

QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE SUCO DE LARANJA *IN NATURA* E ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS

Carla Adriana Santos

Graduada em Biomedicina Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE). Presidente Prudente - SP, Brasil.

Juliana Lourenço Avelino

Graduada em Biomedicina Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE). Presidente Prudente - SP, Brasil.

Gabrielle Messias Souza

Graduada em Biomedicina Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE). Presidente Prudente - SP, Brasil.

Lizziane Kretli Winkelstroter

Doutora em Ciências da Saúde, Docente permanente do Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Presidente Prudente - SP, Brasil.

RESUMO: O objetivo deste estudo foi analisar a qualidade microbiológica de suco de laranja *in natura* em Presidente Prudente (SP) e estabelecimentos comerciais. Foi avaliada a qualidade higiênico-sanitária do ambiente de trabalho mediante um *check-list* e a qualidade do suco de laranja por contagem em placa. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) com $p < 0,05$. A maioria dos estabelecimentos apresentou boas práticas de higiene adequadas. Não foi confirmada a presença de coliformes termotolerantes. Para os demais parâmetros microbiológicos foram observadas altas contaminações em algumas amostras de suco. As bactérias ácido-láticas (BAL's) apresentaram contagem entre 3,15 (dp=0,21) a 5,68 (dp=0,01) log UFC/mL, e sua avaliação inibitória foram satisfatórias, uma vez que conseguiram inibir *Escherichia coli* (15 a 27 mm) e *Listeria monocytogenes* (23 a 27 mm). A adoção de medidas de boas práticas de higiene, além da educação continuada dos manipuladores de alimentos, promove a redução da contaminação.

PALAVRAS-CHAVE: Análise de alimentos; Bacteriocinas; Higiene dos alimentos.

HYGIENE AND SANITARY QUALITY OF *IN NATURA* ORANGE JUICE AND COMMERCIAL ESTABLISHMENTS

ABSTRACT: Current paper analyzes the microbiological quality of *in natura* orange juice in Presidente Prudente, Brazil, and in commercial establishments. Hygiene and sanitary conditions of work environment was investigated through a check-list and the quality of orange juice was analyzed by plate counts for ANOVA results for non-parameter data (Kruskal-Wallis) at $p < 0.05$. Most commercial establishments had good hygiene practice and thermo-tolerant coliforms were not extant. There were, however, high contaminations in several juice samples. Acid-lactic bacteria had counts between 3.15(dp=0.21) and 5.68(dp=0.01) log CFU/mL. Inhibitory evaluation was satisfactory since their impaired *Escherichia coli* (15 - 27 mm) and *Listeria monocytogenes* (23 - 27mm). Good practice in hygiene and continued education by food handlers cause a reduction of contamination.

KEY WORDS: Food hygiene; Bacteriocins; Food analysis.

Autor correspondente:

Lizziane Kretli Winkelstroter
lizzianekretli@gmail.com

Recebido em: 25/08/2019

Aceito em: 09/10/2019

INTRODUÇÃO

O suco de laranja *in natura* é bastante consumido pela população brasileira por apresentar um sabor agradável e ser rico em ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides, fibras, folatos, flavanonas como hesperidina e naringina¹. Além disso, dados do *United States Department of Agriculture (USDA)* sugerem que o Brasil é o maior produtor mundial de frutas cítricas e assume este posto desde a década de 1980^{1,2}.

Vários benefícios são relatados em relação ao consumo do suco de laranja, como, por exemplo, os antioxidantes presentes que possuem ação importante na prevenção de algumas doenças por combaterem os radicais livres.³ Além disso, foi demonstrada uma melhora no perfil lipídico, com uma redução tanto do LDL-colesterol quanto do colesterol total³.

Apesar das vantagens no consumo do suco de laranja *in natura*, este produto pode resultar em Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)⁷⁻⁸. Atualmente, as DTA são um problema de saúde pública⁹⁻¹⁰. Foram registrados cerca de 250 diferentes tipos de agentes causadores.⁷⁻¹⁰ De acordo com dados da Vigilância Epidemiológica, os agentes etiológicos mais identificados nos surtos por estas doenças foram do tipo bactérias (95,9%), principalmente a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*. A região Sudeste apresentou o maior número de casos notificados seguida pela região Nordeste⁹⁻¹¹. No período de 2008 a 2010, a região de Presidente Prudente (SP) demonstrou uma baixa frequência de DTA se comparada com outras regiões, apresentando um total de 7 surtos e 181 casos notificados. Isso pode ser justificado devido ao fato de que muitos destes surtos não são notificados oficialmente e também devido à inespecificidade dos sintomas como náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia¹¹.

O preparo deste alimento apresenta alguns pontos críticos que favorecem a transmissão destas doenças como, por exemplo, a presença de um manipulador doente ou portador assintomático de micro-organismos patogênicos, hábitos higiênicos inadequados, equipamentos e utensílios com higienização deficiente, armazenamento e preparo incorreto dos alimentos^{4,5}. Apesar da laranja, naturalmente, não apresentar

contaminante no seu interior, a parte externa do fruto possui uma microbiota que pode estar correlacionada diretamente com as condições higiênico-sanitárias e ao manuseio da fruta desde a sua colheita, quando encontrada no suco⁶.

A deterioração dos alimentos pode gerar um grande impacto na indústria de alimentos, uma vez que qualquer alteração sensorial (tátil, visual, olfativo ou sabor) resulta na não aceitação por parte do consumidor e pode levar à redução do tempo de prateleira do produto¹². A deterioração pode ocorrer em qualquer fase do processamento dos alimentos e pode surgir devido a danos físicos, a atividade enzimática ou por contaminação bacteriana, sendo esta última considerada a principal causa^{12,13}.

Devido à característica ácida do suco de laranja alguns micro-organismos deteriorantes são mais comumente isolados como as bactérias ácido-láticas (BAL) e bolores e leveduras¹⁴. As BAL são Gram-positivas, em forma de bastonetes ou cocos, geralmente não móveis, catalase negativa, não esporulada, aeróbios, microaerófilos ou anaeróbios facultativos, que incluem 11 gêneros, entre eles estão os *Lactobacillus* spp. e *Leuconostoc* spp^{14,15}.

Apesar das BAL serem deteriorantes, em certas condições são produtoras de ácido láctico e outros metabólitos secundários que podem atuar de forma benéfica nos alimentos¹⁴. Várias destas bactérias exercem atividade probiótica e possuem ação contra agentes patogênicos e outros deteriorantes. As BAL também são reconhecidas pela sua capacidade de biopreservação, atuando como culturas *starter* e por favorecerem os aspectos sensoriais dos alimentos como sabor e textura. Vários trabalhos isolaram BAL em amostras de leite e queijo, e as mesmas apresentaram ação inibitória frente a bactérias patogênicas como *Listeria* spp., *Salmonella* spp. e bactérias do grupo coliforme^{14,15}.

Desta maneira, é fundamental o conhecimento dos principais pontos de contaminação durante o processamento dos alimentos para garantir a qualidade microbiológica e a segurança alimentar para o consumidor. Além disso, estudos para identificação de micro-organismos bacteriocinogênicos são relevantes na determinação de potenciais estratégias na

biopreservação dos alimentos. Este estudo tem como objetivo analisar a qualidade microbiológica de amostras de suco de laranja *in natura* e estabelecimentos comerciais da cidade de Presidente Prudente (SP), Oeste paulista.

METODOLOGIA

Foram obtidas 30 amostras de suco de laranja *in natura* em 10 estabelecimentos comerciais da cidade de Presidente Prudente (SP), Brasil, no período de 2018 a 2019. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados, e sob refrigeração, transportadas ao laboratório de análise de alimentos da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. Durante a coleta foi preenchido um *check-list* contendo 10 critérios para avaliação da qualidade higiênico-sanitária por meio da observação do estabelecimento¹⁶.

Em seguida, foi realizada a análise físico-química por meio da determinação do pH em uma alíquota das amostras do suco com o auxílio de um pHmetro digital de bancada (Quimis modelo Q400AS).

As análises microbiológicas foram realizadas segundo *American Public Health Association (APHA)*¹⁷, *Food and Drug Administration*¹⁸. Para a quantificação dos micro-organismos foram utilizados 25 ml de cada amostra de suco. Esta alíquota foi adicionada a 225 ml de solução salina e posteriormente homogeneizados, obtendo-se assim a diluição de 10¹. A partir desta diluição, foram realizadas diluições seriadas até 10⁵. Alíquotas de 0,1 ml das diluições decimais foram semeadas na superfície do meio ágar padrão de contagem (PCA) e incubadas a 37 °C por 24-48 horas para contagem de aeróbios mesófilos. Para contagem de bolores e leveduras, 0,1 ml de cada diluição foi semeada em ágar batata dextrose (PDA) e, em seguida, incubadas a 25 °C por 24-48 horas^{17,18}.

As mesmas diluições utilizadas para pesquisa de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos foram utilizadas para verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes. Alíquota de 1 mL de cada diluição foi transferida para uma série de três tubos contendo caldo Verde Brillante com tubos de Durham invertidos e incubados a 37 °C por 24 horas para determinação de coliformes totais. Também foram transferidos 1 mL das

diluições para três tubos contendo caldo *Escherichia coli* (E. C.), meio confirmatório para coliformes termotolerantes e incubados a 45 °C por 24 horas. A positividade do teste foi observada pela turvação do meio e produção de gás no interior dos tubos de Durham. Os resultados foram expressos em Número Mais Provável por mL (NPM/mL).

Para isolamento de bactérias lácticas, 0,1 ml das diluições foram semeadas em ágar Man, Rogosa e Sharp (MRS). Posteriormente foram incubadas em jarras de anaerobiose, contendo gerador de atmosfera de CO₂, em estufa a 30 °C por 24-48 horas¹⁸. De cada amostra, foram selecionadas cerca de 10 colônias de coloração branca. As colônias foram caracterizadas pelo teste de catalase e coloração de Gram. Foram selecionadas aquelas correspondentes a bacilos Gram-positivos e catalase negativa.

As bactérias selecionadas foram inoculadas em caldo MRS (30 °C/24h) para realização do teste de antagonismo *spot on the lawn* conforme Gutiérrez-Cortés *et al.*¹⁹, com modificações. Uma alíquota de 10 µL foi semeada na superfície do ágar MRS e em seguida incubada a 30 °C/24h em aerobiose para formação dos botões de crescimento. Posteriormente, foi adicionada uma sobrecamada do meio BHI semissólido inoculado com 500 µL de uma cepa indicadora (*E. coli* ATCC® 25922 e *L. monocytogenes* ATCC® 19115). A formação do halo de inibição foi observada após incubação 37 °C/24-48h em aerobiose.

A quantificação bacteriana com semeadura em superfície de placa foi realizada em triplicata e expressa em log UFC/mL. O número de coliformes totais e termotolerantes foi obtido na tabela de Número Mais Provável (NMP), baseado no número de tubos positivos do caldo Verde Brillante (VB) e de caldo *Escherichia coli* (EC) respectivamente, sendo os resultados expressos em NMP/mL. Foi realizada a análise estatística utilizando o programa Graphprism 5.0® e os resultados submetidos a análise de variância (ANOVA) para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) seguido de teste *a posteriori* de comparações múltiplas (Dunn). Foram considerados níveis descritivos do teste p < 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O suco de laranja *in natura* processado manualmente possui um tempo de prateleira reduzido, uma vez que não é submetido a processo de preservação como a pasteurização e adição de conservantes. Este fato favorece a contaminação por micro-organismos que pode ocorrer basicamente devido às condições higiênico-sanitárias precárias²⁰.

A verificação das condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos e dos funcionários que manipulam alimentos é de grande relevância para a obtenção de um produto final de boa qualidade e livre de contaminantes. Neste estudo foram observados alguns critérios para avaliação da qualidade higiênico-sanitária durante a obtenção das amostras de suco de laranja para análise, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação higiênico-sanitária de forma qualitativa por meio de um *check-list* do manipulador e do ambiente de trabalho em estabelecimentos que foram obtidos os sucos de laranja *in natura* para análise, na cidade de Presidente Prudente (SP), Brasil

	Sim		Não	
	n	%	n	%
Faz uso de touca para os cabelos	4	40	6	60
Possui unhas curtas, limpas e sem esmalte	6	60	4	40
Uso de brincos, anéis, broches, pulseiras e outros acessórios enquanto estiver preparando os alimentos	3	30	7	70
Evita atitudes impróprias no preparo dos alimentos (tossir, espirrar, conversar e outros)	8	80	2	20
Uso do uniforme/avental exclusivamente durante a manipulação de alimentos	2	20	8	80
Os recipientes de lixo são conservados tampados, limpos e afastados dos alimentos	6	60	4	40
Há animais em contato com os alimentos ou no local de manipulação de alimentos	2	20	8	80
O suco é preparado próximo ao horário de servir	6	60	4	40
Os canudos possuem embalagem protetora (LC nº 298/13)	7	70	3	30
O manipulador foi o mesmo que recebeu o dinheiro	5	50	5	50

Após a aplicação do *check-list*, observou-se que dentre os itens em desacordo com a legislação, destaca-se que 60% dos funcionários não faziam o uso de touca para cabelo, 80% não utilizavam uniforme/aventais durante o preparo do suco e, em metade dos estabelecimentos, o manipulador também era responsável pelo recebimento do pagamento. Entretanto, alguns resultados foram bastante satisfatórios: 70% dos estabelecimentos possuíam embalagens protetoras para canudos, 60% dos manipuladores estavam com as unhas limpas, curtas e sem a presença de esmaltes, 70% não utilizavam adornos, 80% evitavam atitudes impróprias durante o preparo e 80% dos estabelecimentos não demonstravam a presença de animais no local.

As boas práticas de higienização previnem a contaminação do suco e contribuem para a redução da incidência das DTA. Em um estudo realizado por Silveira e Bertagnolli²¹, foi ressaltado que as condições higiênico-sanitárias inadequadas durante a manipulação do suco de laranja, tais como a falta de higiene pessoal do manipulador, o estado em que se encontram os equipamentos para a preparação, o nível de contaminação da superfície da fruta, copos e canudos utilizados para servi-lo podem alterar a qualidade microbiológica do produto final.

O treinamento e a conscientização do manipulador de alimentos foram fundamentais para evitar a contaminação cruzada, assim como a implementar o sistema HACCP (Análise de Perigos e Controle de Pontos Críticos) em lanchonetes com baixa qualidade higiênico-sanitária²². A contaminação dos sucos de laranja pode estar relacionada com a falta de preparo dos manipuladores, sua higiene pessoal e o armazenamento inadequado do produto²³. Ruschel *et al.*²³ observaram que as altas contaminações do suco de laranja foram associadas à falta de controle sanitário de pessoal e de equipamentos durante a fabricação de sucos de laranja engarrafados não pasteurizados²³. Em estudo realizado por Sales *et al.*⁶ concluiu-se que o manipulador era o principal ponto de contaminação durante o processamento dos alimentos, principalmente devido à falta de higiene das mãos.

Com relação ao pH das amostras de suco de laranja, houve uma variação de 3,40 a 4,20 com média geral de 3,71. Esta variação pode estar relacionada com

o tipo de laranja utilizada no preparo do suco, por exemplo, a laranja Bahia apresenta um pH mais ácido (3,20), assim como as laranjas pêra, natal e valência (3,53 a 3,66), entretanto a laranja lima apresenta um pH mais alcalino (5,43). O meio ácido e a presença do açúcar natural nos sucos cítricos limita a sobrevivência de diversos micro-organismos deteriorantes e patogênicos. É importante ressaltar que estas são condições que propiciam a sobrevivência e multiplicação das BAL e bolores/leveduras²⁴.

Vários micro-organismos são contaminantes comuns de alimentos, como a *Salmonella* spp., *Shigella* spp., coliformes totais e termotolerantes⁷⁻¹⁰. O grupo de coliformes totais são da família *Enterobacteriaceae*, bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, fermentadores de lactose com produção de gás a 35 °C em 24-48 horas podendo ser aeróbios ou anaeróbios facultativos. Os coliformes termotolerantes se diferenciam por fermentarem a lactose com produção de gás em 24 horas a 44,5-45,5°C. Além disso, despertam a atenção devido à capacidade de causarem doenças em pessoas imunocomprometidas e por serem indicadores de possível contaminação fecal²⁴.

A Resolução RDC nº 12²⁵ estabelece que para sucos e refrescos *in natura*, incluindo água de coco, caldo de cana, açaí e similares, isolados ou em misturas, o máximo tolerado para coliformes termotolerantes a 45 °C/mL é de 10² NMP/mL. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 2), todas as amostras estavam de acordo com o estabelecido na legislação, uma vez que não foi observada a presença de coliformes termotolerantes. Por outro lado, algumas amostras apresentaram alta contaminação por coliformes totais (10³ NMP/mL). A contaminação por esses micro-organismos não apresenta um risco potencial à saúde do consumidor, porém indicam a necessidade da implementação de boas práticas de higiene e sua monitorização²⁰. Dias, Figueredo, Souza e Santana²⁶ mostraram que 20% das amostras de água de coco apresentaram valores de contagem de coliforme termotolerantes acima do preconizado pela legislação.

De acordo com APHA¹⁷, o limite estabelecido para a presença de aeróbios mesófilos em suco de laranja é de 10⁴ UFC/mL. No presente estudo, cerca de 40% das amostras apresentaram crescimento de 10⁵ UFC/mL. A

alta contagem destes micro-organismos em amostras de alimentos indica que houve uma manipulação e/ou armazenamento inadequado. Ressalta-se que a grande maioria das bactérias causadoras de DTA são mesófilas. As altas concentrações encontradas não significam a presença de bactérias patogênicas, entretanto indicam que houve condições apropriadas para que se multiplicassem naquele ambiente²⁴.

Até o final do ano de 2000, a Portaria nº 451²⁷ permitia a presença de até 10⁴ UFC/mL de bolores e leveduras em amostras de suco, porém atualmente não existem parâmetros para este tipo de contagem na legislação. Mesmo sem padrão estabelecido, a presença de bolores/levedura são indicadores importantes para a garantia das boas práticas de higiene a fim de promover a saúde e o bem-estar do consumidor, além de aumentar o tempo de prateleira do produto. Neste trabalho foram observadas contagens $\geq 10^5$ UFC/mL para a presença de bolores e leveduras em 57% das amostras. Estes valores chamam a atenção uma vez que o valor máximo na legislação anterior era 10⁴ UFC/mL^{25,27}.

Assim como os resultados aqui apresentados, vários trabalhos demonstraram altas contagens para bolores e leveduras em amostras de suco. Barros et al.²⁰ demonstraram uma variação de 10³ a 10⁶ UFC/mL para contagens de bolores e leveduras em amostras de suco de laranja *in natura*. Ruschel et al.²¹ encontraram alta contagem de bolores e leveduras sendo que 44,23% de um total de 52 amostras de suco de laranja apresentaram níveis inapropriados.

Comparando os dez estabelecimentos, foi observado que o estabelecimento B apresentou os menores níveis de contaminação para bolores/leveduras e aeróbios mesófilos ($p < 0,05$). Entretanto, os itens do formulário utilizado para avaliação das condições higiênico-sanitárias daquele estabelecimento quanto aos funcionários demonstraram que vários itens estavam em desacordo, como por exemplo, o manipulador não possuía unhas curtas ou limpas, fazia o uso de adornos durante o preparo do suco, não fazia o uso de avental/uniforme, os canudos não possuíam embalagem protetora, e, além disso, o suco não era preparado próximo ao horário de servir. Apesar das condições microbiológicas do produto estarem em níveis aceitáveis, uma maior monitorização

e fiscalização devem ser dadas às instalações e aos funcionários para que reduzam os riscos de contaminação do produto fornecido ao consumidor.

Além de causarem deterioração nos alimentos, as BAL podem ser potencial probiótico e também serem aplicadas na biopreservação de alimentos. Em um estudo feito por Lavinias *et al.*²⁷ realizaram avaliação microbiológica de sucos *in natura* de 30 kg de caju, e não detectaram a presença de BAL. No presente trabalho foram encontradas contagens entre 3,15 (dp = 0,21) a 5,68 (dp = 0,01) log UFC/mL conforme demonstrado na Tabela 2.

No presente trabalho foram selecionadas 42 colônias características para realização de teste de antagonismo. Todas apresentaram algum efeito inibitório frente a *E. coli* ATCC® 25922 (halos de 15 a 27 mm de diâmetro) e apenas as cepas CJ01, CJ26, CJ34, CJ39 e CJ41 apresentaram efeito contra *L. monocytogenes* ATCC® 19115 (halos de 23 a 27 mm de diâmetro).

A ausência de inibição frente a *L. monocytogenes* por alguns isolados pode ser explicada devido ao tipo de substância antimicrobiana produzida por estas bactérias lácticas. As bactérias lácticas podem produzir diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, acetaldeído e bacteriocinas²⁹. As bacteriocinas são peptídeos, termoestáveis e possuem ação antimicrobiana, podendo inibir patógenos Gram-positivos, leveduras e alguns Gram-negativos. As bacteriocinas produzidas por BAL são classificadas em quatro grandes grupos (Classe I a IV) e a maioria delas apresenta em comum o mesmo mecanismo de ação: formação de poros na membrana plasmática com dissipação da força próton motora (FPM), com modificações no potencial de membrana e no gradiente de concentração de H⁺ e na redução do transporte de aminoácidos. A sensibilidade às bacteriocinas pode variar de acordo com a espécie bacteriana e o ambiente. Possivelmente, no presente estudo os cinco isolados com ação inibitória frente a *L. monocytogenes* produziam bacteriocina da classe IIa, uma vez que são peptídeos ativos com alta especificidade contra esse gênero de bactéria²⁹⁻³⁰.

CONCLUSÃO

A maioria dos estabelecimentos estava em conformidade com as boas práticas de higiene e infraestrutura do local, todavia, uma maior fiscalização e treinamento dos manipuladores ainda são necessários para a garantia de produtos de boa qualidade e sem contaminação. Todas as contagens microbiológicas das amostras estavam dentro do preconizado pela legislação, contudo, os altos índices de aeróbios mesófilos e coliformes totais ressaltam a necessidade de investigação dos pontos críticos de manipulação destes alimentos.

Os dados deste trabalho são promissores na busca de alternativas para a prevenção da contaminação dos alimentos por micro-organismos patogênicos e deteriorantes, entretanto, uma maior investigação deve ser realizada com a finalidade de garantir a segurança do uso destes isolados, assim como a sua eficácia. O possível isolamento de BAL com potencial ação bactericida é animador, uma vez que novas estratégias devem ser aplicadas e adotadas na biopreservação dos alimentos. Entretanto, estudos moleculares são necessários para confirmação da espécie e caracterização da substância com ação inibitória.

Tabela 2. Tabela evidenciando a contagem de micro-organismos nas trinta amostras coletadas dos diferentes dez estabelecimentos

Amostra/Estabec.	Aeróbios Mesófilos (log UFC/mL**)	Bactérias Lácticas (log UFC/mL**)	Bolores e leveduras (log UFC/mL**)	Coliformes totais (NMP/mL***)	Coliformes termotolerantes (NMO/mL***)
1A	4,31 (dp=0,03)	4,62 (dp=0,12)	5,08 (dp=0,08)	1,1x10 ³	< 3,0
2A	4,71 (dp=0,01)	4,12 (dp=0,05)	5,10 (dp=0,01)	1,1x10 ³	< 3,0
3A	4,20 (dp=0,04)	4,75 (dp=0,01)	4,44 (dp=0,10)	1,1x10 ³	< 3,0
4B	3,68 (dp=0,12)g	3,65 (dp=0,03)	3,56 (dp=0,18)i	1,1x10 ³	< 3,0
5B	3,68 (dp=0,05)g	3,59 (dp=0,24)	3,59 (dp=0,01)i	1,1x10 ³	< 3,0
6B	3,65 (dp=0,12)g	*	3,63 (dp=0,21)i	4,6x10 ²	< 3,0
7C	4,33 (dp=0,12)	4,78 (dp=0,08)	4,33 (dp=0,06)	1,1x10 ³	< 3,0
8C	4,33 (dp=0,12)	4,72 (dp=0,16)	4,25 (dp=0,04)	> 1,1x10 ³	< 3,0
9C	4,38 (dp=0,02)	4,79 (dp=0,07)	4,23 (dp=0,00)	> 1,1x10 ³	< 3,0
10D	5,15 (dp=0,52)	5,14 (dp=0,15)	4,09 (dp=0,13)	1,1x10 ³	< 3,0
11D	3,15 (dp=0,21)	3,80 (dp=0,19)	4,23 (dp=0,14)	1,1x10 ³	< 3,0
12D	*	3,54 (dp=0,03)	3,35 (dp=0,17)	7,3	< 3,0
13E	5,18 (dp=0,13)	4,85 (dp=0,25)	4,15 (dp=0,04)	1,1x10 ³	< 3,0
14E	4,23 (dp=0,06)	4,40 (dp=0,04)	3,67 (dp=0,07)	1,1x10 ³	< 3,0
15E	5,18 (dp=0,04)	4,28 (dp=0,05)	6,20 (dp=0,10)	> 1,1x10 ³	< 3,0
16F	3,88 (dp=0,21)	3,88 (dp=0,25)	4,10 (dp=0,04)	> 1,1x10 ³	< 3,0
17F	3,23 (dp=0,16)	*	*	> 1,1x10 ³	< 3,0
18F	3,78 (dp=0,07)	3,84 (dp=0,09)	3,90 (dp=0,06)	4,6x10 ²	< 3,0
19G	5,37 (dp=0,14)	5,65 (dp=0,05)	5,37 (dp=0,36)	7,3	< 3,0
20G	5,29 (dp=0,10)	5,76 (dp=0,09)	5,16 (dp=0,02)	3,6	< 3,0
21G	5,68 (dp=0,01)	5,69 (dp=0,07)	5,33 (dp=0,08)	< 3	< 3,0
22H	4,02 (dp=0,02)	4,33 (dp=0,07)	4,38 (dp=0,02)	> 1,1x10 ³	< 3,0
23H	4,02 (dp=0,03)	4,31 (dp=0,15)	4,32 (dp=0,10)	> 1,1x10 ³	< 3,0
24H	4,09 (dp=0,14)	4,40 (dp=0,08)	4,82 (dp=0,25)	> 1,1x10 ³	< 3,0
25I	3,23 (dp=0,24)	6,09 (dp=0,09)	6,04 (dp=0,02)	> 1,1x10 ³	< 3,0
26I	4,24 (dp=0,03)	5,33 (dp=0,10)	5,37 (dp=0,10)	> 1,1x10 ³	< 3,0
27I	4,36 (dp=0,01)	5,32 (dp=0,12)	5,92 (dp=0,33)	4,6x10 ²	< 3,0
28J	3,84 (dp=0,58)	4,19 (dp=0,10)	4,28 (dp=0,06)	2,3X10 ¹	< 3,0
29J	5,01 (dp=0,23)	4,94 (dp=0,05)	4,75 (dp=0,05)	4,3X10 ¹	< 3,0
30J	4,82 (dp=0,08)	4,28 (dp=0,20)	4,80 (dp=0,26)	2,4X10 ²	< 3,0

*Valor abaixo do limite de detecção;

**UFC/ml: Unidades Formadoras de Colônias por ml;

***NMP/ml: Número Mais Provável por ml.

g Contagem estatisticamente diferente daquelas encontradas no estabelecimento G (p < 0,05).

i Contagem estatisticamente diferente daquelas encontradas no estabelecimento I (p < 0,05).

REFERÊNCIAS

1. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Citros [Internet]. 2015 [acesso em 2015 nov 04]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/citros>
2. United States Department of Agriculture. Citrus: world markets and trade [Internet] Julho - 2017. [Acesso em 2018 jul 07] Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>
3. Dourado GKZS, Cesar TB. Investigation of cytokines, oxidative stress, metabolic, and inflammatory biomarkers after orange juice consumption by normal and overweight subjects. *FNR*. 2015; 62(59): 1-8.
4. Food Safety. How government responds to food illness outbreaks [Internet]. Nov - 2015. [Acesso em 2018 jul 07]. Disponível em: <http://www.foodsafety.gov/poisoning/responds/>
5. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema de produção de citros para o nordeste [Internet]. Nov - 2018. [Acesso em 2018 nov 02]. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/colheita.htm>
6. Sales WB, Caveião C, Grillo FR, Ravazzani EDA, Vasco JFM. Presença de coliformes totais e termotolerantes em sucos de frutas cítricas. *Rev. Saúde e Desenvolvimento*. 2016; 9(5):106-18.
7. Center for Disease Control and Prevention. Foodborne germs and illnesses [Internet]. Nov - 2015. [Acesso em 2018 nov 27]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>.
8. Food And Drug Administration. Foodborne Illnesses: What you need to know [Internet]. Nov - 2015. [Acesso em: 2018 nov 27]. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm103263.htm>.
9. Food Safety Brazil. Surtos alimentares no Brasil - dados atualizados em Maio de 2018 [Internet]. 2018. [Acesso em 2018 set 07]. Disponível em: <http://foodsafetybrazil.org/surtos-alimentares-no-brasil-dados-atualizados-em-maio-de-2017/>
10. Dias JN, Fontinele LL, Machado SMO, Oliveira JS, Ferreira GP, Pereira ACTC. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de leite cru e queijo coalho comercializados em mercados públicos no norte do Piauí. *Revista Saúde e Pesquisa* 2015;8(2):277-84.
11. Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil [Internet]. 2018. [Acesso em 2018 set 07]. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>
12. Malhotra B, Keshwani A, Kharkwal H. Antimicrobial food packaging: potential and pitfalls. *Front. Microbiol.* 2015;16(6): -9.
13. Rawat S. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian J. Plant Sci. Res.* 2015;5 4):47-56.
14. Raimundo É, Krüger RL, Di Luccio MA, Cichoski J. Cor, viscosidade e bactérias lácticas em suco de laranja pasteurizado e submetido ao efeito da luz durante o armazenamento. *Alim. Nutr. Araraquara*. 2007; 18(4): 449-56.
15. Sarika AR, Lipton AP, Aishwarya MS. Biopreservative Efficacy of Bacteriocin GP1 of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 on Stored Fish Filets. *Front Nutr.* 2019; 6:1-7.
16. BRASIL. Código de Posturas do Município de Piracicaba. Lei Complementar n. 298, de 26 de Junho de 2013. Altera e acrescenta dispositivos ao Capítulo V, do Título II, da Lei Complementar nº 178/06, que “dispõe sobre a consolidação da legislação que disciplina o Código de Posturas do Município de Piracicaba” [Internet]. Piracicaba; 2013. [Acesso em 2018 set 27]. Disponível em: <http://siave.camarapiracicaba.sp.gov.br/arquivo?id=225462>
17. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods [Internet]. 4ª ed. Washington, D.C: APHA PRESS; 2015. [Acesso em 2018 nov 27]. Disponível em: <https://ajph.aphapublications.org/doi/book/10.2105/MBEF.0222>

18. Food And Drug Administration. Bacteriological analytical manual. 8. ed. Arlington, Virginia: AOAC International; 1998. [Acesso em 2018 nov 27]. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/foodscience-research/laboratorymethods/ucm2006949.htm>
19. Gutiérrez-Cortés C, Suarez H, Buitrago G, Nero LA, Todorov SD. Enhanced Bacteriocin Production by *Pediococcus pentosaceus* 147 in Co-culture With *Lactobacillus plantarum* LE27 on Cheese Whey Broth. *Front Microbiol.* 2018; 9:2952.
20. Barros DF, Bento GSM, Scarance LMN, Andrade VDO, Matias ACG, Abreu ES. Avaliação microbiológica do suco de laranja in natura comercializado em via pública na zona central de São Paulo-SP. *Rev. Univap.* 2015; 21(37):50-6.
21. Silveira MLR, Bertagnolli SMM. Avaliação microbiológica e das condições higiênico-sanitárias de comercialização de sucos de laranja in natura. *Alim. Nutr.* 2012; 23(3):461-66.
22. Figueredo PP, Silva CMF, Linhares VC, Passos XS, Antunes MJC. Condições higiênico-sanitárias no preparo de suco de laranja em lanchonetes comerciais de Goiânia, GO. *Rev Inst Ciênc Saúde.* 2009; 27(4):374-7.
23. Ruschel CK, Carvalho HH, Souza RB, Tondo EC. Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre/RS. *Cienc Tecnol Aliment.* 2001; 21(1):94-7.
24. Tortora GJ. *Microbiologia.* 12ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2017.
25. BRASIL. ANVISA. Resolução-RDC n. 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos [Internet]. Anvisa; 2001. [Acesso em 2018 set 27] Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b
26. Dias FM, Figueredo FM, Souza JM, Santana CMP. Qualidade microbiológica da água de coco comercializada em carrinhos ambulantes, na região central do município de Vitória da Conquista, BA. *Rev. Bras. Prod. Agroind.* 2015; 17(1):97-103.
27. BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 451, de 19 de Setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos [Internet]. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde; 1997. [Acesso em 2018 set 28] Disponível em: <http://oads.org.br/leis/1337.pdf>
28. Lavinias FC, Almeida NC, Miguel MAL, Lopes MLM, Valente-Mesquita V L. Estudo da estabilidade química e microbiológica do suco de caju in natura armazenado em diferentes condições de estocagem. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2006; 26(4):875-83.
29. Ogaki MB, Furlaneto MC, Maia, LF. Revisão: Aspectos gerais das bacteriocina. *Braz. J. Food Technol.* 2015; 18(4):267-76.
30. Todorov SD, de Paula OAL, Camargo AC, Lopes DA, Nero LA. Combined effect of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST8SH and vancomycin, propolis or EDTA for controlling biofilm development by *Listeria monocytogenes*. *Rev. argent. microbiol.* 2018; 50(1):48-55.