

## ANÁLISE DOS PERIGOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE CALDO DE CANA

## ANALYSIS OF MICROBIOLOGICAL HAZARDS IN SAMPLES OF SUGARCANE JUICE

**Janáina Aparecida João Nazário<sup>1</sup>**

Bióloga, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.  
<https://orcid.org/0000-0003-2601-8754>  
nainaaparecida@hotmail.com

**Lizandra Ferreira de Almeida e Borges<sup>2</sup>**

Doutora, Bióloga, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.  
<https://orcid.org/0000-0002-4601-3689>  
lfaborges@yahoo.com.br

<sup>1</sup> Investigação, Metodologia e Escrita

<sup>2</sup> Análise Formal, Conceituação, Curadoria de Dados, Revisão e Edição

Recebido: 22/06/2022. Parecer: 08/09/2022. Corrigido: 12/09/2022. Aprovado: 19/09/2022.  
Publicado: 21/09/2022

### RESUMO

O caldo de cana é uma bebida nutritiva, muito comercializada por vendedores formais e ambulantes que, muitas vezes, não possuem condições adequadas de preparo, armazenamento e manipulação do caldo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores formais e ambulantes na cidade de Uberlândia/MG. Foram analisadas dez amostras do produto para contagem total de bactérias mesófilas, NMP/mL de coliformes totais e termotolerantes, pesquisa de *Escherichia coli* (e outras bactérias entéricas), incluindo *Salmonella* spp. Coliformes totais foram recuperados em todas as amostras e os termotolerantes em 70% delas, apresentando valores acima do padrão estabelecido pela legislação vigente. Não foram encontradas *E. coli* ou *Salmonella* spp., porém outras bactérias entéricas foram recuperadas em todas as amostras, sendo a mais prevalente *Klebsiella*

*pneumoniae*. Os resultados mostram a necessidade de melhorias durante todos os processos realizados para obtenção do caldo de cana, a fim de minimizar a contaminação e presença de bactérias patogênicas.

**Palavras-chave:** Caldo de Cana. Condições Higiênico Sanitárias. Contaminação Microbiológica.

### ABSTRACT

Sugarcane juice is a nourishing drink marketed by formal and street vendors, who often lack adequate brewing preparation, storage, and handling conditions. This work aimed to evaluate the microbiological contamination of cane juice marketed by formal and ambulant vendors in Uberlândia/MG. Ten product samples have been analyzed for a total count of mesophilic bacteria, NMP/mL of total and thermotolerant coliforms, *Escherichia coli* (and other enteric bacteria) and *Salmonella* spp. Total coliforms were recovered in all samples and

thermotolerant in 70% of the total, presenting values above the standard established by the current legislation. Not found *Escherichia coli* or *Salmonella* spp., but other enteric bacteria have been recovered in all samples, the most prevalent being *Klebsiella pneumoniae*. The results show the need for improvements during all processes performed to obtain the sugarcane juice to minimize the contamination and the presence of pathogenic bacteria.

**Keywords:** Sugarcane Juice. Sanitary Conditions. Microbiological Contamination.

## INTRODUÇÃO

É cada vez mais frequente o consumo de comida de rua, porque oferece refeições convenientes, deliciosas e baratas (SEO & LEE, 2021). Mas estes alimentos podem sofrer contaminações de origem biológica, física ou química durante o seu processamento, assim como durante seu transporte, armazenamento, preparação e distribuição, portanto é essencial o controle higiênico sanitário destes locais e o conhecimento das Boas Práticas de Fabricação (BPF) pelo manipulador (RODRIGUES et al., 2003; VALVERDE & BADARÓ, 2009; KOCHANSKI et al., 2009).

O caldo de cana é um dos muitos destes alimentos comercializados por vendedores ambulantes, em locais sem proteção física de paredes. Uma bebida comum nos países dos trópicos, que é obtida por meio da prensagem da cana-de-açúcar, que também é utilizada para a produção de açúcar e álcool. O caldo de

cana é conhecido popularmente como “garapa”, que é um alimento altamente energético, nutritivo, com sabor agradável e barato, sendo, geralmente, utilizadas moendas próprias para extração do produto (CARVALHO & MAGALHÃES, 2007; ATAÍDE et al., 2019).

O valor nutricional da cana está diretamente ligado ao seu alto teor de açúcar (40 a 50% na matéria seca), tendo como principal componente a sacarose, que corresponde de 70 a 91% das substâncias sólidas solúveis, baixo conteúdo proteico e, em média, 65 a 75% da planta são constituídas de água. O caldo de cana apresenta ainda minerais como ferro, cálcio, potássio, sódio, magnésio e cloro (FAVA, 2004).

Por seu valor nutricional, o caldo de cana é, naturalmente, um meio favorável para o crescimento de microrganismos, mas a maior contaminação parece ser originada dos processos envolvidos em sua produção através de equipamentos como: moendas, recipientes para coletas, jarras, além de condições errôneas de manipulação e armazenamento (ATAÍDE et al., 2019).

A contaminação bacteriana presente em alimentos como o caldo de cana, juntamente com outras bebidas *in natura*, que são comercializadas, em sua maioria, por vendedores ambulantes, apresenta importância para o comércio e para a saúde pública. A ingestão de bebidas preparadas inadequadamente

acarreta a transmissão de doenças com origem alimentar (GODOI & BORGES, 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores formais e ambulantes na cidade de Uberlândia/MG. As amostras foram avaliadas por meio da contagem total de bactérias mesófilas, determinação de coliformes totais e termotolerantes, análise da presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas, no ano de 2016, dez amostras de caldo de cana, em volume mínimo de 100 mL em pontos de venda distribuídos pela cidade de Uberlândia/MG, mantidas em sua embalagem original fornecida pelo comerciante ou colocadas em saco estéril de polietileno e transportadas em caixa térmica até o Laboratório de Ensino em Microbiologia (LEMI), do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia em até duas horas. As amostras foram processadas imediatamente ou em até 24 horas (mantidas sob refrigeração). Todas as amostras foram obtidas no ano de 2016 entre os meses de março e agosto.

Após a coleta, 25 mL da amostra foram diluídos em 225 mL de água peptonada (1:10), homogeneizado por um

minuto e, em seguida, realizada uma segunda diluição de 1 mL em 9 mL de solução salina 0,85% (1:100) para a realização das contagens. Em seguida 0,5 mL foi cultivado em placas contendo Agar para Contagem (PCA), pela técnica de espalhamento na superfície com auxílio de uma alça de Drigalski e incubadas a 37°C pelo período de 24 horas e então feita a contagem do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL).

Uma alíquota de 1mL da amostra foi cultivada em tubos contendo 9 mL de Caldo Verde Brilhante contendo dentro um tubo de Durham invertido, realizando o procedimento também em diluições decimais, em triplicata incubados a 37°C por 24 a 48 horas. Os tubos positivos (com turvação e produção de gás no interior do tubo de Durham) foram cultivados em Caldo EC, contendo tubo de Durham invertido, incubados a 45° C por 24 horas para a confirmação de coliformes termotolerantes, seguindo a mesma proporção do Caldo Verde Brilhante.

Para o cultivo de *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas, um inóculo a partir de um tubo positivo de Caldo verde brilhante foi cultivado em Agar Eosina Azul de Metileno, incubadas a 37°C por 24 horas. A identificação dos bacilos Gram negativos foi feita pelos testes de fermentação da glicose e lactose, produção de indol, ácido sulfídrico, motilidade, produção de ácidos fortes, teste de Voges – Proskauer,

descarboxilação da lisina e ornitina, uso do citrato e malonato e produção de urease.

Para o cultivo de *Salmonella* spp., inicialmente, foi realizado o enriquecimento das amostras inoculando 1mL da amostra diluída em água peptonada, em tubos contendo 10mL do caldo Tetracionato, incubando a 37°C por 24 horas. Em seguida foi feito plaqueamento seletivo diferencial em Agar Hektoen-Enteric (HE), incubados a 35°C pelo período de 24 horas, realizando a identificação por provas bioquímicas clássicas, descritas acima.

Na análise dos dados, os valores obtidos foram armazenados em uma tabela do Excell® (Microsoft), e as comparações entre as médias foi realizada utilizando o teste de ANOVA (um critério) e entre os dois grupos o teste t de Student, as comparações entre as proporções foi pelo teste Exato de Fischer, todos com intervalo de confiança de 95% e considerando diferença estatística, quando o  $p \leq 0,05$ . Foi utilizada a extensão Action® do Excell, versão novembro de 2013 e o programa BioStat 5.0 (Belém, PA, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O caldo de cana é um produto, em geral, comercializado por vendedores ambulantes, que possuem suas próprias moendas para extração, mas que não possuem conhecimento técnico e instalações adequadas que permitam a

obtenção do produto em condições higiênicas sanitárias recomendadas. A presença de grupos bacterianos contaminando este produto, no momento de sua obtenção, sugere que a contaminação ocorra pela manipulação e transmissão cruzada dos equipamentos: moenda e recipientes (ABRAHALE et al., 2019; ATAÍDE et al., 2019).

A contaminação do ambiente é um fator importante a ser controlado para sucos de frutas e outras bebidas não alcoólicas, com atenção cuidadosa à limpeza das linhas de produção, que deve incluir sanitização térmica e, também, química (ICMSF, 2001).

Nas dez amostras de caldo de cana obtidas, três (3) eram de vendedores formais e sete (7) de ambulantes com média de contagem total de bactérias mesófilas de  $7 \times 10^4$  UFC/mL (Tabela 1). A média para vendedores formais foi de  $3,72 \times 10^4$  UFC/mL e para os ambulantes  $8,85 \times 10^4$  UFC/mL, ao se comparar os valores das amostras entre si, não se encontrou uma diferença estatística ( $p > 0,05$ ) para as contagens.

Neste estudo tanto as amostras coletadas de vendedores ambulantes, quanto de formais apresentaram contagens elevadas de bactérias. Este fato pode ser justificado pois, durante a coleta, observou-se que os manipuladores não praticavam higiene das mãos ou, quando esta era realizada, ocorria de forma precária. As moendas e os recipientes

ficavam tampados por apenas um pano, o lixo apresentava-se sem tampa ou alocado em sacos plásticos próximos à moenda. Parte dos vendedores manipulou dinheiro

antes do preparo do caldo e as canas ficavam alocadas em caixas térmicas, refrigeradas apenas com gelo.

**Tabela 1** – Contagem média de contaminação por tipo de amostra de caldo de cana.

Amostras (n=10)	CTM	CCT	CCF
Ambulantes (n=7)	8,85x10 <sup>4</sup>	1,84x10 <sup>3</sup>	1,84x10 <sup>3</sup>
Formais (n=3)	3,72x10 <sup>4</sup>	8,11x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>
Total	7,0x10 <sup>4</sup>	1,18x10 <sup>3</sup>	1,58x10 <sup>3</sup>

Legenda: CTM: Contagem Total de mesófilos em Unidades formadoras de colônia/mL; CCT: Contagem Coliformes Total em Número mais provável/mL; CCF: Contagem Coliformes Fecais em Número mais provável/mL.

No trabalho realizado por Prado e colaboradores (2010), também observaram-se condições sanitárias precárias no comércio do caldo de cana, vendedores não utilizavam aventais, desprezavam o bagaço da cana no chão ou em lixo sem tampa, manipulavam o caldo e o dinheiro, ao mesmo tempo sem a preocupação com a lavagem das mãos. Em outro trabalho, realizado por Oliveira et al. (2006), na cidade de São Carlos/SP, relataram-se altos índices de contaminação, seja por fatores como equipamentos e utensílios em condições de higiene inadequadas, falta da lavagem de mãos, lixos abertos e utensílios descobertos.

Coliformes totais foram recuperados em todas as amostras, com média de 1,18x10<sup>3</sup> NMP/mL e coliformes fecais foram recuperados em 70% das amostras, com média de 1,58x10<sup>3</sup> NMP/mL

(Tabela 1). Quando comparados os tipos de vendedores, encontrou-se p=0,008 para maiores contagens de coliformes totais e fecais, para os vendedores informais e formais, respectivamente.

Em trabalho realizado por Felipe & Miguel (2011), foi demonstrado que 100% das amostras avaliadas apresentavam coliformes totais com valores acima de 2.800 NMP/mL e 20% das amostras possuíam coliformes fecais com valores acima 1000 NMP/mL, indicando inadequação do produto, segundo a RDC nº 12 de 2001<sup>1</sup>, legislação vigente no momento do estudo. Valores semelhantes ao demonstrado por Ataíde et al. (2019).

A contagem total de bactérias mesófilas é indicadora de contaminações bacterianas gerais, não necessariamente patogênicas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Já a presença de coliformes totais é indicativa de contaminação por bactérias

<sup>1</sup> Nota do editor: a legislação atual sobre padrões microbiológicos dos alimentos é a IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022

da Ordem Enterobacteriales, bacilos Gram negativos e não formadores de esporos, frequentemente relacionados aos desconfortos gastrointestinais (DI TANNO et al., 2015).

Foram recuperados 16 isolados, com crescimento em meio de cultura seletivo para bactérias entéricas, destas foram identificadas: *Citrobacter koseri* (n=1), *Klebsiella pneumoniae* (n=8), *Enterobacter* spp.(n=3), *Serratia* spp. (n=2) e *Hafnia alvei* (n=2), como mostra a Tabela 2. Sendo que quatro (4) amostras apresentaram ao menos dois (2) microrganismos diferentes, sendo um de vendedor formal e três (3) de ambulantes.

Embora o isolamento de bactérias patogênicas fosse prevalente nas amostras de vendedores informais, essas variações não foram estatisticamente diferentes ( $p>0,05$ ).

A contagem de coliformes fecais apresentou número acima dos valores estabelecidos pela RDC nº 12 de 2001, para coliformes fecais que é de até  $10^2$  NMP/mL, apenas três (3) amostras estavam dentro deste padrão, mas vale destacar que houve ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras (BRASIL, 2001), bem como não foi identificada *E. coli*.

Tabela 2 – Distribuição dos isolados bacterianos nas amostras de caldo de cana obtidas de vendedores formais e ambulantes.

	Formal (n=3)	Ambulante (n=7)	Total
<i>Citrobacter koseri</i>	0	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	5	8
<i>Enterobacter</i> spp.	1	2	3
<i>Serratia</i> spp.	1	1	2
<i>Hafnia alvei</i>	0	2	2
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>16</b>

A pesquisa de contaminação bacteriana em alimentos é muito utilizada como um indicador das condições higiênico sanitárias do produto e a presença de possível enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2003), o que reforça as condições higiênico sanitárias insatisfatórias, evidenciando o risco de consumo e possível contaminação fecal

(ABRAHALE et al., 2019; SEO & LEE, 2021).

Fica evidente, portanto, a exigência de um controle maior em relação ao processo produtivo do caldo de cana, indicando a necessidade de implementação de normas e de procedimentos fundamentados em boas práticas de fabricação para que estes

produtos não signifiquem risco para a saúde do consumidor. Medidas como a implementação de normas sanitárias adequadas à venda deste produto e oferta de cursos de capacitação destinados a estes vendedores, favorecem melhorias na realização da atividade (FLORES & MELO, 2015).

Ações de educação em saúde, destacando os hábitos de higiene pessoal, como a lavagem correta das mãos, entre as pessoas que manipulam os alimentos, seleção da matéria-prima, utensílios e equipamento cuidadosamente higienizados, fornecimento de água potável e adequado sistema de tratamento de lixo e esgoto, são recomendações essenciais para se prevenir a transmissão de doenças pelos alimentos.

## 7 CONCLUSÃO

Uma elevada contaminação do caldo de cana estava presente, tanto em amostras de vendedores ambulantes quanto formais, ressaltando a ineficiência nas condições higiênico sanitárias do ambiente e na manipulação do produto. Segundo os critérios de avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos, sete (70%) das amostras estariam reprovadas, porque apresentaram valores elevados para coliformes termotolerantes, embora nenhuma amostra apresentasse *Salmonella* spp.

Faz-se necessário, portanto, a frequente capacitação destes profissionais para que cada etapa da produção do caldo de cana e seu armazenamento seja feita de forma que garanta qualidade do produto e minimize as contaminações bacterianas.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHALE, K.; SOUSA, S.; ALBUQUERQUE, G.; PADRÃO, P.; LUNET, N. Street food research worldwide: a scoping review. **Journal of human nutrition and dietetics**. v. 32, n. 2, p. 152-174, abr., 2019.

ATAÍDE, C. B.; SILVA, S. G. M. D.; SILVA, J. M. D.; ROCHA, J. R. D.; SANTOS, J. M. S. M.; SANTOS, T. M. C. D. Qualidade microbiológica de Caldo de cana-de-açúcar comercializado em feira livre de União dos Palmares, Alagoas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 14, n. 5, p. 650-653, 2019.

BRASIL. **Agência nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: ANVISA, 2001.

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. **Revista Baiana de Saúde Pública**. Salvador, v. 31, n.2, p.238-245, jul/dez, 2007.

DI-TANO, M.F.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; ZÂNGARO, R. A. **Avaliação microbiológica de caldo de cana comercializado em três pontos de venda em Fernandópolis, S.P.** In: III Encontro de Pós-Graduação e IX Encontro de Iniciação Científica – 2015, Fernandópolis: Universidade Camilo Castelo Branco, 2015.P. 221-222.

FAVA, A. R. Atletas ingerem garapa para repor energia. **Jornal da Unicamp**. v.18. n. 250, p.8, 2004.

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

FLORES A.M.P.C.; MELO C.B. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 1, p. 65-72, jan/mar, 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

GODOI, J. C. S. L.; E BORGES, L. F. de A.; FREITAS, C. de; QUEIROZ, L. L.; JOÃO NAZÁRIO, J. A. Análise microbiológica de suco de laranja in natura armazenados em refresqueira elétrica. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 109-116, 2017.

ICMSF – **International Commission of Microbiological Specifications for foods. Microorganismos em alimentos**. vol.8. São Paulo: Blucher, 2015. 536p.

KOCHANSKI.M; PIEROZAN. M. K; MOSSI. A. J; TREICHEL, H; CANSIAN, R.L; GHISLENI, C.P; TONIAZZO, G., Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara v.20, n.4, p. 663-668, out, 2009.

OLIVEIRA, A. C. G.; SEIXAS, A. S. S.; SOUSA, C. P.; SOUZA, C. W. O. Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n.5, p 1111 – 1114, maio, 2006.

PRADO, S.P.T.; BERGAMINI, A.M.M.; RIBEIRO, E.G.A.; CASTRO, M.C.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação do perfil

microbiológico e microscópico do caldo de cana in natura comercializado por ambulantes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 69, n. 1, p. 55-61, jan/mar, 2010.

RODRIGUES, K. L.; GOMES, J. P.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; BROD, C. S.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas-RS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 23, p. 447-452, set/dez, 2003.

SEO, K.H.; LEE, J.H. Understanding Risk Perception toward Food Safety in Street Food: The Relationships among Service Quality, Values, and Repurchase Intention. v. 18, n. 13, p. 6826, 2021.

VALVERDE, C. R.; BADARÓ, A. C. L.. Qualidade microbiológica da água de coco (*Cocos nucifera*) comercializada por ambulantes na cidade de Ipatinga, Minas Gerais. **NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 5, p. 489-504, ago./dez. 2009.