

Avaliação microbiológica da água de coco comercializada no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brasil

Microbiological evaluation of coconut water commercialized in the city of Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brazil

Naiane da Silva de Jesus

Farmacêutica graduada pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná, Ji – Paraná, Rondônia

Tiago Barcelos Valiatti

Farmacêutico graduado pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná, Ji – Paraná, Rondônia

Izabel Bárbara Barcelos

Farmacêutica graduada pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná, Ji – Paraná, Rondônia

Natália Faria Romão

Bióloga, mestre em Genética e toxicologia aplicada, Doutoranda em Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal pela Rede Bionorte.

Renan Fava Marson

Biomédico, mestre em Bioengenharia, docente do Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná, Ji – Paraná, Rondônia

Fabiana de Oliveira Solla Sobral

Biomédica, Mestre em Biologia Celular e Molecular Aplicada a Saúde, docente do Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná, Ji – Paraná, Rondônia.

Resumo

O presente estudo teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica da água de coco comercializada no município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia. Para tanto, foram coletadas 12 amostras, sendo estas submetidas à determinação do Número Mais Provável (NMP/ml) de coliformes totais e termotolerantes, contagens (UFC/ml) de Bolores e leveduras, e verificação da presença ou ausência de *Salmonella* sp. Os resultados obtidos demonstram a presença de coliformes totais em 100% das amostras e contagens acima do permitido pela legislação de 75% das amostras para coliformes termotolerantes. Ainda, verificou-se que 100% das amostras estavam com índice de contaminação de Bolores e Leveduras acima do recomendado. Já a análise para *Salmonella* sp. apresentou ausência em todas amostras analisadas, estando estas em conformidade com o exigido pela legislação. Frente às contaminações encontradas, conclui-se que todas as amostras estão inadequadas para o consumo.

Palavras-chave: Água de coco. Qualidade microbiológica. Rondônia,

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the microbiological quality of coconut water commercialized in the city of Ouro Preto do Oeste - Rondônia. For this purpose, 12 samples were collected, which were submitted to determination of the most probable number (NMP / ml) of total and thermotolerant coliforms, counts (CFU / ml) of Molds and Yeasts, and verification of the presence or absence of *Salmonella* sp. The results obtained demonstrate the presence of total coliforms in 100% of the samples and counts above that allowed by the legislation of 75% of the samples for thermotolerant coliforms. Furthermore, it was verified that 100% of the samples had a Molds and Yeasts contamination index above the recommended level. The analysis for *Salmonella* sp. presented absence in all analyzed samples, being these in accordance with the required by the legislation. In view of the contaminations found, it is concluded that all samples are inadequate for consumption.

Key-words: Coconut water, Microbiological quality, Rondônia.

INTRODUÇÃO

A água de coco é um isotônico natural existente na cavidade da semente do coco, rica em nutrientes tendo como composição 93% de água, 5% de açúcares, além de proteínas, vitaminas e sais minerais. Devido a sua composição química, é recomendada para reidratação e reposição de sais e o seu consumo é estimulado nos meses mais quentes (ASSIS et al., 2000). Sua característica refrescante e de baixa caloria faz com que a água do coco verde *in natura* possua grande consumo no Brasil, o qual possui vocação natural para comercialização desse produto, sendo que análises de mercado revelam crescimento significativo do plantio e da oferta da água de coco (CARRIJO, 2002).

Contudo, a comercialização da água de coco *in natura* envolve problemas relacionados ao transporte, armazenamento e a perecibilidade do produto (HOFFMAN et al., 2002). Embora seja estéril, enquanto no interior do fruto, sua composição rica em nutrientes propicia o desenvolvimento microbiano, gerando problemas em sua conservação logo após a abertura do fruto (ARAGÃO, 2002). Essa problemática é agravada uma vez que o comércio se dá tradicionalmente dentro do próprio fruto por ambulantes, os quais geralmente desconhecem as boas práticas de fabricação (SEREJO et al., 2010; GOMES et al., 2015).

As principais formas de contaminação são o acondicionamento inadequado da matéria-prima, falta de higienização prévia do coco, condições insatisfatórias das instalações, falta de conhecimento dos comerciantes e manipuladores, e higienização inadequada de utensílios e equipamentos, podendo portar diversos microrganismos responsáveis por infecções alimentares (HOFFMAN et al., 2002).

Para análise da segurança e higiene alimentar são empregadas avaliações da presença de microrganismos indicadores, sendo que os mais utilizados são os coliformes. Os coliformes totais refletem o nível de contaminação ambiental que o alimento agregou, enquanto os coliformes termotolerantes indicam contaminação fecal e presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2003; FORSYTHE, 2005). A Instrução Normativa nº 27 de 22 de julho de 2009 dispõe sobre padrões microbiológicos para a água de coco, sendo estabelecidos valores de referência para coliformes termotolerantes, Bolores e Leveduras e *Salmonella sp* (BRASIL, 2009).

Devido a exposição ambiental o coco apresenta uma carga microbiana natural na qual são destacados os coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella sp*, Bolores e Leveduras que poderão contaminar a água e desencadear danos à saúde do consumidor. Nesse contexto, é de extrema importância adotar medidas de higiene antes da perfuração do fruto para extração da água, tendo os manipuladores papel central na promoção da qualidade do produto (SCHMIDT et al., 2004; ABREU, 2005).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo consistiu em avaliar a qualidade microbiológica das águas de coco comercializadas por ambulantes no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, por meio da análise de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Salmonella sp*, bolores e leveduras.

METODOLOGIA

Para elaboração do estudo, foram coletadas três amostras de água de coco em dias alternados, em quatro pontos de vendas do município, perfazendo um total de 12 amostras.

A realização das análises microbiológicas seguiu a metodologia proposta por Silva et al. (2010), onde, para obtenção da diluição 10^{-1} , 25 ml da amostra foi diluída em 225 ml de água peptonada 0,1%, sendo que, a partir desta, realizou-se as diluições seguintes (10^{-2} e 10^{-3}).

Para quantificação de coliformes totais e termotolerantes, foi realizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). Desta forma, o teste presuntivo se consolidou através de três grupos de três tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose, contendo tubos de Durham invertidos, que foram inoculados com 1 ml das diluições previamente obtidas e incubados a 37°C por 24 horas, sendo que, após esse período, os tubos que apresentaram crescimento e formação de bolha foram considerados positivos para o grupo coliformes. Para diferenciação dos coliformes encontrados, foi realizada a técnica de repique nos tubos positivos para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante (VB) que foram incubados por 24h a 35°C e em tubos contendo Caldo E. coli, que foram incubados por 24h a 45°C. Resultados positivos no Caldo VB indicaram a presença de coliformes totais, e no Caldo E. coli de coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2010).

Para a análise de Bolores e Leveduras, inoculou-se 0,1 ml das diluições em placas de petri contendo Ágar Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) que posteriormente foram incubadas em estufa a 25°C por sete dias, onde, após esse período realizou-se contagem das colônias (SILVA et al., 2010).

Para verificação da presença ou ausência de *Salmonella* sp, pesou-se e homogeneizou-se 25 ml da amostra em 225 ml de água peptonada tamponada (BPW), sendo essa solução acondicionada em estufa por 24h a 37°C. Após o período de incubação, 0,1 ml das amostras foram transferidos para tubos contendo caldo Rappaport-Vassilids Soja (RVS) e 1ml para tubos contendo Caldo Tetracionato, que foram incubados em estufa por 24h a 37°C.

Decorrido o tempo de incubação, a partir dos tubos, realizou-se o plaqueamento diferencial por meio de estrias em placas de petri contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Verde Brilhante, que foram incubadas por 24h a 37°C, onde, posteriormente foi realizada a análise característica das colônias e testes bioquímicos para confirmação (SILVA et al., 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na Tabela 1, verificou-se a presença de coliformes totais em 100% das amostras, sendo que, sua contagem variou de $1,1 \times 10^1$ a $>1,1 \times 10^3$ NMP/ml. Já para coliformes termotolerantes, constatou-se sua presença em 75% das amostras, onde, todas estavam com contagens acima do recomendado pela IN 27 de 2009 que é de 1 UFC/ml (BRASIL, 2009).

A atual legislação brasileira, não determina nenhum padrão com relação ao grupo dos coliformes totais, portanto, utilizamos como valor de referência o mesmo adotado para os coliformes termotolerantes, onde foi possível verificar que 100% estão com contagens superiores ao determinado pela IN 27 de 2009. Estudo realizado por Dias et al. (2015) com amostras de água de coco comercializadas em Vitória da Conquista – BA, constatou-se resultados idênticos ao do presente estudo para coliformes totais, assim como Silva et al. (2017) que também verificaram a presença desse grupo de microrganismos em todas as amostras analisadas provenientes do município de Aracaju – SE.

Conforme Fortuna e Fortuna (2008) a contaminação por coliformes totais pode ocorrer durante o transporte, contato ou armazenamento do coco em ambientes contaminados e a higienização inadequada do fruto, utensílio e carrinhos.

Com relação à contaminação por local de coleta, a Tabela 1 revela que os pontos dois e quatro tiveram todas as amostras coletadas consideradas impróprias para consumo.

Tabela 1. Contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes (NMP/ml) de amostras de água de coco comercializadas em Ouro Preto do Oeste - RO.

Ponto de coleta	Amostras	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
1	1	$4,6 \times 10^2$	<3.0
	2	$2,8 \times 10^1$	<3.0
	3	$9,3 \times 10^1$	<3.0
2	1	$>1,1 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^3$
	2	$>1,1 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^3$
	3	$>1,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^2$
3	1	$3,6 \times 10^1$	$9,2 \times 10^1$
	2	$1,1 \times 10^1$	$3,6 \times 10^1$
	3	$9,3 \times 10^1$	$3,6 \times 10^1$
4	1	$>1,1 \times 10^3$	$4,6 \times 10^2$
	2	$>1,1 \times 10^3$	$4,6 \times 10^2$
	3	$>1,1 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$

Conforme evidenciado, 75% das amostras estavam impróprias para consumo devido à contaminação por coliformes termotolerantes acima do permitido. A presença de coliformes termotolerantes acima do recomendado pela legislação tem sido apontada em estudos em diferentes regiões brasileiras; Salvador, BA (Leite et al., 2000), São José do Rio Preto, SP (Hoffmann et al., 2002) e Teixeira de Freitas, BA (Fortuna e Fortuna, 2008), porém, diferentemente do presente estudo, estes estudos utilizaram como valor de referência o preconizado pela RDC 12 de janeiro de 2001 que é de 1×10^2 NMP/ml (BRASIL, 2001). A contaminação da água de coco por esse grupo de microrganismos é geralmente associada aos hábitos precários de higiene pessoal, equipamentos e utensílios (NOLLA; CANTOS, 2005).

A Tabela 2 evidencia a presença de Bolores e Leveduras em 100% das amostras, sendo que as contagens variaram de $1,8 \times 10^3$ a $> 2,5 \times 10^3$ *est. Com relação aos resultados encontrados para *Salmonella* sp, verificou-se ausência da mesma em todas amostras, como determina a legislação (BRASIL, 2009).

Tabela 2. Contagens de Bolores e Leveduras (UFC/ml) e presença/ausência de *Salmonella* sp em amostras de água de coco comercializadas em Ouro Preto do Oeste - RO.

Ponto de coleta	Amostras	Bolores e Leveduras	<i>Salmonella</i> sp.
	1	$2,4 \times 10^3$	Ausência

Avaliação microbiológica da água de coco comercializada no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brasil

1	2	2,0 x 10 ³	Ausência
	3	> 2,5 x 10 ³ *est.	Ausência
2	1	1,6 x 10 ³	Ausência
	2	1,6 x 10 ³	Ausência
	3	1,3 x 10 ³	Ausência
3	1	4,6 x 10 ³	Ausência
	2	1,3 x 10 ³	Ausência
	3	1,4 x 10 ³	Ausência
4	1	2,2 x 10 ³	Ausência
	2	2,3 x 10 ³	Ausência
	3	1,8 x 10 ³	Ausência

De acordo com Franco e Landgraf (2003) Bolores e Leveduras constituem-se como importantes agentes de deterioração de alimentos congelados, sucos de frutas, alimentos em conservas, dentre outros, quando estes armazenados em condições inadequadas, que aliada às características dos alimentos promove o crescimento desses microrganismos. Nesse contexto, vale mencionar que a água de coco apresenta uma baixa acidez, e umidade elevada, criando assim, um meio propício para o aparecimento de Bolores e Leveduras (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Conforme determinado pela IN 27 de 2009 a soma de Bolores e Leveduras em água de coco deve ser de no máximo 20 UFC/ml. Portanto, ao analisar os resultados encontrados no presente estudo, verifica-se que todas as amostras analisadas estão em desacordo com a legislação, ou seja, impróprias para o consumo. Assim como no presente estudo, Lima et al. (2014) também constataram que 100% das mostras analisadas estavam com contagens acima do permitido.

Não foi realizada a identificação dos Bolores e Leveduras observados nas amostras analisadas. No entanto, destaca-se que a deterioração do alimento pelas leveduras dificilmente irá comprometer a saúde humana, diferentemente dos fungos, visto que alguns possuem a capacidade de produzir micotoxinas, que quando ingeridas, podem desencadear uma série de efeitos prejudiciais à saúde humana (FRANCO; LANDGRAF, 2003; SANTOS; RIBEIRO, 2006; DILKIN; MALLMANN, 2004).

Com relação à *Salmonella sp.*, esse patógeno não foi identificado em nenhuma das amostras, em conformidade com estudo realizado por Dias et al. (2015) onde foi constatada a sua ausência em 100% das amostras de água de coco comercializadas por ambulantes em Vitória da Conquista, BA. No mesmo contexto, Almadas et al. (2009) não constataram a presença do microrganismo em água de coco comercializada em Currais Novos, RS, assim como Michelin et al. (2014) ao analisar amostras comercializadas em Araçatuba - SP. Contudo, em estudo realizado por Silva et al. (2017) foi verificado a presença de *Salmonella sp* em 12, 5% das amostras de água de coco comercializadas em Aracaju, SE.

A contaminação de água de coco por *Salmonella sp* é associada ao contato do coco com solo contaminado, transporte em carros com a presença de vetores ou armazenamento do fruto em locais próximos a criação de animais (FORTUNA; FORTUNA, 2008).

CONCLUSÃO

Diante dos achados, conclui-se que 100% das amostras estavam impróprias para o consumo, visto que todas apresentaram contaminação por Bactérias e Leveduras acima do recomendado pela legislação, além da contaminação por coliformes totais e termotolerantes, evidenciando a necessidade de adoção de medidas higiênico-sanitárias adequadas durante o processo de obtenção da água de coco.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. F. Avaliação e adaptação de sistema asséptico para obtenção de água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada em embalagens plásticas. 2005. 219 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ALMADAS, L. S.; DANTAS, A.V. SILVA, F. C. Qualidade microbiológica de águas de coco comercializada no município de Currais Novos/RN. *Holos*, v.3, p. 34-41, 2009.

ARAGÃO, W. M. **Fruto do coqueiro para consumo natural**. In: ARAGÃO, W.M. (Ed.). *Coco: pós-colheita*. Brasília: Embrapa, 2002. p.19-25.

ASSIS, J.S.; RESENDE, J.M.; SILVA, F.O.; SANTOS, C.R.; NUNES, F. Técnicas para colheita e pós-colheita do coco verde. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. 6 p. (Embrapa SemiÁrido. Comunicado Técnico, 95).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27, de 22 de julho de 2009. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade da água de coco. Brasília. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União. Brasília: 2001.

CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S.; MAKISHIMA, N. Fiber of green coconut shell as an agricultural substrate. *Horticultura Brasileira*, v. 20, n.4, p. 533-535, 2002.

DIAS, F. M. et al. Qualidade microbiológica da água de coco comercializada em carrinhos ambulantes, na região central do município de Vitória da Conquista, BA. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v.17, n.1, p.97-103, 2015.

DILKIN, P.; MALLMANN, C. A. Sinais clínicos e lesões causadas por micotoxinas. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 11., 2004. Anais... Piracicaba – SP: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004.

FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FORTUNA, D. B. S.; FORTUNA, J. L. Avaliação da qualidade microbiológica e higiênicosanitária da água de coco comercializada em carrinhos ambulantes nos logradouros do município de Teixeira de Freitas (BA). *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 32, n. 2, p. 203-217, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2003.

GOMES, N. W. S.; ARAÚJO, N. F. O.; MACEDO, J. M. Avaliação microbiológica da água de coco obtida por diferentes métodos de conservação no

município de Porto Velho, Rondônia. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 2, n. 2, p. 45-51, 2015.

HOFFMANN, F. L. et al. Qualidade microbiológica de amostras de água de coco vendidas por ambulantes na cidade de São José do Rio Preto-SP. *Revista Higiene Alimentar*, v.16, n.97, p.87-92, 2002.

LEITE, C. C.; SANT'ANNA, M. E. B.; SILVA, M. D.; ASSIS, P. N. SANTANA, L. R.R. Avaliação microbiológica da água de coco produzida e comercializada na cidade de Salvador, BA. *Revista Higiene Alimentar*, v. 14, n. 70. p. 64-66, 2000.

LIMA, S.A.J.; MACHADO, A.V.; CAVALCANTI, M.T.; ARAÚJO, A.S. Água de coco comercializadas no Sertão do Ceará e Paraíba: Imprópria ao consumo. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 9, n. 4, p. 21-26, 2014.

MICHELIN, A. F.; GARCIA, I. G.; MAURÍCIO, R. A.; BRONHARO, T. M.; ROWE, R. Avaliação microbiológica e físico-química da água de coco verde vendida no comércio ambulante. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz*, v.24, n.2, p.7-9, 2014.

NOLLA, A. C. CANTOS, G. A. Prevalência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos, Florianópolis, SC. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 6. 524-525 p. 2005.

SANTOS, J.; RIBEIRO, G. A. Avaliação microbiológica de sucos de laranja "in natura", comercializados na cidade de Pelotas, RS. *Revista Higiene Alimentar*, v. 20, n.147, p. 40-44, 2006.

SCHMIDT, F. L. et al. Boas práticas de fabricação e aplicação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento de água de coco. *Revista Higiene Alimentar*, v. 18, n. 121, p.65-76, 2004.

SEREJO, M.T.; NEVES, M.A.; BRITO, N.M. Qualidade microbiológica de água de coco (*Cocos nucifera*) comercializada por ambulante na cidade de São Luís – MA. V Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, **Anais ...**, Maceió, 2010.

SILVA, C.P.C. et al. Qualidade microbiológica de água de coco (*Cocos nucifera*) comercializadas no município de Aracaju, SE. *Interfaces Científicas*. v. 5, n. 3, p. 57-66, 2017.

SILVA, N. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4. ed. Varela: São Paulo, 2010.