Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.16, n.3, p.255-264, 2014
ISSN: 1517-8595


# INFLUÊNCIA DO TEOR ALCOÓLICO NA SOBREVIVÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* EM SIMULADOS DE BEBIDAS ALCOÓLICAS

**Samantha Pereira Nunes[1], Luciano José Quintão Teixeira[2], Gisela Benatti Silva[3], Patrícia Campos Bernardes[4], Salatir Rodrigues Júnior[5]**

## *RESUMO*

A sensibilidade dos microrganismos ao álcool é uma característica muito importante na conservação de bebidas alcoólicas. Muitas bebidas alcoólicas têm o álcool como o seu único agente de conservação. Deste modo, é importante conhecer se o efeito do álcool, juntamente com a concentração de açúcar presente nessas bebidas, é suficiente para garantir a ausência de microrganismos patogênicos nesses produtos. O objetivo desse estudo foi analisar o efeito de diferentes concentrações de açúcar e álcool em simulados de bebidas alcoólicas na sobrevivência de *Staphylococcus aureus* estocados a temperatura ambiente por até 30 dias. Com os resultados deste trabalho foi possível concluir que o *Staphylococcus aureus* se mostrou muito sensível ao álcool, sendo que pequenas concentrações de álcool e açúcar (5 % de álcool e 3 % de açúcar) já foram suficientes para inativar uma contagem de até 1,0 x $10^6$ ufc/mL. Um período de tempo de 36 horas foi suficiente para redução de 2,1 ciclos logaritmos na concentração de *Staphylococcus aureus* e em 48 horas uma redução de 6 ciclos logaritmos quando inoculados em licor de banana com teor alcoólico de 5 % e concentração de açúcar de 30 %.

**Palavras-chave:** Simulados de bebidas alcoólicas, teor alcoólico, *Staphylococcus aureus*.

# INFLUENCE OF ALCOHOL CONTENT ON *Staphylococcus aureus* SURVIVAL IN SIMULATED ALCOHOLIC BEVERAGE

## *ABSTRACT*

The microorganisms sensitivity to alcohol is a very important feature on the retention of alcoholic beverages. Many alcoholic beverages use alcohol as their only conservation agent. Therefore, it is important to know if the effect of the alcohol, jointly with the sugar concentration present in these drinks, is enough to ensure the absence of pathogenic microorganisms in these products. The purpose of the present study was to analyze the effect of different concentrations of sugar and ethanol in simulated alcoholic beverages on the survival of *Staphylococcus aureus* storage at room temperature for up to 30 days. According to the results from this study, it was concluded that *S. aureus* showed itself very sensitive to alcohol, and small concentrations of alcohol and sugar (5% alcohol and 3% sugar) has been sufficient to inactivate a count up to 1.0 x $10^6$ cfu/mL. A 36 hours period was sufficient to a 2.1 cycles logarithm reduction in the concentration of *Staphylococcus aureus* and a decrease of 6 logarithms cycles in 48 hours, when inoculated into banana liqueur with an alcohol content of 5% and sugar concentration of 30 %.

**Keywords:** simulated alcoholic beverage, alcohol content, *Staphylococcus aureus*.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

Protocolo 15 2013 21 de 15/05/2013
[1] Mestranda em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, s/n, Caixa Postal 16, Guararema, Alegre, ES, BRASIL. CEP: 29500-000. E-mail: samanthapnunes@hotmail.com. Telefone: (28) 8116-1944.
[2] Prof. Doutor do Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, s/n, Caixa Postal 16, Guararema, Alegre, ES, BRASIL. CEP: 29500-000. E-mail: samanthapnunes@hotmail.com. Telefone: (28) 8116-1944.
[3] Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, s/n, Caixa Postal 16, Guararema, Alegre, ES, BRASIL. CEP: 29500-000. E-mail: gibenatti@hotmail.com. Telefone: (28) 8112-2106.
[4] Prof. Doutor do Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, s/n, Caixa Postal 16, Guararema, Alegre, ES, BRASIL. CEP: 29500-000. E-mail: samanthapnunes@hotmail.com. Telefone: (28) 8116-1944.
[5] Prof. D-III no IFSP, Av. Prof. Celso Ferreira da Silva, 1333, Avaré/SP. CEP 18107-150. Email: salatir@gmail.com. Telefone: (14) 3711-1467.

## *INTRODUÇÃO*

As bebidas alcoólicas são de origens tão antigas quanto a humanidade e numerosas como suas etnias. Elas foram mencionadas por vários povos da antiguidade, como fenícios, assírios, babilônios, hebreus, egípcios, germanos, gregos e romanos, e cada povo tinha suas próprias fontes naturais de açúcares e amiláceos, como frutas, cana, milho, trigo, arroz, batata, centeio, cevada, aveia e mesmo raízes e folhas (Aquarone et al., 1993).

Segundo Venturini (2010), o álcool após a sua descoberta e obtenção, por volta do século X, foi utilizado pelo homem em misturas com vegetais para fins medicinais. Essas misturas eram de consumo restrito a determinadas classes sociais e que, devido as suas qualidades sensoriais, como aroma e sabor, estimularam a generalização de seu uso.

Segundo a legislação brasileira, bebida alcoólica é a bebida com graduação alcoólica acima de meio e até cinquenta e quatro por cento em volume, expressa em porcentagem de volume de álcool etílico, à temperatura de vinte graus Celsius (Brasil, 1997).

Os microrganismos são muito sensíveis ao álcool. Bebidas fermentadas atingem a esterilidade comercial aproximadamente a 16 °GL. O teor alcoólico da cerveja está situado em valores próximos a 5 °GL. Dessa forma, para garantir a conservação da cerveja, é realizada uma combinação de álcool com pasteurização. Vale ressaltar que o uso de $CO_2$ também auxilia na conservação da cerveja (Texeira, 2004).

Por outro lado, existem algumas bebidas alcoólicas como licores, coquetéis, batidas e hidromel, que têm o álcool como um dos seus únicos agentes de conservação.

Licor é a bebida com graduação alcoólica de quinze a cinqüenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, e um percentual de açúcar superior a trinta gramas por litro, elaborado com álcool etílico potável de origem agrícola, ou destilado alcoólico simples de origem agrícola ou bebidas alcoólicas, adicionadas de extrato ou substâncias de origem vegetal ou animal, substâncias aromatizantes, saborizantes, corantes e outros aditivos permitidos. (Brasil, 1997).

A manipulação incorreta dos alimentos favorece a contaminação por microrganismos patogênicos que, se presentes em números elevados, podem causar problemas à saúde dos consumidores, dessa forma a higiene correta dos alimentos é necessária para garantir a segurança e a salubridade dos mesmos em todos os estágios de sua elaboração.

Em bebidas alcoólicas, o principal fator responsável por sua conservação é o álcool. Os licores, por exemplo, são comercializados a temperatura ambiente e podem ser elaborados com baixo teor alcoólico, o que aumenta o risco de crescimento de microrganismos patogênicos. Além disso, grande parte dos licores são produzidos de forma artesanal, o que pode aumentar a possibilidade de contaminação por microrganismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus*, uma vez que a principal fonte de contaminação de alimentos por esses microrganismos está relacionada com a higiene dos manipuladores.

Mesmo se forem adotadas BPF, ainda assim os alimentos necessitam de algum agente responsável por garantir sua segurança e conservação. No caso de bebidas alcoólicas de baixo teor alcoólico sua conservação é obtida pela combinação de álcool e tratamento térmico, como é o caso da cerveja (Texeira, 2004). Por outro lado, há bebidas que têm no álcool o único agente de conservação, por isso conhecer a relação entre teor alcoólico e a sobrevivência de microrganismos é de fundamental importância para este setor da indústria de alimentos.

Os objetivos deste estudo são (i) determinar a sobrevivência de *Staphylococcus aureus* em simulados de bebidas alcoólicas preparadas por mistura, com diferentes teores alcoólicos e concentrações de açúcar em função do tempo de armazenamento, (ii) determinar a concentração de álcool crítica para inibição de *Staphylococcus aureus* e (iii) testar a melhor combinação de teor alcoólico e concentração de açúcares no licor de banana para inibir a multiplicação de *Staphylococcus aureus*.

## *MATERIAS E MÉTODOS*

### *Simulados de bebidas alcoólicas*

Os simulados de bebidas alcoólicas por mistura foram preparados de acordo com procedimentos adaptados de Teixeira (2004).

Os ensaios (simulados de bebidas alcoólicas por mistura) foram preparados variando o teor alcoólico e a concentração de açúcar de acordo com a Tabela 1.

Na elaboração dos ensaios foram utilizados água destilada, álcool de cereais e açúcar refinado, sendo o volume total de 200 mL.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

***Avaliação microbiológica***

Para a avaliação microbiológica foi feita a inoculação de *Staphylococcus aureus* nos ensaios de simulados de bebidas alcoólicas por mistura nas concentrações de 1,0 x $10^3$ e 1,0 x $10^6$ ufc/mL e verificada a sobrevivência ou não desses microrganismos em um período de 15 e 30 dias. Os ensaios foram incubados à temperatura média de 28 ºC.

Foram preparados 20 ensaios em duplicata de acordo com a Tabela 1.**Tabela 1.** Planejamento fatorial para estudar o efeito do álcool e açúcar na inibição de *Staphylococcus aureus* em diferentes concentrações de inóculo.

| Inóculo de *S. aureus* (ufc/mL) | | Álcool (%) | Açúcar (%) |
|---|---|---|---|
| 1,0 x $10^3$ | 1,0 x $10^6$ | | |
| T1 | T11 | 5 | 3 |
| T2 | T12 | 10 | 3 |
| T3 | T13 | 15 | 3 |
| T4 | T14 | 20 | 3 |
| T5 | T15 | 25 | 3 |
| T6 | T16 | 5 | 10 |
| T7 | T17 | 10 | 10 |
| T8 | T18 | 15 | 10 |
| T9 | T19 | 20 | 10 |
| T10 | T20 | 25 | 10 |

***Contagem de Staphylococcus aureus***

A verificação da sobrevivência de *Staphylococcus aureus* foi realizada para todos os ensaios da Tabela 2. Para saber se houve ou não crescimento de *Staphylococcus aureus* foi realizada a contagem em placas contendo Agar Baird Parker.

Não foi necessário fazer diluições dos ensaios para posterior plaqueamento, pois todos os ensaios não apresentaram turbidez significativa.

A contagem foi realizada em duplicata, adicionando-se 0,1 mL de cada ensaio sobre a superfície da placa e com o auxílio de uma alça de Drigalski flambada foi espalhada uma alíquota da amostra por toda a superfície do meio até a completa absorção. As placas foram incubadas a 37 ºC por 24 a 48 horas (APHA, 2001).

***Avaliação físico-química***

Foi realizada a medida do pH, acidez titulável e sólidos solúveis (°Brix) de todas as amostras citadas na Tabela 1 no tempo 0, 15 e 30 dias.

O pH foi medido diretamente em aparelho, pHmetro digital da marca Marconi, utilizando aproximadamente 15 mL de cada amostra.

As análises de acidez titulável foram realizadas de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Para o cálculo da acidez foi utilizada a seguinte equação:

$$Meq._{NaOH} = N * V * f * v \quad (1)$$

onde:

N = normalidade;
V = volume gasto na titulação;
f = fator de correção;
v = volume da amostra (10 mL).

As análises de sólidos solúveis foram realizadas de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

***Formulação de licor de banana com o teor alcoólico crítico para inibição de Staphylococcus aureus***

Foram preparadas formulações de licor de banana com o teor de álcool e açúcar considerados críticos para o crescimento de *Staphylococcus aureus*, conforme os resultados que foram obtidos no experimento precedente.

Para o preparo das formulações de licores de banana foram utilizados 800 g de banana prata madura e 1 litro de álcool de cereais.

Foram inoculados *Staphylococcus aureus* nas mesmas concentrações citadas no item Avaliação Microbiológica.

***Coliformes totais***

Para análise de coliformes totais foram preparados licores de banana com 3 %, 6 % e 9 % de álcool e todos com 30 % de açúcar.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

Foram inoculados 3 séries de 3 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST). Como se trata de uma amostra líquida em que se espera baixa contagem microbiana a diluição $10^{-1}$ foi preparada inoculando-se 1 mL da amostra em 9 mL do diluente (Silva, 2007).

Os tubos foram incubados a 36 ºC ± 1 ºC, por 24 a 48 horas e foi observado se houve crescimento pela produção de gás. Para tubos positivos, foram retirados uma alçada bem carregada de cada tubo com as culturas para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2 % (VB) e incubados a 35 ºC por 24 a 48 horas. Após este período foi observado se houve crescimento com produção de gás (Silva, 2007).

### *Contagem total de aeróbios mesófilos em placas*

Para a contagem total de aeróbios mesófilos em placas foram preparados 3 formulações de licores de banana:

- licor com 5 % de álcool e 30 % de açúcar;
- licor com 10 % de álcool e 30 % de açúcar;
- licor com 15 % de álcool e 30 % de açúcar.

A contagem foi feita utilizando o método de plaqueamento em superfície. Para cada ensaio foram preparados 3 diluições decimais ($10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$) da amostra e inoculado 0,1 mL de cada diluição na superfície das placas contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA). Com uma alça de Drigalski previamente flambada o inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio até sua completa absorção. O plaqueamento foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas em BOD a 35 ºC/48 horas e foi anotada a contagem em 24 e 48 horas (SILVA, 2007).

### *Cinética de sobrevivência de Staphylococcus aureus*

Para determinar a cinética de sobrevivência de *Staphylococcus aureus* foi preparado um licor com teor alcoólico de 5 % e concentração de açúcar de 30 %. Foi inoculado no licor *Staphylococcus aureus* na concentração de $10^6$ ufc/mL.

A amostra de licor adicionada de *S. aureus* foi mantida a temperatura ambiente (variação entre 25 a 30 ºC) e foi realizado o plaqueamento (seguindo os mesmos procedimentos descritos no item 4.2.1) nos seguintes intervalos de tempo: 20 min.; 40 min.; 1 h; 1:30 h; 2:30 h; 3:30 h; 9:30 h; 12:00 h; 24:00 h, 36:00 h e 48:00 h.

## *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

### *Avaliação microbiológica*

Em todos os ensaios com diferentes tratamentos (Tabela 1) não houve sobrevivência de *Staphylococcus aureus* após 15 dias de incubação e, portanto, não houve necessidade de fazer a verificação da sobrevivência de *Staphylococcus aureus* no tempo de 30 dias.

Huang (2001) estudou o efeito inibitório da combinação de etanol e NaCl em *Staphylococcus aureus*. As concentrações de álcool estudadas variaram de 0 a 40 % e de NaCl variaram entre 0 a 7,5 %. O meio utilizado foi Ágar Nutriente (NA) suplementado com NaCl e etanol. Não houve crescimento de *Staphylococcus aureus* em NA nas combinações com concentração de etanol $\geq$ 10 % e concentração de NaCl $\geq$ 0 % e com concentração de etanol $\geq$ 7,5 % e concentração de NaCl $\geq$ 7,5 %. Nesse estudo pode-se concluir que células suspensas em caldo nutriente contendo 12,5, 20, ou 40 % de etanol combinado com NaCl decresceram com o aumento da concentração de etanol. Além disso, células de *S. aureus* expostas ao etanol 20 % em combinação com 5 % de NaCl perderam a viabilidade após 30 minutos.

Chirife (1994) atribui a o efeito antibacteriano do etanol devido à ação do álcool sobre as enzimas responsáveis pela síntese de peptidoglicano.

### *Análises físico-químicas: medida do pH dos ensaios*

Na Figura 1 e 2 estão apresentados os resultados da medida de pH nos tempos de 0 dias e 15 dias para os ensaios em que foram inoculados *Staphylococcus aureus* na concentração de 1,0 x $10^3$ ufc/mL (Figura 1) e 1,0 x $10^6$ ufc/mL (Figura 2 ).

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

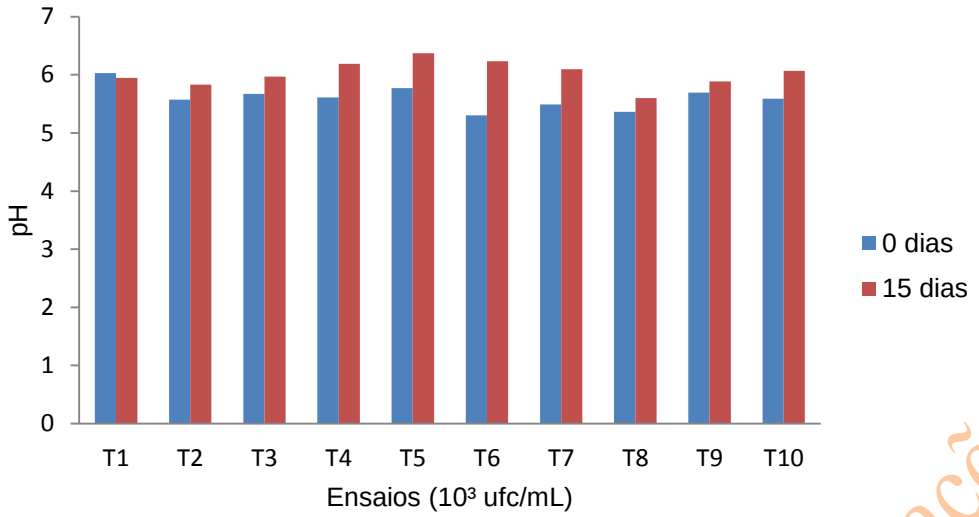


**Figura 1.** Valores de pH no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* na concentração de 1,0 x $10^3$ ufc/mL.

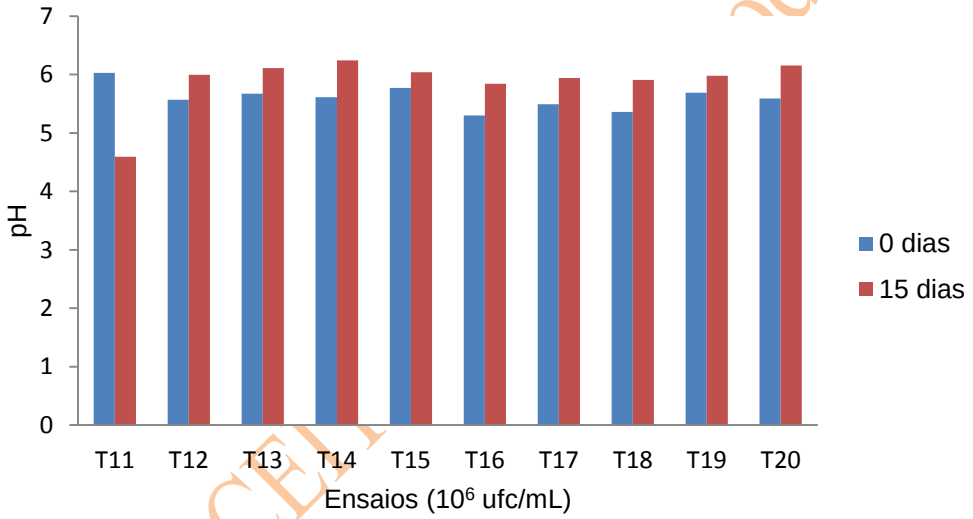


**Figura 2.** Valores de pH no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* na concentração de 1,0 x $10^6$ ufc/mL.

Os gráficos representados nas Figuras 1 e 2 mostram que tanto no tempo de 0 dias quanto no tempo de 15 dias os valores de pH dos ensaios ficaram na faixa de 4,5 a 6,5. Segundo Silva (2007), o limite de pH para o crescimento de *S. aureus* está entre 4,2 a 9,3. Sendo assim, o pH não pode ser considerado um fator limitante para a sobrevivência de *S. aureus* nos ensaios.

### *Acidez Titulável*

As Figuras 3 e 4 apresentam os valores de acidez titulável expressos em Meq. de NaOH medidos no tempo 0 e 15 dias nos ensaios com concentração de *S. aureus* de 1,0 x $10^3$ ufc/mL (Figura 3) e 1,0 x $10^6$ ufc/mL (Figura 4).

Analisando os gráficos representados nas Figuras 3 e 4 pode-se observar que os valores de acidez dos ensaios são muito baixos. Isso pode ser explicado pelo fato de que os ensaios foram preparados com água destilada, álcool etílico de cereais e açúcar refinado, que são ingredientes que não apresentam acidez elevada.

Trabalho ACEIT modificações

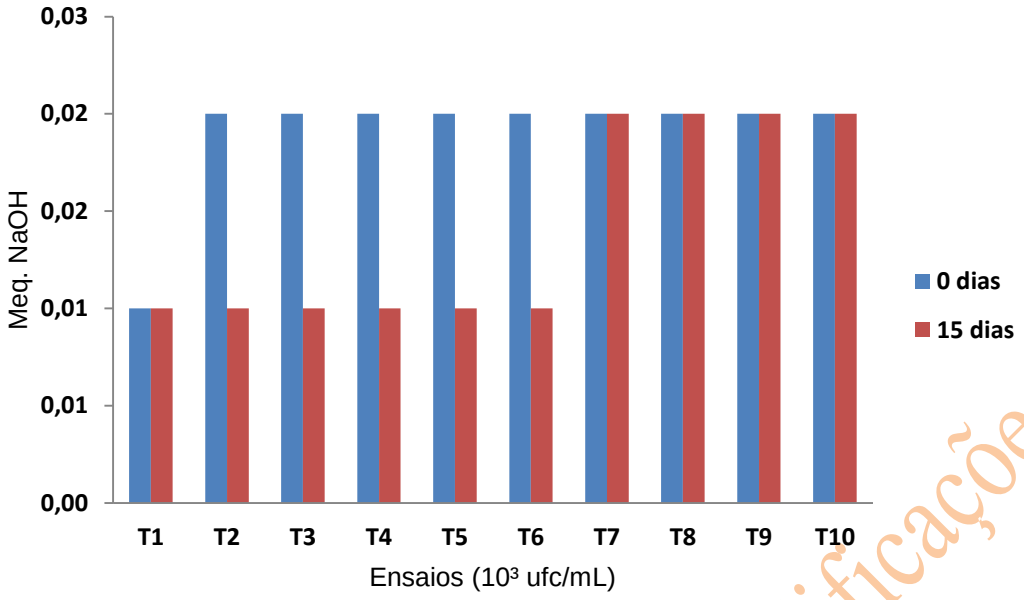


**Figura 3.** Acidez no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* 1,0 x $10^3$ ufc/mL.

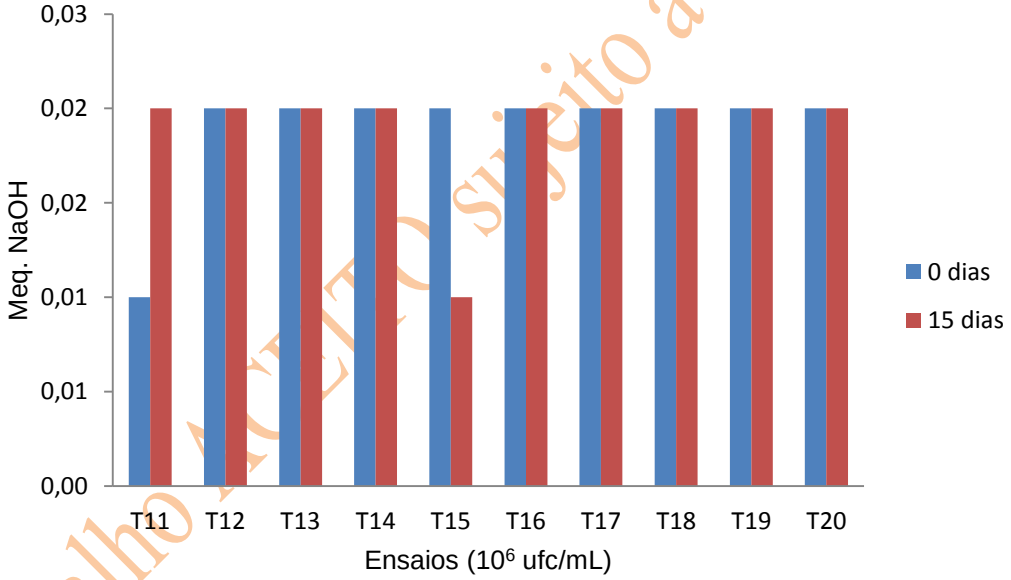


**Figura 4**. Acidez no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* 1,0 x $10^6$ ufc/mL.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

***Sólidos solúveis***

As Figuras 5 e 6 apresentam os teores de sólidos solúveis em graus Brix nos tempos de 0 e 15 dias para os ensaios com concentração de *S. aureus* de 1,0 x $10^3$ ufc/mL (Figura 5) e 1,0 x $10^6$ ufc/mL (Figura 6).

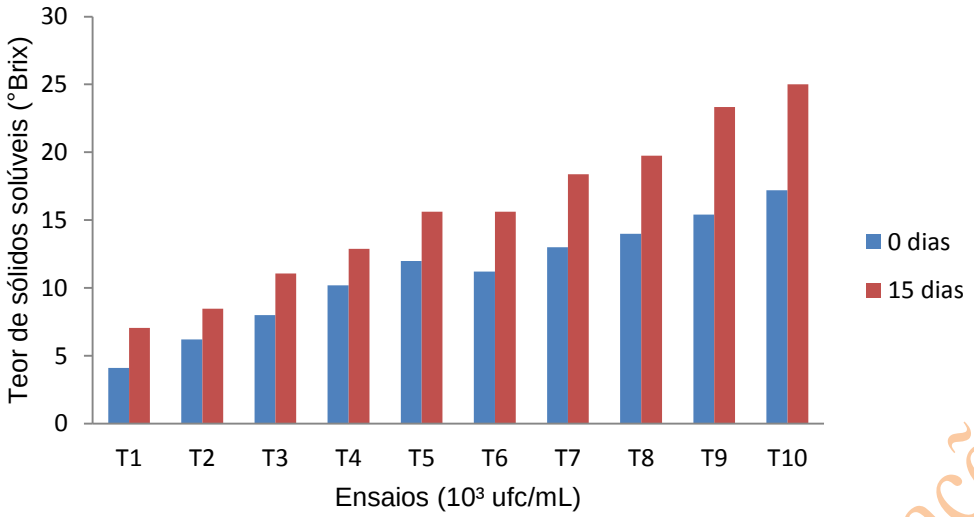


**Figura 5.** Sólidos solúveis no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* 1,0 x $10^3$ ufc/mL.

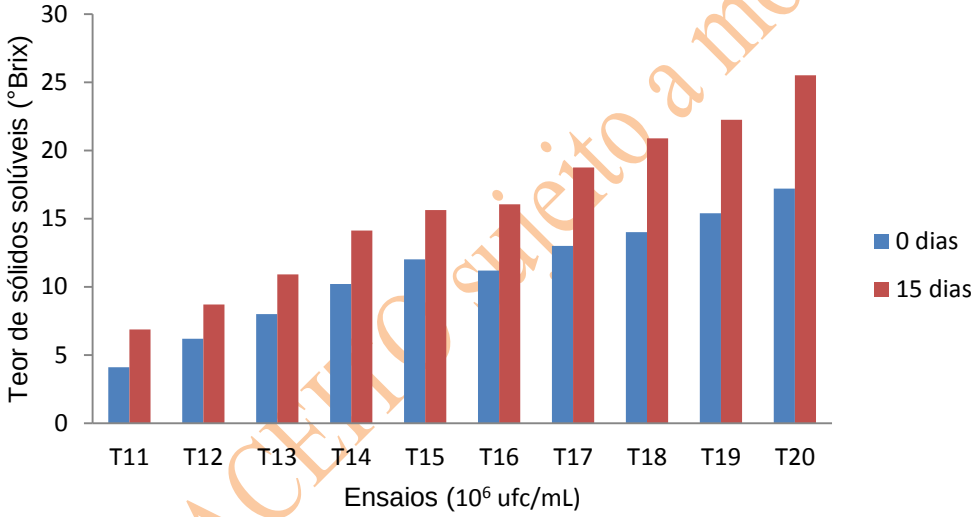


**Figura 6.** Sólidos solúveis no tempo 0 e após 15 dias para os diferentes tratamentos com inóculo de *Staphylococcus aureus* 1,0 x $10^6$ ufc/mL.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

Analisando os gráficos apresentados nas Figuras 5 e 6 pode-se notar um aumento do teor de sólidos solúveis (°Brix) do tempo de 0 dias para o tempo de 15 dias.

Ocorreu também um aumento do teor de sólidos solúveis (°Brix) a medida em que se aumenta a concentração de álcool e a concentração de açúcar. Isso pode ser explicado pelo fato de que o teor de sólidos solúveis foi medido utilizando um refrâtometro e, portanto, o etanol influencia na leitura do indice de refraçao que está calibrado em uma escala que exprime o teor de sólidos solúveis em °Brix. Dessa forma, o valor lido difere do real um vez que este aparelho foi calibrado para uma solução de sacarose (número de gramas de açúcar contidos em 100 g de solução).

***Formulação de licor de banana com teor de álcool crítico para a inibição de Staphylococcus aureus***

Como não houve teor de álcool considerado crítico para o crescimento de *S. aureus*, uma vez que não houve sobrevivência de *S. aureus* em nenhum dos ensaios, foram escolhidos os ensaios com menores teores alcoólicos e verificada a sobrevivência de *S. aureus* no tempo 0, para saber se a inativação ocorre imediatamente após a sua inoculação nos ensaios e no tempo de 4 e 15 dias. Os testes

foram realizados somente na concentração de *S. aureus* de 1 x $10^6$ ufc/mL. Na Tabela 2 estão apresentados os tratamentos utilizados para a formulação dos ensaios de licores de banana.

**Tabela 2.** Planejamento fatorial para estudar o efeito do álcool e açúcar na inibição de *Staphylococcus aureus* em diferentes concentrações de licores de banana.

| Ensaios | Álcool (%) (°GL) | Açúcar (%) |
|---|---|---|
| T1 | 5 | 3 |
| T2 | 10 | 3 |
| T3 | 15 | 3 |
| T6 | 5 | 10 |
| T7 | 10 | 10 |
| T8 | 15 | 10 |

**Quadro 1.** Inativação de *Staphylococcus aureus* em função do tempo.

| Tempo | T1 | T2 | T3 | T6 | T7 | T8 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 dias | $10^6$ | $10^6$ | $10^6$ | $10^6$ | $10^6$ | $10^6$ |
| 4 dias | $10^4$ | $10^0$ | $10^0$ | $10^3$ | $10^0$ | $10^0$ |
| 15 dias | $10^0$ | - | - | $10^0$ | - | - |

Analisando o Quadro 1 pode-se perceber que para todos os teores alcoólicos testados a inativação de *S. aureus* pelo álcool não ocorreu de forma imediata. No tempo de 4 dias ocorreu uma redução de 2 ciclos logaritmos no ensaio T1 e de 3 ciclos logaritmos no ensaio T6, isso pode ser explicado pela maior concentração de açúcar no ensaio T6. Chirife (1994) concluiu que a adição de solutos provoca uma diminuição da atividade de água causando assim um efeito inibitório contra as células de *Staphylococcus aureus*.

Para os demais ensaios houve total inativação de *S. aureus* no tempo de 4 dias, ou seja, com teores alcoólicos de 10 e 15 % e concentração de açúcar tanto de 3 % como de 10 % houve redução de 6 ciclos logaritmos. Já para os ensaios com teor alcoólico de apenas 5 % o tempo de 4 dias não foi suficiente para que ocorre-se uma redução de 6 ciclos logaritmos. Depois de 15 dias não houve sobreviventes de *S. aureus* nos ensaios T1 e T6.

***Coliformes totais***

Para esse teste, não houve resultado positivo em nenhum dos ensaios de licores de banana analisados (licores de banana com 3 %, 6 % e 9 % de álcool e todos com 30 % de açúcar), o que mostra que mesmo em baixas concentrações de álcool podem ocorrer ausência de coliformes totais em licores de banana. Porém deve resaltar que a qualidade da matéria-prima utilizada bem como a correta manipulação e higienização durante a formulação de licores poderá interferir nesses resultados.

***Contagem total de aeróbios mesófilos em placas***

Para os licores com 5 e 10 % de álcool a contagem total de aeróbios mesófilos foram de 4,0 x $10^3$ e 2,0 x $10^3$ ufc/mL, respectivamente. Para o licor com 15 % de álcool o resultado da contagem foi < 1,0 x $10^2$ ufc/mL estimado.

A legislação não mensura este parâmetro para bebidas alcoólicas.

***Cinética de sobrevivência de Staphylococcus aureus***

Com os resultados apresentados acima podemos notar que *S. aureus* se mostrou muito sensível a pequenas concentrações de álcool e que um teor alcoólico de apenas 5 % foi suficiente para redução total de *S. aureus* em uma concentração inicial de 1,0 x $10^6$ ufc/mL. Uma possível explicação é que tenha ocorrido um efeito sinergístico entre a elevada concentração de açúcar na bebida e o álcool presente. A elevada concentração de açúcar pode ter proporcionado um estresse osmótico para células de *S.aureus* o que pode ter potencializado o efeito antimicrobiano do álcool.

A Figura 7 apresenta a cinética de sobrevivência de *S. aureus* quando inoculado numa concentração de 1,0 x $10^6$ ufc/mL em uma amostra de licor contendo 5 % de álcool e 30 % de açúcar

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

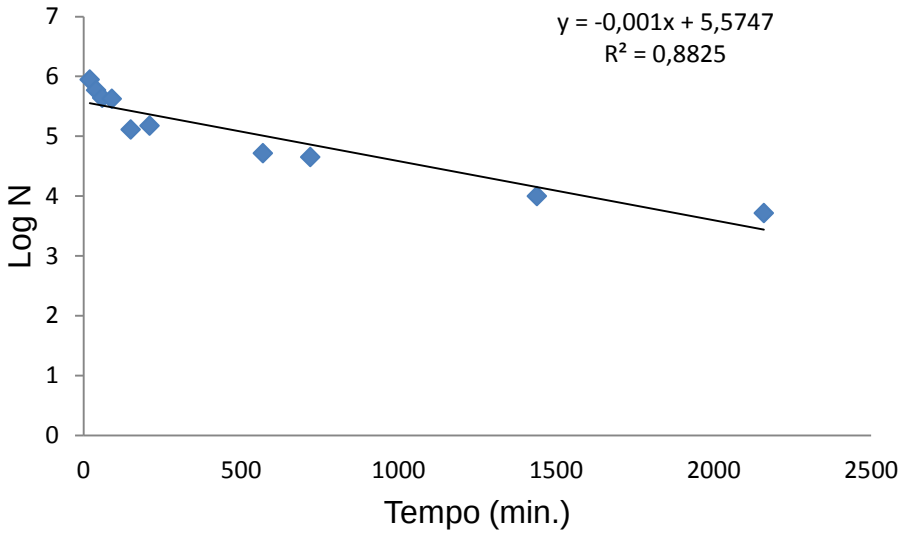


**Figura 7.** Cinética de sobrevivência de *Staphylococcus aureus* em uma amostra de licor de banana com teor alcoólico de 5 % e concentração de açúcar de 30 %.

Analisando o gráfico apresentado na Figura 7 podemos concluir que após um tempo de aproximadamente 2160 minutos (36 horas) houve redução de 2,1 ciclos logaritimos na concentração de *S. aureus*.

A redução total da concentração inicial de *S. aureus* (6 ciclos logaritmos) ocorreu no tempo de 48 horas.

A partir da reta obtida no gráfico de sobrevivência também é possível calcular o valor D (tempo de redução decimal), que se define como o tempo necessário, em uma determinada temperatura, para destruir 90 % dos microrganismos presentes, ou seja, o tempo necessário para atravessar um cilco logarítimico (Ordonez, 2005). O valor D pode ser calculado a partir da seguinte equação:

$$D = 1 / | tg\ a \qquad (2)$$

Nesse caso, o valor de D foi de 999,99 minutos (aproximadamente 16 horas), definido como o tempo necessário para destruir 90 % da população de *S. aureus* em licor de banana com teor alcoólico de 5 % e concentração de açúcar de 30 %.

## *CONCLUSÕES*

*Staphylococcus aureus* se mostrou muito sensível ao álcool, sendo que pequenas concentrações de álcool e açúcar (5 % de álcool e 3 % de açúcar) já foram suficientes para inativar uma contagem de até 1,0 x $10^6$ ufc/mL.

Um período de tempo de 36 horas foi suficiente para um redução de 2,1 ciclos logaritmos na concentração de *Staphylococcus aureus* e em 48 horas uma redução de 6 ciclos logaritmos quando inoculados em licor de banana com teor alcoólico de 5 % e concentração de açúcar de 30 %.

Com os resultados obtidos pode-se concluir que licores de banana formulados com teores alcoólicos abaixo de 15 % (graduação alcoólica mínima para licores) se mostraram com uma boa qualidade microbiológica em relação a coliformes totais e microrganismos mesófilos aeróbios.

## *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Apha. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington, 2001.

Aquarone, E.; Lima, U.A.; Borzani, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edard Blucher, 1993. v.5, 227p.

Brasil. Decreto n. 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, 5 set. 1997. Seção 1.p.19549 -19555.

Chirife, J. Specific solute effects with special reference to *Staphylococcus aureus*. **Journal**

Trabalho ACEITO sujeito a modificações

**of Food Engineering**, v. 22, p.|409-419, 1994.

Huang, S. L.; Weng, Y. M.; Chiou, R. Y. Survival of staphylococcus aureus and Escherichia coli as affected by ethanol and NaCl. **Journal of Food Protection.** Department of Food Science National Chiayi University, Taiwan, Republic of China. n. 64, p.546-50, 2001.

Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Adolfo Lutz, v.1, 332p, 1985.

Ordonez, Juan. **Tecnologia de alimentos - Componentes dos Alimentos e processos.** 1.ed. v.1. São Paulo - Editora Artmed, 2005. 291p.

Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. A.; Taniwaki, M. H; Santos, R. F. S.; Gomes, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3.ed. São Paulo, 2007. 552p.

Teixeira, L. J. Q. **Avaliação Tecnológica de um processo de produção de licor de banana.** Viçosa: UFV/DCTA, 2004. 81p. (Dissertação de mestrado).

Venturini Filho, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia.** 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2010. p.425.

Trabalho ACEITO sujeito a modificações