vendedores ambulantes apresentaram respostas negativas em todos os pontos da avaliação microbiológica, representando a contaminação e proliferação de microrganismos patogênicos neste alimento, ocasionando em riscos à saúde do consumidor. Em relação à avaliação microscópica, as mesmas apresentam resultados insatisfatórios, pois apresentaram sujidades e matérias estranhas.

Torna-se importante destacar a importância deste trabalho para a área, pois ainda são escassas na literatura brasileira, pesquisas que avaliam o comércio de caldo de cana.

## REFERÊNCIAS

ADEWOLE, K. A.; ADAMOLEKUN, M. T.; AKINNUSI, R. Development of a sugarcane juice extractor for small scale industries. **Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology**, v. 2, n. 5, p. 1169–1173. 2015.

AGHAJANZADEH, S.; ZIAIIFAR, A. M. A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 1–12. 2018.

AGRICULTURA EM FOCO. **Cana-de-açúcar (Saccharum officinarum) cont.** Disponível em: [http://agriculturainfoco.blogspot.com/2011/12/cana-de-acucar\\_06.html/](http://agriculturainfoco.blogspot.com/2011/12/cana-de-acucar_06.html/). Acesso em: 11. out. 2019.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001, p. 663-667.

AMSON, G. V. **Comércio ambulante de alimentos em Curitiba**: perfil de vendedores e propostas para programa de boas praticas higiênicas na manipulação de alimentos. Paraná: Universidade Federal do Paraná. 2005. (Dissertação Mestrado).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18 ed. Gaithersburg, 2005. cap. 16. método nº 950.89 a.

AZEVEDO, A. M. F.; LIMA, L. S.; MELO, M. V. C. Análise parasitológica do caldo de cana e das condições higiênico-sanitárias do seu comércio no centro da cidade de Fortaleza, Ceará. **Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde - Nutrivisa**, v. 1, n. 2, p. 20–25. 2014.

BARBIERI, M. K. et al. **Microscopia de alimentos**: identificação histológica e material estranho. Campinas: ITAL, 2001, p. 151.

BOOP, C. A. et al. Escherichia, Shigella and Salmonella. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALTER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical Microbiology**. Washington DC: ASM press, 1999, p.459-466.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de setembro de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 de março de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria no 1 de 28 de janeiro de 1987. **Diário Oficial do Brasil**, Brasília, Seção 1, v. 125, p. 2197 – 2200, 12 de fevereiro de 1987.

BREZOVSKY, F. R. et al. Avaliação microbiológica e microscópica do caldo de cana comercializado em Ji-Paraná. **Ensaio Ciênc, Biol Agrar Saúde**, v. 20, n. 2, p. 111-5. 2016.

BRYAN, F. L. et al. Critical control points of street-vended foods in the Dominican Republic. **Journal of Food Protection**, v. 51, n. 5, p. 373-383. 1988.

CABRAL, D. de C. **Na presença da floresta: Mata Atlântica e história colonial**. Rio de Janeiro: Garamond: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - Faperj, 2014, 535 p.

CARVALHO, L. R.; MAGALHÃES, J. T. Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna - BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores. **Rev. Baiana Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 238-45. 2007.

CHAUHAN, O. P.; SINGH, D.; TYAGL, S. M. Studies on preservation of sugarcane juice. **International Journal of Food Properties**, v. 3, n. 1, p. 217–229. 2002.

CHITGAR, M. F.; AALAMI, M.; MAGHSOUDLOU, Y. Comparative Study on the Effect of Heat Treatment and Sonication on the Quality of Barberry (*Berberis Vulgaris*) Juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, 2017.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira de cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2016**. Brasília: Conab, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira de cana-de-açúcar, primeiro levantamento, maio/2019**. Brasília: Conab, 2019.

CRUZ, L. R.; GERASEEV, L. C.; CARMO, T. D. Características agrônomicas e composição bromatológica de variedades de cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1779–1786. 2014.

DEETH, H. C.; DATTA, N. Ultra-high Temperature Treatment (UHT): Heating Systems. **Encyclopedia of dairy sciences**, 2011, p. 2642–2652.

EIROA, M. N. U. Ocorrência de espécies de *Byssochlamys* em hortas, pomares e vinhedos na região de Campinas. **Coletânea ITAL**, Campinas, v. 15, p. 61-70. 1985.

FELIPE, L. M.; MIGUEL, D. P. Análise da qualidade microbiológica do caldo de cana. **FAZU em Rev.**, n. 8, p. 77-82. 2011.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia de alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006, p. 602.

FONTES, E. A. F.; FONTES, P. R. **Microscopia de alimentos: fundamentos teóricos**. Viçosa: Editora UFV, 2005, p. 151. (Caderno Didático, 104).

FRANÇA, A. F. **Avaliação da Qualidade Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado na Área de Abrangência do Distrito Sanitário 5**. Recife: UFRPE, 2005, p. 53.

FRANÇA, A. F. **Consumo de caldo de cana, risco à saúde da população: uma revisão**. Recife: Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 2008. 30 f. (Monografia Graduação).

FREYRE, G. **Nordeste: aspectos da influência da cana sobre a vida e a paisagem do nordeste do Brasil**. 7. ed. rev. São Paulo: Global, 2004, p. 255.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. **Manual Prático de Análise de Água**. 4. ed. Brasília, 2013.

FURTADO, C. **Formação econômica do Brasil**. 11. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1971, p. 248.

GALLO, C. R. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 1989. 388 p. (Tese Doutorado).

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica – Revisão. **STAB. Açúcar, Alcool e Subprodutos**. v. 9, n. 4/5, p. 35-40. 1991.

GANDRA, E. V. et al. Condições microbiológicas de caldos de cana comercializados em Umuarama (PR). **Rev Bras Tecnol Agroindustrial**, v. 1, n. 2, p. 61-9. 2007.

GUERRA, A. F. **NMP/g ou mL de Coliformes a 35 e 45°C**. 1. ed. rev. Valença, 2015, p. 15.

GUERRA, A. F. Tabela NMP. **Bacteriological Analytical Manual Online**, janeiro 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>. Acesso em: 24 ago. 2019.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. p. 789.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **A Geografia da Cana-de-Açúcar**. Rio de Janeiro, 2017.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **Cana-de-açúcar - safra 2013/14 – e Fatores Climáticos**: panorama dos impactos na produtividade nos Escritórios de Desenvolvimento Rural (EDRs) no Estado de São Paulo. 2017. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13614> . Acesso em: 10 maio 2019.

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 711.

KARMAKAR, R.; GHOSH, A. K.; GANGOPADHYAY, H. Effect of Pretreatments on Physico-Chemical Characteristics of Sugarcane Juice. **Sugar Tech**, v. 13, n. 1, p. 47–50. 2011.

KITOKO, P. M. et al. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado em Vitória, Espírito Santo, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 119, p. 73-77. 2004.

KUNITAKE, M. T. **Processamento e estabilidade de caldo de cana acidificado**. [S.l.: s.n.] 2012.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de sucos e produtos ácidos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 33, p. 9-42. 1973.

LIMA, T. M. **Estudo energético do Bagaço de Diferentes variedades de cana-de-açúcar**. [S.l.]: Universidade Estadual Paulista. 2011. (Dissertação Mestrado).

LUCCA, A., TORRES, E. A. F. S. Condições de higiene de “cachorro-quente” comercializado em vias públicas. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, 2002.

MALLETROIT, V. et al. Effects of pasteurization on microbiological and sensory quality of white grape juice and wine. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.15, p.19-29. 1991.

MANIKANTAN, M. R. et al. Storage Stability of Sugarcane Juice in Polypropylene-Based Nanocomposite Packaging Films. **Sugar Tech**, v. 19, n. November 2016, p. 438–445. 2017.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio**: Brasil 2017/18 a 2027/28 – Projeções de Longo Prazo. Brasília: MAPA, 2018.

MARCOLINO, V. A. **Quantificação de leveduras, bolores comuns e termorresistentes em linha de processamento asséptico de bebida de uva**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2003. (Dissertação Mestrado).

MARQUES, L. L. M. **Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes em alimentos**. 2017. 43 slides.

MARTUCCI, E. T. **Tecnologia da cana-de-açúcar**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia, 1983. 163p.

MATTOS, E. C.; MEIRA-STREJEVITCH, C. S.; MARCIANO, M. A. M. Molecular detection of *Trypanosoma cruzi* in acai pulp and sugarcane juice. **Acta Tropica**, v. 176, p. 311–315. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp.** Brasília, 2011.

MISLIVEC, P. B; BECHAUT L. R.; COUSIN, M. A. Detection and enumeration of heat resistant molds. In: VANDERZANT, C.; SPLISTOESSER, D. F. (Ed.) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington: A. P. H. A., 2001, Cap 17, p. 251-253.

MUKHOPADHYAY, S.; GORRIS, L. G. M. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Hurdle Technology. 2th ed. Elsevier, 2014.

MULLER, J. D.; GILBERT, R. A. **Sugarcane botany: a brief view**. Gainesville: University of Florida: IFAS Extension, 2009.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin Microbiol Rev.** Washington, v.11, n.1, p. 142-201. 1998.

NISHAD, J.; SELVAN, C.; MIR, S. A. Effect of spray drying on physical properties of sugarcane juice powder (*Saccharum officinarum* L.). **Journal of Food Science and Technology**, 2017.

OLIVEIRA, K. C. D. **Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em lanchonetes de Belo Horizonte**. [S.l.: s.n.]2009, p. 10.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 5, p. 1111-1114. 2006.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Efeitos do processamento térmico e da radiação gama na conservação do caldo de cana pura e adicionado de suco de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 4, p. 863-873. 2007.

OLIVEIRA, F. et al. **Microscopia de alimentos**: exames microscópicos de alimentos in natura e tecnologicamente processados. Rio de Janeiro: Atheneu, 2015, p. 412.

OLIVEIRA, M. L. **Microrganismos importantes para a microbiologia de alimentos**. 2017. 26 slides.

OLIVEIRA, M. L. **Microrganismos indicadores**. 2017. 19 slides.

OLIVEIRA, T. S. de; RIBEIRO, D. S.; PAULO, E. M. Análise microbiológica do caldo de cana (com gelo e sem gelo), comercializado nas ruas de Feira de Santana, BA. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo: Editora Metha, v. 22, n. 164, p. 56-60. 2008.

PIACENTE, F. J.; SILVA, V. D. C.; BIAGGI, D. E. Inovações tecnológicas nos processos de moagem e difusão na extração de sacarose de cana-de-açúcar: um estudo qualitativo. **CIAIQ2016**, v. 4, p. 77–84. 2016.

PORRETA, S. Il controllo della stabilità microbiologica dei derivati del pomodoro. In: **Il controllo della stabilità microbiologica dei derivati del pomodoro**. Parma: Stazione Sperimentale per l'industria delle conserve alimentari, 1992, p. 204-212.

PRADO JÚNIOR, C. **Contribuição para a geografia urbana da cidade de São Paulo**: evolução política do Brasil e outros estudos. Entrevista Antônio Cândido. Posfácio Paulo Henrique Martinez. São Paulo: Companhia das Letras, 2012, p. 122-153.

PRADO, S. P. T. et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 69, n. 1, p. 55-61. 2010.

REZZADORI, K. **Pasteurização térmica e com membranas de caldo de cana adicionado de suco de maracujá**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2010. (Dissertação Mestrado).

RODRIGUES, R. M. M. S.; ATUI, M. B.; CORREIA, M. (Coord.) **Métodos de Análise Microscópica de Alimentos**: isolamento de elementos histológicos. São Paulo: Letras & Letras, 1999, 167p.

SCHWARTZ, S. B. **Segredos internos**: engenhos e escravos na sociedade colonial, 1550-1835. Tradução Laura Teixeira Motta. São Paulo: Companhia das Letras; Brasília, DF: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, 1988, 474 p.

SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1995, 479 p.

SILVA, J. V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Blücher, 2017, 531p.

SILVA, A. S. et al. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado na orla marítima da cidade de Salvador-Bahia. **Candombá**, v. 6, n. 2, p. 74-85. 2010.

SILVA, J. E. A. R.; ALVES, M. R. P. A.; COSTA, M. A. B. Planejamento de turnos de trabalho: uma abordagem no setor sucroalcooleiro com uso de simulação discreta. **Gestão & Produção**, v. 18, n. 1, p. 73–90. 2011.

SILVA, S. D.; GOMES, C. B.; UENO, B. *et al.* Recomendação de Variedades de Cana-de-açúcar para o Estado do Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 22 p. (Embrapa Clima temperado. Comunicado Técnico, 292).

SILVA, N.; CANHOS, V. P. Caracterização da microbiota bacteriana contaminante do caldo de cana durante a etapa de resfriamento em torre no processo de produção de álcool. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 60-72. 1990.

SOCCOL, C. R.; SCHWAB, A.; KATSOKA, C. E. Avaliação microbiológica do caldo de cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 8, n. 2, p. 116-125. 1990.

SREEDEVI, P.; RAO, P. S.; KAMESWARI, P. L. Effect of high pressure processing on enzyme inactivation and microbial destruction of sugarcane juice. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 9, p. 2000–2006. 2017.

SUCRE. Sugarcane Renewable Electricity. **Contexto da palha de cana no Brasil: atuação do Projeto SUCRE.2016.** Disponível em: <https://pages.cnpem.br/sucre/2016/04/11/contexto-palha-cana-brasil-atuacao-projeto-sucre/>. Acesso em: 13 jun. 2019.

SUGANTHI, A.; BHUVANESWARI, K.; RAMYA, M. Determination of neonicotinoid insecticide residues in sugarcane juice using LCMSMS. **Food Chemistry**, v. 241, p. 275–280. 2018.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em Alimentos – Ocorrência e Detecção.** Campinas, SP: Núcleo de Microbiologia-Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001, 82 p.

TOURNAS, V. Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. **Critical Reviews in Microbiology**, v.20, n.4, p.243-263. 1994.

UBOLDI-EIROA, M. N. Microrganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. ¾, p. 141-160. 1989.

VALMORBIDA, R. **Fungos e micotoxinas em grãos de milho (*Zea mays L.*) e seus derivados produzidos no estado de Rondônia, Região norte do Brasil.** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2016. (Dissertação Pós-graduação).

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos: perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 101/105, p. 114-123. 2003.

## **ANEXOS**

**ANEXO A - Tabela 1- Para 3 tubos, cada um com 0,1, 0,01 e 0,001 g de inóculo, os NMPs por grama e os intervalos de confiança de 95%.**

Pos. Tubos			NPM/g	Conf. lim.		Pos. Tubos			NPM/g	Conf. lim.	
0,10	0,01	0,001		Baixo	Alto	0,10	0,01	0,001		Baixo	Alto
0	0	0	<>	-	9,5	2	2	0	21	4,5	42
0	0	1	3,0	0,15	9,6	2	2	1	28	8,7	94
0	1	0	3,0	0,15	11	2	2	2	35	8,7	94
0	1	1	6,1	1,2	18	2	3	0	29	8,7	94
0	2	0	6,2	1,2	18	2	3	1	36	8,7	94
0	3	0	9,4	3,6	38	3	0	0	23	4,6	94
1	0	0	3,6	0,17	18	3	0	1	38	8,7	110
1	0	1	7,2	1,3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3,6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7,4	1,3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3,6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3,6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4,5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4,5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9,2	1,4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3,6	42	3	2	3	290	90	1.000
2	0	2	20	4,5	42	3	3	0	240	42	1.000
2	1	0	15	3,7	42	3	3	1	460	90	2.000
2	1	1	20	4,5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8,7	94	3	3	3	> 1100	420	-

**Fonte:** Bacteriological Analytical Manual Online, 2001

**OBS:** Para obter o NMP/g ou mL, para séries de 3 tubos com inóculo de 1,0; 0,1 e 0,01 g ou mL, e respectivos intervalos de confiança de 95%, dividir por 10 os valores da Tabela 1 correspondendo ao arranjo de tubos positivos obtidos na análise.

**ANEXO B - Tabela 2 - Limites de tolerância para ácaros mortos por grupos de alimentos**

<b>Grupos de alimentos</b>	<b>Limite de tolerância</b>	<b>Metodologia Analítica AOAC/FDA</b>
Alimentos em geral	Máximo de 5 na alíquota analisada de acordo com as recomendações das metodologias	Ver metodologia descrita no Capítulo 16 (Subcapítulos de 1 a 19) da AOAC, de acordo com o tipo alimento.
Chá de menta	15 em 25 g	975.49 Aa Bb (16.14.05)
Chá de carqueja	10 em 25 g	975.49 Aa Ba (16.14.05)
Derivados de morango (polpas, geleias e outros doces)	15 em 100 g	950.89 (16.10.06) - Geleias
Queijo inteiro ou ralado	25 em 225 g	960.49 (16.3.03) ou 994.05 (16.3.04)
Queijo sólido inteiro	5 em 2,5 cm <sup>2</sup> (camada da superfície de 0,6 cm de profundidade)	Inspeção visual para contaminação superficial
Cogumelos	75 em 100 g do produto drenado ou em 15 g do produto seco	967.24 (16.13.11)

Fonte: RDC nº14, março de 2014.



Universidade do Estado do Pará  
Centro de Ciências Naturais e Tecnologia  
Curso de Tecnologia em Alimentos  
Travessa Enéas Pinheiro, 2626 – Marco  
66095-490. Belém – PA  
[www.uepa.br](http://www.uepa.br)

