

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SUCO MISTO DE LARANJA E BETERRABA COM ADIÇÃO DE PREBIÓTICO TRATADO POR ULTRASSOM

B. S. Valiati¹, B. G. Machado², L. C. Capucho³, M. M. Domingos⁴, M.S. Vieira⁵, J.F.B. de São José⁶

1- Aluna de Mestrado em Nutrição e Saúde (Bolsista Fapes), Programa de Pós Graduação em Nutrição em Saúde- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde – CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7168 – e-mail: (barbara_30valiati@hotmail.com)

2- Aluna de Mestrado em Nutrição em Saúde- Programa de Pós Graduação em Nutrição em Saúde - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde – CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7168 – e-mail: (brunagamachado@gmail.com).

3 – Graduando em Nutrição – Aluno de Iniciação Científica - Departamento de Educação Integrada em Saúde – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde – CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7017 – e-mail: (lohanccapucho@gmail.com)

4- Graduando em Nutrição – Aluno de Iniciação Científica (Bolsista CNPq)- Departamento de Educação Integrada em Saúde – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde – CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7017 – e-mail: (manumondomi@gmail.com)

5 – Graduando em Nutrição – Aluno de Iniciação Científica - Departamento de Educação Integrada em Saúde – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde – CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7017 – e-mail: (msv.mariana@hotmail.com)

6- Professora Adjunta do Curso de Nutrição- Departamento de Educação Integrada em Saúde – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde– CEP: 29040-090 – Vitória – ES – Brasil, Telefone: +55 (27) 3335-7017 – e-mail: (jackline.jose@ufes.br).

RESUMO –A incorporação de prebióticos em sucos torna-se alternativa viável e que atende a demanda atual do mercado consumidor. Estes produtos devem apresentar qualidade microbiológica adequada para isso devem ser submetidos a tratamentos de conservação apropriados e deste modo propõe-se a aplicação do ultrassom. Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica de suco misto de laranja e beterraba prebiótico submetidos a diferentes tratamentos de conservação. Porções de 250 mL de sucos mistos prebióticos foram preparados e envasadas em frascos de vidro esterilizados. Em seguida, foram submetidos aos tratamentos de pasteurização e ultrassom (40, 50 e 60°C/5 minutos). Os sucos não tratados e sem adição de prebiótico foram considerados como controle. Análises de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, coliformes a 35 °C e *E. coli* foram conduzidas após os tratamentos. A aplicação do ultrassom a 60°C contribuiu significativamente para redução da contaminação de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 35°C.

ABSTRACT –The incorporation of prebiotics in juices becomes a viable alternative and meets the current demand of the consumer market. These products must have adequate microbiological quality and should be submitted to appropriate conservation treatment and ultrasound application is proposed. The aim was evaluated microbiological quality of orange and beet prebiotic juice, using different conservation methods. 250 ml of mixed juices were prepared and filled into sterile glass bottles. Then, pasteurization and ultrasound procedures (40, 50 and 60°C / 5 minutes) were followed. Juices not treated and without the addition of prebiotics were considered as

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



controls. Analyzes of mesophilic aerobes, molds and yeasts, coliforms at 35 °C and *E. coli* were conducted after the procedures. The application of ultrasound at 60 °C contributed to reduce contamination of mesophilic aerobes, molds and yeasts and coliforms at 35 °C

PALAVRAS-CHAVE: Sucos; controle de qualidade; ultrassom; pasteurização.

KEYWORDS: juices, quality control; ultrasound; pasteurization.

1. INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, a demanda dos consumidores por alimentos mais nutritivos, saudáveis e seguros tem crescido. O consumo de sucos de frutas aumentou impulsionado pela maior conscientização do consumidor sobre a importância destes alimentos. Os sucos de frutas são ótimas fontes de vitaminas, minerais, ácidos orgânicos e fibras cujos efeitos contribuem fundamentalmente na saúde humana (Curi et al., 2017). O suco de laranja (*Citrus sinensis*) é um dos mais apreciados no Brasil e no mundo. No ano de 2015, o Brasil exportou mais de dois milhões de toneladas de suco de laranja. Além disso, a incorporação de produtos agrícolas, como a beterraba (*Beta vulgaris* L.), no suco de laranja proporciona diversidade e desperta o interesse do consumidor. O desenvolvimento de sucos mistos é atrativo devido à elaboração de novos sabores, às características sensoriais agradáveis, por aumentar o teor de fibras, melhorar consistência e cor do suco, além de ser uma alternativa para agregar valor nutricional (Carvalho; Mattietto; Beckman, 2017; Curi et al., 2017; Instituto Brasileiro de Frutas, 2017).

Sucos de frutas são compatíveis para elaboração de alimentos funcionais, pois são ricos em compostos bioativos. Do ponto de vista tecnológico, a adição de prebióticos melhora ainda mais as características produto (Fonteles; Rodrigues, 2018). Os prebióticos são ingredientes não digeríveis que influenciam benéficamente à saúde do hospedeiro ao estimular a escolha de uma bactéria ou um número limitado destas quanto ao seu crescimento e/ou atividade no cólon (Santos et al., 2014; Teberga, 2017; Fonteles; Rodrigues, 2018). Grande parte dos alimentos que contêm prebióticos são à base de laticínios. Entretanto, sabe-se que é crescente a procura por alimentos prebióticos não lácteos seja por fatores como intolerâncias e alergias alimentares ou devido a escolhas ideológicas. Dessa forma, a incorporação de prebióticos em sucos torna-se uma alternativa viável (Gomes et al., 2016; Fonteles; Rodrigues, 2018).

Além de elaborar um produto com características sensoriais, físico-químicas e nutricionais adequadas, há uma preocupação e exigência para que tais produtos sejam seguros. Assim, faz-se necessário que tais produtos passem por processamentos que contribuam para a qualidade do produto final (Sales et al., 2016; Curi et al., 2017). O processamento térmico de alimentos pode resultar em alterações sensoriais e perdas nutricionais. Em razão disso, tratamentos não térmicos têm sido propostos para contribuir na qualidade microbiológica sem impacto aos nutrientes dos sucos (Zou; Hou, 2017). Entre os métodos não térmicos de conservação de alimentos destaca-se o ultrassom (Rojas et al., 2016; Tremarin et al., 2017). Trata-se de um método que mostra redução eficaz de microorganismos, dentre eles *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes* em frutas, hortaliças e sucos de frutas (Sango et al., 2014; São José et al., 2014; Zinoviadou et al., 2015). Trata-se de uma tecnologia capaz de prolongar a vida de prateleira, preservar o teor nutricional e os aspectos sensoriais, além de atuar na redução de microorganismos em alimentos sensíveis ao calor (Zou; Jiang, 2016; São José, 2016). Nesse contexto, tendo em vista o possível mercado dos alimentos funcionais, principalmente de produtos prebióticos de base não láctea, como as bebidas de origem vegetal, que podem trazer benefícios à saúde e atender à crescente demanda da população, este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da aplicação do ultrassom nas características microbiológicas de suco misto de laranja com beterraba adicionado de prebiótico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental conduzido em delineamento inteiramente casualizado. As análises de avaliação do efeito dos diferentes tratamentos sobre a microbiota contaminante do suco foram realizadas em três repetições.

O suco misto de laranja (*Citrus sinensis*) e beterraba (*Beta vulgaris* L.) foram preparados na proporção 70:30% v/v, respectivamente, sem adição de água e conservantes. As matérias primas foram adquiridas em comércio varejista local e em seguida levados ao laboratório. Os alimentos foram lavados em água corrente e em seguida sanitizados em solução de hipoclorito de sódio à 100 mg/L por 10 minutos. Os alimentos foram cortados/descascados manualmente com o auxílio de uma faca de aço inoxidável previamente higienizada. Os sucos foram preparados em extrator industrial. Foram adicionados, em porções de 250 mL de suco, 8 g de frutooligossacarídeos (FOS) (Focusflora®) adquiridos comercialmente. Estas porções foram envasadas em frascos de vidros previamente esterilizados. As amostras foram submetidas a diferentes tratamentos a saber: pasteurização (90°C/1 min), ultrassom à 40 °C/5 min, à 50 °C/5 min e 60°C/ 5min. Os sucos não tratados e sem adição de prebiótico foram considerados como controle (Natural e Natural+FOS). Para os tratamentos com ultrassom foi utilizado o equipamento do tipo banho com frequência de 40 kHz modelo 3800H (Branson®, Danbury, Estados Unidos). As condições de tratamento foram definidas baseadas em estudos prévios do grupo de pesquisa (dados não publicados). O recipiente contendo o suco a ser tratado com o ultrassom foi alocado no centro do equipamento. Após os tratamentos, as amostras foram armazenadas por no máximo 30 min a 6°C e em seguida encaminhadas para análises microbiológicas

2.1. Análises Microbiológicas

A metodologia para análise microbiológica seguiu o proposto pela American Public Health Association (APHA), descrita na *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Downes & Ito, 2001). Foram preparadas diluições decimais apropriadas e alíquotas dessas foram transferidas para meios de cultura específicos para a determinação de cada grupo microbiano. O plaqueamento das alíquotas foi realizado em duplicata e o resultado expresso em *log* de unidades formadoras de colônias por grama (*log* UFC/mL). Foram analisados mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 35 °C e *Escherichia coli*.

Para determinação de mesófilos aeróbios foi realizada pela técnica de plaqueamento em profundidade em Ágar Padrão para Contagem (Himedia®) e com incubação a 35 °C por 48 h.

Para fungos filamentosos e leveduras foi adotado o plaqueamento em superfície de Ágar Batata Dextrose (Himedia®) acidificado a pH 3,5 e em seguida as placas foram incubadas, sem inverter, a 25 ± 1°C por 5 a 7 dias.

A contagem de coliformes a 35 °C e *Escherichia coli* foi realizada em placas *Petrifilm EC* (3M®) e as alíquotas (1 mL) das diluições apropriadas foram dispostas nas placas de acordo com as instruções do fabricante. Após incubação das placas a 35 °C por 24 e 48 h, as colônias azuis e vermelhas com gás foram consideradas colônias de coliformes 35 °C e colônias azuis com gás foram consideradas de *E. coli*.

2.2. Análises Estatísticas

Os dados foram armazenados em planilhas no Microsoft Excel e em seguida analisados com auxílio do software Infostat® versão para estudantes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, a 5 % de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sucos mistos de laranja e beterraba natural, natural com FOS, tratados com pasteurização e ultrassom 40°C e 50°C apresentaram contagem de mesófilos aeróbios estatisticamente iguais ($p > 0,05$) (Tabela 1). Segundo Ağçam, Akyildiz e Dündar (2018), a pasteurização a 90 °C durante 30 segundos causa danos à membrana celular e aos ácidos nucleicos de microorganismos. Entretanto, a viscosidade de sucos, principalmente mistos, podem reduzir o efeito esperado de tratamentos térmicos.

Tabela 1 – Efeito dos tratamentos aplicados em suco misto de laranja e beterraba com adição de prebiótico nas contagens da microbiota natural (log UFC/mL).

Sucos	Log UFC/mL ± Desvio Padrão		
	Mesófilos aeróbios	Fungos Filamentosos e Leveduras	Coliformes a 35 °C
Natural	5,31 ± 0,54 a	4,96 ± 0,28 a	3,28 ± 0,56 a
Natural + FOS	4,83 ± 0,80 a	4,14 ± 0,49 b	2,61 ± 0,20 ab
Pasteurizado + FOS	4,28 ± 0,85 ab	3,53 ± 0,48 bc	2,48 ± 0,43 ab
US (40 °C) + FOS	3,83 ± 0,85 ab	3,51 ± 0,26 bc	2,34 ± 0,34 ab
US (50 °C) + FOS	4,14 ± 0,95 ab	2,99 ± 0,54 cd	2,19 ± 0,80 ab
US (60 °C) + FOS	3,05 ± 0,86 b	2,66 ± 0,20 d	1,61 ± 1,06 b

*Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferiram entre si pelo Teste de Duncan ($p < 0,05$). US – Ultrassom aplicado por 5 min.

O tratamento com ultrassom a 60°C promoveu redução de 2,26 log UFC/mL de mesófilos aeróbios em comparação ao suco natural ($p < 0,05$). Segundo Chandrapala et al. (2012), a composição do alimento e parâmetros para a aplicação do ultrassom podem influenciar significativamente a redução da carga microbiana.

Os sucos mistos tratados com pasteurização e ultrassom proveram redução significativa de fungos filamentosos e leveduras em comparação ao suco misto natural ($p < 0,05$). Os tratamentos com ultrassom a 50°C e 60°C promoveram as maiores reduções de fungos filamentosos e leveduras sendo estas iguais a 1,97 e 2,30 log UFC/mL, respectivamente, em comparação ao suco natural. A redução da contagem de fungos filamentosos e leveduras é fundamental para impedir que estes microorganismos utilizem os componentes dos alimentos e provoquem a deterioração do produto. Alguns fungos são termorresistentes e estes são considerados como desafio para indústria de processamento de sucos (Snyder & Worobo; 2018).

No que diz respeito a contagem de coliformes a 35°C, o tratamento com ultrassom a 60°C ocasionou redução de 1,67 log UFC/mL em comparação ao suco natural ($p < 0,05$). O grupo de coliformes engloba bactérias fermentadoras de lactose e é considerado um grupo de microorganismos indicadores. A presença destes em alimentos não indica necessariamente que haja contaminação de origem fecal (Forsythe, 2013). Cabe ressaltar que nas amostras analisadas no presente trabalho não foram detectadas colônias de *E. coli* na menor diluição avaliada (10^{-1})

A tecnologia de termossonicação, que associa calor moderado de 37 a 75 °C com tratamento de ultrassom, é uma alternativa de processamento para proporcionar a inativação de micro-organismos (Lee et al., 2014).

4. CONCLUSÕES

A aplicação da tecnologia do ultrassom associada a temperatura de 60°C contribuiu significativamente para redução da contaminação de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 35°C. Estudos complementares devem ser realizados com intuito de averiguar o impacto destes tratamentos na qualidade físico-químicas bem como nas características sensoriais do produto.

5. AGRADECIMENTOS



Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela bolsa de iniciação científica concedida a um dos autores. À Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela bolsa de mestrado concedida a primeira autora e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. À Pró-Reitoria de Pós Graduação (PRPPG) da Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ağçam, E., Akyildiz, A., & Dündar, B. (2018). *Thermal pasteurization and microbial inactivation of fruit juices*. In: *Fruit Juices*. Academic Press. p. 309-339.
- Carvalho A. V., Mattietto, R. A., & Beckman, J.C. (2017). Estudo da estabilidade de polpas de frutas tropicais mistas congeladas utilizadas na formulação de bebidas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, 1-9.
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19, 975-983.
- Curi, P. N., Almeida, A. B., Tavares, B. S., Nunes, C. A., Pio, R., Pasqual, M., & Souza, V. R. (2017). Optimization of tropical fruit juice based on sensory and nutritional characteristics. *Food Science Technology*, 37(2), 308-314.
- Downes, F.P., & Ito, K. (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, 4, 676.
- Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2018). Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, v. 22, p. 55-61.
- Forsythe, S. J. (2013) *Microbiologia da segurança dos alimentos*. Artmed Editora.
- Gomes, W. F., Tiwari, B. K., Barragán, O. R., Brito, E. S., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2016). Effect of ultrasound followed by high pressure processing on prebiotic cranberry juice. *Food Chemistry*, 218, 261-268.
- Instituto Brasileiro De Frutas. (2017). *Anuário brasileiro de fruticultura*. Santa Cruz do Sul. 88 p.
- Leite, T. S., Augusto, P. E. D., Cristianini, M. (2014). Using high pressure homogenization (HPH) to change the physical properties of cashew apple juice. *Food Biophysics*, v.10, n.2, p.169–180.
- O'Donnell, C. P., Tiwari, B. K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 358–367.
- Sales, W. B., Caveião, C., Grillo, F. R., Ravazzani, E. D. A., & Vasco, J. D. A. (2016). Presença de coliformes totais e termotolerantes em sucos de frutas cítricas. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, 9(5).
- Sango, D. M., Abela, D., Mcelhatton, A., & Valdramidis, V.P. (2014). Assisted ultrasound applications for the production of safe foods. *Journal of Applied Microbiology*, 116,1067-1083.
- Santos, F. L., Ferreira, M. A., Pires, E. A., Oliveira, F. S., Silva, C. F. G., & Vieira, R. B. (2014). Análise das patentes de tecnologias relacionadas aos probióticos, prebióticos e simbióticos no Brasil. *Brazilian Journal of Food Technology*, 17 (3), 252-258.
- São José, J. F. B., Andrade, N. J., Ramos, A. M., Vanetti, M. C. D., Stringheta, P. C., & Chaves, J. B. P. (2014). Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control*, 45, 36-50.
- São José, J. F. B. (2017). Estratégias alternativas na higienização de frutas e hortaliças. *Revista de Ciências Agrárias*, 40(3), 630-640.
- Snyder, A. B., & Worobo, R. W. (2018). The incidence and impact of microbial spoilage in the production of fruit and vegetable juices as reported by juice manufacturers. *Food Control*, 85, 144-150.
- Teberga, P. M. F. *Avaliação do efeito de diferentes prebióticos sobre o desenvolvimento de cepas de Lactobacillus*. (2017). Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena.

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

**7º Simpósio de
Segurança Alimentar**

Inovação com sustentabilidade

Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C., & Cullen, P.J. (2009). Effect of sonication on the retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 166-171.

Tremarin, A., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2017). Application of ultraviolet radiation and ultrasound treatments for *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores inactivation in apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, 78, 138-142.

Zou, Y., & Hou, X. (2017). Sonication enhances quality and antioxidant activity of blueberry juice. *Food Science Technology*, 37, 4, 599-603.

Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science Technology*, 36 (1), 111-115.

Zinoviadou, K. G., Galanakis, C., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J. J., Saraiva, A., Patras, A., Tiwari, B., & Barba, F.J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77, 743–752.

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br