

Flávio Ferreira Silva
(Organizador)



Qualidade de Produtos de Origem Animal 2

 **Atena**
Editora
Ano 2019

Flávio Ferreira Silva
(Organizador)



Qualidade de Produtos de Origem Animal 2

Atena
Editora

Ano 2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Lorena Prestes
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
Q1	Qualidade de produtos de origem animal 2 [recurso eletrônico] / Organizador Flávio Ferreira Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Qualidade de Produtos de Origem Animal; v.2) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-766-6 DOI 10.22533/at.ed.666191211 1. Agroindústria – Brasil. 2. Alimentos – Controle de qualidade – Brasil. 3. Tecnologia de alimentos. I. Silva, Flávio Ferreira. CDD 338.1981
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Neste segundo volume apresentado em 26 capítulos, a obra “Qualidade de Produtos de Origem Animal” é composta por abordagens científicas que discorrem principalmente sobre parâmetros de composição e qualidade microbiológica de alimentos de origem animal.

As condições microbiológicas e a composição físico-química são fatores determinantes para definir a qualidade final de um produto destinado à alimentação humana. Os esforços científicos para verificar os parâmetros de qualidade de produtos alimentares são imprescindíveis. Tratando-se de um assunto de tamanha relevância, a ciência deve sempre trazer novas pesquisas a fim de elucidar as principais lacunas que possam trazer soluções ou apresentar riscos ao consumo humano.

Neste sentido, os estudos que são apresentados aqui, alinham-se a estes temas e trazem novas análises que condizem com as necessidades emergentes de qualidade e segurança de produtos de origem animal.

A Atena Editora que reconhece a importância dos valiosos trabalhos dos pesquisadores, oferece uma plataforma consolidada e confiável para a divulgação científica, propiciando a estes autores um meio para exporem e divulgarem seus resultados, enriquecendo o conhecimento acadêmico e popular.

Por fim, esperamos que a leitura deste trabalho seja agradável e que as novas pesquisas possam propiciar a base intelectual ideal para que se desenvolva novas soluções, cuidados e desenvolvimento de produtos de origem animal.

Flávio Ferreira Silva

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COMERCIAIS SEM GLÚTEN	
Gabriel Alves de Jong Anna Carolyn Goulart Vieira Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana Thiago Rocha dos Santos Mathias Maria Helena Miguez da Rocha leão Priscilla Filomena Fonseca Amaral	
DOI 10.22533/at.ed.6661912111	
CAPÍTULO 2	6
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E DE AMINOÁCIDOS DA CASTANHA DO BARU, CASTANHA DE CAJU E CASTANHA-DO-BRASIL	
Luana Poiares Barboza Maelen Toral Pereira Mariana Manfroi Fuzinatto Katieli Martins Todisco Priscila Neder Morato	
DOI 10.22533/at.ed.6661912112	
CAPÍTULO 3	17
COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO DE COALHO DA REGIÃO SUL DO ESTADO DE RORAIMA	
Ícaro Pereira Silva Rebeca de Carvalho Rosas Tassiane dos Santos Ferrão Juarez da Silva Souza Junior Keila Souza Correia	
DOI 10.22533/at.ed.6661912113	
CAPÍTULO 4	23
CORRELAÇÃO MATEMÁTICA DA MASSA ESPECÍFICA DA POLPA DE ABACAXI COM OS PARÂMETROS TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO	
Relyson Gabriel Medeiros de Oliveira João Carlos Soares de Melo Carlos Helaídio Chaves Costa Adair Divino da Silva Badaró Simone Carla Pereira da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.6661912114	
CAPÍTULO 5	30
EFEITO DO REVESTIMENTO EDÍVEL USANDO PRÓPOLIS VERDE E ÓLEO DE CRAVO NA CONSERVAÇÃO DE SURURU REFRIGERADO	
Tiago Sampaio de Santana Tamyres Pereira Lopes de Oliveira Jessica Ferreira Mafra Leydiane da Paixão Serra Mariza Alves Ferreira Aline Simões da Rocha Bispo	

CAPÍTULO 6 38

EFEITOS DOS EXTRATOS HIDRO-ETANÓLICOS DE ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) E DE MARCELA (*Achyrocline satureioides*) NA INIBIÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA E NA COLORAÇÃO DE BANHA SUÍNA

Eduardo Borges de Brum

Danielli Vacari de Brum

DOI 10.22533/at.ed.6661912116

CAPÍTULO 7 48

ESTUDO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E SENSORIAIS DE SORVETE DE ABACAXI (*Ananas comosus* L.) INCORPORADO COM MICROCÁPSULAS DE HORTELÃ-VERDE (*Mentha spicata*)

Jenisson Linike Costa Gonçalves

Annuska Vieira Cabral

Vanessa Santos de Souza

Patrícia Beltrão Lessa Constant

Angela da Silva Borges

DOI 10.22533/at.ed.6661912117

CAPÍTULO 8 62

INFLUÊNCIA DA TORREFAÇÃO NO RENDIMENTO DE ÓLEO DE SEMENTES DE MELÃO OBTIDO POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Iago Hudson da Silva Souza

Juliete Pedreira Nogueira

Marinuzia Silva Barbosa

Maria Terezinha Santos Leite Neta

Narendra Narain

DOI 10.22533/at.ed.6661912118

CAPÍTULO 9 69

PREPARO DE CURVA PADRÃO PARA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA CEPA DE LEVEDURA COMERCIAL *Saccharomyces cerevisiae* WB-06

Gabriel Alves de Jong

Anna Carolyn Goulart Vieira

Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana

Maria Helena Miguez da Rocha Ieão

Priscilla Filomena Fonseca Amaral

DOI 10.22533/at.ed.6661912119

CAPÍTULO 10 77

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA CONSUMO HUMANO DE UM MUNICÍPIO DO OESTE DO ESTADO DO PARANÁ

Callegary Vicente Viana

Leanna Camila Macarini

Helena Teru Takahashi Mizuta

Fabiana André Falconi

DOI 10.22533/at.ed.66619121110

CAPÍTULO 11 84

ASPECTOS DA SEGURANÇA ALIMENTAR NO CONSUMO DE INVERTEBRADOS MARINHOS DO MERCADO INFORMAL

Érika Fabiane Furlan
Tatiana Caldas Pereira
Andrea Gobetti Coelho Bombonatte
Rubia Yuri Tomita
Luiz Miguel Casarini

DOI 10.22533/at.ed.66619121111

CAPÍTULO 12 90

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS VERDE FRENTE A BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS COMERCIAIS

Alexsandra Iarlen Cabral Cruz
Milena da Cruz Costa
Jessica Ferreira Mafra
Leydiane da Paixão Serra
Mariza Alves Ferreira
Aline Simões da Rocha Bispo
Norma Suely Evangelista-Barreto

DOI 10.22533/at.ed.66619121112

CAPÍTULO 13 99

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE AMOSTRAS DO BANCO DE LEITE DE UM HOSPITAL NO OESTE DO PARANÁ

Bianca Maliska Klauck
Larissa Villvock De Menech
Fabiana André Falconi

DOI 10.22533/at.ed.66619121113

CAPÍTULO 14 108

BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA ALIMENTAR EM ESPECIALIDADES COMERCIALIZADAS EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

Milena da Cruz Costa
Alexsandra Iarlen Cabral Cruz
Mariza Alves Ferreira
Aline Simões da Rocha Bispo
Norma Suely Evangelista-Barreto

DOI 10.22533/at.ed.66619121114

CAPÍTULO 15 116

CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA MARÍTIMA E DE MEXILHÕES EM UMA FAZENDA MARINHA DO MUNICÍPIO DE ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ

Carolina Siqueira dos Reis
Adriana Paula Slongo Marcussi
Mayara Alves de Menezes
Guilherme Burigo Zanette
Pedro Vianna Tavares

DOI 10.22533/at.ed.66619121115

CAPÍTULO 16	123
ISOLAMENTO DE <i>Enterococcus</i> SPP. DE MORTADELA VENDIDA FATIADA EM NITERÓI/RJ	
Bruna Pennafort Gomes da Silva	
Rayssa Goncalves de Souza	
Carolina Riscado Pombo	
DOI 10.22533/at.ed.66619121116	
CAPÍTULO 17	130
OCORRÊNCIA DE BOLORES E LEVEDURAS EM CARNE BOVINA MOÍDA <i>IN NATURA</i> COMERCIALIZADA EM MANAUS, AMAZONAS	
Rodiney Medeiros dos Reis	
Kelven Wladie dos Santos Almeida Coelho	
Érika Tavares Pimentel	
Joziane Souza da Silva	
Luciene Almeida Siqueira de Vasconcelos	
Pedro de Queiroz Costa Neto	
Felipe Faccini dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.66619121117	
CAPÍTULO 18	139
OCORRÊNCIA DE PARASITAS HUMANOS E ELEMENTOS EXÓGENOS EM ALFACES CULTIVADAS NA REGIÃO DE INHUMAS – GOIÁS	
Angel José Vieira Blanco	
Camilia Silveira de Melo	
Flávia Janaína da Silva	
Leonardo Fidelis Gama	
Luana Bárbara Fernandes	
Marília Oliveira Costa	
Simone Silva Machado	
DOI 10.22533/at.ed.66619121118	
CAPÍTULO 19	150
PESQUISA DE <i>Salmonella</i> SPP. E <i>Listeria monocytogenes</i> EM QUEIJO MUÇARELA FATIADO COMERCIALIZADO EM HIPERMERCADOS DE RECIFE-PE	
Maria Goretti Varejão da Silva	
Nataly Sayonara da Silva Melo	
Jéssica Martins de Andrade	
Fernanda Maria Lino de Moura	
Elizabeth Sampaio de Medeiros	
DOI 10.22533/at.ed.66619121119	
CAPÍTULO 20	158
PESQUISA DE <i>Salmonella</i> SPP. EM CARNE BOVINA MOÍDA COMERCIALIZADA EM MERCADO PÚBLICO DE RECIFE-PE	
Nataly Sayonara da Silva Melo	
Maria Goretti Varejão da Silva	
Jéssica Martins de Andrade	
Fernanda Maria Lino de Moura	
Elizabeth Sampaio de Medeiros	
DOI 10.22533/at.ed.66619121120	

CAPÍTULO 21 165

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE GENGIBRE APLICADOS EM HAMBÚRGUER DE FRANGO

Valesca Kotovicz
Laís Juliana Moreto
Deise Caroline Biassi
Eduarda Molardi Bainy
Roberta Letícia Kruger
Michele Cristiane Mesomo Bombardelli

DOI 10.22533/at.ed.66619121121

CAPÍTULO 22 174

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) COMERCIALIZADA NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Alciléia Costa Vieira
Ariane Barbosa Alves
Marilu Lanzarin
Daniel Oster Ritter
Gilma Silva Chitarra
Marcos Miranda Pereira
Nagela Farias Magave Picanço Siqueira

DOI 10.22533/at.ed.66619121122

CAPÍTULO 23 180

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEIXE PINTADO AMAZÔNICO (*Pseudoplatystoma fasciatum* X *Leiarius marmoratus*) COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ - MT

Talitha Maria Porfírio
Alessandra Almeida da Silva
Iara Oliveira Arruda
Helen Cristine Leimann
Thamara Larissa de Jesus Furtado
Natalia Marjorie Lazon de Moraes
Daniel Oster Ritter
Marilu Lanzarin

DOI 10.22533/at.ed.66619121123

CAPÍTULO 24 185

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS E ÁGUA E O PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM CEPAS DE *Escherichia coli*

Norma Suely Evangelista-Barreto
Mariza Alves Ferreira
Aline Simões da Rocha Bispo
Manuela Oliveira Pereira
Aline dos Santos Ribeiro
Moacyr Serafim Junior

DOI 10.22533/at.ed.66619121124

CAPÍTULO 25	194
RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE <i>Escherichia coli</i> PROVENIENTES DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
Luciana Furlaneto Maia	
Regiane Ramalho	
Heloísa de Carvalho Rodrigues	
DOI 10.22533/at.ed.66619121125	
CAPÍTULO 26	209
QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO NO SUL DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO CONSIDERANDO A OCORRÊNCIA DE MASTITE SUBCLÍNICA	
Jorge Ubirajara Dias Boechat	
Cassiano Oliveira da Silva	
Rhuan Amorim de Lima	
Maria Emília Pozzatti de Souza	
Paulo César Amaral Ribeiro da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.66619121126	
SOBRE O ORGANIZADOR	216
ÍNDICE REMISSIVO	217

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COMERCIAIS SEM GLÚTEN

Gabriel Alves de Jong

UFRJ, Instituto de Química
Rio de Janeiro – RJ

Anna Carolyna Goulart Vieira

UFRJ, Instituto de Química
Rio de Janeiro – RJ

Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana

UERJ, Departamento de Tecnologia de Processos
Bioquímicos
Rio de Janeiro – RJ

Thiago Rocha dos Santos Mathias

IFRJ, Departamento de Tecnologia de Alimento
Rio de Janeiro - RJ

Maria Helena Miguez da Rocha Ieão

UFRJ, Escola de Química
Rio de Janeiro – RJ

Priscilla Filomena Fonseca Amaral

UFRJ, Escola de Química
Rio de Janeiro – RJ

RESUMO: A determinação de importantes parâmetros de qualidade de cervejas foram realizados em duas cervejas comerciais sem glúten (A e B). Para a análise, as amostras foram degaseificadas em sonicador Desruptor de Célula Ultra-Sônico (UNIQUE) para posterior aferição de parâmetros físico-químicos. As análises foram realizadas em equipamento *Anton Paar Beer analyzer* do Instituto Federal do Rio de Janeiro. Ao final, seus resultados

foram comparados com trabalhos da literatura com outras duas cervejas com glúten (C e D) em mesmo tipo de aparelho. Foram encontrados em média valores para as cervejas sem glúten inferiores a 26% para o álcool (%p/p), 8% para extrato real (%p/p), 22% para extrato original (%p/p) e 20% para grau real de fermentação (RDF %).

PALAVRAS-CHAVE: cerveja; glúten; *Beer analyzer*,

GLUTEN FREE COMMERCIAL BEER

PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS

ABSTRACT: The determination of important beer quality parameters was performed on two commercial gluten-free beers (A and B). For the analysis, the samples were degassed in sonicator Ultrasonic Cell Disruptor (UNIQUE) for later measurement of physicochemical parameters. The analyzes were performed in Anton Paar Beer analyzer equipment of the Federal Institute of Rio de Janeiro. In the end, their results were compared with literature studies with two other gluten beers (C and D) in the same type of appliance. Gluten-free beers lower than 26% for alcohol (% w / w), 8% for real extract (% w / w), 22% for original extract (% w / w) and 20% were found on average. for actual degree of fermentation (RDF%).

KEYWORDS: Beer; gluten; *Beer analyzer*.

1 | INTRODUÇÃO

Com o consumo médio de 511 milhões de litros ao dia, a cerveja é o produto alcóolico mais consumido no mundo. Nos últimos 50 anos o consumo total quadruplicou devido ao aumento da demanda em países em desenvolvimento, como o Brasil. Atualmente, os consumidores procuram por cervejas artesanais ou diferenciadas (COLEN & SWINNEN, 2016).

A cerveja consiste de uma solução composta de água, carboidratos e etanol. Esses três parâmetros são usualmente empregados para o controle de qualidade na indústria cervejeira sob o nome de extrato real, extrato original e teor alcóolico. Sendo este último, aspecto chave para determinar o estilo de cerveja, tanto a classificação, como paladar (LLARIO et al., 2006).

Já os valores de extrato representam a quantidade de açúcar presente antes e depois da fermentação. O extrato real refere-se a todos os sólidos na composição da cerveja, e é importante tanto para indicar açúcares não fermentados, como para predizer características de sabor e corpo. E o extrato original, ou extrato primitivo, indica a quantidade inicialmente presente no mosto, considerando o teor alcóolico no cálculo (BRASIL, 2001).

Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcóolica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada (BRASIL, 2009). Tal insumo, por conter glúten em quase 50 ppm, impossibilita seu consumo para portadores da doença celíaca, principalmente caso se utilize em combinação com malte de trigo. A norma técnica estabelece o limite máximo de 20 ppm em alimentos gluten-free, e de 100 ppm em alimentos com baixo teor de glúten (CODEX ALIMENTARIUS, 2015).

Visando a manutenção da qualidade tradicional da bebida alcóolica cervejeira, são necessárias análises com alto grau de confiabilidade para assegurar aos consumidores as características do produto original. Equipamentos modernos para aferição de parâmetros em cervejas estão sendo desenvolvidos. Já são empregados em cervejas métodos com infravermelho (FTIR) e aparelhos de análise automática, que realizam a análise de cada amostra em 10 minutos. Um desses aparelhos, denominado Beer analyzer, permite realizar, com precisão, a análise de alimentos em geral, principalmente cerveja. Baseado em métodos termoanalíticos combinados com algoritmos matemáticos, o equipamento fornece propriedades da cerveja e todos os seus produtos intermediários. Foi por meio desse aparelho que os parâmetros foram obtidos. O fornecedor do equipamento especifica a precisão da resolução de cada medição como sendo 0,01% para cada parâmetro medido (KRYL; GREGOR; LOS, 2012).

O objetivo do presente trabalho foi comparar parâmetros (etanol, extrato real, extrato original e grau real de fermentação) de cervejas reduzidas em glúten através de processo por ação enzimática, com cervejas com glúten em mesmo aparelho.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras de cerveja

Duas cervejas comerciais sem glúten foram adquiridas em supermercado do Rio de Janeiro (A e B). Foram vertidas em béqueres para então degaseificação em sonicador do tipo Desruptor de Célula Ultra-Sônico da marca UNIQUE®.

2.2 Equipamento Beer analyzer

O equipamento do Beer analyzer DMA 4500 M (ANTON PAAR®) foi calibrado com água destilada. Foram medidos etanol, densidade, valor calórico, extrato aparente, extrato original, extrato real, atenuação aparente e grau real de fermentação álcool (% w/w), extrato real (% p/p), extrato aparente (% p/p), extrato original (% p/p) e grau real de fermentação (%).

2.3 Parâmetros

As características dos parâmetros observados foram o teor de etanol, quantidade de etanol produzido a partir do extrato do mosto a partir da fermentação da cerveja (% em peso ou % vol); extrato do mosto original, o conteúdo dos sólidos dissolvidos no mosto é determinado em porcentagem de peso (% em peso); extrato real, conteúdo das substâncias dissolvidas na cerveja desnaturada (liberta dióxido de carbono por agitação) e etanol (por destilação) preenchido com água para o peso original (% em peso) O grau de fermentação real (RDF) - é a perda de concentração durante o processo de fermentação, expressa em porcentagem (%).

2.4 Estatística

Os resultados do *Beer analyzer*, em duplicata, são então examinados e comparados com o de estudos de cervejas com glúten para determinar se haveriam diferenças estatisticamente significativas. A análise estatística foi realizada no software STATISTICA com os parâmetros obtidos do equipamento. A análise de variância univariável (ANOVA) foi utilizada para verificar a significância das variáveis. A comparação das médias foi feita por Teste de Tukey. O nível de significância usado foi de 0,05.

3 | RESULTADOS E DISCUÇÕES

Como pode ser visto na tabela 1, os valores da cerveja lager sem glúten e tradicional variaram em torno de uma média. Contudo, a explicação para a flutuação dos valores pode estar nas diferentes condições da fermentação e alterações que ocorrem com o mosto lupulado.

Na tabela 1 pode ser observada a equivalência estatística por análise de variância entre as quatro marcas lager, sendo duas com glúten e duas sem glúten. O único parâmetro significativamente diferente entre as amostras foi o grau real de fermentação, entretanto o mesmo não apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey ($p=0,05$).

Cerveja	Etanol (%p/p)	Extrato real (%p/p)	Extrato original (%p/p)	RDF (%)
A	3,62 ± 0,04	3,09 ± 0,75	10,19 ± 0,64	67,24 ± 0,01
B	3,75 ± 0,01	4,24 ± 0,01	11,52 ± 0,01	64,66 ± 0,01
C	5,03 ± 1,57	4,42 ± 0,59	13,9 ± 2,69	84,24 ± 7,81
D	4,83 ± 1,63	4,13 ± 0,22	13,72 ± 3,63	84,73 ± 7,21

^A Valores marcados não diferem estatisticamente por análise de variância (ANOVA, $p = 0,050$)

Tabela 1 - Valores médios obtidos no equipamento *Beer analyzer*

Os resultados obtidos foram examinados no software STATISTICA, que permitiram comparar as quatro marcas comerciais e avaliar diferenças entre os produtos sem e com glúten para os parâmetros analisados.

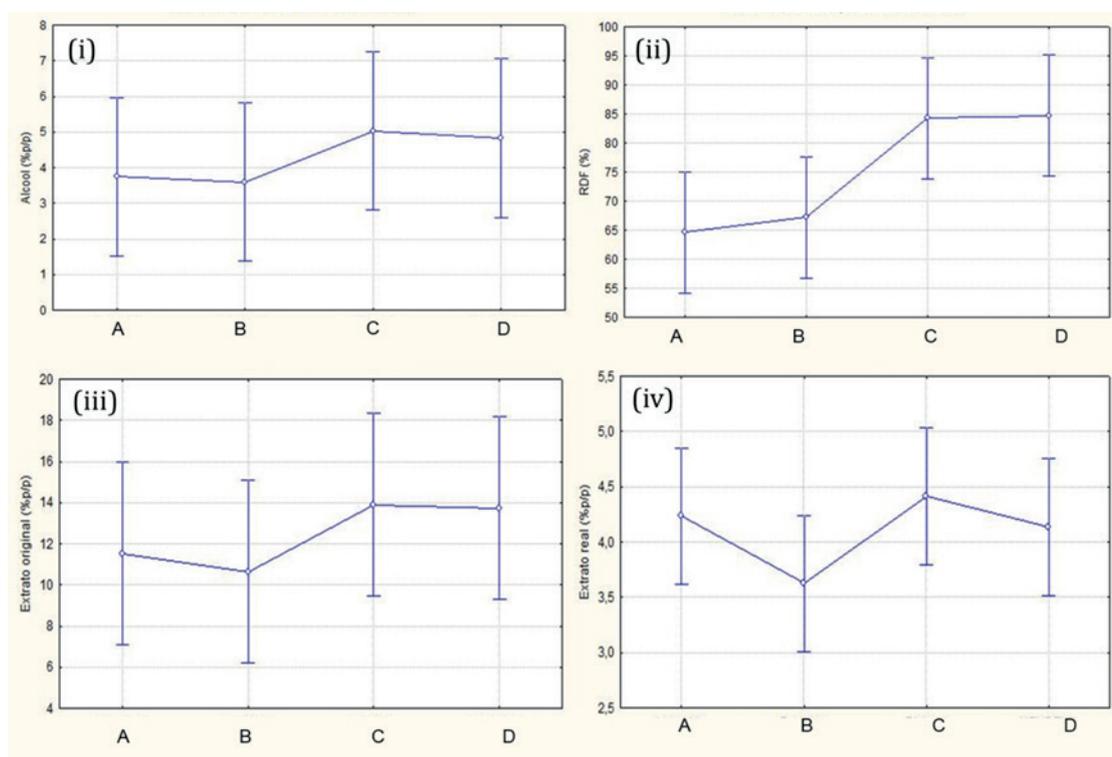


Figura 1 – Interação estatística entre valores de (i) álcool (% p/p). (ii) grau de fermentação real (RDF, %). (iii) extrato original (% p/p); e (iv) extrato real (% p/p) entre as cervejas comerciais do tipo lager sem glúten (A e B) e lager tradicional (C e D)

Pode ser observado equivalência estatística entre as duas marcas lager sem glúten, assim como nas duas marcas de lager tradicional. A quantidade de álcool e

de extrato original se mostrou levemente superior para as cervejas lager tradicionais em cerca de 26% e de 20%, respectivamente. O grau real de fermentação é maior nas cervejas lager tradicionais, que apresentaram 85% em média, enquanto as lager sem glúten demonstraram cerca de 65%. Os valores de extrato real se mantiveram próximos e dentro da faixa de 3,5-4,5 % p/p para as quatro marcas avaliadas.

É possível ser observada a dependência do teor alcoólico com o extrato real e original, assim como há relação do grau real de fermentação (RDF) com o extrato real e teor alcóolico, que está relacionado com o fato de que no decorrer da fermentação do mosto, mais etanol é produzido (KRYL; GREGOR; LOS, 2012).

4 | CONCLUSÃO

Uma relação do tempo de aquecimento a 60 °C com o número de células coradas foi possível. O modelo teve um alto coeficiente de determinação (R^2) para o modelo de Bigelow (1920), permitindo a modelagem e estimativa do tempo de redução decimal da cepa comercial de levedura *S. cerevisiae* WB-06, que foi em torno de 9,80 min. O processo é capaz de obter valores de viabilidade celular abaixo de 2% em 15 minutos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Decreto n. 6871**, de 4 de jun. de 2009. Padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, DF, jun 2009.

BRASIL, Instrução Normativa nº54 de 05 de novembro de 2001. **Regulamento técnico Mercosul de produtos de cervejaria**. Disponível em <www.agricultura.gov.br>

CODEX ALIMENTARIUS | INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. **CODEX STAN 118-1979**: Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. Última modificação 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/>

COLEN, L.; SWINNEN, J. Economic growth, globalisation and beer consumption. **Journal of Agricultural Economics**. v. 67, n. 1. p.186-207. 2016.

KRYL, P.; GREGOR, T.; LOS, J. Comparison of Analytical parameters of beer brewed in two diferente technological ways at two pub breweries. **ACTA UNIVERSITATIS AGRICULTURAE ET SILVICULTURAE MENDELIANAE BRUNENSIS**. v. 60, n. 5. P137-144. 2012.

LLARIO, R.A. et al. Determination of quality parameters of beers by the use of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. **Talanta**. v.69, p.469–480. 2006.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E DE AMINOÁCIDOS DA CASTANHA DO BARU, CASTANHA DE CAJU E CASTANHA-DO-BRASIL

Luana Poiares Barboza

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
Engenharia de Alimentos
Naviraí – Mato Grosso do Sul, bolsista PIBIC/
CNPq

Maelen Toral Pereira

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
Engenharia de Alimentos
Naviraí – Mato Grosso do Sul

Mariana Manfroi Fuzinatto

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
Engenharia de Alimentos
Naviraí – Mato Grosso do Sul

Katieli Martins Todisco

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
Engenharia de Alimentos
Naviraí – Mato Grosso do Sul

Priscila Neder Morato

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
Engenharia de Alimentos
Naviraí – Mato Grosso do Sul

RESUMO: O Brasil é considerado o país com maior biodiversidade do mundo, com diferentes espécies nos biomas da Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado, onde são encontradas plantas frutíferas nativas, que possuem características nutricionais importantes. Para uma alimentação saudável, considera-se importante além da ingestão de nutrientes para o ideal funcionamento

do organismo, também a ingestão de compostos antioxidantes, que segundo estudos auxiliam na prevenção de doenças crônicas. O presente projeto teve como objetivo analisar e comparar a capacidade antioxidante, composição centesimal, e características físico-químicas das castanhas tradicionalmente consumidas no Brasil, castanhas de caju e castanha-do-brasil, com a castanha do baru, fruto da região do Cerrado. Com os resultados, pode-se observar diferença significativa para a análise de umidade, onde as castanhas de baru e caju apresentaram os maiores valores, $5,45 \pm 0,38\%$ e $5,77 \pm 0,46\%$ respectivamente. Para lipídios houve diferença significativa entre as três amostras, $70,80 \pm 1,65\%$ para castanha-do-brasil, $49,93 \pm 2,93\%$ para castanha de caju e $35,63 \pm 1,53\%$ para a castanha do baru. Com relação a proteínas, o baru apresentou $14,57 \pm 1,70\%$. Foi realizado o aminograma a fim de caracterizar o perfil aminoacídico de cada castanha. A capacidade antioxidante equivalente a TROLOX ($\mu\text{mol/g}$ da amostra) foi $1,718 \pm 0,10$, $0,553 \pm 0,05$, $0,502 \pm 0,05$, para caju, castanha-do-brasil e baru respectivamente, sendo a castanha de baru uma ótima opção a ser inserida na dieta de indivíduos saudáveis.

PALAVRAS-CHAVE: saúde; nutrientes; antioxidante.

PHYSICOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND AMINO ACID CHARACTERIZATION OF BARU NUT, CASHEW NUT AND BRAZIL NUT

ABSTRACT: Brazil is considered the most biodiverse country in the world, with different species in the Amazon, Atlantic Forest and Cerrado biomes, where native fruit plants are found that have important nutritional characteristics. For a healthy diet, it is considered important in addition to nutrient intake for optimal functioning of the body, also the intake of antioxidant compounds, which according to studies help in the prevention of chronic diseases. The present project aimed to analyze and compare the antioxidant capacity, centesimal composition, and physicochemical characteristics of the traditionally consumed Brazil nuts, cashews and Brazil nuts, with the baru nuts, fruit of the Cerrado region. With the results, a significant difference can be observed for the moisture analysis, where the baru and cashew nuts presented the highest values, $5.45 \pm 0.38\%$ and $5.77 \pm 0.46\%$ respectively. For lipids there was a significant difference between the three samples, $70.80 \pm 1.65\%$ for Brazil nuts, $49.93 \pm 2.93\%$ for cashews and $35.63 \pm 1.53\%$ for baru nuts. Regarding proteins, baru presented $14.57 \pm 1.70\%$. The aminogram was performed to characterize the amino acid profile of each nut. The antioxidant capacity equivalent to TROLOX ($\mu\text{mol} / \text{g}$ of the sample) was 1.718 ± 0.10 , 0.553 ± 0.05 , 0.502 ± 0.05 for cashew, Brazil nuts and baru respectively, with baru nuts being a great option to be inserted into the diet of healthy individuals.

KEYWORDS: health; nutrients; antioxidant.

1 | INTRODUÇÃO

O conceito de alimentação saudável em vigor considera importante, além do consumo de nutrientes reconhecidos como necessários para o adequado funcionamento e desenvolvimento do organismo, a inclusão de compostos antioxidantes na dieta, que têm sido relatados como capazes de atenuar ou prevenir doenças crônicas não transmissíveis, tais como câncer, hipertensão e diabetes (BAILÃO et al., 2015).

Muitas dessas doenças podem ser agravadas pelo estresse oxidativo, que é um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e a capacidade de ação dos antioxidantes presentes no organismo. Para reduzir os danos do estresse oxidativo, os antioxidantes dietéticos atuam neutralizando as espécies reativas de oxigênio, chamadas de radicais livres (ZIMMERMANN; KIRSTEN, 2016)

Os efeitos benéficos, dos frutos e de alguns constituintes de plantas à saúde do homem são atribuídos, geralmente, à presença de substâncias naturais tais como antioxidantes, vitaminas, minerais e fibras (CRUJEIRAS et al., 2010).

1.1 Amêndoas: castanha de baru, castanha de caju e castanha-do-brasil

O Brasil é considerado o país maior biodiversidade do mundo, sendo de 15 a 20% do número total das espécies existentes, dispersos principalmente nos biomas Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado (CORADIN, et al., 2011). No Cerrado é encontrada

grande diversidade de plantas frutíferas nativas ou adaptadas, com potencial de inserção em sistemas de produção agroindustrial, pois muitos desses frutos possuem características nutricionais interessantes, compostos bioativos aliados ao bom paladar (SILVA et al., 2008).

O baru ou barueiro também conhecido como cumbaru, camaru, feijão coco ou emburena-brava, é considerado uma leguminosa, encontrada em Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (BOTEZELLI, DAVIDE & MALAVASI, 2000). É constituído por casca, polpa e possui uma amêndoa dura e comestível que representa 5% do rendimento em relação ao fruto (RIBEIRO et al., 2000).

A castanha do baru (*Dipteryx alata* Vog.) é proveniente do fruto colhido do barueiro, é considerado um fruto do tipo drupa, pois possui uma polpa fibrosa com centro endurecido e que nesse centro contenha uma única semente oleaginosa comestível, a castanha do baru (JUDD et al., 2002; LORENZI, 2002).

O cajueiro é nativo do Nordeste brasileiro por se adaptar a solos com baixa fertilidade, à escassez de água e a elevadas temperaturas. Do cajueiro aproveita-se quase tudo, e seu principal produto é a amêndoa. A amêndoa da castanha de caju fica em terceiro lugar das nozes mais consumidas no mundo, podendo ser consumida seca ou nos ingredientes culinários (EMBRAPA, 2016). É de alto valor nutritivo, tem sabor agradável pode ser consumida frita, crua, salgada ou caramelizada, à depender do gosto do consumidor (MANAY et al., 1987).

A castanheira-do-brasil é uma das espécies mais importantes de extração da Amazônia. Seu fruto é uma cápsula que não se abre facilmente, contendo dentro dela cerca de dezoito amêndoas de alto valor nutritivo, possuem alto valor protéico, equivalente ao valor protéico de um ovo, comparado a duas castanhas consumidas. O peso médio de cada semente (amêndoa com a casca) é de 8,2g (EMBRAPA, 1995).

1.2 Composição nutricional de frutos

Com relação a composição de alguns frutos, as cascas e a amêndoa, em geral, além de apresentarem alta quantidade de fibras, apresentam também lipídeos, proteínas e minerais (HIANE et al., 2006; RAMOS et al., 2008), o que torna atraente sua utilização na elaboração de produtos alimentícios para o consumo humano (MIRANDA et al., 2013).

Os frutos podem proporcionar uma fonte de novos compostos bioativos com propriedades funcionais benéficas para saúde, o que pode estimular as indústrias farmacêuticas e de alimentos no desenvolvimento de novos produtos, promovendo o desenvolvimento sustentável das regiões como o Cerrado (SIQUEIRA et al., 2013).

Dentre compostos considerados bioativos presentes nos frutos, a fibras tem demonstrado um papel importante na prevenção de alguns males como constipação, diabetes, obesidade e doenças cardiovasculares (ANDERSON et al., 1994;

GRIGELMO-MIGUEL e MARTIN-BELLOSO, 1999; LARIO et al., 2004). Dentre, esses benefícios, a fibra alimentar é também considerada como um dos ingredientes que pode contribuir para a diminuição da hiperglicemia pós-prandial (RODRIGUEZ-MORAN et al., 1998).

Além dos alimentos convencionais ricos em fibras, existem inúmeros alimentos não convencionais que possuem grande quantidade desse nutriente. Os resíduos de alimentos minimamente processados e os resíduos de frutas e hortaliças, como cascas e talos são, geralmente, desprezados e poderiam ser utilizados como fonte alternativa de fibras (PEREIRA, et al., 2003).

Alguns subprodutos de frutos, por ter baixo custo e alto valor nutritivo, são de grande interesse, pois enriquecem o produto final sem onerar significativamente o custo de produção, resultando em um preço acessível ao consumidor (KAJISHIMA et al., 2001; MAURO et al., 2010).

2 | OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo comparar as características físico-químicas, a composição de aminoácidos e a capacidade antioxidante de castanha tradicionalmente consumidas e comercializadas no Brasil, castanhas de caju e castanha-do-brasil, com a castanha do baru, fruto da região do Cerrado.

3 | MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo das amostras

As castanhas do baru (*Dipteryx alata*) foram adquiridas no estado de Goiás. A castanha-do-brasil, e a castanha de caju foram adquiridas no comércio da cidade de Naviraí. Para obtenção das farinhas, as castanhas foram mantidas em estufa a 65 °C por 18 horas, onde, posteriormente passaram por trituração em liquidificador doméstico, até obter a farinha. As amostras foram porcionadas e mantidas sob congelamento até o momento de realizar as análises, seguindo a metodologia de Mauro et al. (2010).

3.2 Determinação de umidade

Primeiramente realizou-se a análise de umidade pelo método gravimétrico de perda de massa por dessecação em estufa a 105 °C por 24 horas (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

3.3 Determinação de lipídeos

Com a amostra obtida na análise de umidade, realizou-se a análise de lipídeos

pelo método de extração a quente (Soxhlet), onde as amostras foram colocadas em cartucho de papel filtro e levadas ao equipamento Extrator de Gorduras e Lípidos SL-202 (SOLAB), e ficaram imersas em solvente hexano por 30 minutos a temperatura de 100 °C. Após esse período, as amostras foram retiradas do contato direto com o solvente, e ficaram sob a linha de gotejamento por 1 hora e 30 minutos a temperatura de 120 °C. Passado esta etapa, o processo de extração foi finalizado, sendo apenas necessário o reajuste da temperatura para 150 °C para recuperação do solvente, o material extraído e recolhido em reboiler foi levado em estufa a 80 °C para total retirada de solvente, e mantidos em dessecador até serem resfriados e posteriormente pesados, obtendo-se a quantidade de lipídeos das castanhas (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

3.4 Análise de cinzas

A análise de cinzas foi realizada pelo método de incineração em mufla a 550 °C. A amostra seca foi carbonizada em chama de bico de bunsen até cessar o desprendimento de fumaça, e em seguida colocada em mufla (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

3.5 Análise de proteínas

Foi realizada a análise de proteína pelo método de Kjeldhal utilizando fator de conversão de 6,25 para proteína. Foi pesado 0,1 gramas de amostra em tubos Kjeldhal juntamente com 2 gramas de mistura catalítica e 5ml de ácido sulfúrico concentrado e foi levado ao bloco digestor em temperatura inicial de 50 °C até 400 °C gradualmente, até que a amostra apresenta-se uma cor azul límpido, após esta etapa os tubos foram levados para o bloco destilador com 25ml de hidróxido de sódio 50%, e sendo recuperado em 10ml de ácido bórico 2% até obter 50ml de amostra para ser titulado com ácido sulfúrico padronizado até o ponto de viragem para o cálculo de proteína.

Para todas as análises, foram utilizadas as metodologias oficiais do Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.6 Composição de carboidratos

Os carboidratos foram estimados através do cálculo de diferença, subtraindo de 100 os valores obtidos de umidade, lipídeos, proteína e cinzas.

3.7 Análise da composição de aminoácidos

Foi realizada a determinação da composição de aminoácidos das castanhas de acordo com a metodologia proposta por White Ja et al. (1986) com modificações. As amostras de resíduos e co-produtos foram hidrolisadas com ácido clorídrico 6 N, durante 24 horas, os aminoácidos liberados na hidrólise ácida foram reagidos com

fenilisotilcianato (PITC), separados por HPLC em fase reversa e detectados por UV a 254 nm.

3.8 Análise de fibras

Foi determinado o teor de fibras totais utilizando digestor semi-industrial. Saquetas de TNT foram mergulhadas em acetona e posteriormente foram secas e pesadas para colocar as amostras desengorduradas. As amostras foram colocadas em aparelho determinador de fibras, onde foram realizadas lavagens com soluções de ácido sulfúrico, com água, e com hidróxido de sódio sob temperatura de 98 °C, por fim as saquetas foram mergulhadas novamente em acetona, levadas à estufa, resfriadas e pesadas, obtendo-se a quantidade de fibras totais.

3.9 Determinação de acidez e pH

A acidez total titulável foi determinada por meio da titulação de hidróxido de sódio (0,1M) (AOAC, 2005). O pH foi determinado com potenciômetro digital (DM-22 Digimed), introduzido diretamente na amostra (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

3.10 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada a partir do método de Follin-Ciocalteu, proposta por Asami et al. (2003), O extrato da amostra foi preparado com solução extratora composta de acetona 70% (v/v). Utilizadas alíquotas de 0,2 mL do extrato, 0,006 mL do reagente Follin-Ciocalteu e 2 mL de solução de carbonato de sódio a 7% (p/v) em balão volumétrico de 5 mL, completando-se o volume do balão volumétrico com água destilada. As leituras de absorbância foram feitas a 720 nm em espectrofotômetro (modelo UV-1600, PRO-TOOLS). A quantificação foi realizada utilizando uma curva de calibração preparada com uma solução padrão de ácido gálico (72 - 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e os resultados expressos em mg de equivalente em ácido gálico (EAG) $\cdot\text{g}^{-1}$ de matéria seca.

3.11 Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) segundo Brand-Willians, Cuvelier e Berset (1995).

3.12 Análises estatísticas

A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey (5% de significância) foram realizados utilizando o programa GraphPad Prism version 5.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição físico-química das castanhas está apresentada na Tabela 1.

Castanha	Umidade (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Fibras (%)	Carboidrato (%)	Cinzas (%)
Baru	5,45±0,38 ^a	14,57±1,70 ^a	35,63±1,53 ^c	13,15±0,21	40,58	3,77±0,06 ^a
Brasil	4,07±0,42 ^b	9,20±0,69 ^b	70,80±1,65 ^a	11,53±0,81	12,2	3,73±0,06 ^a
Caju	5,77±0,46 ^a	10,74±0,84 ^b	49,93±2,93 ^b	9,27±2,00	30,99	2,57±0,32 ^b

Tabela 1 – Composição físico-química das castanhas

Médias e desvio padrão. Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey $p < 0,05$

A análise de variância aplicada para os resultados obtidos para as amostras das castanhas apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) para algumas análises.

A farinha da castanha de baru apresentou baixo teor de umidade, aumentando assim seu tempo de prateleira, sendo que a mesma já apresenta *in natura* um baixo teor de umidade, de aproximadamente 6,0 g.100g⁻¹ (TAKEMOTO et al., 2001; TOGASHI; SGARBIERI, 1994; VALLILO; TAVARES; AUED, 1990).

Conforme a Tabela 1, a castanha de baru apresentou elevado teor proteico comparado às outras castanhas, porém um valor abaixo da média relatada na literatura de 26,0 g.100g⁻¹, e um valor de lipídeos mais baixo quando comparado às outras castanhas, cerca de 35%, porém valor próximo às médias relatadas na literatura de 40,0 g.100g⁻¹ (TAKEMOTO et al., 2001; TOGASHI; SGARBIERI, 1994; VALLILO; TAVARES; AUED, 1990). Devemos ter atenção ao utilizar oleaginosas no processamento de alimentos, pois pelo seu elevado teor de lipídeos pode favorecer a oxidação lipídica pela alta concentração de ácidos graxos insaturados (AZEREDO; BRITO; GARRUTI, 2004).

Podemos observar também que a castanha do baru apresentou um elevado teor de fibra, cerca de 13,15%. Conforme Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998 da ANVISA (BRASIL, 1998), alimentos sólidos que contenham 6,0 g.100g⁻¹ de fibra alimentar, são considerados alimentos de alto teor de fibra alimentar.

Os resultados obtidos na Tabela 2, demonstra que não houve variância significativa para a determinação do pH, porém a castanha do brasil apresentou menores porcentagens para acidez.

Castanha	pH	acidez
Baru	6,56±0,06	0,80±0,06 ^a
Brasil	6,51±0,06	0,39±0,02 ^b
Caju	6,42±0,15	0,71±0,04 ^a

Tabela 2 - Determinação de pH e acidez

* Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey $p < 0,05$

Para a composição de aminoácidos obtemos os resultados conforme a Tabela 3.

Aminoácido	g/100g de amostra, base seca		
	Baru	Brasil	Caju
Asparagina	2,33	1,25	1,78
Glutamato	4,21	3,34	3,86
Hidroxiprolina	0,02	0,02	0,02
Serina	1,10	0,74	1,10
Glicina	1,23	0,84	0,96
Histidina	0,54	0,41	0,46
Taurina	0,00	0,00	0,00
Arginina	2,98	3,02	2,82
Treonina	1,01	0,43	0,68
Alanina	1,19	0,66	0,92
Prolina	1,24	0,74	0,78
Tirosina	0,97	0,54	0,73
Valina	1,40	0,91	1,27
Metionina	0,17	1,11	0,29
Cisteína	0,51	0,66	0,57
Isoleucina	0,84	0,52	0,84
Leucina	1,80	1,15	1,38
Fenilalanina	1,15	0,69	0,96
Lisina	1,82	0,53	0,98

Tabela 3 – Composição de aminoácidos nas castanhas

A análise de aminoácidos mostrou que o aminoácido predominante nas castanhas estudadas foi o glutamato, com valores de 4,21 g.100g⁻¹ para a castanha do baru, 3,34 g.100g⁻¹ para a castanha-do-brasil, 3,86 g.100g⁻¹ para castanha de caju. A castanha de baru apresentou os maiores valores de arginina, alanina, prolina, tirosina, fenilalanina, lisina, comparada as demais castanhas estudadas. A castanha-do-brasil destacou-se pelo conteúdo do aminoácido metionina. De acordo, com Calderari (2011), a castanha-do-brasil é rica nos aminoácidos essenciais metionina e cisteína, e em menores quantidades, apresenta a arginina e leucina.

Com relação aos resultados obtidos para compostos fenólicos e para capacidade antioxidante das castanhas estão expressos na Tabela 3.

Castanha	Compostos fenólicos (mg GAE/ 100 g amostra)	Capacidade antioxidante equivalente a TROLOX (DPPH) ($\mu\text{mol/g}$ da amostra)
Baru	48,80 \pm 6,91b	0,502 \pm 0,05b
Brasil	55,69 \pm 4,70b	0,553 \pm 0,05b
Caju	81,67 \pm 4,23a	1,718 \pm 0,10a

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante das castanhas.

*GAE (equivalente de ácido gálico)

Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey $p < 0,05$

A castanha de caju obteve maiores resultados para compostos fenólicos e análise da capacidade antioxidante. A ingestão de antioxidantes favorece à prevenção ou o retardo da oxidação de substratos envolvidos no processo oxidativo, impedindo a formação de radicais livres (HALLIWEL et al., 1995).

As castanhas são fontes de fibras e compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos, flavonoides, isoflavonas, terpenos, compostos organosulfurosos e tocoferol, que possuem atividade antioxidante, combatendo espécies reativas de oxigênio (COSTA; JORGE, 2014).

5 | CONCLUSÃO

Conseguimos com este trabalho observar que a castanha do baru possui um maior valor proteico, e um alto teor de fibra alimentar, e também possui compostos antioxidantes, o que seria uma boa opção de consumo para indivíduos saudáveis.

Os frutos típicos do cerrado, como o baru e mais especificamente sua castanha, podem ser consumidos também na forma de farinha e assim serem utilizados na elaboração de novas receitas, como fonte de enriquecimento nutricional.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C. **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official Methods of Analysis. 17th, Rev. Ed., Arlington-USA, 2005.

ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; GUSTAFSON, N. J. **Health benefits and practical aspects of high-fiber diets**. The American Journal of Clinical Nutrition, 59, 1242s-46, 1994.

ASAMI, D. K; HONG, Y-J.; BARRETT, D. M.; MITCHELL, A. E. **Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry, Strawberry, and Corn Grown Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 1237-1241, 2003.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; GARRUTI, D. S. Alterações químicas durante a estocagem. In: AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, Cap. 2, p. 37-64, 2004.

BAILÃO, E.F.L.C.; DEVILLA, I.A.; DA CONCEIÇÃO, E.D.; BORGES, L.L. **Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits**. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 16, p. 23760-23783; doi:10.3390/ijms161023760, 2015.

BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. **Características dos frutos e sementes de quatro procedências de baru, *Dipteryx alata* Vogel (baru)**. *Cerne*, Lavras, v. 6, n. 1, p. 9-18, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. *Lebensm. Wiss. Technol.*, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o regulamento técnico sobre a informação nutricional complementar. Brasília, DF: ANVISA, 1998. Disponível em: <<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97>>. Acesso em: 24 de julho de 2018.

CALDERARI, T. O. **Biodiversidade de fungos aflatoxigênicos e aflatoxinas em castanha do Brasil**. (Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 148p., 2011.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região sul**. Ministério do Meio Ambiente, 2011.

COSTA, T.; JORGE, N. **Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes**. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 13, n. 3, p. 195-203, 2014.

CRUJEIRAS, A.B.; GOYENECHEA, E.; MARTÍNEZ, J.A. Chapter 24 – **Fruit, Vegetables, and Legumes Consumption: Role in Preventing and Treating Obesity**. *Bioactive Foods in Promoting Health*, p. 359–380, 2010.

EMBRAPA. **Coleção plantar, castanha-do-brasil**. 1995. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/castanhadobrasil/arvore/CONT000fthbvzx02wyiv80otz6x9ohupw9s.html>. Acesso em: 06 mar 2017.

EMBRAPA. **Processamento industrial da castanha de caju**. 2016 Disponível em: http://www.ceinfo.cnpq.br/arquivos/artigo_4157.pdf. Acesso em: 05 mar. 2017.

GRIGELMO-MIGUEL, N.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparison of dietary fibre from byproducts of processing fruits and greens from cereals. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, London, v. 9, p. 503-508, 1999.

HALLIWEL, B. et al. **The characterization of antioxidants**. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-17, 1995.

HIANE, P.A. et al. **Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeate* (Jacq.) Lodd**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 3, p. 683-689. 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Taxonomic evidence: structural and biochemical characters**. In: _____. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. 2. ed. Massachusetts: Sunderland, cap. 3. p. 55-104, 2002.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMAN, R. **Elaboração de pão francês com farinha enriquecida de sulfato de cálcio**. *B. CEPPA*, v. 19, n. 2, p. 157-168, 2001.

- LARIO, Y. et al. **Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products**. Innovative Food Science & Emerging Technologies, v. 5, p. 113-117, 2004.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 368 p.
- MANAY, N.; SHADAKSHARASWAMY, M. **Facts and principles**. New Delhi: Wiley Eastern, 1987.
- MAURO, A. K.; SILVA, V. L. M.; FREITAS, M. C. J. **Caracterização física, química e sensorial de cookies confeccionados com farinha de talo de couve (FTC) e farinha de talo de espinafre (FTE) ricos em fibra alimentar**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 3, p. 719-728, 2010.
- MIRANDA, A.A; CAIXETA, A.A.A; FLÁVIO, E.F.; PINHO, L. **Desenvolvimento e análise de bolos enriquecidos com farinha da casca do maracujá (*Passiflora edulis*) como fonte de fibras**. Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr., v. 24, n. 2, p. 225-232, abr./jun. 2013.
- PEREIRA, G.I.S. et al. **Avaliação química de folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana**. Ciência e Agrotecnologia, v. 27, n. 4, p.852-57, 2003.
- RAMOS, M. I. L. et al. **Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata***. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 90-94, 2008.
- RIBEIRO, J. F. et al. **Baru (*Dipteryx Alatavogel*) Jaboticabal**: Funep, 2000. 41 p.
- RODRIGUEZ-MORAN, M., GUERRERO-ROMERO, F., LAZCANO-BURCIAGA, G., **Lipid and glucose-lowering efficacy of Plantago Psyllium in type II diabetes**. Journal of Diabetes and its Complications, New York, v.12, p. 273-278, 1998.
- RUFINO, M. do S.M.; ALVES, R. E.; BRITO, E.S. de; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI FILHO, J. **Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil**. Food Chemistry, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
- SILVA, M.R.; LACERDA, D.B.C.L.; et al. **Chemical characterization of native species of fruits from savanna ecosystem**. Ciência Rural. v. 38, n.6, p.1790-1793, 2008.
- SIQUEIRA, E.M.A.; ROSA, F.R.; FUSTINONI, A.M.; SANT'ANA, L.P.; ARRUDA, S.F. **Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple**. Plos One, v.8, i.8, e72826, 2013.
- TAKEMOTO, E.; OKADA, I. A.; GARBELOTTI, M. L.; TAVARES, M.; AUEDPIMENTEL, S. **Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do município de Pirenópolis, estado de Goiás**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.
- WHITE, J.A.; HART, R.J.; FRY, J.C. **An evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials**. Journal of Automatic Chemistry, 8 (4): 170-177, 1986.
- ZIMMERMANN, A.M.; KIRSTEN, V.R. **Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica**. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v.8, n. 1, p. 51-68, 2016.

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO DE COALHO DA REGIÃO SUL DO ESTADO DE RORAIMA

Ícaro Pereira Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima, *Campus* Novo Paraíso, Caracará, Roraima, Brasil

Rebeca de Carvalho Rosas

Universidade Federal de Roraima, *Campus* Murupu Escola Agrotécnica – EAGRO, Boa Vista, Roraima, Brasil

Tassiane dos Santos Ferrão

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima, *Campus* Novo Paraíso, Caracará, Roraima, Brasil

Juarez da Silva Souza Junior

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Itapetinga, Bahia, Brasil

Keila Souza Correia

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Itapetinga, Bahia, Brasil

RESUMO: Caracterizou-se físico-química e microbiologicamente os queijos de coalho produzidos nos municípios da região Sul do Estado de Roraima. Os municípios de Caracará – CCI, Caroebe – CRB, Rorainópolis – RLI, São João da Baliza – SJB e São Luiz do Anauá – SLA, produzem queijos de coalho com umidade variando de (42,23 – 43,22%), portanto são classificados como média umidade, no entanto apresentam o teor de lipídeos variando entre queijo semigordo (25,0 – 44,9%) e (10,0 – 24,9%) queijo magro. Os queijos apresentaram

resultados dentro do preconizado pela legislação para coliformes termotolerantes 45°C, ou seja, abaixo de $5,0 \times 10^3$, contudo alguns lotes tiveram sua qualidade microbiológica reprovada para os micro-organismos *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, indicando haver falhas na manipulação e processamento que devem ser corrigidos.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminação, DTA, Leite.

CENTESIMAL COMPOSITION, PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF COALHO CHEESE OF THE SOUTH REGION OF THE STATE OF RORAIMA

ABSTRACT: Physicochemical and microbiologically characterized the curd cheeses produced in the municipalities of the southern region of the state of Roraima. The municipalities of Caracará – CCI, Caroebe – CRB, Rorainópolis – RLI, Sao Joao da Baliza – SJB and Sao Luiz do Anauá – SLA, produce curd cheese with moisture ranging from (42.23 – 43.22%), so they are classified as medium humidity, however, the lipid content varies between semi - fat cheese (25.0 – 44.9%) and (10.0 – 24.9%) lean cheese. The cheeses presented results in accordance with the legislation for thermotolerant coliforms 45°C,

that is, below 5.0×10^3 , however, some lots had their microbiological quality disapproved for *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* microorganisms, indicating that there were failures in handling and processing that must be corrected.

KEYWORDS: Contamination, DTF, Milk.

1 | INTRODUÇÃO

O queijo é um derivado lácteo de destaque, devido a presença de nutrientes importantes como as proteínas e suas características sensoriais agradáveis. Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL 2017).

O queijo de coalho é um produto bastante apreciado e consumido em todo o Brasil, seja na forma original, frito, assado ou desidratado. No entanto, grande parte sua produção é rural e tem grande importância na formação de renda dos produtores de leite, principalmente daqueles que não têm acesso às usinas de beneficiamento, pois esse é um queijo cuja a tecnologia aplicada é relativamente simples, sem exigência de equipamentos sofisticados (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

O queijo de coalho é classificado como de média a alta umidade, de massa semi-cozida ou cozida e apresentando um teor de gordura nos sólidos totais variável entre 35,0% e 60,0% (BRASIL, 2001).

Nesse sentido a falta de padrões de qualidade para a matéria-prima e a falta de critérios na escolha das técnicas de processamento possibilita que produtos de qualidade duvidosa, tanto do ponto de vista higiênico-sanitário como de identidade e qualidade, atinjam o mercado, colocando em risco o consumidor (SILVA, DUTRA e CADIMA, 2010).

Diante do exposto é interessante verificar a qualidade microbiológica dos queijos produzidos na região Sul do estado de Roraima, bem como sua composição centesimal e características físico-químicas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os queijos foram obtidos no período de 01 de novembro de 2017 a 09 de dezembro de 2017 a partir da feira do produtor de cada município da região Sul do Estado de Roraima, sendo eles, Caracaraí – CCI, Caroebe – CRB, Rorainópolis – RLI, São João da Baliza – SJB e São Luiz do Anauá – SLA. Foram adquiridas três lotes de cada município em datas distintas, em seguida foram identificadas e separadas as

amostras de cada município e armazenadas para realização das análises.

As análises de composição centesimal e acidez foram utilizados métodos descritos por (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Para determinação do pH foi utilizado um potenciômetro da marca INSTRUTHERM, (modelo RS 232), calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. A determinação da atividade de água (A_w) foi feita por leitura direta no aparelho Aqualab Decagon (modelo 4TE).

Os ensaios microbiológicos para verificação de Coliformes totais, fecais, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* foram realizados seguindo metodologia descrita por Silva, Junqueira e Silveira (2010). Todos os ensaios foram realizados em três repetições e em triplicata.

Os resultados das análises físicas e físico-químicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias Tukey a (5% de probabilidade), com auxílio do programa de Sisvar versão 5.6.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados para a composição centesimal e caracterização físico-química dos queijos de coalho podem ser visualizados na Tabela 1, que demonstra que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os municípios para nenhum dos parâmetros avaliados.

	Umidade (%)	Lipídeos (%)	PB (%)*	Cinzas (%)	Acidez (%)	pH	A_w **
CCI	43,22 ^a	27,15 ^a	14,12 ^a	4,64 ^a	0,48 ^a	5,91 ^a	0,965 ^a
CRB	43,26 ^a	27,38 ^a	13,86 ^a	3,46 ^a	0,35 ^a	5,50 ^a	0,986 ^a
RLI	43,35 ^a	32,99 ^a	14,65 ^a	3,71 ^a	0,59 ^a	5,85 ^a	0,982 ^a
SJB	44,03 ^a	25,48 ^a	14,08 ^a	3,23 ^a	0,40 ^a	5,30 ^a	0,983 ^a
SLA	42,23 ^a	22,35 ^a	13,86 ^a	3,59 ^a	0,51 ^a	5,25 ^a	0,980 ^a

Tabela 1. Composição centesimal e caracterização físico-química dos queijos de coalho do Sul do estado de Roraima.

*PB = Proteína bruta; ** A_w = Atividade de água.

Analisando o parâmetro umidade pode-se observar que os queijos produzidos no Sul do Estado de Roraima, apresenta teores variando de (42,23 – 43,22%), portanto sendo classificado como queijo de média umidade (36,0 – 45,9%) de acordo com o estabelecido por Brasil, (1996). Sousa et al. (2014), compararam queijos inspecionados e não inspecionados obtendo resultados variando entre (14,38 – 21,56%) para umidade dos queijos inspecionados e de (15,0 – 29,38%) de umidade para queijos não inspecionados, todos os resultados foram inferiores aos de umidade encontrados neste trabalho.

Os lipídeos, embora não tenham diferido estatisticamente entre os municípios,

tomando como base a Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, são classificados como magro os que apresentam (10,0 – 24,9%) Brasil, (1996). Os queijos produzidos no município de SLA apresentaram valor médio de lipídeos de 22,35%. Já os produzidos nos demais municípios classificaram-se como semigordo (25,0 – 44,9%) devido ao maior teor médio de gordura. Cavalcante et al. (2007) encontraram valores variando de (28,0 – 34,0%) para lipídeos valores próximos aos vistos neste trabalho.

Ribeiro et al. (2012) trabalharam com queijo tipo parmesão e encontraram valores de proteína variando (28,7 – 30,6%), superiores aos encontrados neste trabalho, esse fato pode estar relacionado com o tipo de queijo, o teor de umidade e a ocorrência de proteólise.

Os valores para cinzas foram próximos aos encontrados por Cavalcante et al. (2007), que encontraram valores variando de (3,99 – 4,33%).

A acidez e o pH estão próximos aos valores encontrados por Souza et al. (2014), que encontraram acidez variando de (0,16 – 0,74%) e o pH de (5,18 a 6,23). A acidez decorrente da produção de ácido láctico a partir da degradação da lactose tem influência direta no pH e na eliminação do soro.

Para o parâmetro Atividade de água (A_w) as amostras apresentaram valores próximos aos encontrados por Ribeiro et al. (2012) e Souza et al. (2014). Freitas Filho et al. (2009), afirmam que a A_w interfere nas ações metabólicas dos micro-organismos ao longo da maturação, com suas possíveis consequências no pH, na textura, no sabor e no aroma.

Na Tabela 2 são exibidos os resultados das análises microbiológicas, dos ensaios para Coliformes fecais, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, tomando como parâmetro valores definidos pela resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

	LOTE	Coliformes a 45°C.g ⁻¹	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella sp.</i> 25g
			UFC.g ⁻¹	
CCI	1	0,43 x 10 ²	3,0 x 10 ²	Ausência
	2	0,21 x 10 ²	1,0 x 10 ²	Presença
	3	0,23 x 10 ²	7,0 x 10 ²	Ausência
CRB	1	0,93 x 10 ²	7,0 x 10 ²	Ausência
	2	0,93 x 10 ²	6,0 x 10 ²	
	3	0,43 x 10 ²	6,0 x 10 ²	
RLI	1		6,0 x 10 ²	Ausência
	2	0,43 x 10 ²	5,0 x 10 ²	
	3		9,0 x 10 ²	
SJB	1	0,43 x 10 ²	6,0 x 10 ²	Ausência
	2		6,0 x 10 ²	
	3	0,23 x 10 ²	6,0 x 10 ²	
SLA	1		6,0 x 10 ²	Ausência
	2	0,23 x 10 ²	3,0 x 10 ²	
	3	11,0 x 10 ²	∞	

Tabela 2. Avaliação microbiológica dos queijos de coalho produzidos no Sul do estado de

Observando os resultados é possível afirmar que todas as amostras de todos os municípios avaliados estão dentro dos padrões microbiológicos para coliforme a 45°C.g⁻¹ que tem como limite de tolerância 5x10³ UFC.g⁻¹ de acordo do (BRASIL 2001) indicando que existe um controle na higiene dos equipamentos e manipuladores durante a produção dos queijos.

Já para o micro-organismo *Staphylococcus aureus* apenas o Lote 3 do município de SLA, apresentou grande quantidade de colônias, acima do limite de tolerância que é 10³ UFC.g⁻¹, estando inapto para comercialização e consumo. Por estarem presentes na mucosa e nos tecidos dos seres humanos, a higienização errada do manipulador pode ter sido o motivo da contaminação por *Staphylococcus aureus*. Assumpção et al. (2003), ao analisarem a linha de processamento de queijos, constataram a presença desses micro-organismos nas mãos e antebraço dos manipuladores.

Para o ensaio de *Salmonella* a RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001 determina que não pode haver presença desse micro-organismo. Analisando os resultados é possível observar que o Lote 2 do município de CCI e o Lote 3 do município de SLA apresentaram presença de *Salmonella*, micro-organismo patogênico que é associado a diversas Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA's, portanto ofertando risco aos consumidores deste produto. É possível relacionar essas contaminações com uma falha na higiene dos utensílios, equipamentos e manipuladores, bem como a falta ou falha no processo de pasteurização do leite (SOUZA et al., 2014).

4 | CONCLUSÃO

As amostras apresentaram valores para os parâmetros umidade e lipídeos dentro do determinado pela legislação brasileira. Para os padrões microbiológicos alguns queijos apresentaram-se impróprios para o consumo.

A venda de produtos artesanais deve ser um motivo de apreensão para as autoridades do estado de Roraima, pois estes são relacionados a uma série de DTA's. O queijo de coalho é um produto amplamente consumido e deve ter um olhar especial dos órgãos fiscalizadores para garantir que estes não ofertem riscos aos consumidores.

Por se tratar de um produto adquirido a partir da central de abastecimento de cada município o risco de contaminação por patógenos existe e este deve ser minimizado, por meio de fiscalização e capacitação dos produtores.

REFERÊNCIAS

ASSUMPÇÃO, Eduardo G. et al. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato Identification of main sources of contamination with *Staphylococcus aureus* in Prato cheese manufacturing process. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**

Zootecnia, v. 55, n. 3, p. 366-370, 2003.

BRASIL. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 11 de março de 1996. Seção 1, p. 3977.

BRASIL. Resolução RDC no 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 02 de janeiro de 2001. p.1-54.

BRASIL. Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017. Inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 de março de 2017. Seção 1. p.3.

CAVALCANTE, José Fernando Mourão et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 205-214, 2007.

FREITAS FILHO, João Rufino et al. Avaliação da qualidade do queijo “coalho” artesanal fabricado em Jucati-PE. **Extensio: Revista Eletrônica de Extensão**, v. 6, n. 8, p. 35-49, 2009.

NASSU, Renata Tieko; MACEDO, Benemária Araújo; LIMA, Márcia Helena Portela. Queijo de coalho. Área de Informação da Sede-**Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E)**, 2006.

RIBEIRO, Jéssica Caroline Bigaski et al. Qualidade físico-química e microbiológica do queijo parmesão ralado comercializado em Ponta Grossa, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, p. 21-29, 2012.

SILVA, Gilvan; DUTRA, Ricardo Santos; CADIMA, Ivan Marques. **Higiene na indústria de alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010.

SILVA, Neusely da; JUNQUEIRA, Valéria CA; SILVEIRA, Neliane FA. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4. Ed. Varela, 2010.

SOUSA, A. Z. B. et al. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 30-35, 2014.

CORRELAÇÃO MATEMÁTICA DA MASSA ESPECÍFICA DA POLPA DE ABACAXI COM OS PARÂMETROS TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO

Relyson Gabriel Medeiros de Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande -
UFCG

Campina Grande – Paraíba

João Carlos Soares de Melo

Instituto Federal do Rio Grande do Norte - IFRN

Caicó – Rio Grande do Norte

Carlos Heláidio Chaves Costa

Instituto Federal do Rio Grande do Norte - IFRN

Caicó – Rio Grande do Norte

Adair Divino da Silva Badaró

Instituto Federal do Rio Grande do Norte - IFRN

Caicó – Rio Grande do Norte

Simone Carla Pereira da Silva

Instituto Federal do Rio Grande do Norte - IFRN

Caicó – Rio Grande do Norte

RESUMO: O conhecimento da massa específica das polpas de frutas é importante para projetar equipamentos na indústria alimentícia. Objetivou-se neste trabalho determinar a correlação matemática entre a massa específica da polpa de abacaxi com os parâmetros temperatura e concentração simultaneamente. A massa específica foi determinada com o auxílio de picnômetros e a temperatura controlada através de um banho termostato. As correlações matemáticas da massa específica com a temperatura e concentração foram realizadas através de modelos polinomiais

de quatro termos. Verificou-se que a massa específica da polpa de abacaxi diminuiu com o aumento da temperatura e com decréscimo da concentração. O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o modelo de quatro termos com a temperatura quadrática, pois apresentou R^2 igual a 0,997.

PALAVRAS-CHAVE: Polpa de fruta; Densidade; Equação matemática.

MATHEMATICS CORRELATION OF PINEAPPLE PULP SPECIFIC MASS WITH TEMPERATURE AND CONCENTRATION PARAMETERS

ABSTRACT: The knowledge of the fruit pulps specific mass is important to design equipment in the food industry. The objective of this work was to determine the mathematical correlation between the specific mass of the pineapple pulp with the parameters temperature and concentration simultaneously. The specific mass was determined with the aid of pycnometers and temperature was controlled through a thermostat bath. The mathematical correlations of the specific mass with the temperature and concentration were performed through polynomial models of four terms. It was verified that the specific mass of the pineapple pulp decreased with the increase of temperature and with a decrease in concentration. The

mathematical model that best adjusted to the experimental data was the four-term model with the quadratic temperature, because it presented R^2 equal to 0,997.

KEYWORDS: Fruit Pulp; Density; Mathematical equation.

1 | INTRODUÇÃO

O crescimento do consumo e comercialização de polpa de frutas vem aumentando significativamente a cada ano, pois as pessoas estão buscando produtos mais saudáveis e que tenham maior praticidade, como as polpas de frutas (COSTA et al., 2013, p.2). De acordo com EVANGELISTA E VIEITS (2006, p.76), a polpa de fruta é uma opção de substituição perfeita da fruta in natura, pois apresenta a vantagem de estar disponível no mercado em período de entressafra das frutas. A polpa de frutas é amplamente usada em vários segmentos da indústria de produtos alimentícios, tais como sucos naturais, sorvetes, laticínios, balas, doces, geleias, etc (SILVA et al., 2010, p. 2).

O abacaxi é considerado um dos mais importantes frutos e seu cultivo vem se expandindo no mundo, por longo tempo tem sido a fruta não cítrica mais popular nos países tropicais e subtropicais, principalmente pelo seu atrativo sabor e aroma, contendo uma grande diversidade de vitaminas e sais minerais (FREIMAN e SABAA SRUR, 1999 p.170; MIRANDA et al., 2015, p. 82). Para a indústria de alimentos o suco do abacaxi é o produto nobre, tanto para consumo, quanto para fabricação de vários subprodutos e para exportação (SOUZA e TORRES, 2011, p.175).

No decorrer do processamento das polpas de frutas ocorre a aplicação de processos térmicos que envolvem transferência de calor, como aquecimento, resfriamento e congelamento. O não conhecimento das propriedades termofísicas, como massa específica, calor específico, condutividade e difusividade térmica, das polpas de frutas dificulta o dimensionamento de equipamentos e processos (MATTOS e MEDEIROS, 2008 p.109).

Como a composição dos materiais biológicos é heterogênea, a modelagem e otimização dos processos, dependem de parâmetros que podem variar durante o processo como, o teor de umidade, estrutura do produto e faixa de temperatura utilizada (MATTOS e MEDEIROS, 2008 p.109).

O efeito da temperatura e concentração (°Brix) na massa específica em sucos e polpas de frutas tem sido estudado por diversos pesquisadores, como por PEREIRA et al. (2002, p.527), avaliaram a massa específica de polpa de açaí em três concentrações de sólidos totais (9,7%, 12% e 15,2%) e diferentes temperaturas (10°C a 50°C); GUEDES et al. (2010, p.280), estudando o comportamento da massa específica da polpa de melancia em diferentes temperaturas (10, 20, 30, 40, 50 e 60 °C) e concentrações (8, 17, 26 e 35 °Brix); BONOMO et al. (2009, p.36) estudando o comportamento da massa específica do suco de caju em função da temperatura (5 a 80 °C), entre outros.

Segundo EGEA et al. (2015, p.179) os modelos matemáticos para predição das propriedades termofísicas evoluíram e representam uma oportunidade significativa de melhorar a eficiência de tratamentos térmicos no processamento de alimentos, além, de certa forma, se tornar uma alternativa viável na substituição da determinação experimental destes parâmetros. ALVES et al. (2018, p.159) estudando a massa específica da polpa de abacaxi e de acerola, nas concentrações de 14,4 e 17 °Brix e nas temperaturas de 10 a 50 °C, propuseram modelos matemáticos polinomiais de dois, três e quatro termos a fim de determinar uma correlação entre esses parâmetros. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é determinar uma correlação matemática entre a massa específica da polpa de abacaxi com os parâmetros temperatura (10, 20, 30, 40 e 50°C) e concentração (14, 11 e 8 °Brix), simultaneamente.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

As frutas foram adquiridas no comércio da cidade de Caicó/RN e, posteriormente, foram higienizadas em água corrente para que depois fossem imersas em uma solução de hipoclorito de sódio a 50 ppm, por cerca de 15 minutos; em seguida, foram enxaguadas e despulpadas utilizando um multiprocessador. Por fim, as polpas foram envasadas e armazenadas em um refrigerador.

Com relação as análises da massa específica das polpas de frutas, estas foram realizadas em triplicata, nas temperaturas de 10, 20, 30 40 e 50°C e nas concentrações de 14, 11 e 8 °Brix. Foram utilizados picnômetros previamente calibrados com água destilada em cada temperatura do experimento e a pesados em balança analítica com precisão de 0,0001 g.

Os cálculos da massa específicas foram de acordo com a Equação 1 descrita abaixo.

$$\rho = m/v \quad (1)$$

Onde: ρ – é massa específica (kg/m³); m- é massa do produto (kg); v- é volume do picnômetro (m³).

As temperaturas das amostras foram controladas através do banho termostato com auxílio dos termômetros presentes nos próprios picnômetros. A concentração de sólidos solúveis (°Brix) da polpa foi realizada através de leitura direta com auxílio de um refratômetro portátil modelo RT-30ATC, com escala de 0 a 32 °Brix, devidamente calibrado e ajustado a 20°C com água destilada, e os resultados expressos em °Brix.

Quanto a modelagem matemática da massa específica da polpa, foram utilizados o modelo polinomial de quatro termos com temperatura quadrática (equação 2) e concentração quadrática (Equação 3), respectivamente, para verificação da influência temperatura e concentração sobre a massa específica da polpa.

$$\rho = a+bT+dC+fT^2 \quad (2)$$

$$\rho = a + bT + dC + fC^2 \quad (3)$$

Onde: T – Temperatura (°C); a, b, d e f – constantes; C – Concentração (°Brix).

3 | RESULTADO E DISCUSSÕES

Na Figura 1 tem-se a superfície de resposta que descreve o comportamento da massa específica da polpa de abacaxi em função da temperatura e da concentração. Nota-se que o comportamento da massa específica da polpa foi influenciado tanto pela temperatura como pela concentração, com a massa específica aumentando com o aumento da concentração e diminuindo com a temperatura. Com relação a dependência da massa específica da polpa de abacaxi com a temperatura, PEREIRA et al. (2002 p.528) observaram o mesmo comportamento ao estudarem a polpa de açaí em diferentes temperaturas. MUNIZ et al. (2006, p.363) estudando o comportamento da massa específica da polpa de bacuri com relação a temperatura e concentração, observaram o mesmo comportamento para a polpa estudada. Segundo CARVALHO et al. (2011 p.434), a redução da massa específica com o aumento da temperatura pode ser atribuída a expansão térmica que ocorre com as polpas de frutas quando são aquecidas.

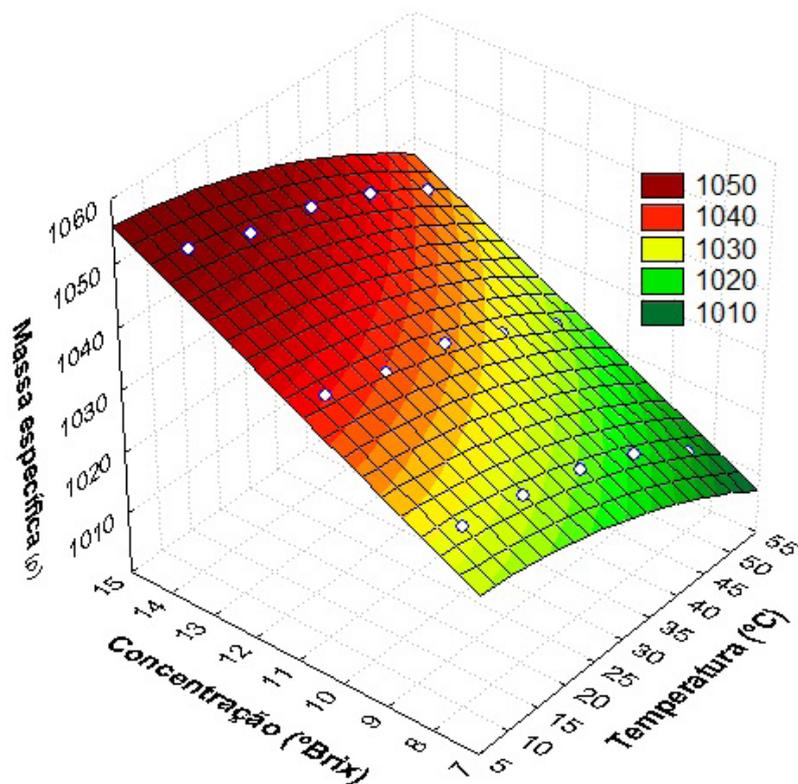


Figura 1 - Massa específica da polpa de abacaxi em função da concentração e temperatura.

Na Tabela 1 encontram-se dois modelos de equações polinomiais de quatro termos que foram utilizadas para descrever o efeito das temperaturas (10, 20, 30, 40 e 50°Brix) e concentrações (14, 11 e 8°Brix) no comportamento da massa específica da polpa de abacaxi e seus respectivos coeficientes de determinações.

Equação	a	b	d	f	R ²
$\rho=a+bT+dC+fT^2$	1000,18	-0,0518	3,7420	-0,0054	0,9972
$\rho=a+bT+dC+fC^2$	1020,62	-0,3769	0,5570	0,1447	0,9952

Tabela 1 – Equações propostas para o cálculo da massa específica da polpa do abacaxi com 14 °Brix em função da temperatura

ρ - Massa específica (kg/m³); T – Temperatura (°C); a, b, d e f – constantes

Percebe-se que o modelo que tem o último termo da equação a temperatura quadrática (T²) apresenta um ajuste melhor que o modelo que possui o último termo da equação a concentração quadrática (C²), ao compara os valores dos coeficientes de determinação (R²) de cada modelo. FORTAN et al. (2018, p.1070) utilizaram uma equação com a temperatura quadrática e umidade linear para descrever o comportamento da massa específica da polpa de maçã e observaram que a mesma teve um bom ajuste com coeficiente de determinação (R²) igual a 0,96. VARELA et al. (2017, p.83) ao utilizarem modelo polinomial com a temperatura quadrática e concentração linear para descrever o comportamento da massa específica da polpa de polpa de graviola, mangaba e pitanga, obtiveram que os coeficientes de determinação (R²) foram iguais a 0,996, 0,990 e 0,990, respectivamente.

Nota-se também que o modelo que tem o último termo da equação a concentração quadrática (C²) tenha apresentado o coeficiente de determinação (R²=0,9952), inferior ao da equação com a temperatura quadrática, também pode ser utilizado para descrever o comportamento da polpa de abacaxi nas condições estudadas. GUEDES et al. (2010, p.282), aplicaram um modelo matemático de quatro termos com temperatura (linear) e concentração de sólidos solúveis (quadrática) e observaram que o modelo se ajustou bem aos dados experimentais da massa específica da polpa de melancia, com coeficiente de determinação igual a 0,999.

4 | CONCLUSÃO

A massa específica da polpa de abacaxi apresentou comportamento coerente ao que é apresentado na literatura diminuindo com o aumento da temperatura e com o decréscimo da concentração de sólidos solúveis. Por fim, o modelo polinomial que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o modelo com a temperatura quadrática, pois apresentou coeficiente de determinação (R²) igual a 0,9972, porém o modelo com a concentração quadrática também pode ser utilizada para rerepresentar o comportamento da massa específica da polpa de abacaxi, pois apresentou coeficiente de determinação (R²) igual a 0,9952.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. N. M.; SANTOS, D. A.; MELO, J. C. S.; COSTA, C. H. C.; BADARÓ, A. D. S.; FEITOSA, R. M. **Predição do comportamento da massa específica das polpas de abacaxi acerola sob diferentes temperaturas**, Revista Agropecuária Técnica, Areia, v. 39, n.2, p.158-163, 2018.
- BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. I.; SOUZA, T. S.; VELOSO, C. M.; REIS, M. F. T.; CASTRO, S. S. **Thermophysical properties of cashew juice at different concentrations and temperatures**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v.11 n.1 p.35-42, 2009.
- CARVALHO, C. M. C.; GOMES, G. M. S.; MADERI, T. R.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M.; SANTOS, C. T. **Calor específico e massa específica da polpa de ciriguela (Spondias purpúrea L.) in natura com diferentes temperaturas**. Higiene Alimentar, Salvador, v. 25, n.194/195 p. 434-436, 2011.
- COSTA, D. O.; CARDOSO, G. R.; SILVA, G. M. V. **A evolução do setor produtivo e comercialização de polpa de fruta no brejo paraibano: estudo de caso na coaprodes**. XXXIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção, Salvador. Anais... ENEGEP, p. 1-16. 2013.
- EGEA, M. B.; REIS, M. H. M.; DANESI, E. D. G. **Aplicação de modelos matemáticos preditivos para o cálculo das propriedades termofísicas do palmito pupunha**. Revista Brasileira Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.17, n.2 p.179-187, 2015.
- EVANGELISTA, R.M.; VIEITES, R.L. **Avaliação da Qualidade de Polpa de Goiaba Congelada, Comercializada na Cidade de São Paulo**. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v.13, n. 2, p.76-81, 2006.
- FONTAN, R. C. I.; SAMPAIO, V. S.; SOUZA Jr, E. C.; PEREIRA, R. G.; RODRIGUES, L. B.; GONÇALVES, G. R. F.; GANDOLFI, O. R. R.; BONOMO, R. C. F. **Composition and thermophysical properties of Malay rose apple pulp**. International Food Research Journal, Seri Kembangan v.25, n.3, p.1067-1073, 2018.
- FREIMAN, LENICE O.; SABAA SRUR, A. U. O. **Determinação de proteína total e escore de aminoácidos de bromelinas extraídas dos resíduos do abacaxizeiro (Ananas comosus, (L.) Merrill)**. Ciência Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.19, N. 2, p.170-1733. 1999.
- GUEDES, D. B.; RAMOS, A. M.; DINIZ, M. D. M. S. **Efeito da temperatura e da concentração nas propriedades físicas da polpa de melancia**. Brazilian Journal Food Technology, Campinas, v. 13, n.4, p. 279-285, 2010.
- MATTOS, J. S.; MEDEROS, B. J. T. **Densidade de polpas de frutas tropicais: banco de dados e determinação experimental**. Revista Brasileira de engenharia de biosistemas, Campinas, v.2, n.2, p. 109-118, 2008.
- MIRANDA, D. S. A.; PESSOA, T.; FIGUEIREDO, R. M. F.; GURJÃO, F. F.; PINHEIRO, R. M. M.; MARTINS, A. G. L. A. **Elaboração e caracterização de néctar de abacaxi pérola adoçado com glucose de milho**. AGROTEC, Areia, v. 36, n.1, p. 82-87, 2015.
- MUNIZ, B. M.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; DUARTE M. E. M. **Caracterização termofísica de polpas de bacuri**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.26, n.2, p. 360-368, 2006.
- PEREIRA, E. A.; QUEIROZ, A. J. M.; Figueiredo, R. M. F. **Massa específica de polpa de açaí em função do teor de sólidos totais e da temperatura**. Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental, Campina Grande, v.6, n.3, p.526-530, 2006.
- SILVA, M. A. C.; SILVA, Z. E.; OLIVEIRA, E. P.; OLIVEIRA, A. S. S.; SILVA, C. K. F. **Determinação de propriedades termofísicas da polpa de acerola: aplicação do método flash**. In: VI Congresso

Nacional de Engenharia mecânica, 4, Campina Grande, 2010. Anais... Universidade Federal de Campina Grande, p.1-7.

SOUSA, O. P.; TORRES, J. L. R. **Caracterização física e química do abacaxi sob densidades de plantio e laminas de irrigação no Triângulo Mineiro**, Magistra, Cruz das Almas, v. 23, n.4, p. 175-185, 2011.

VARELA, M. S. S.; PINTOMBEIRA, G. C. R.; SILVA, A. C. N.; PEREIRA, C. G. **Determination and Modeling of Thermophysical and Transport Properties of Tropical Pulps**. European Journal of Biophysic, New York, v.5, n.5, p.79-88, 2017.

EFEITO DO REVESTIMENTO EDÍVEL USANDO PRÓPOLIS VERDE E ÓLEO DE CRAVO NA CONSERVAÇÃO DE SURURU REFRIGERADO

Tiago Sampaio de Santana

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Tamyres Pereira Lopes de Oliveira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Jessica Ferreira Mafra

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Leydiane da Paixão Serra

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Mariza Alves Ferreira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Aline Simões da Rocha Bispo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e

Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar o aumento da vida útil em amostras de sururu (*Mytella guyanensis*) refrigerado usando extrato de própolis verde e óleo de cravo. Foram elaboradas três soluções de revestimento: óleo essencial de cravo a 2 mg m⁻¹ (OEC); própolis verde a 2% (PV2%) e própolis verde a 2% + OEC a 2 mg mL⁻¹ (PV2%+OEC). Amostras de sururu sem revestimento foi usado como controle. As amostras foram embaladas e armazenadas a 5°C por 12 dias e realizadas análises microbiológicas (bactérias aeróbias mesófilas, coliformes a 35°C e a 45°C) e físico-químicas (bases nitrogenadas voláteis totais - BNVT e pH) em intervalos de 0, 4, 8 e 12 dias. Os revestimentos edíveis apresentaram baixa redução na carga microbiana de mesófilos, porém com redução significativa ($p < 0,05$) para os coliformes a 45°C (PV2% > PV2%+OEC > OEC). Para as BNVT o melhor tratamento na deterioração do sururu foi o PV2%+OEC, com menor valor de BNVT, embora sem diferença significativa para os demais tratamentos e diferindo do controle ($p < 0,05$). A aplicação de revestimento edível usando PV2% e PV2%+OEC é uma alternativa eficiente para a redução da carga microbiana de coliformes em

amostras de sururu refrigerado pois aumenta sua vida útil em 10 dias.

PALAVRAS-CHAVE: Moluscos bivalves; Atividade antimicrobiana; Coliformes.

EFFECT OF EDIBLE GREEN PROPOLIS EXTRACT AND CLOVE OIL COATING IN CONSERVATION REFRIGERATED SURURU

ABSTRACT: The aim of this paper was to evaluate the increase of shelf life in samples of chilled sururu (*Mytella guyanensis*) using green propolis extract and clove oil. Three coating solutions were prepared: clove essential oil at 2 mg m⁻¹ (OEC); 2% green propolis (PV2%) and 2% green propolis + 2 mg OEC mL⁻¹ (PV2% + OEC). Uncoated sururu samples were used as a control. Samples were packaged and stored at 5°C for 12 days and microbiological (aerobic mesophilic bacteria, coliforms at 35°C and 45°C) and physicochemical (total volatile base and pH) analyzes were performed at 0, 4, 8 and 12 days intervals. Edible coatings showed low reduction in microbial load of mesophiles, but with significant reduction ($p < 0.05$) for coliforms at 45°C (PV2% > PV2% + OEC > OEC). For BNVT the best treatment in sururu deterioration was PV2% + OEC, with the lowest BNVT value, although no difference means for the other treatments and differing from the control ($p < 0.05$). The application of edible coating using PV2% and PV2% + OEC is an efficient alternative for reducing coliforms microbial load in chilled sururu samples as it increases their shelf life by 10 days.

KEYWORDS: Shellfish; antimicrobial activity; coliforms.

1 | INTRODUÇÃO

O sururu (*M. guyanensis*) é uma espécie de importância econômica que possui alta demanda de mercado durante todo o ano (CAMILO et al., 2018). Por ser filtrador sofre grande influência do ambiente adjacente, além de contaminação secundária devido a manipulação inadequada durante seu beneficiamento, o que pode tornar esses organismos um pool de toxinas, metais pesados e microrganismos patogênicos. Mesmo não sendo consumido in natura, a alta carga microbiana implica em alterações das propriedades organolépticas do produto, além do risco de gastroenterites quando submetidos a aquecimento brando.

A aplicação de revestimentos edíveis com ação antimicrobiana tem sido promissora na redução de microrganismos em alimentos in natura, pois além de conservar as características sensoriais do alimento, garante a segurança alimentar quanto aos perigos biológicos (DOI et al., 2012; SHIN et al., 2017).

Atualmente, diversos biopolímeros tem sido utilizado como revestimentos comestíveis, podendo se destacar os polissacarídeos como o amido, carragenatos, quitosana, gomas e alginatos. Estes biopolímeros são utilizados devido a sua capacidade em formar uma matriz coesa, ou seja, um biofilme capaz de criar uma barreira mecânica visando proteger o alimento de danos nocivos causados pela oxidação lipídica e microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos. No entanto,

poucos filmes apresentam atividade antimicrobiana significativa (SHIN et al., 2017), sendo necessário a incorporação de óleos essenciais ou extratos vegetais com propriedades antioxidantes, antimicrobianos, e/ou substâncias funcionais, com o intuito de melhorar a integridade do alimento (DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

Os óleos essenciais (OE) e os extratos de própolis são reconhecidos por sua atividade antimicrobiana e antioxidante, sendo incorporados em filmes à base de biopolímeros como agentes ativos, como forma de otimizar a ação do revestimento biodegradável na matriz alimentar (DADALIOGLU; EVRENDILEK, 2004). O óleo essencial de cravo (OEC) (*Syzygium aromaticum*) tem sido amplamente estudado por apresentar em sua composição compostos bioativos como o eugenol, fenilpropanoide, acetato de eugenila, monoterpeno éster e β -cariofileno, e sesquiterpeno (HASHEMINEJAD; KHODAIYAN; SAFARI, 2019). Já a própolis verde (PV) se destaca pela presença de compostos fenólicos artepelin C e bacarina, que tem sido atribuída a uma série de atividades biológicas benéficas para os seres humanos como ação antioxidante, antifúngica e antimicrobiana inclusive contra bactérias resistentes à antimicrobianos (FUJIMOTO, 2016).

Atualmente, a aplicação de revestimentos ou filmes biodegradáveis enriquecidos com OEC e/ou extrato de própolis verde (EPP) podem ser comumente encontrados na conservação de frutas (HASHEMINEJAD; KHODAIYAN; SAFARI, 2019), carne bovina (SHIN et al., 2017), filés de peixes (ROCHA et al., 2018) e camarão (EJAZ et al., 2017). Porém, há poucos relatos usando moluscos bivalves de importância econômica como *M. guyanensis* (LISTON, 2013). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a atividade antimicrobiana do revestimento edível à base de alginato de sódio enriquecido com óleo essencial de cravo e extrato de própolis verde em amostras de sururu (*M. guyanensis*) refrigeradas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O óleo essencial de cravo e o extrato de própolis verde foram obtidos comercialmente em frascos de âmbar e armazenados protegidos da luz. As amostras de sururu foram adquiridas in natura na feira livre de Cruz das Almas, Bahia. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com duas repetições. Para a aplicação do revestimento edível foi utilizada uma solução base (SB) de alginato de sódio a 1%, glicerol a 1% e água destilada estéril. Porções de 200 g de sururu foram imersos em três soluções de tratamento: SB + óleo essencial de cravo a 2 mg mL⁻¹ (OEC); SB + extrato de própolis verde a 2% (PV2%) e SB + óleo essencial de cravo a 2 mg mL⁻¹ + extrato de própolis verde a 2% (PV2%+OEC). A amostra controle foi o sururu sem revestimento. As amostras foram imersas nos diferentes tratamentos por 60 segundos, deixadas a escorrer por 30 minutos,

embaladas em sacos plásticos de polietileno de primeiro uso e armazenadas a 5°C durante 12 dias. As análises microbiológicas e físico-químicas em triplicata foram realizadas em intervalos de 0, 4, 8 e 12 dias.

Para avaliar a atividade microbiológica foi realizada a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, coliformes a 35°C e a 45°C segundo o *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) descrito em Silva et al. (2010). Para a análises de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) foi utilizado o método de arraste a vapor conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (IAL, 2008) e o pH foi determinado usando medidor de pH Tecnal TEC11 (IAL, 2008).

Para a análise estatística os valores das variáveis NMP g⁻¹ e UFC g⁻¹ foram transformados em log e as médias submetidas à análise de variância (ANOVA) e havendo diferença significativa foi utilizado teste de Tukey (p≤0,05). Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico R, versão 3.4.4.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antimicrobiana dos revestimentos ativos foi mais eficiente (p<0,05) na redução da carga microbiana do grupo coliforme, quando comparado as bactérias mesófilas (Tabela 1).

Bactérias aeróbias mesófilas totais (log UFC.g⁻¹)				
Tratamentos	Período de armazenamento (dias)			
	0	4	8	12
Controle	7.18 ^{aC}	7,60 ^{aB}	8,31 ^{aA}	8,30 ^{aA}
OEC	6.74 ^{bC}	6,69 ^{bC}	8,24 ^{bA}	7,77 ^{bB}
PV2%	6.75 ^{bB}	6,73 ^{bB}	6,66 ^{dC}	7,58 ^{cA}
PV2%+OEC	6.30 ^{cD}	6,50 ^{cC}	7,18 ^{cB}	7,33 ^{dA}
Coliformes a 35°C (log NMP.g⁻¹)				
Tratamentos	Período de armazenamento (dias)			
	0	4	8	12
Controle	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}
OEC	1,96 ^{dC}	5,04 ^{aA}	5,04 ^{aA}	4,1 ^{bB}
PV2%	2,38 ^{cC}	2,32 ^{cD}	3,04 ^{cB}	4,04 ^{cA}
PV2%+OEC	3,04 ^{bC}	3,07 ^{bB}	3,46 ^{bA}	3,04 ^{dC}
Coliformes a 45°C (log NMP.g⁻¹)				
Tratamentos	Período de armazenamento (dias)			
	0	4	8	12
Controle	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}	>5,04 ^{aA}
OEC	2,66 ^{cA}	2,63 ^{bB}	2,38 ^{cC}	2,38 ^{bC}
PV2%	2,38 ^{cA}	2,36 ^{cA}	2,38 ^{cA}	1,36 ^{dB}
PV2%+OEC	2,66 ^{bB}	1,96 ^{dC}	2,96 ^{bA}	1,96 ^{cC}

Tabela 1. Análises microbiológicas das amostras de sururu (*M. guyanensis*) revestidas com extrato de própolis verde mais óleo essencial de cravo durante 12 dias em refrigeração.

*Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo teste de Tukey a 5%.

A contagem de mesófilos é importante pois contagens elevadas podem comprometer o tempo de prateleira do produto. De acordo com a literatura contagens acima de 10^6 UFC/g ou log de 7,0 implicam em produtos sem qualidade microbiológica e impróprios para o consumo humano (BORDIGNON et al., 2010). O tratamento PV2% foi o mais eficiente em conter o crescimento de mesófilos, aumentando em 8 dias sua vida útil, quando comparado ao controle. Nesse intervalo, o tratamento PV2% promoveu uma redução de 2 ciclos logarítmicos na contagem microbiana de mesófilos em relação ao controle (Tabela 1).

Com relação ao grupo coliforme, os tratamentos mais eficientes em ordem crescente foram PV2% > PV2%+OEC > OEC. De acordo com a Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001), o limite para coliformes a 45°C em moluscos bivalves consumidos cozidos é de 5×10 ou log 1,70 NMP.g⁻¹. Considerando que os moluscos estudados são submetidos à fervura para a abertura das valvas é possível enquadrá-los nessa categoria (MAFRA et al., 2016). Apesar de apenas o tratamento PV2% com 12 dias apresentar valores dentro do estabelecido na legislação é preciso destacar a redução de 4 ciclos logarítmicos na contagem de coliformes a 45°C no tratamento PV2%+EOC, com redução da carga microbiana para 1,96 log NMP g⁻¹ (Tabela 1).

Para os parâmetros físico-químicos os tratamentos apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o pH e as BNVT (Figuras 1 e 2), demonstrando que o revestimento edível contendo extrato de própolis ou em associação com o óleo de cravo aumenta o tempo de prateleira dos moluscos bivalves.

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que regulamenta o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, os níveis de BNVT devem ser inferiores a 0,03 g de nitrogênio por 100 g de carne e bases voláteis terciárias inferiores a 0,004 g N, em 100 g (para atestar frescor ao produto) (BRASIL, 1980).

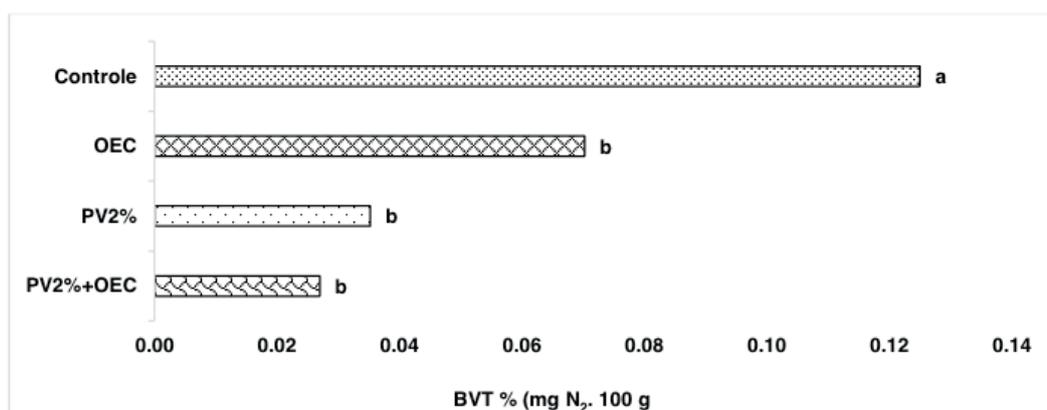


Figura 1. Teor de bases voláteis totais (mg N₂. 100 g) nas amostras de sururu tratados com diferentes soluções de revestimento a base de extrato de própolis e óleo essencial de cravo.

Apesar do pH no tratamento usando apenas OEC se encontrar próximo ao pH do controle com 12 dias, este diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) (Figura 2). Resultados

semelhantes de pH foram descritos por Liston (2013) em amostras de sururu revestidas com óleo essencial de orégano, mas diferindo dos valores de BNVT, que na presente pesquisa foram menores do que os valores citados pelo autor.

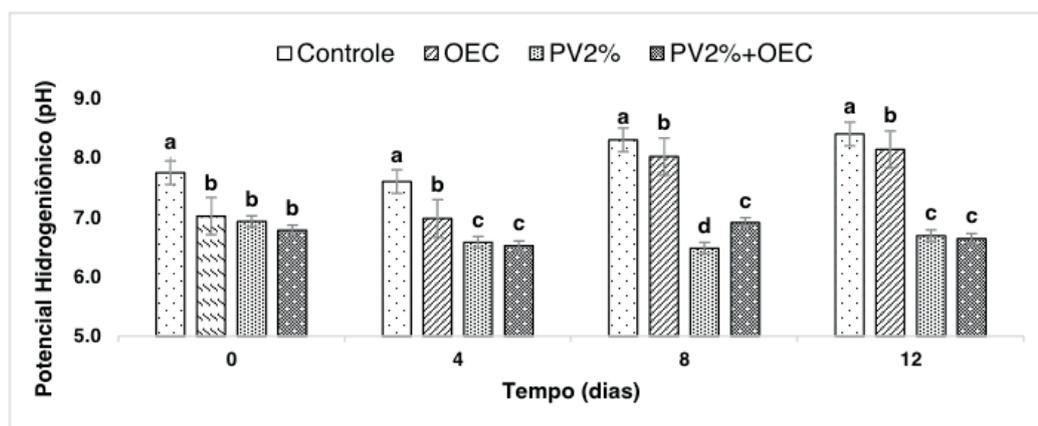


Figura 2. pH das amostras de sururu tratados com diferentes soluções de revestimento a base de extrato de própolis e óleo essencial de cravo.

O abuso do binômio tempo x temperatura e contaminação cruzada durante as etapas de beneficiamento devido falhas nas boas práticas de manipulação são fatores que contribuem para a alta carga de bactérias entéricas em moluscos bivalves. Outro fator que compromete a inocuidade dos moluscos é a contaminação das áreas de extração por esgotos domésticos, devido a falta de saneamento básico na maioria dos municípios litorâneos (MAFRA et al., 2016). Evangelista-Barreto et al. (2014), avaliando a qualidade microbiológica de *M. guyanensis* provenientes da Baía do Iguape, em Maragogipe, Bahia, relataram altos índices de coliformes devido a contaminação das águas por esgotos domésticos.

A aplicação de revestimentos edíveis em amostras de sururu apresentou resultado satisfatório, reduzindo a carga microbiana e BNVT, retardando os processos de deterioração e consequentemente aumentando a vida útil do produto. Podemos notar que isoladamente o OEC não obteve um desempenho significativo. Contudo, quando associado a PV2% alcançou resultados mais expressivos demonstrando a eficiência do sinergismo dos compostos bioativos presentes.

4 | CONCLUSÃO

A utilização de revestimentos edíveis é eficaz na redução da carga microbiana de coliformes em amostras de sururu, aumentando a vida útil do alimento. O revestimento usando própolis verde ou em associação com o óleo essencial de cravo - OEC se mostrou mais eficiente do que quando usado OEC isoladamente.

REFERÊNCIAS

- BORDIGNON, A.C.; SOUZA, B.E.; BOHNENBERGER, L.; HILBIG, C.C.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. **Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em 'V' do filé e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial.** Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 32, p. 109-116, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 12. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder executivo. Brasília, pp.1-48, 2 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RISPOA.** Brasília, 1980. 165p.
- CAMILO, V.M.A. et al. **Reproductive cycle of *mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) in a marine reserve (RESEX Bay of Iguape), Bahia, Brazil.** Brazilian Journal of Biology, v. 78, p. 255-264, 2018.
- DADALIOGLU, I.; EVRENDILEK, G. A. **Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. V. 52, p. 8255-8260, 2004.
- DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. **Edible films and coatings in seafood preservation: A review.** Food Chemistry, v. 240, p. 505–513, 2018.
- DOI, S. A.; COLLAÇO, F. L.; STURARO, L. G. R.; BARBIERI, E. **Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade.** O Mundo da Saúde, v. 36, p. 594-601, 2012.
- EJAZ, M. et al. **Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging.** Food Packaging and Shelf Life, v.15, p. 113-121, 2018.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R.; BARBALHO-FERREIRA, L. T. **Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia).** Acadêmica Ciência Agrária Ambiental, v.12, p. 25-34, 2014.
- FUJIMOTO, G. **Própolis verde: caracterização, potencial de atividade antimicrobiana e efeitos sobre biofilmes de *Enterococcus* spp.** 2016. 121f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos, São Paulo, 2016.
- HASHEMINEJAD, N.; KHODAIYAN, F.; SAFARI, M. **Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles.** Food Chemistry, v. 275, p.113-122, 2019.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 2008. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.
- LISTON, S. M. **Estudo da composição e aplicação do óleo essencial de *origanum vulgare* L. Como agente antimicrobiano em sururu (*Mytella falcata*).** 2013. 73f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão.
- MAFRA, J. F., MARQUES, V. F., CARNEIRO, C. S., OLIVEIRA, T. A. S.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de moluscos bivalves processados e comercializados em Maragogipe, estado da Bahia, Brasil.** Acta of Fisheries and Aquatic Resources, v.4, p. 39–43. 2016.
- ROCHA, M.; ALEMÁN, A.; ROMANI, V. P.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P.; PRENTICE, C. **Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or**

clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) filets shelf-life. Food Hydrocolloids, v.81, p.351-363, 2018.

SHIN, S. H.; CHANG, Y.; LACROIX, M.; HAN, J. **Control of microbial growth and lipid oxidation on beef product using an apple peel-based edible coating treatment.** LWT - Food Science and Technology, v.84, p.183–88, 2017.

SILVA et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e água.** São Paulo. Varela. 4^a ed. 624 p. 2010.

EFEITO DOS EXTRATOS HIDRO-ETANÓLICOS DE ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) E DE MARCELA (*Achyrocline satureioides*) NA INIBIÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA E NA COLORAÇÃO DE BANHA SUÍNA

Eduardo Borges de Brum

Faculdades Integradas Aparício Carvalho (FIMCA), Curso de Medicina Veterinária – Porto Velho - RO

Danielli Vacari de Brum

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Departamento de Matemática e Estatística – Porto Velho – RO

RESUMO: O efeito de dois níveis (0,5% e 1%) de extratos hidro-etanólicos de erva mate (*Ilex paraguariensis*) e de marcela (*Achyrocline satureioides*), bem como da composição mista de extratos de erva mate e marcela (1/1:v/v), na inibição da oxidação lipídica e a interferência na colorimetria (CLab) da banha suína foram avaliados. A atividade antioxidante foi elevada para todos os extratos e composições mistas de extratos. Se observaram valores entre 91,86 e 99,15% na inibição da oxidação lipídica, no teste de oxidação acelerada. Não foi observado efeito sinérgico, nem antagônico na composição mista de extratos de erva mate e de marcela (1/1:v/v) sobre a inibição da oxidação. Na análise da colorimetria das coordenadas a^* e b^* , os extratos de erva mate, de marcela e as composições mistas de extratos (0,5% e 1%) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle (sem extrato) e o extrato de erva mate a 1% obteve o valor

mais alto, diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais, indicando uma maior interferência na cor da banha suína. Notou-se que quanto à coordenada L^* , o controle, as composições mistas de extratos (0,5% e 1%) e o extrato de marcela (0,5%) não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$), indicando não haver interferência na luminosidade da banha suína. Os demais extratos e composições se diferenciaram do controle ($p < 0,05$), interferindo neste parâmetro sobre a banha suína.

PALAVRAS-CHAVE: oxidação; banha suína; erva mate; marcela; antioxidante.

EFFECT OF HYDRO-ETHANOLIC HERB EXTRACTS MATE (*Ilex paraguariensis*) AND MARCELA (*Achyrocline satureioides*) IN THE INHIBITION OF LIPID OXIDATION AND IN PINE BATH COLORING

ABSTRACT: The effect of two levels (0,5% and 1%) of hydro-ethanolic extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and marcela (*Achyrocline satureioides*) and mixed composition of extracts of mate and marcela (1/1:v/v) in the inhibition of lipid oxidation and interference in the colorimetric (CLab) of porcine bath were evaluated. The antioxidant activity was high for all the extracts and compositions of mixed extracts. Values were observed between 91,86 and 99,15% of the inhibition of lipid oxidation in accelerated

oxidation test. There was no synergistic effect or antagonistic, the composition of mixed extracts of mate and marcela (1/1:v/v) on the inhibition of oxidation. In the analysis of colorimetric coordinates a^* and b^* , the extracts of yerba mate, and the compositions of marcela mixed extracts (0,5% and 1%) showed significant difference ($p < 0,05$) compared to control (without extract) and the extract of yerba mate (1%) obtained the highest value, differentiating it significantly ($p < 0,05$) of the others, indicating greater interference in the color of porcine barth. It was noted that on the L^* coordinate, control, the mixed compositions of extracts (0,5% and 1%) and extract of marcela (0,5%) showed no significant difference ($p > 0,05$), indicating no interference in the light of porcine barth. The other extracts and compositions differ from the control ($p < 0,05$), interfering in this parameter on the porcine barth.

KEYWORDS: oxidation; porcine barth; yerba mate; marcela; antioxidant.

1 | INTRODUÇÃO

A preocupação em proporcionar aos consumidores produtos de alta qualidade tem levado a indústria de produtos cárneos a adotar medidas que limitem o fenômeno da oxidação lipídica, pois esta acarreta alterações organolépticas nos produtos, tais como: alterações da coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo, além de também provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos como os compostos da oxidação do colesterol (KUBOW, 1990; PANIANGVAIT et al., 1995) e da polimerização dos triglicerídeos (ALEXANDER, 1978; CHANG, PETERSON e HO, 1978), além dos aldeídos com α e β insaturações, incluindo o malonaldeído, que é reconhecido por seus efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (NEWBURG e CONCON, 1980).

Compostos químicos conhecidos como antioxidantes são empregados com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos. A adição de antioxidantes sintéticos como o BHA, BHT, PG e TBHQ é uma prática corrente na indústria de produtos cárneos e o uso desses aditivos tem sido questionado pela possibilidade de efeitos colaterais maléficos à saúde. Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade destes antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais (BOTTERWECK et al., 2000). Em outros estudos, o BHA mostrou induzir hiperplasia gastrointestinal em roedores por um mecanismo desconhecido em humanos (CRUCES-BLANCO et al., 1999). A redução do nível de hemoglobina e a hiperplasia de células basais (MADHAVI e SALUNKHE, 1995) foram atribuídas ao uso de TBHQ. Por estes motivos, o uso destes antioxidantes em alimentos é limitado. No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que limita a

0,01g/100g para BHA e BHT como concentrações máximas permitidas em carnes e produtos cárneos (BRASIL, 1998).

A utilização de plantas e ervas como antioxidantes em alimentos processados está tornando-se cada vez mais importante na indústria da alimentação como uma alternativa aos antioxidantes sintéticos (ITO *et al.*, 1983; MADSEN e BERTELSEN, 1995; ZHENG e WANG, 2001). A presença de compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada pela inibição da oxidação lipídica, além da participação em processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG, BODINE e NOBLE, 1998), porém há necessidade de se trabalhar na busca pela melhor forma de utilização dos vegetais para esta finalidade, haja vista que os extratos elaborados têm apresentado bons resultados quanto à atividade antioxidante, porém apresentaram interferências nas características sensoriais dos produtos.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), planta muito comercializada no norte da Argentina, sul do Brasil e leste do Paraguai (GIBERTI, 1979), na forma de pó de folhas tostadas, detém propriedades antioxidantes e apresenta efeito hipocolesterolêmico em função da redução da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), minimizando a formação do ateroma, característica essa atribuída aos constituintes fenólicos presentes nas folhas (SANTOS *et al.*, 2004). Derivados cafeicos e flavonóides foram identificados e quantificados, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em extrato aquoso das folhas de erva-mate (FILIP *et al.*, 2001).

A *Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como marcela, é uma planta medicinal usada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil por suas propriedades antiespasmódica, hepatoprotetora e colerética, possui alto conteúdo de compostos polifenólicos, na maioria flavonóides, e de diferentes ácidos fenólicos como o cafeico, clorogênico e isoclorogênico (SIMÕES *et al.*, 1988; FERRARO, NORBEDO e COUSSIO, 1981), sugerindo que esta planta pode possuir potentes efeitos antioxidantes. Desmarchelier, Coussio e Ciccia (1998); Gugliucci e Menini (2002) relataram propriedades antioxidantes da marcela, mas a sua aplicação em produtos cárneos ainda tem sido pouco estudada.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito dos extratos hidro- etanólicos de marcela (*Achyrocline satureioides*), de erva mate (*Ilex paraguariensis*) e a composição mista de extratos de erva mate e de marcela (1/1, v/v) na inibição da oxidação lipídica e na colorimetria de banha suína.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e período experimental

O experimento foi realizado em um Laboratório de Inspeção de Alimentos e Bromatologia, na cidade de Santo Ângelo-RS-Brasil, no período de fevereiro a outubro

de 2015.

2.2 Matéria-prima

Para elaboração dos extratos foram utilizadas amostras de inflorescências de marcela (*Achyrocline satureioides*), colhidas durante o mês de março, na zona rural de Santiago-RS-Brasil e amostras de erva mate (*Ilex paraguariensis*) comercial, adquiridas em um supermercado de Santo Ângelo- RS-Brasil, no mesmo período.

2.3 Preparação do extrato de Marcela

O produto vegetal seco (30 gramas) de inflorescências da marcela foi homogeneizado com solvente, transferido para um béquer e deixado durante 1 hora à temperatura ambiente. Transcorrido este período, procedeu-se a filtração utilizando-se papel de filtro Whatman nº 1. A parte sólida foi submetida a mais duas extrações sucessivas, com o objetivo de extrair totalmente o princípio ativo da matéria prima. Os 3 filtrados foram recolhidos e concentrados em rotaevaporador (Rotavapor® RE 120 - Büchi, Flawil, Suíça) até 7% do volume inicial, obtendo-se assim o extrato bruto que foi mantido sob refrigeração em frasco de vidro, ao abrigo da luz. Na elaboração do extrato, a relação líquido-sólido foi de 12:1. Na primeira extração, o solvente empregado foi uma mistura de etanol 95% com água destilada (12:1) e nas duas seguintes etanol 95% (CAMPAGNOL, 2007).

2.4 Preparação do extrato de erva mate

O pó de folhas secas (100 gramas) de erva mate foi homogeneizado em 400 ml de uma mistura de etanol a 95% e água destilada (4/1, v/v) durante 3 minutos. Logo após, a mistura foi agitada durante 1 hora sob temperatura ambiente. Em seguida foi filtrado através de papel filtro Whatman nº 1. A parte sólida foi reextraída com etanol por mais duas vezes. Os 3 filtrados foram recolhidos e concentrados em rotaevaporador (Rotavapor® RE 120 - Büchi, Flawil, Suíça) até 7% do volume inicial, obtendo-se assim o extrato bruto que foi mantido sob refrigeração em frasco de vidro, ao abrigo da luz (CAMPOS et al., 2007).

2.5 Teste da oxidação acelerada em banha suína

Foram adicionados às amostras de 100 gramas de banha suína diferentes extratos (composições de 0,5 e 1 grama); no controle não foi adicionado extrato. A composição foi aquecida e mantida a temperatura entre 100-110°C durante 90 minutos, sob agitação com auxílio de agitador magnético. Depois de decorrido este tempo, foi realizada a análise do índice de TBARS nas amostras, com leitura da absorbância a 531nm (PADILHA, 2007). A atividade antioxidante das concentrações

foi calculada em relação à percentagem de inibição da oxidação na banha suína, pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição} = 1 - \frac{(\text{absorbância da amostra})}{(\text{absorbância do controle})} \times 100$$

2.6 TBARS

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) resultantes da oxidação lipídica foram determinadas segundo o método de Raharjo e Sofos (1993). Os valores de TBARS foram determinados em triplicata para cada amostra.

2.7 Composição das amostras

Cada amostra foi composta através da adição de alíquotas pré-determinadas de extrato a 100g de banha suína, em becker, dando origem as seguintes composições:

- extrato de erva mate a 0,5% (E0.5);
- extrato de erva mate a 1% (E1);
- extrato de marcela a 0,5% (M0.5);
- extrato de marcela a 1% (M1);
- composição mista de extratos de erva mate e de marcela (1/1, v/v) a 0,5% (EM0.5);
- composição mista de extratos de erva mate e de marcela (1/1, v/v) a 1% (EM1).

2.8 Determinação da cor

A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300, (MINOLTA). Os resultados foram expressos como L* (luminosidade), a* (direção para o vermelho) e b* (direção para o amarelo).

2.9 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SAS, versão 8.2.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Colorimetria

Os resultados da análise colorimétrica dos extratos adicionados em banha suína estão descritos na tabela 1. Na coordenada a* os extratos hidro-etanólicos de erva mate

e de marcela apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle/sem extrato e o E1 obteve o valor mais alto, diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais, indicando uma maior interferência na cor, em direção ao vermelho, da banha suína. O M0.5 e o EM0.5, apresentaram os menores valores a partir do controle, respectivamente, demonstrando as menores interferências, neste parâmetro, sobre a banha suína. O E0.5, o M1 e o EM1 apresentaram valores intermediários e com interferência crescente, respectivamente, sobre o produto avaliado.

Tratamentos ¹	L*	a*	b*
Controle	90,27 ^a	8,06 ^e	10,80 ^e
E 0.5	86,97 ^c	26,40 ^c	14,50 ^d
E1	84,52 ^d	49,26 ^a	18,99 ^a
M 0.5	88,79 ^{ab}	17,73 ^d	17,58 ^b
M1	84,95 ^d	31,23 ^b	16,20 ^c
EM 0.5	88,70 ^{ab}	17,30 ^d	17,38 ^{bc}
EM1	87,50 ^{ab}	33,56 ^b	17,25 ^{bc}

Tabela 1 – Valores médios da determinação colorimétrica de amostras de banha suína com diferentes níveis de extratos de erva mate, de marcela e da composição mista de extratos de erva mate e de marcela (1/1, v/v) expressas como L* (luminosidade), a* (direção ao vermelho) e b* (direção ao amarelo)

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

¹ Controle: sem adição de extrato; E0.5: adição de 0,5% de extrato hidro-etanólico de erva mate; E1: adição de 1% de extrato hidro-etanólico de erva mate; M0.5: adição de 0,5% de extrato hidro-etanólico de marcela; M1: adição de 1% de extrato hidro-etanólico de marcela; EM0.5: adição de 0,5% de composição mista de extratos hidro-etanólicos de erva mate e marcela; EM1: adição de 1% de composição mista de extratos hidro-etanólicos de erva mate e marcela.

Na análise da coordenada colorimétrica b* novamente os extratos hidro-etanólicos de erva mate e de marcela apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle/sem extrato, porém quando foram comparadas as concentrações, o E0.5 obteve o valor mais baixo a partir do controle, demonstrando a menor interferência neste parâmetro, sobre a banha suína. O E1 apresentou diferença ($p < 0,05$) em relação a todos tratamentos e indicou uma maior interferência na cor, em direção ao amarelo, do produto analisado. O M1 e o M0.5, bem como o EM1 e o EM0.5 apresentaram valores intermediários para este parâmetro. Segundo Fennema (2000), o processamento térmico de vegetais com folhas verdes modifica cor, de verde para verde amarronzado, devido a conversão da clorofila em feofitina, sendo transferida ao produto adicionado.

Observou-se que quanto à coordenada L*, o controle, o M0.5, o EM0.5 e o EM1 não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$), indicando não haver interferência, na luminosidade, da banha suína. Campagnol (2007), da mesma forma, não observou diferença significativa quanto coordenada L*, entre produtos cárneos adicionados ao extrato hidro-alcoólico de marcela e o controle, em salame. Os demais extratos e composições mistas se diferenciaram do controle ($p < 0,05$), interferindo neste

parâmetro sobre a banha suína.

3.2 Atividade antioxidante

Na Figura 1 estão descritos os resultados da atividade antioxidante dos extratos hidro-etanólicos de marcela, de erva mate e das composições mistas de extratos (1/1, v/v), em relação à inibição da oxidação, acompanhada no teste de oxidação acelerada em banha suína. Observou-se que a taxa de inibição da oxidação foi elevada para as diferentes formulações, porém não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Foram encontrados valores entre 91,86 e 99,15% na inibição da oxidação lipídica, no teste de oxidação acelerada em banha suína.

Estes resultados estão de acordo com Anesini, Ferraro e Filip (2006); Bravo, Goya e Lecumberry (2007); Campos et al. (2007), que encontraram excelente atividade antioxidante no extrato de erva mate, e com Campagnol (2007) que encontrou, da mesma forma para o extrato de marcela. Souza (2006) trabalhando com extrato hidro-etanólico bruto e purificado de casca de batata inglesa (*Solanum tuberosum*) encontrou valores entre 84% e 94% na inibição da oxidação lipídica em teste semelhante ao utilizado neste trabalho.

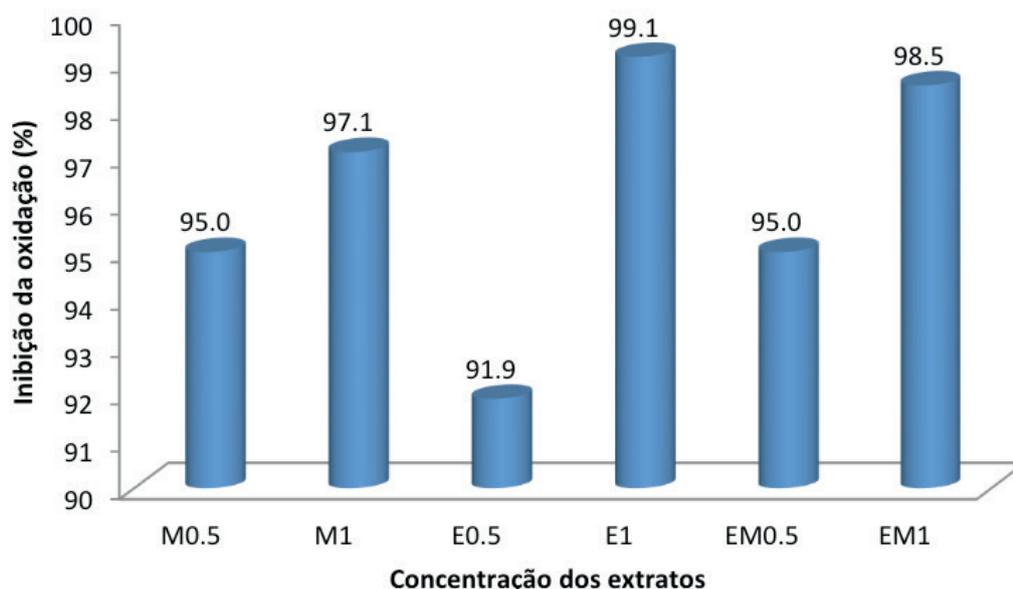


Figura 1 - Atividade antioxidante dos extratos hidro-etanólicos de marcela a 0,5% (M0.5) e a 1% (M1), de erva mate a 0,5% (E0.5) e a 1% (E1), das composições mistas de extratos (1/1, v/v) a 0,5% (EM0.5) e a 1% (EM1), em relação a inibição da oxidação, acompanhada no teste de oxidação acelerada em banha suína. Dados expressos pela média (n=3)

No teste de oxidação acelerada os controles oxidaram até o nível médio de 1,942 mg de malonaldeído/Kg de amostra, demonstrando, dessa forma, a eficácia dos extratos na inibição da oxidação lipídica.

Por outro lado, a atividade antioxidante de fitoquímicos naturais pode ser influenciada pelo solvente utilizado na extração e pelo método de extração dos compostos ativos, que podem interferir significativamente no nível dos componentes recuperados (MOLLER et al. (1999); KOBAYASHI et al. (2007); HAYOUNI et al. (2007).

Estudos da composição química demonstraram que o extrato etanólico das inflorescências da marcela tem como principais constituintes os flavonóides quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina. De forma similar, estudos fitoquímicos confirmaram a presença de ácido caféico, clorogênico e isoclorogênico (FERRARO, NORBEDO e COUSSIO, 1981; SIMÕES, 1984). Na análise do extrato de folhas mate em cromatografia líquida de espectro de massa (LC/MS), verificou-se que os isômeros do ácido cafeoilquínico (CQA) e o di-cafeoilquínico (di-QCA) foram os maiores componentes da fração fenólica (BRAVO, GOYA e LECUMBERRY, 2007). Estes são constituintes da família dos ácidos clorogênicos, que são os mais conhecidos grupos de compostos fenólicos de *Ilex paraguariensis* (ALIKARIDIS, 1987; FILIP et al., 2001). Estes compostos fenólicos, como metabólitos têm demonstrado boa defesa contra o estresse oxidativo das espécies reativas ao oxigênio (ROS) endógenas e dos radicais livres. (CHOI et al., 2005; KIM e CHUNG, 2002).

Ainda, não foi constatado efeito sinérgico resultante da mistura de extratos de erva mate e marcela, já que não houve diferença significativa entre estes e os extratos puros sobre o percentual de inibição de oxidação. Da mesma forma, não houve antagonismo quanto ao efeito antioxidante na mistura de extratos.

4 | CONCLUSÃO

Os extratos hidro-etanólicos de erva mate, de marcela e as composições mistas de extratos (1/1:v/v), ambos a 0,5% e 1% em banha suína, apresentaram elevada atividade antioxidante e não foi observado efeito sinérgico, nem antagônico, na composição mista de extratos (1/1:v/v) de erva mate e marcela sobre a inibição da oxidação lipídica.

Os extratos de erva mate, de marcela e as composições mistas de extratos (0,5% e 1%), na análise da colorimetria das coordenadas a^* e b^* , apresentaram interferência em relação ao controle-sem extrato, sendo que o extrato de erva mate a 1% obteve o mais alto valor, indicando uma maior interferência na cor da banha suína. Quanto à coordenada L^* , o controle, as composições mistas de extratos e o extrato de marcela a 0,5% não indicaram interferência, na luminosidade, da banha suína.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, J. C. Biological effects due to changes in fats during heating. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.

ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, p. 121–144, 1987.

ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. **Food Chemistry**, v. 97, p. 459–464, 2006.

BOTTERWECK, A. A. M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOEHM, R. A.; KLEINJANS, J. **Food Chem. Toxicol.** v. 38, n. 599, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Poder Executivo, 14 dez. 1998.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate. **Food Research International**, v. 40, p. 393–405, 2007.

CAMPAGNOL, P.C.B. **Cultura starter produzida em meio de cultura de plasma de suíno e antioxidante natural na elaboração do salame**. 2007. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

CAMPOS, R. M. L.; HIERRO, E.; ORDÓÑEZ, J. A.; BERTOL, T. M.; TERRA, N. N.; HOZ, L. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1159–1167, 2007.

CHANG, S. S.; PETERSON, R. J.; HO, C. T. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 718–727, 1978.

CHOI, J.M.; RYU, H.J.; CHUNG, J.H.; PARK, J.C.; HWANG, J.K.; SHIN, D.B., et al. Antioxidant property of genistein: inhibitory effect on HOCl induced protein degradation, DNA cleavage, and cell death. **Food Science and Biotechnology**, v. 14, p. 399–404, 2005.

CRUCES-BLANCO, C.; CARRETERO, A. S.; BOYLE, E. M.; GUTIÉRREZ, A. F. **Talanta**, n. 50, p. 1099, 1999.

DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. ("marcela"). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 9, p. 1163-1170, 1998.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed., Zaragoza: Editorial Acribia, 2000. 1258 p.

FERRARO, G. E.; NORBEDO, C.; COUSSIO, J. D.; Polyphenols from *Achyrocline satureioides*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2053–2054, 1981.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic Compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 774- 778, 2001.

GIBERTI, G. Las especies argentinas del género *Ilex* (Aquifoliaceae). **Darwiniana**, n. 22, p. 217–240, 1979.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. **Life Sciences**, v. 71, n. 6, p. 693-705, 2002.

HAYOUNI, E. A.; ABEDRABBA, M.; BOUIX, M.; HAMDY, M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**. V. 105, n. 3, p. 1126-1134, 2007.

ITO, N.; FUKUSHIMA, S.; HASEGAWA, A.; SHIBATA, M.; OGISO, T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F 344 rats. **Journal of The National Cancer Institute**, v. 70, p. 343–347, 1983.

- KIM, Y. C.; CHUNG, S. K. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. **Food Science and Biotechnology**, v. 11, p. 407–411, 2002.
- KOBA, K.; MATSOUKA, A.; OSADA, K.; HUANG, Y. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 308-316, 2007.
- KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 1, p. 67–71, 1990.
- MADHAVI, D. L.; SALUNKHE, D. K. **Em Antioxidants**; Maga, J.; Tu, A. T., eds.; Marcel Dekker: New York, 1995, 89 p.
- MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 271–277. 1995.
- MOLLER, J. K. S. et al. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water- extractable antioxidants. **Food Chemistry**, v. 64, p. 215-219. 1999.
- NEUBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 6, p. 1681– 1687, 1980.
- PADILHA, A. D. G. **Antioxidante natural na conservação de carne de frango in vivo**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2007.
- PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1159– 1174, 1995.
- PELEG, H.; BODINE, K.K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v. 23, n. 3, p. 371-378, 1998.
- RAHARJO, S; SOFOS, J. N. Metodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. **Meat Science**, v. 35, n. 2, p. 145-169, 1993.
- SANTOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; RAPACCI, M.; WINTER, C. M. G. Polifenóis em chá de erva-mate. **Nutrição Brasil**, v. 3, n. 1, p. 47-50, 2004.
- SAS. **Sas Institute Inc**. Cary, NC, 1996.
- SIMÕES, C. M. O. **Investigação químico-farmacológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela)**. 1984. 186 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Rio grande do Sul, Porto Alegre, 1984.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., compositae. **Journal of ethnopharmacology**, v. 22, n. 3, p. 281-293, 1988.
- SOUZA, M. A. V. **Casca da batata inglesa (*Solanum tuberosum*) na proteção antioxidante da carne de frango**. 2006. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2006.
- ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, p. 5165- 5170, 2001.

ESTUDO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E SENSORIAIS DE SORVETE DE ABACAXI (*Ananas comosus* L.) INCORPORADO COM MICROCÁPSULAS DE HORTELÃ-VERDE (*Mentha spicata*)

Jenisson Linike Costa Gonçalves

Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão - Sergipe

Annuska Vieira Cabral

Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão - Sergipe

Vanessa Santos de Souza

Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão - Sergipe

Patrícia Beltrão Lessa Constant

Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão - Sergipe

Angela da Silva Borges

Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão - Sergipe

RESUMO: O Brasil é detentor de 40% do mercado de sorvetes na América Latina e seu consumo per capita está acima da média mundial. O suco de abacaxi com hortelã é bastante consumido no país por ser refrescante, saudável e compatível com seu clima tropical. O projeto propôs a incorporação de microcápsulas

de hortelã-verde (*Mentha spicata*) em sorvete de abacaxi (*Ananas comosus* L.), sua caracterização físico-química e aceitabilidade sensorial do produto a fim de estimar seu potencial mercadológico. As microcápsulas foram obtidas por meio da técnica de gelificação iônica. Foram preparadas duas formulações de sorvete de abacaxi, uma sendo controle e outra contendo as microcápsulas de hortelã-verde. As formulações foram submetidas às análises de overrun, tempo de derretimento, sólidos solúveis, pH, acidez, cor, densidade, rotulagem nutricional, análise sensorial por meio de teste de aceitação (para os atributos cor, aparência, aroma, sabor, textura e impressão global) e intenção de compra. O sorvete com microcápsulas de hortelã-verde obteve boa aceitação sensorial e intenção compra maior que 70%, apesar da formulação sem microcápsulas ter apresentado valores superiores nos atributos sensoriais avaliados. A quantidade de polpa utilizada nas formulações (35%) afetou a incorporação de ar, resultando em overrun abaixo de 35%. O sorvete com microcápsulas apresentou maior resistência ao derretimento, confirmando a baixa incorporação de ar. A técnica de gelificação iônica mostrou-se eficiente ao preservar 70% da clorofila total presente no extrato da hortelã-verde após incorporação ao sorvete.

PALAVRAS-CHAVE: Sorvete. Abacaxi.

STUDY OF THE PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PARAMETERS OF PINEAPPLE ICECREAM (*Ananas comosus* L.) INCORPORATED WITH SPEARMINT (*Mentha spicata*) MICROCAPSULES

ABSTRACT: Brazil owns 40% of the ice cream market in Latin America and your per capita consumption is above the world average. Pineapple juice with mint is widely consumed in the country because it's refreshing, healthy and compatible with your tropical climate. The project proposed the incorporation of spearmint (*Mentha spicata*) microcapsules in pineapple ice cream (*Ananas comosus* L.), your physicochemical characterization and sensory acceptability of the product in order to estimate it market potential. The microcapsules were obtained by ion gelation technique. Two pineapple ice cream formulations were prepared, one being control and the other containing the spearmint microcapsules. The formulations were subjected to analysis of overrun, melting time, soluble solids, pH, acidity, color, density, nutritional labeling, sensory analysis by acceptance test (for color, appearance, flavor, taste, texture and global impression attributes) and purchase intent. Spearmint microcapsule ice cream had good sensory acceptance and purchase intent greater than 70%, although the formulation without microcapsules had higher values in the sensory attributes evaluated. The amount of pulp used in the formulations (20%) affected air incorporation, resulting in overrun below 35%. The ice cream with microcapsules showed higher melt resistance, confirming the low incorporation of air. The ionic gelation technique was efficient in preserving 70% of the total chlorophyll present in the spearmint extract after incorporation in the ice cream.

KEYWORDS: Ice cream. Pineapple. Microcapsules. Spearmint.

1 | INTRODUÇÃO

O Brasil é detentor de 40% do mercado sorvetes na América Latina e seu consumo per capita está acima da média mundial, de 5,3 litros por habitante/ano (ABIS, 2018).

Segundo a portaria nº 379, de 26 de abril de 1999, que fixa as características mínimas de qualidade para gelados comestíveis, define os mesmos como produtos alimentícios obtidos a partir da emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante o armazenamento, o transporte, a comercialização e a entrega ao consumidor.

A estrutura do sorvete envolve uma mistura heterogênea e complexa de emulsão, gel, suspensão e espuma, onde a aglutinação de moléculas e partículas é mantida

graças ao congelamento. De forma geral, trata-se de uma espuma onde as bolhas de ar estão cobertas por cristais de gelo, glóbulos de gordura (individualizados ou parcialmente fundidos) e cristais de lactose. A firmeza residual alcançada após fusão dos cristais de gelo, importante para mastigação, ocorre devido à união entre as bolhas de ar e os glóbulos parcialmente fundidos (PEREDA, 2007).

Dentre os ingredientes empregados na elaboração dos sorvetes, a principal matéria-prima é o leite em todas as suas formas, seguido por açúcares, gorduras, proteínas, estabilizantes, em ordem de importância. Cada componente tem uma função importante para o produto, como a cremosidade conferida pela gordura, a palatabilidade promovida pelas proteínas, o sabor doce dos açúcares, o poder aglutinante dos estabilizantes, a sensação de frescor conferida pelos cristais de gelo, a leveza das bolhas de ar e demais ingredientes como aromas, corantes e acidulantes são adicionados para realçar sabor e cor do produto (PEREDA, 2007).

Os alimentos funcionais tornam possível a combinação de produtos comestíveis altamente flexíveis com moléculas biologicamente ativas, a fim de reduzir distúrbios metabólicos, o que resulta na manutenção de saúde para o consumidor (WALZEM, 2004).

O abacaxi (*Ananas comosus* L.) é pertencente à família das bromeliáceas, oriundo da América do Sul, mas pode ser cultivado em qualquer região quente. Destaca-se por seu valor energético, alta composição de açúcares, valor nutritivo, presença de sais minerais e vitaminas. O alto conteúdo de bromelina é importante para digestibilidade do fruto (GRANADA *et al.*, 2004).

A hortelã-verde (*mentha spicata*), economicamente relevante, é extremamente utilizada na indústria alimentar, farmacêutica, perfumaria e confeitaria. É conhecida por sua capacidade de favorecer as funções da memória, aliviar soluços (contração espasmódica e involuntária do diafragma), flatulência, vertigens, bronquite, utilizada também como anti-inflamatória e atua como agente inseticida, antimicrobiano, antiespasmódico, antiagregante plaquetário e antioxidante (RITA *et al.*, 2016).

A microencapsulação é o processo onde a substância de interesse é incorporada em uma matriz ou sistema de revestimento (TIWARI *et al.*, 2010). Geralmente, esse método é empregado para proteger bioativos e em sua aplicação final protegê-los de ambientes adversos (GOUIN, 2004).

O suco de abacaxi com hortelã é bastante consumido por ser refrescante, saudável e compatível com o clima tropical. Em virtude disso e das propriedades nutricionais relacionadas às matérias-primas, o projeto propôs o desenvolvimento de sorvete de abacaxi com microcápsulas de hortelã-verde, sua caracterização físico-química, aceitabilidade e intenção de compra do produto a fim de estimar seu potencial mercadológico.

2 | METODOLOGIA

2.1 Obtenção da polpa de abacaxi

Os abacaxis foram adquiridos em feira livre na cidade de Aracaju-SE e transportados ao laboratório de frutas e hortaliças da Universidade Federal de Sergipe (UFS). As frutas foram higienizadas com solução clorada a 200 ppm por 15 min, cortadas manualmente para retirada da casca, coroa do fruto e realização do despulpamento. A polpa foi pasteurizada a 85°C por 15 min, resfriada e acondicionada em potes plásticos a 6±2°C até o processamento do sorvete.

2.2 Obtenção do extrato de hortelã-verde

As folhas de hortelã verde em bom estado foram selecionadas, lavadas e sanitizadas com solução clorada a 100 ppm por 15 min. Em seguida, pesou-se 28 gramas de folhas de hortelã, as quais foram trituradas com 100 mL de água por 3 min em liquidificador convencional. A mistura foi filtrada em peneira de polipropileno com tela de poliéster e armazenada em frasco âmbar a 6±2°C. O extrato pode ser observado na Figura 1.

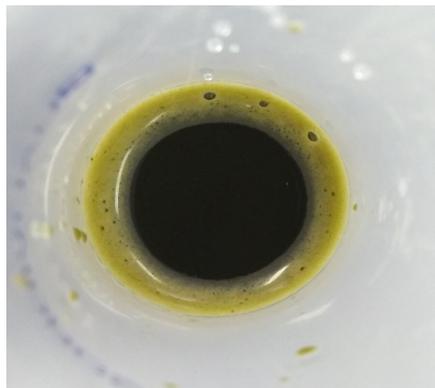


Figura 1. Extrato de hortelã-verde

2.3 Obtenção das microcápsulas de extrato de hortelã-verde

As microcápsulas de extrato de hortelã-verde foram obtidas por gelificação iônica através da técnica de gotejamento, conforme descrito por Calero *et al.*(2008) com modificações. Uma solução previamente preparada com uma proporção 1:2 de solução alginato de sódio 2% e extrato de hortelã-verde foi acondicionada em uma seringa de 25 mL e gotejada sobre uma solução de cloreto de cálcio 1% com leve agitação magnética. As esferas obtidas (Figura 2) foram armazenadas em solução de cloreto de cálcio 1% a 6±2°C.



Figura 2. Microcápsulas de extrato de hortelã-verde

2.4 Produção do sorvete de abacaxi

A formulação utilizada para produção do sorvete de abacaxi utilizou: Emustab (Duas Rodas Industrial LTDA), emulsificante a base de monoglicerídeos destilados monoestearato de sorbitana e polissorbato 60 (10 g), superliga neutra (Duas Rodas Industrial LTDA), espessante à base de sacarose, carboximetilcelulose e goma guar (10 g), leite integral pasteurizado (1 L), leite integral em pó (100 g), açúcar refinado (200 g), creme de leite (120 g), glucose (70 g) e polpa de abacaxi (780 g).

Foi realizada a pesagem dos ingredientes, em seguida, todos os ingredientes líquidos (leite, glucose, polpa e creme de leite) foram agitados em liquidificador industrial e aquecidos, para posterior adição e homogeneização dos ingredientes em pó (emustab, açúcar, leite em pó e superliga), os quais já haviam sido misturados entre si até obter um pó homogêneo.

Essa mistura foi pasteurizada por 15 minutos a 85°C, conforme recomendação da portaria 379, de 26 de abril de 1999 do ministério da saúde, que cita a obrigatoriedade da pasteurização em gelados comestíveis elaborados com produtos lácteos e/ou com ovos cujo objetivo principal é a destruição de microrganismos patogênicos, evitando intoxicações ou transmissão de doenças ao consumidor. Em seguida, a mistura foi homogeneizada novamente em liquidificador industrial por 5 min e levada para maturação onde permaneceu por aproximadamente 24h à 5°C.

Após a maturação, foi realizado o batimento da mistura por 30 min em sorveteira (Gelatierra Compact Ariete), resultando na incorporação de ar. Para o sorvete com cápsulas, a adição das cápsulas de extrato de hortelã ocorreu no minuto final de batimento. As formulações padrão e com microcápsulas de hortelã-verde podem ser observadas respectivamente nas figuras 3 e 4. O conteúdo de ambos os sorvetes foi levado ao congelamento a -18°C em freezer vertical. Foram realizadas análises de overrun, tempo de derretimento, sólidos solúveis (°Brix), pH, acidez, cor, densidade aparente, rotulagem nutricional, aceitabilidade e intenção de compra.



Figura 3. Formulação padrão de sorvete de abacaxi



Figura 4. Formulação de sorvete de abacaxi com microcápsulas de hortelã-verde

2.5 Determinação de clorofila

O teor de clorofila a, b e total foi determinado conforme metodologia descrita por Lichtenthaler (1987), para o extrato de hortelã e para microcápsula de hortelã antes e depois do processamento do sorvete. Os teores de clorofila a (Ca), clorofila b (Cb) e clorofila total foram determinados por meio das equações 1, 2 e 3.

$$Ca = 12,25 \times Abs_{663,2nm} - 2,79 \times Abs_{646,8nm} \quad (1)$$

$$Cb = 21,50 \times Abs_{646,8nm} - 5,10 \times Abs_{663,2nm} \quad (2)$$

$$Clorofila\ Total = 7,15 \times Abs_{663,2nm} + 18,71 \times Abs_{646,8nm} \quad (3)$$

2.6 Overrun

Para determinação do overrun, a massa do sorvete foi determinada em balança

análise antes da maturação e após o batimento na (Gelateria Compact Ariete). O overrun foi calculado pela equação 4, como proposto por Goff e Hartel (2004).

$$\% \text{ de Overrun} = \frac{Mm - Ms}{Ms} * 100 \quad (4)$$

Onde: Mm é a massa da mistura antes da maturação; Ms é a massa do sorvete após batimento.

2.7 Tempo de derretimento

O teste de derretimento foi realizado conforme a metodologia descrita por Granger et al. (2005). Uma amostra de 100 g de cada sorvete foi colocada em tela metálica, de abertura 0,5 cm, apoiada em funil de vidro e proveta de 100 mL. A temperatura ambiente foi mantida e volume de sorvete drenado foi registrado a cada 5 min. Os dados obtidos foram plotados em um gráfico de volume de sorvete derretido em função do tempo de análise.

2.8 Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis (^aBrix) foi medido em triplicata para os sorvetes com o auxílio de refratômetro digital HI 96801 (*Hanna Instruments*).

2.9 Potencial Hidrogeniônico

O potencial hidrogeniônico dos sorvetes foi determinado em pHmetro digital DLA-PH (Del Lab) previamente calibrado, conforme descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

2.10 Acidez

A determinação de acidez procedeu conforme descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). Pipetou-se 5 mL da amostra de sorvete em Erlenmeyer de 125 mL, onde foi adicionado 50 mL de água e 3 gotas da solução fenolftaleína. As amostras foram tituladas com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até coloração rósea. O cálculo da acidez se deu de acordo com a equação 5.

$$\text{Acidez em solução molar por cento} \frac{v}{v} = \frac{VT \times f \times 100}{VA \times c} \quad (5)$$

Onde: VT = Volume de hidróxido de sódio gasto na titulação; f = fator da solução de hidróxido de sódio; VA = Volume da amostra utilizada; C = fator de correção para solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

2.11 Cor

A cor dos sorvetes foi avaliada em colorímetro Konica Minolta CR-400. Os resultados foram expressos com base no sistema de coordenadas cromáticas CIELAB $L^*a^*b^*$ em valores L, a e b, onde os valores de L^* (luminosidade ou brilho) podem variar do preto (0) ao branco (100), os valores do croma a^* , podem variar do verde se for o valor for negativo ($-a^*$) ao vermelho se for positivo ($+a^*$) e os valores do croma b^* , do azul ($-b^*$) ao amarelo ($+b^*$) (SANT'ANNA et al., 2013).

2.12 Densidade Aparente

A densidade aparente foi determinada com o uso de picnômetro de 25 mL limpo e seco, previamente calibrado (a calibração consiste na determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água, recentemente destilada a 20 °C).

Para a determinação da densidade, a amostra foi transferida para o picnômetro até enchê-lo e em seguida promoveu-se a pesagem em balança analítica. O peso da amostra foi obtido através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. Calculou-se a densidade aparente (D_A) pela razão entre massa da amostra e seu volume (Equação 6).

$$D_A = \frac{m(\text{da amostra})}{v(\text{da amostra})} \quad (6)$$

2.13 Análise Sensorial

Foram recrutados 60 provadores não treinados para provar as amostras de sorvete de abacaxi, controle e com adição de microcápsulas de hortelã. As amostras foram balanceadas, codificadas e o teste de aceitação baseou-se no uso de escala hedônica, sendo que as notas variaram de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente) para os atributos cor, aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. A intenção de compra foi avaliada com uma escala que variou de 1 (certamente não compraria) a 9 (certamente compraria). O índice de aceitação (IA) foi calculo pela equação 7, conforme descrito por Damasio e Silva (1996). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey com nível de significância de 5 % pelo software SAS - Statistical Analysis System.

$$\% IA = \frac{A}{B} * 100 \quad (7)$$

Onde: A = nota média obtida para o produto; B= nota máxima dada ao produto.

2.14 Rotulagem nutricional

A composição nutricional do sorvete de abacaxi foi calculada com o auxílio da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (NEPA, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise Sensorial

Os resultados do teste e índice de aceitabilidade da análise sensorial estão dispostos respectivamente nas tabelas 1 e 2. Não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância apenas para o atributo aroma. Isso pode estar atrelado ao fato da quantidade de polpa de abacaxi utilizado ser muito maior em relação à massa de microcápsulas de hortelã adicionadas na segunda formulação.

Amostra	Cor	Aparência	Sabor	Aroma	Textura	I. Global	I. Compra
SMC	8,0 ^a	7,9 ^a	8,0 ^a	7,7 ^a	7,9 ^a	8,1 ^a	8,2 ^a
CMC	7,6 ^b	7,2 ^b	7,3 ^b	7,4 ^a	7,0 ^b	7,5 ^b	6,9 ^b

Tabela 1. Resultado da análise sensorial do sorvete controle e com adição de microcápsulas. Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a um nível de 5% de significância. SMC=Sem Microcápsulas; CMC=Com Microcápsulas.

Amostra	Cor	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	I.Global	I. Compra
SMC	89%	88%	85%	88%	88%	90%	91%
CMC	85%	80%	82%	81%	78%	83%	76%

Tabela 2. Índice de aceitabilidade dos atributos sensoriais avaliados. SMC=Sem Microcápsulas; CMC=Com Microcápsulas.

Para todos os atributos avaliados o índice de aceitabilidade foi maior de 70%, valor considerado mínimo para que um produto tenha uma boa aceitação (BISPO *et al.*, 2004). Isso mostra que apesar do sorvete controle ser superior quanto à aceitação em todos os aspectos, a formulação de sorvete com microcápsulas de hortelã-verde também apresenta boa sensorial.

As Figuras 5 e 6 mostram respectivamente a faixa etária dos provadores da análise sensorial e frequência com que os mesmos consomem sorvete. A maioria (74%) dos provadores tinha entre 20 e 30 anos. Do total, 53% consomem sorvete pelo menos uma vez por mês e 47% pelo menos uma vez por semana. Segundo ABIS (2018), a média de consumo no país é de 5,44 litros de sorvete por habitante/ano, estando acima da média mundial de 5,3 litros por habitante/ano.

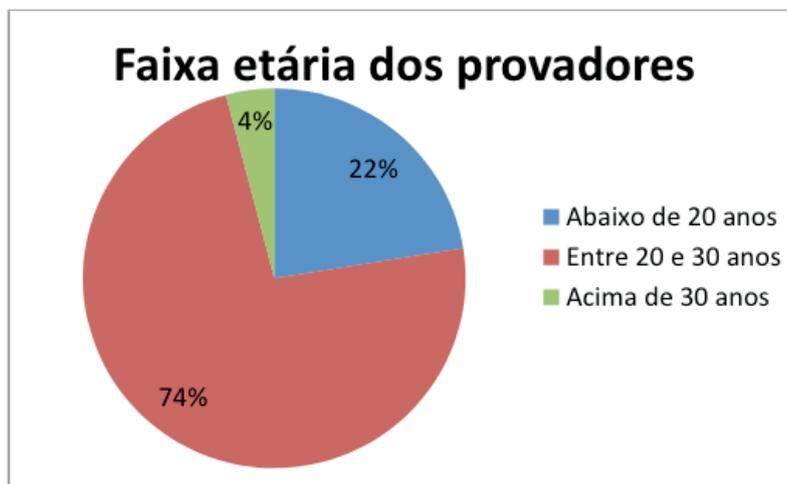


Figura 5. Faixa etária dos provadores da análise sensorial

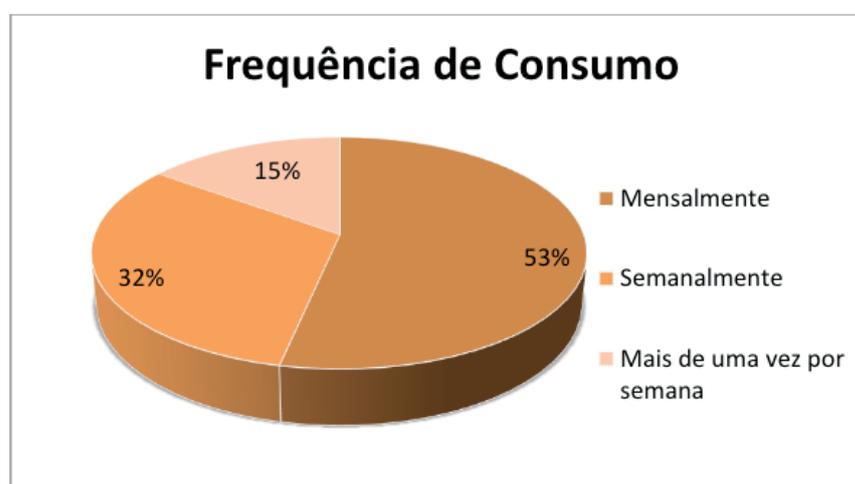


Figura 6. Frequência de consumo de sorvete dos provadores da análise sensorial

3.2 Caracterização físico-química

O diâmetro medido das microcápsulas de hortelã-verde foi de $3,32 \pm 0,05$ mm. A forma e o tamanho de uma microcápsula dependem da natureza do material a ser encapsulado. Seu tamanho pode variar de um micron a sete milímetros, o que caracteriza as esferas utilizadas na formulação do sorvete como microcápsulas (POTHAKAMURY & BARBOSA-CÁOVAS, 1995; FARIAS & SOBRINHO, 2012).

A tabela 3 apresenta os resultados das análises de overrun, densidade aparente, sólidos solúveis, pH e acidez. As diferenças entre os teores de sólidos solúveis, pH e acidez foram baixas e se devem devido à adição das microcápsulas na segunda formulação.

Amostra	Overrun (%)	Densidade (g/L)	SS (°Brix)	pH	Acidez
SMC	31,0	1165,47±14,25	23,8±0,3	5,84±0,05	4,70±0,38
CMS	19,2	1178,92±20,71	25,1±0,3	5,68±0,04	3,89±0,60

Tabela 3. Caracterização físico-química dos sorvetes controle e com adição de microcápsulas
SMC=Sem Microcápsulas; CMC=Com Microcápsulas.

A porcentagem de overrun expressa à quantidade de ar incorporada em espuma no sorvete (CLARKE, 2004). O valor de overrun está diretamente ligado com a densidade aparente do produto (BRASIL, 1999). A densidade aparente de ambos as formulações foram superiores ao mínimo estabelecido no pela legislação, que é de 475 g/L. O conteúdo de polpa adicionado na formulação interfere significativamente nos valores de densidade e overrun. Quanto maior a incorporação de ar, mais leve o sorvete se tornará e menor será a densidade.

O Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis define uma quantidade mínima de 3% de polpa para os produtos cuja denominação dê a entender que contém frutas (BRASIL, 1999). No presente trabalho, o conteúdo de polpa de abacaxi utilizado é de aproximadamente 35% em relação à massa total do produto.

A Tabela 4 traz os resultados da análise de cor, onde o parâmetro a^* não apresentou influência na cor do produto e o teor de luminosidade foi semelhante para ambas formulações. O parâmetro de maior influência, o b^* , possui um valor positivo, característica relacionada ao amarelo característico da polpa do abacaxi, tendo uma queda de valor na segunda formulação devido à adição das microcápsulas de hortelã-verde.

Amostra	A	b	L
SMC	+0,9±0,5	+24,5±0,9	24,3±3,9
CMC	-0,7±0,6	+21,2±0,4	23,4±1,4

Tabela 4. Coordenadas cromáticas $L^*a^*b^*$ dos sorvetes controle e com adição de microcápsulas

SMC=Sem Microcápsulas; CMC=Com Microcápsulas.

A figura 7 mostra a comparação das curvas de derretimento dos sorvetes. A taxa de derretimento é um dos principais parâmetros para avaliação de qualidade de sorvetes, pois está ligada com sua resistência e cremosidade (SOUZA *et al.*, 2010). O menor derretimento ocorreu para a amostra padrão. As microcápsulas contribuíram para resistência da segunda formulação ao derretimento, o que tecnologicamente não é interessante, pois indica que a incorporação de ar não foi adequada, fato confirmado pela % de overrun (EIKE *et al.*, 2015). Apesar disso, a textura de ambas

as formulações de sorvete foram bem avaliadas (aceitação >70%).

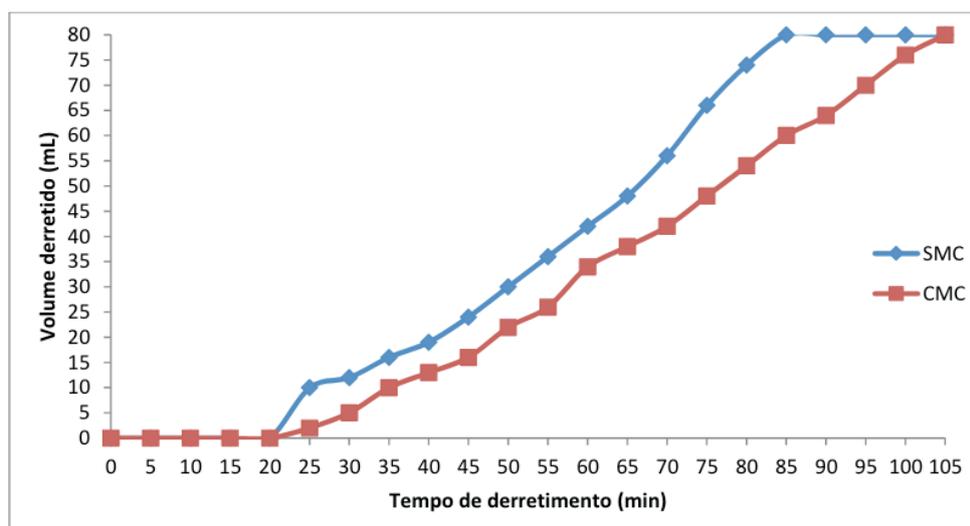


Figura 7. Volume de sorvete derretido vs. tempo de derretimento

A Tabela 5 traz uma comparação entre os teores de clorofila do extrato da hortelã-verde e das microcápsulas depois do processamento do sorvete. O método de microencapsulação foi eficiente em preservar em 70% conteúdo de clorofila do ambiente adverso.

A produção a frio e baixo custo de materiais faz da técnica de gelificação iônica uma potencial alternativa para o emprego em escala industrial de encapsulação de ingredientes ativos (HOLKEM *et al.*, 2015).

Amostra	C _a	C _b	C _T
EXT	9,969±0,017	3,501±0,017	13,460±0,027
CONG	7,121±0,007	2,835±0,003	9,949±0,004

Tabela 5. Teores de clorofila a, b e total expressos em $\mu\text{g/mL}$ do extrato de hortelã-verde e das microcápsulas depois do processamento

Legenda: Ca= Clorofila a; Cb=Clorofila b; CT=Clorofila total; EXT=Extrato de hortelã; CONG= Microcápsula após processo.

A Tabela 6 traz a informação nutricional da formulação do sorvete de abacaxi com microcápsulas de hortelã-verde. Em comparação com produto semelhante da marca Zeca's Sorvetes, o produto desenvolvido nessa pesquisa possui menor valor energético, menor conteúdo de carboidratos, gorduras, sódio e é superior quanto a proteínas e fibra alimentar.

	Quantidade por porção	% VD (*)
Valor energético	70,15 kcal = 293,05 kJ	3,5%
Carboidratos, dos quais:	15 g	5%
Açúcares	9,6 g	**

Proteínas	1,5 g	2%
Gorduras totais	0,6 g	1,2%
Gorduras saturadas	0,5 g	2,2%
Gorduras trans	0 g	**
Fibra alimentar	0,4 g	1,6%
Sódio	4,7 mg	0,2%

Tabela 6. Composição nutricional do sorvete de abacaxi com microcápsulas de hortelã-verde em uma porção de 60 g (1 bola)

*Valores diários de referência com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Os valores diários podem variar de acordo com as necessidades energéticas do consumidor. ** %VD não estabelecido.

4 | CONCLUSÕES

O sorvete de abacaxi com microcápsulas de hortelã-verde obteve boa aceitação sensorial e intenção compra maior que 70%, apesar da formulação sem microcápsulas ter apresentado valores superiores nos atributos sensoriais avaliados. A grande quantidade de polpa utilizada nas formulações diminuiu o conteúdo de gordura total, o que afetou a incorporação de ar e resultou em baixa % de overrun. A formulação com microcápsulas apresentou maior resistência ao derretimento, confirmando a baixa incorporação de ar. A técnica de gelificação iônica mostrou-se eficiente na preservação da clorofila presente no extrato da hortelã-verde. O produto desenvolvido se diferencia dos comerciais principalmente devido ao menor conteúdo de gordura, sódio e ter fibra alimentar em sua composição, é mais saudável e mostrou ter bom potencial mercadológico.

REFERÊNCIAS

- ABIS. **Clash discute a importância da comunicação para o setor de sorvetes no Brasil.** Disponível em: <http://www.abis.com.br/noticias_2018_1.html>. Acesso em 18 de setembro de 2018.
- BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; LIMA, M. A. C. **Processamento, estabilidade e aceitabilidade do marinado de vongole (Anomalocardia brasiliana).** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 24, n. 3, p. 353-356, 2004.
- BRASIL. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis, Preparados, Pós para o Preparo e Bases para Gelados Comestíveis.** Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 379 de 26 de Abril de 1999. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 1999.
- CALERO, J.; SANCHEZ, Y. F.; TORREZ, R.; HEMANN, E.; LOPEZ, K. **Elaboración y caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de diclofenac obtenidas por gelificación iónica.** Universitas, v. 1, n. 2, p. 27-30, 2008.
- CLARKE, C. **The science of ice cream.** Cambridge. Royal Society of Chemistry, 187p. 2004.

- DAMASIO, M. H.; SILVA, M. A. A. P. **Curso de treinamento em análise sensorial**. Apostila. Campinas: Fundação Tropical de Tecnologia “André Tosello”; 1996.
- EIKE, G.; HANAI, L. N.; PIRES, L.; EKUNI, M. M.; MADRONA, G. S. **Aceitação sensorial de sorvete a base de vegetais**. Geintec, São Cristóvão, v. 5, n. 4, p.2569-2578, 2015.
- FARIAS, M. C.; SOBRINHO, E. C. S. **A microencapsulação na indústria alimentícia**. Infarma, Brasília, v.24, nº 1-3, 2012.
- GOFF, H.D.; HARTEL, R. **Ice cream and frozen desserts**. Handbook of frozen foods. Local: CRC Press, p. 429-500, 2004.
- GOUIN, S. **Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends**. Trends in Food Science and Technology, v. 15, 2004.
- GRANADA, G. G.; ZAMBAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. **Abacaxi: produção, mercado e subprodutos**. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.
- GRANGER, C.; LEGER, A.; BAREY, P.; LANGENDORFF, V.; CANSSELL, M. **Influence of formulation on the structural networks in ice cream**. International Dairy Journal, v. 15, n. 03, p. 255-262, 2005.
- HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. **Emulsificação/Gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos**. Ciência e Natura, Santa Maria, v. 37, p. 116–124, 2015.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químico e físicos para análises de alimentos**. 1ª Edição Digital. São Paulo: IAL, 2008.
- LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes**. Methods in enzymology, San Diego, v. 148, p. 362-385, 1987.
- PEREDA, J. A. O. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 279 p. 2007.
- PHOTHAKAMURY, U. R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Fundamental aspects of controlled in foods**. Trends in Food Science & Technology. Washington D.C., V.6, p. 397-406, 1995.
- RITA, I., PEREIRA, C., BARROS, L., SANTOS-BUELGA, C., & FERREIRA, I.C.F.R. **Mentha spicata L. infusions as sources of antioxidant phenolic compounds: emerging reserve lots with special harvest requirements**. Food & Function, v.7, 2016.
- SOUZA, J. C. B; COSTA, M. R; DE RENSIS, C. M. V. B; SIVIERI, E. **Sorvete: composição, processamento e viabilidade da adição de probiótico**. Alimentos Nutrição. Araraquara. v. 21, n. 1, p. 155-165, 2010.
- TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/NEPA-UNICAMP**.- 4. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.
- TIWARI, S; GOEL, A.; JHA, K. K.; SHARMA, A. **Microencapsulation techniques and its application: a review**. The Pharma Research, v. 3, 2010.
- WALZEM, R. L. **Functional Foods**. Trends in Food Science and Technology, v. 15, 2004.
- ZECA'S SORVETES. **Sorvete delícia de abacaxi 10lts**. Disponível em: <http://www.zecassorvetes.com.br/produto/sorvete-delicia-de-abacaxi-10lts>. Acesso em 24 de setembro de 2018.

INFLUÊNCIA DA TORREFAÇÃO NO RENDIMENTO DE ÓLEO DE SEMENTES DE MELÃO OBTIDO POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Iago Hudson da Silva Souza

Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão – SE

Juliete Pedreira Nogueira

Universidade Federal de Sergipe, Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas
São Cristóvão – SE

Marinuzia Silva Barbosa

Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
São Cristóvão – SE

Maria Terezinha Santos Leite Neta

Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas
São Cristóvão – SE

Narendra Narain

Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas
São Cristóvão – SE

RESUMO: Os resíduos do processamento de frutas, como o melão, têm se tornado um problema para as agroindústrias, pois são gerados em grandes quantidades e podem

provocar danos ao meio ambiente quando descartados inadequadamente. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência da torrefação no rendimento de óleo das sementes de melão obtido por extração assistida por ultrassom. Para tanto, as sementes foram caracterizadas físico-quimicamente, e o rendimento de óleo foi estudado em relação à temperatura e o tempo de torrefação, utilizando um fatorial 2^2 com blocos casualizados. Os resultados mostraram que a temperatura e o tempo de torrefação influenciaram no rendimento do óleo de sementes de melão, sendo que os maiores rendimentos de óleo foram obtidos nas condições de 89 °C por 53 minutos e de 131 °C por 17 minutos.

PALAVRAS-CHAVE: resíduos, aproveitamento, frutas.

INFLUENCE OF ROASTING ON THE YIELD OF MELON SEEDS OBTAINED BY ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION

ABSTRACT: Fruit processing residues such as melon have become a problem for agro-industries, they are generated in large quantities and can cause damage to the environment when improperly disposed of. Therefore, the objective of this work was to study the influence of roasting on oil yield of melon seeds obtained by ultrasound assisted extraction. For this, the

seeds were physically and chemically characterized, and the oil yield was studied in relation to the temperature and the roasting time, using a 2² factorial with randomized blocks. The results showed that temperature and roasting time influenced the melon seed oil yield, and the highest oil yields were obtained under conditions of 89 °C for 53 minutes and 131 °C for 17 minutes.

KEYWORDS: waste, recovery, fruits.

1 | INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de alimentos tem aumentado a produção de resíduos em alguns países em desenvolvimento, como o Brasil. Esses resíduos têm gerado uma grande preocupação em todo o globo terrestre devido a sua destinação final, a qual configura um problema social, econômico e ambiental (MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2016). Devido a esses problemas que podem ser desencadeados pelo descarte inadequado surge a gestão de resíduos como uma questão crucial para a segurança alimentar (SILVA et al., 2018).

Nas indústrias e restaurantes, as frutas são usadas em diversas preparações e uma das partes mais descartadas são as sementes. As sementes de frutas, dentre elas o melão, são usualmente consideradas resíduos, mas ultimamente muitas sementes têm recebido uma maior atenção devido à presença de compostos com propriedades nutricionais e medicinais (GÓRNAŚ; RUDZIŃSKA, 2016).

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma cultura hortícola em muitas regiões áridas e semiáridas do mundo (BOTÍA et al., 2005). Pertencente à família Curcubitaceae, cujas espécies são produtoras de uma extensa gama de compostos com propriedades medicinais. Durante o beneficiamento do melão são geradas elevadas quantidades de resíduos, constituídos por sementes e cascas. O uso de subprodutos de alimentos para projetar e desenvolver produtos inovadores com valor agregado é muito importante para a sustentabilidade sendo uma solução para reduzir perdas de alimentos (Silva et al., 2018). Em países árabes, por exemplo, as sementes de melão são usadas diretamente para o consumo humano após salga e torrefação, como excelentes fontes de proteínas e lipídeos (MALLEK-AYADI; BAHLOUL; KECHAOU, 2018).

Muitos tratamentos têm sido aplicados a sementes para melhorar a qualidade do óleo. Uma das mais usadas é a torrefação que é aplicada principalmente em sementes de condimentos para extração de óleo e durante esse processo são desenvolvidos aroma e sabores agradáveis que são transferidos ao óleo depois da extração (LEE et al., 2004). Embora a torrefação seja usada para melhorar a qualidade sensorial do óleo, existem muitos trabalhos que avaliam o rendimento em óleo de sementes que passaram pelo tratamento de torrefação como gergelim (ROSTAMI et al., 2014), moringa (FAKAYODE; AJAV, 2016) e pistache (RABADÁN et al., 2017).

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar o efeito da temperatura e do tempo de torrefação na extração assistida por ultrassom do óleo da semente de melão.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas (LAF) da Universidade Federal de Sergipe. As sementes de melão da varietal Amarelo Ouro foram obtidas no Restaurante Universitário da Universidade Federal de Sergipe.

Inicialmente, as sementes de melão foram dispostas em bandejas, lavadas em água corrente e submetidas à secagem sob fluxo constante de ar em estufa com circulação de ar forçada (SOLAB, SL-100) mantendo a 40 °C por 24 horas.

As sementes de melão desidratadas foram moídas em liquidificador e armazenadas em recipientes de polipropileno à temperatura ambiente até a realização das análises e extrações. A composição centesimal das sementes de melão desidratadas e moídas foi realizada conforme as metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), quanto ao teor de umidade por gravimetria (012/IV), resíduos por incineração (cinzas) (018/IV), lipídeos por extração com hexano em extrator Soxhlet (032/IV), proteínas pelo método Kjeldahl (036/IV) e carboidratos obtido por diferença entre o total da amostra (100%) e os teores de proteína, lipídios, umidade e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicata e expressas em g/100 g de sementes secas.

As sementes de melão desidratadas foram submetidas ao processo de torrefação em diferentes condições de temperatura e tempo em estufa com circulação de ar forçada (SOLAB, SL-100). Para a otimização do processo de torrefação foi utilizado um planejamento experimental em esquema fatorial 2², distribuídos em 3 blocos ao acaso, que foram 3 dias distintos, totalizando 12 ensaios (Tabela 2). A influência da temperatura de torrefação (mínimo 89 °C, máximo 131 °C) e do tempo de torrefação (mínimo 17 minutos, máximo 53 minutos) foi avaliada em relação ao rendimento da extração de óleo de semente de melão assistida por ultrassom.

A extração de óleo das sementes de melão torradas e moídas ocorreu de forma aleatorizada de acordo com a metodologia adaptada de Castejón, Luna e Señoráns (2018), no qual foi pesado cerca de 3 gramas e foi adicionado etanol na proporção de 1/10 (p/v). Além disso, realizou-se a extração de óleo das sementes de melão que não foram submetidas ao processo de torrefação (controle) similarmente às sementes torradas. O extrato foi levado a banho ultrassônico (UNIQUE, USC-1400A) a 50°C por 30 minutos, com frequência e potência ultrassônicas de 40 kHz e 135 watts, respectivamente. Finalmente, o extrato foi filtrado em malha metálica e coletado. O etanol foi recuperado em evaporador rotativo (FISATOM, Mod. 802) sob pressão reduzida a 40°C e o balão com óleo obtido foi seco em estufa a 105 °C por 1 hora. O teor de óleo foi determinado gravimetricamente, e o rendimento, expresso em porcentagem de massa do resíduo seco. A análise estatística dos dados, Análise de Variância e teste de médias de Tukey, foram realizadas nos programas Statistica™ (versão 13.0 Trial, TIBCO) e SAS® University Edition (SAS Institute Inc.).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1, a média e o desvio padrão para os dados da composição centesimal das sementes de melão da varietal Amarelo Ouro estão apresentados.

Composição centesimal (%)	Sementes de melão
Umidade	5.39 ± 0.01
Proteínas	20.33 ± 0.22
Lipídeos	23.94 ± 1.58
Cinzas	3.35 ± 0.28
Carboidratos	46.52 ± 2.23

Tabela 1 - Composição centesimal das sementes do fruto do melão (%)
Os resultados representam a média ± desvio padrão da análise realizada em triplicata.

Diversos estudos têm relatado a composição centesimal de sementes de melão, apresentando teores de proteínas (15-36%), lipídeos (13-37%) e carboidratos (6-28%) (MALLEK-AYADI; BAHLOUL; KECHAOU, 2018; MELO; NARAIN; BORA, 2008; RAJIORELAJA, 2014; YANTY; LAI; OSMAN; LONG; GHAZALI, 2008; PETKOVA; ANTOVA, 2015). No presente estudo o teor de proteínas (20.33 ± 0.22g/100g) foi superior ao encontrado por Morais et al. (2017) que obtiveram 15.6±1.8g/100g de semente de melão. O teor de lipídeos (23.94 ± 1.58g/100g) foi similar ao encontrado por Yanty et al. (2008) obtendo 25.0 ± 0.05g/100g, no entanto, foi menor ao obtido por Raji e Oleraja (2014) que obtiveram 31.86 ± 0.01g/100g de semente de melão. As diferenças obtidas nos resultados das análises podem estar relacionadas as condições de solo, clima, período de produção, mas principalmente a varietal do melão, pois os dados foram obtidos diversas variedades de melão devido à falta de trabalhos com a varietal Amarelo Ouro. O teor de carboidratos (46.52 ± 2.23g) foi superior ao encontrado por Melo et al., (2000) que obtiveram 22.94 ± 1.27g/100g e por Mallek-Ayadi et al. (2018) encontrando 27.81 ± 0.51g/100g de sementes, esse alto valor de carboidratos pode estar relacionado com a presença de teores de fibras, já que não foi realizado no presente estudo tal análise. O percentual de umidade e de cinzas (5.39 ± 0.01 e 3.35 ± 0.28, respectivamente) foram inferiores ao encontrado por Morais et al. (2017) e Mallek Ayadi et al. (2018).

Ensaio	Variáveis independentes		Rendimento (%)
	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	
1	89 (-1)	17 (-1)	2,65
2	89 (-1)	53(+1)	3,52
3	131 (+1)	17 (-1)	2,80
4	131 (+1)	53 (+1)	2,14
5	89 (-1)	17 (-1)	2,86
6	89 (-1)	53(+1)	3,11
7	131 (+1)	17 (-1)	3,24
8	131 (+1)	53 (+1)	2,61
9	89 (-1)	17 (-1)	3,20
10	89 (-1)	53(+1)	4,48
11	131 (+1)	17 (-1)	3,47
12	131 (+1)	53 (+1)	3,46
Controle	-	-	1,98 ± 0,21

Tabela 2 – Valores codificados e decodificados das variáveis independentes (temperatura e tempo de torrefação) e variável de resposta (rendimento de óleo) de acordo com o planejamento experimental.

Na Tabela 2, os resultados de rendimento de óleo de sementes de melão obtido por extração assistida por ultrassom estão apresentados em relação às condições do processo de torrefação utilizadas. Os valores de rendimento de óleo variaram entre 2,14% e 4,48%, indicando uma grande variação no rendimento em função da variação da temperatura e do tempo de torrefação das sementes. Os menores valores de rendimento foram observados quando as sementes foram torradas a 131 °C por 53 minutos. Por outro lado, os maiores valores de rendimento foram obtidos para as sementes submetidas às condições de torrefação de 89 °C por 53 minutos. Vale destacar que todos os ensaios obtiveram valores de rendimento de óleo foram maiores do que o obtido na amostra controle, a qual não sofreu o processo de torrefação. O incremento ao rendimento obtido com o processo de torrefação variou de 8 a 126%.

Na Figura 1, as médias de rendimento de óleo e seus respectivos desvios padrão estão apresentados para as condições de torrefação e a amostra controle. A condição de torrefação 2 (89 °C, 53 minutos) possibilitou o maior rendimento (3,70%) na extração de óleo de sementes de melão, mas este não diferiu significativamente ($p > 0,05$) dos valores obtidos nas condições de torrefação 1 (89 °C, 17 minutos) (2,90%) e 3 (131 °C, 17 minutos) (3,17%). Além disso, nas condições 2 e 3 foram obtidos rendimentos maiores que diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) do rendimento da extração de óleo assistida por ultrassom das sementes sem a torrefação (condição 5). Conforme os dados apresentados na Tabela 3, tanto a temperatura quanto o tempo influenciaram no rendimento de óleo de sementes de melão, corroborando com os resultados apresentados por Rostami et al. (2014) para extração de óleo de sementes de gergelim. Sendo assim, a melhor condição de torrefação das sementes de melão

para elevar o rendimento da extração de óleo seria 89 °C por 53 minutos, mas a condição 131 °C por 17 minutos se torna mais viável economicamente, uma vez que não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao rendimento e o tempo de torrefação é menor.

Fontes de variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadra- do médio	F _{calculado}	p-valor
Temperatura	1,707024	2	0,853512	9,20822*	0,014839
Tempo	0,361466	1	0,361466	3,89972**	0,095715
Temperatura x Tempo	0,103040	1	0,103040	1,11166 ^{ns}	0,332317
Blocos	1,138750	1	1,138750	12,28554*	0,012747
Erro	0,556141	6	0,092690		
Total	3,866421	11			

Tabela 3 - Análise de Variância para o rendimento de óleo de semente de melão obtido por extração assistida por ultrassom em função da temperatura e do tempo de torrefação.

^{ns} não significativo ao nível de significância de 5%; * significativo ao nível de significância de 5%; ** significativo ao nível de significância de 10%.

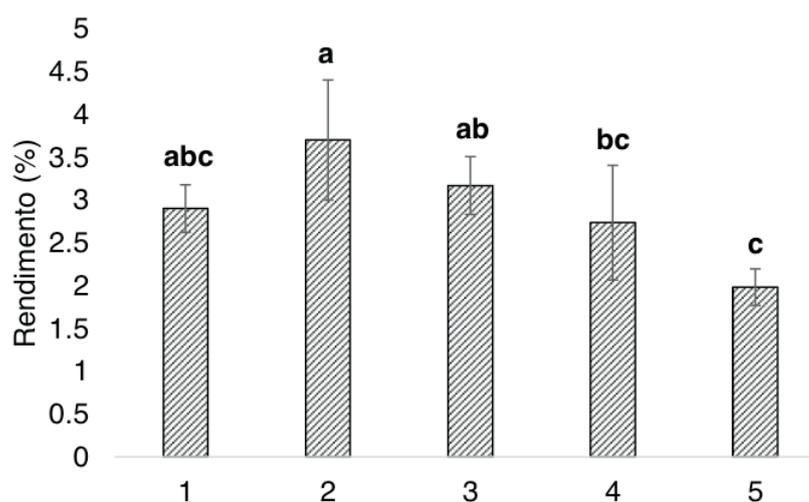


Figura 1 – Efeito da torrefação no rendimento do óleo extraído de sementes de melão: 1, 89 °C e 17 minutos; 2, 89 °C e 53 minutos; 3, 131 °C e 17 minutos; 4, 131 °C e 53 minutos; e 5, sem torrefação. Médias com mesmas letras minúsculas não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($p\leq 0,05$).

4 | CONCLUSÃO

As sementes de melão oriundas do processamento em indústrias e restaurantes possuem elevado valor nutricional, com destaque para o teor de lipídeos (24%), que possibilita sua utilização para a produção de óleo. A extração assistida por ultrassom de óleo de sementes de melão pode ser beneficiada com o prévio tratamento térmico das sementes. Os resultados mostraram que a temperatura e o tempo da torrefação das sementes de melão influenciam no rendimento da extração, sendo que os maiores rendimentos 3,70% e 3,17% foram obtidos para as condições de 89 °C por 53 minutos e de 131 °C por 17 minutos, respectivamente.

5 | AUTORIZAÇÕES/RECONHECIMENTO

Ao submeter o trabalho, os autores tornam-se responsáveis por todo o conteúdo da obra.

REFERÊNCIAS

- BOTÍA, P.; NAVARRO, J. M.; CERDÁ, A.; MARTÍNEZ, V. **Yield and fruit quality of two melon cultivars irrigated with saline water at different stages of development.** *European Journal of Agronomy*, v. 23, n. 3, p. 243–253, 2005.
- FAKAYODE, O. A.; AJAV, E. A. **Process optimization of mechanical oil expression from Moringa (*Moringa oleifera*) seeds.** *Industrial Crops and Products*, v. 90, p. 142–151, 2016.
- GÓRNAŚ, P.; RUDZIŃSKA, M. **Seeds recovered from industry by-products of nine fruit species with a high potential utility as a source of unconventional oil for biodiesel and cosmetic and pharmaceutical sectors.** *Industrial Crops and Products*, v. 83, p. 329–338, 2016.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ, IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos.** 4a ed. São Paulo: 2008.
- LEE, Y. C.; OH, S. W.; CHANG, J.; KIM, I. H. **Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures.** *Food Chemistry*, v. 84, n. 1, p. 1–6, 2004.
- MALLEK-AYADI, S.; BAHLOUL, N.; KECHAOU, N. **Chemical composition and bioactive compounds of *Cucumis melo* L. seeds: Potential source for new trends of plant oils.** *Process Safety and Environmental Protection*, v. 113, p. 68–77, 2018.
- MELO, M. L. S.; NARAIN, N.; BORA, P. S. **Characterisation of some nutritional constituents of melon (*Cucumis melo* hybrid AF-522) seeds.** *Food Chemistry*, v. 68, n. 4, p. 411–414, 2000.
- PETKOVA, Z.; ANTOVA, G. **Proximate composition of seeds and seed oils from melon (*Cucumis melo* L.) cultivated in Bulgaria.** *Cogent Food & Agriculture*, v. 1, p. 1-15, 2015.
- RABADÁN, A.; ÁLVAREZ-ORTÍ, M.; GÓMEZ, R.; ALVARRUIZ, A.; PARDO, J. E. **Optimization of pistachio oil extraction regarding processing parameters of screw and hydraulic presses.** *LWT - Food Science and Technology*, v. 83, p. 79–85, 2017.
- RAJI, O. H.; ORELAJA, O. T. **Nutritional composition and oil characteristics of golden melon (*Cucumis melo*) seeds.** *Food Science and Quality Management*, v. 27, p. 18–22, 2014.
- ROSTAMI, M.; FARZANEH, V.; BOUJMEHRANI, A.; MOHAMMADI, M.; BAKHSHABADI, H. **Optimizing the extraction process of sesame seed's oil using response surface method on the industrial scale.** *Industrial Crops and Products*, v. 58, p. 160–165, 2014.
- SILVA, M. A.; ALBUQUERQUE, T. G.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; COSTA, H. S. **Melon (*Cucumis melo* L.) by-products: Potential food ingredients for novel functional foods?** *Trends in Food Science and Technology*, n. March, 2018.
- YANTY, N. A. M.; LAI, O. M.; OSMAN, A.; LONG, K.; GHAZALI, H. M. **Physicochemical properties of *Cucumis melo* var. inodorus (honeydew melon) seed and seed oil.** *Journal of Food Lipids*, v. 15, p. 42–55, 2008.

PREPARO DE CURVA PADRÃO PARA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA CEPA DE LEVEDURA COMERCIAL *Saccharomyces cerevisiae* WB-06

Gabriel Alves de Jong

UFRJ, Instituto de Química
Rio de Janeiro – RJ

Anna Carolyna Goulart Vieira

UFRJ, Instituto de Química
Rio de Janeiro – RJ

Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana

UERJ, Departamento de Tecnologia de Processos
Bioquímicos
Rio de Janeiro – RJ

Maria Helena Miguez da Rocha Ieão

UFRJ, Escola de Química
Rio de Janeiro – RJ

Priscilla Filomena Fonseca Amaral

UFRJ, Escola de Química
Rio de Janeiro – RJ

RESUMO: Na produção industrial de alimentos se faz necessário a inativação de microrganismos. O tipo mais comum empregado em produtos alimentícios, especialmente em bebidas fermentadas, é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As técnicas de inativação mais empregadas consistem no aquecimento abrupto. Tal processo térmico altera propriedades sensoriais e nutritivas do produto final, devendo ocorrer de forma controlada, otimizando o tempo de operação. Neste artigo, com fim de obter parâmetros de resistência térmica da cepa comercial de

levedura *S. cerevisiae* WB-06 foram feitos cultivos do microrganismo em meio líquido açucarado para posterior aquecimento a 60°C em banho térmico. A amostragem foi feita em intervalos de até 15 minutos. O valor obtido de tempo de redução decimal (D_{60}) de 9,80 min está de acordo com a literatura.

PALAVRAS-CHAVE: *Saccharomyces cerevisiae*; pasteurização; azul de metileno.

STANDARD CURVE PREPARATION FOR THERMAL INACTIVATION OF YEAST COMMERCIALS STRAIN *Saccharomyces cerevisiae* WB-06

ABSTRACT: In industrial food production it is necessary to inactivate microorganisms. The most common type used in food products, especially fermented beverages, is *Saccharomyces cerevisiae* yeast. The most commonly used inactivation techniques are abrupt heating. Such thermal process alters sensory and nutritive properties of the final product and should occur in a controlled manner, optimizing the operating time. In this paper, in order to obtain thermal resistance parameters of the commercial strain of *S. cerevisiae* yeast WB-06, the microorganism was cultivated in sugary liquid for subsequent heating at 60 °C in a thermal bath. Sampling was done at intervals of up to 15 minutes. The obtained decimal

reduction time (D_{60}) value of 9.80 min is in agreement with the literature.

KEYWORDS: *Saccharomyces cerevisiae*; pasteurization; methylene blue.

1 | INTRODUÇÃO

O uso de leveduras na indústria de alimentos tem sua origem nos processos fermentativos que se iniciam muito antes mesmo do descobrimento do agente fermentativo. Após experimentos do cientista Louis Pasteur, no séc. XIX, foi possível comprovar a presença de leveduras concomitante à fermentação (PASTEUR, 1860). Em 1864 ele demonstrou que as doenças causadas pelo vinho eram oriundas da presença destes microrganismos. Estes microrganismos eram inativados quando aquecidos até uma temperatura de 55°C (PASTEUR, 1864).

Diversos estudos e aplicações com microrganismos se sucederam, especialmente envolvendo os produtos industrializados por visarem maior durabilidade. Processos tradicionais da indústria realizam a inativação através de etapas térmicas denominadas de pasteurização (lenta, UHT ou HTST). Pasteurização lenta, em que se aplicam temperaturas mais baixas, na ordem de 65°C, por acima de 20 minutos. Pasteurização rápida (HTST), quando se aplicam temperaturas mais altas, da ordem dos 75°C, durante alguns segundos. Pasteurização muito rápida (UHT), quando a temperatura vai de 130°C a 150°C, durante três a cinco segundos (AGUIAR; YAMASHITA; GUT, 2012).

Na indústria cervejeira, além de garantir estabilidade biológica, também neutraliza possíveis contaminantes, tais como leveduras selvagens, *Lactobacillus*, *Pedococcus*, dentre outros microrganismos que deterioram a cerveja. A medida de pasteurização para cerveja é dada em unidade de pasteurização (P.U.), onde 1 P.U. equivale a 1 minuto de aquecimento da levedura a 60 °C. A norma estabelece 15 P.U.'s como pasteurização mínima requerida para a indústria cervejeira (MILANI; GARDNER; SILVA, 2015).

O tipo mais comum de levedura usada pelo homem é a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, presente na indústria de panificação e de bebidas alcólicas. Em especial para bebidas alcólicas fermentadas, cepas são selecionadas para cada estilo de produto a que se destina o processo. Cada variação possui identidade genética e fenotípica única por características de cultivo, e de seu metabolismo (CARRAU; GAGGERO; AGUILAR, 2015).

Métodos quantitativos para aferir células viáveis em meios de cultivo são empregados em bioprocessos, tais como métodos colorimétricos com contagem em câmara de Neubauer, citometria de fluxo, e espectrofotometria. Um método colorimétrico tradicionalmente usado é o coramento por azul de metileno (solução vital) por ser prático e rápido, além de permitir analisar individualmente células de levedura. A adição de azul de metileno à suspensão com microrganismos permite

diferenciar células vivas de células não viáveis por meio da penetração da molécula em cada célula, que é reduzida enzimaticamente para um produto incolor, em células metabolicamente viáveis, enquanto que células não viáveis ficaram coradas (KWOLEK-MIREK; ZADRAG-TECZA, 2014).

Visando garantir o maior tempo de prateleira concomitante à manutenção de aspectos sensoriais mais próximas do natural e fresco, o tempo de pasteurização deve ser otimizado e adequado ao agente fermentativo. Para tal, um estudo que estime o tempo de redução decimal do microrganismo empregado é necessário para calcular o tempo mínimo teórico de processamento térmico para obter a inativação abaixo dos níveis permitidos por lei. Em vista disso, o presente trabalho tem como objetivo determinar os parâmetros de inativação térmica para a cepa comercial de levedura *Saccharomyces cerevisiae* WB-06 na temperatura de 60°C.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo de solução de azul de metileno 0,01%

Foi preparado 1,0 L de solução tampão de PBS (8,0 g NaCl, 0,20 g KCl, 1,44 Na₂HPO₄ e 0,30 g KH₂PO₄) e 1,0 L solução analítica de citrato de sódio 2,0% p/v avolumados com solução tampão PBS. Foram pesados 0,050 g de azul de metileno e avolumados com solução de citrato de sódio 2,0% p/v em frasco 50,0 ml. Todos os reagentes foram fornecidos pela SIGMA ALDRICH®. O método e os reagentes foram elaborados conforme protocolo da literatura (SAMI; IKEDA; YABUUCHI, 1994).

2.2 Cepa de levedura

Os microrganismos utilizados no presente trabalho são uma cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae* selecionada em uma loja voltada para a produção de cervejas da empresa Fermentis® sendo a WB-06 ale alemã. A ficha técnica informa a quantidade de células viáveis no empacotamento sendo de no mínimo 6 x 10⁹ céls por grama do sachê que possui em torno de 84,0 a 96,5 gramas de peso seco.

2.3 Cultivo de levedura

Para esta etapa, foi preparado meio binário de D-glicose (1 g/l) e água destilada. Uma parte equivalente a 0,2 g de levedura foram solubilizados em 100 ml, e dispostos na incubadora de movimento orbital Technal modelo TE-420, a 25°C, e com velocidade de agitação de 200 rpm, sendo deixado por 5 dias (120 h).

2.4 Inativação térmica

O banho térmico NovaTécnica modelo Dubnoff 5L foi pré-aquecido a 60 °C por 15 minutos até estabilizar a temperatura. Alíquotas de 10 ml de meio com levedura

foram colocados em seis erlenmeyers de 50 ml. A agitação do banho foi programada para 150 rpm. Cada frasco foi retirado em tempos de 0, 3, 9, 12 e 15 minutos. O tempo máximo de aquecimento foi de 15 minutos.

2.5 Análise de viabilidade celular

O microscópio NYKON modelo eclipse E200MV R foi utilizado com câmara de Neubauer (0,05 x 0,05 x 0,1 mm). Sendo retirada uma alíquota de 1,0 ml do meio, depois de aquecido, e transferidos em tubo Falcon de 10,0 ml. O volume foi completado com água sendo diluído 10 vezes. Em eppendorf de 1,0 ml foi adicionado 0,5 ml de amostra diluída com 0,5 ml de corante vital (azul de metileno 0,01%).

Com auxílio de pipeta volumétrica foi inserida a amostra na câmara e levada a leitura em uma ampliação na lente objetiva de 40x. Usando um contador manual foi aferido o número de células totais e de células coradas por quadrante da câmara de Neubauer.

2.6 Modelagem e estimação dos parâmetros

Para estimar os parâmetros foi usado o modelo de primeira ordem de Bigelow (BIGELOW & ESTY, 1920):

$$\text{Log} \left(\frac{N}{N_0} \right) = -\frac{1}{D_T} \times t \quad (1)$$

em que N = número de células viáveis, N_0 = número de células iniciais, D_T = tempo de redução decimal (min) na temperatura fixa T, e t = tempo (min).

Primeiramente a linearidade de células viáveis foi confirmada plotando a curva $\log(N/N_0)$ vs. Tempo (Eq. (1)). Para a temperatura fixa de 60°C foi feita a regressão linear no STATISTICA e o valor de DT (D_{60}) foi calculado, o qual é expresso em minutos.

O efeito da pasteurização é calcula em Unidades de Pausterização (P.U.'s). Uma P.U. corresponde ao efeito do tratamento térmico sobre a cerveja a 60°C durante um minuto. Por esta razão, para a escolha dos valores de P.U., estes microrganismos devem ser tidos como referência, sendo recomendável uma temperatura mínima de 70°C e um tempo mínimo de contato de 45 segundos (20 P.U.'s) (STORGARDS, 2000).

O acréscimo de uma pequena margem de segurança garante uma eliminação quantitativa mais eficiente, especialmente quando a carga de microrganismos no início é muito elevada. P.U.'s muito altas oferecem risco para as propriedades organolépticas do produto fermentado. Portanto, o sistema de inativação térmica deve ser adequado às características do produto final, balanceando a qualidade microbiológica e nutricional.

A viabilidade e o progresso do processo são estimados através das equações abaixo, respectivamente:

$$V(\%) = \frac{\text{Número de céls viáveis}}{\text{Número de células totais}} \cdot 100 \quad (2)$$

$$P_i(\%) = \frac{\text{Número de céls não viáveis (i)} - \text{Número de céls não viáveis (0)}}{\text{Número de células totais}} \cdot 100 \quad (3)$$

em que V é a viabilidade celular, e Pi é o progresso da inativação por calor.

3 I RESULTADOS E DISCUÇÕES

A relação dos valores de viabilidade celular, e a concentração de células não viáveis (em milhões de células por mililitro), ao longo do tempo de aquecimento a 60°C está disposta na Figura 1 abaixo.

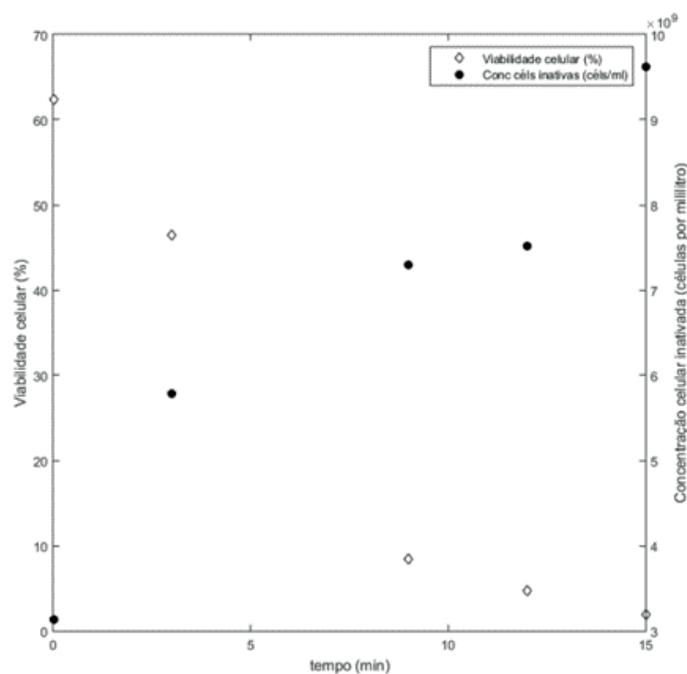


Figura 1 – Concentração de células inativas (coradas) (10⁶ células/ml) por tempo (minutos) e viabilidade celular ao longo do tempo.

Foi possível observar o aumento da concentração de células não viáveis ao longo do tempo de realização do experimento, relativo à desestabilização térmica do metabolismo basal responsável pela degradação do corante vital de azul de metileno. Concomitantemente a redução da viabilidade celular até um valor de 1,94% de no meio aquoso com leveduras, caracterizando o processo de inativação. Viabilidade celular similar de 1% foi obtido para cepa CBS 1171 de *Saccharomyces cerevisiae* aquecida a 50 °C em meio binário (sorbitol e água) durante 1 hora (GERVAIS & MARAÑÓN, 1995).

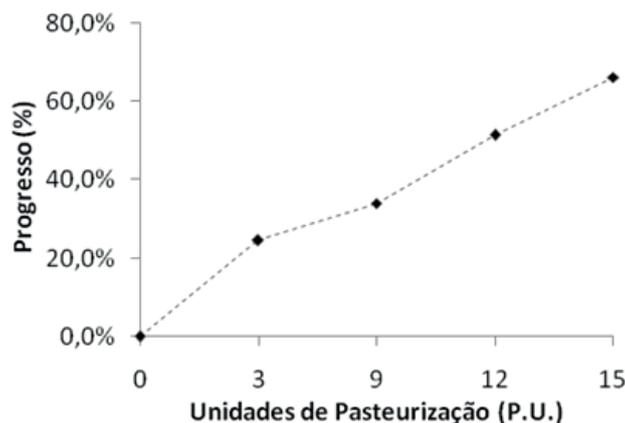


Figura 2 - Progresso da inativação térmica por unidade de pasteurização (P.U.)

Conforme esperado, valores maiores de D_{60} implicam no emprego de processos com maior P.U.'s, conforme visto na Figura 2 acima. O progresso desconta leveduras inativas antes do processamento térmico e calcula a porcentagem de totalização do processo de inativação para as células totais presentes na amostra.

O gráfico disposto no lado esquerdo da Figura 3 apresenta os valores linerizados de número de células viáveis finais sobre o valor de inicial. No lado direito foram apresentados os parâmetros da regressão linear obtidos (R^2 , valor beta, valor-p e coeficiente angular).

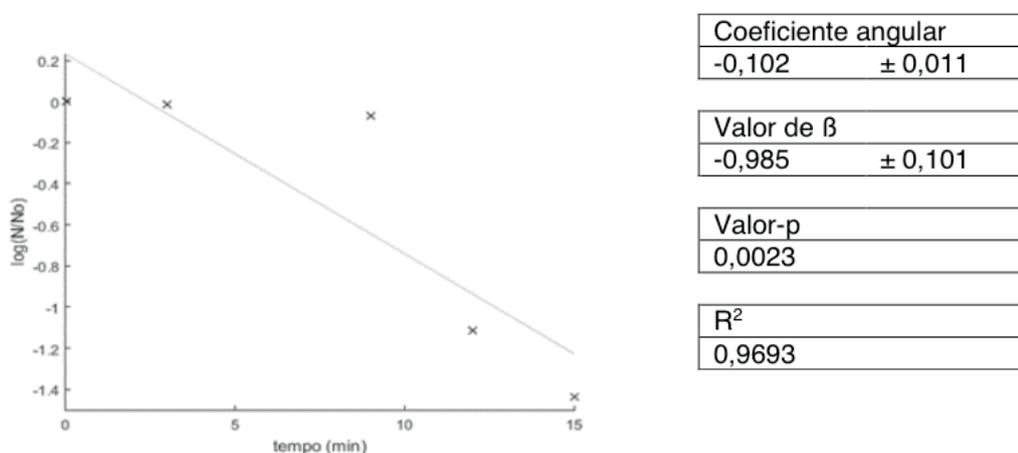


Figura 3 - Regressão linear ($\alpha = 0.05$) para os valores de $\log(N/N_0)$ por tempo (min)

Pode-se observar que as variáveis são estatisticamente dependentes, visto que se obteve um coeficiente de determinação alto (R^2) que permite comparar a contribuição relativa da variável independente (tempo) na predição da variável dependente ($\log N/N_0$). Splittstoesser et al. (1986) determinou a resistência térmica de *S. cerevisiae* em vinho e suco de maçã e também observou o comportamento logarítmico linear em ambos produtos fermentados (SPLITTSTOESSER et al., 1986; MILANI; GARDNER; SILVA, 2015).

A tabela abaixo representa os valores obtidos para diferentes cepas de levedura *S. cerevisiae* obtidos na literatura de acordo com Milani, Gardner e Silva (2015).

Inativação térmica a 60 °C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> DSMZ 1848 *	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> DSMZ 70487 *	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ethanol Red® *	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> WB-06 **
Tempo de redução decimal (D ₆₀) [min]	11,2 ± 0,57	7,5 ± 0,14	6,0 ± 0,54	9,8 ± 0,10
R ²	0,961	0,993	0,993	0,969
* MILANI; GARDNER; SILVA, 2015				
** Presente trabalho				

Tabela 1 - Valores de tempo de redução decimal para inativação térmica a 60 °C

Comparando com outras cepas, a *S. cerevisiae* WB-06 possui um valor acima da média de tempo de redução decimal, o que caracteriza maior resistência térmica e tempo de processamento na temperatura de 60 °C. Trabalhos feitos com suco de frutas (PUT e De JONG, 1982; MILANI; GARDNER; SILVA, 2015) demonstraram um valor máximo de D₆₀ para as 21 cepas testadas de fungo sendo 19.2 minutos.

Com os parâmetros é possível à concepção de um modelo matemático que possa ser implementado em um *software* de controle de equipamento de inativação térmica, sob essa mesma temperatura. Isto permitiria efetuar adequações nos banhos em função do nível de viabilidade no seu interior, a partir da estimativa fornecida (D₆₀).

4 | CONCLUSÃO

Uma relação do tempo de aquecimento a 60 °C com o número de células coradas foi possível. O modelo teve um alto coeficiente de determinação (R²) para o modelo de Bigelow (1920), permitindo a modelagem e estimativa do tempo de redução decimal da cepa comercial de levedura *S. cerevisiae* WB-06, que foi em torno de 9,80 min. O processo é capaz de obter valores de viabilidade celular abaixo de 2% em 15 minutos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, H. D. F.; YAMASHITA, A.S.; GUT, JG.W. Development of enzymic time-temperature integrators with rapid detection for evaluation of continuous HTST pasteurization processes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 110–116, 2012.

BIGELOW, W.D., ESTY, J.R. The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. **J. Infect. Dis.** v.27, p.602–617. 1920.

CARRAU, F.; GAGGERO, C.; AGUILAR, P.S. Yeast diversity and native vigor for flavor phenotypes. **CellPress**. v.20, p.1-7. 2015.

GERVAIS, P. Effect of the kinetics of temperature variation on *Saccharomyces cerevisiae* viability and permeability. **Biochimia et Biophysica Acta**, v. 2736, n. 94, 1995.

KWOLEK-MIREK, M.; ZADRAG-TECZA, R. Comparison of methods used for assessing the viability

and vitality of yeast cells. **FEMS Yeast Research**, v. 14, p. 1068–1079, 2014.

MILANI, E.A.; GARDNER, R.C.; SILVA, F.V.M. Thermal resistance of *Saccharomyces* yeast ascospores in beers. **International Journal of Food Microbiology**. v.206, p.75-80. 2015.

PASTEUR, L. Mémoire sur la fermentation alcoolique. **Imprimerie de la Mallet-Bachelier**. 1860.

PASTEUR, L. Etudes Sur le Vin. **Imprimeurs Imperials**. 1866.

PUT, H.M.C.; De JONG, J. The heat resistance of ascospores of four *Saccharomyces* spp. Isolated from spoiled heat-processed soft drinks and fruits products. **Journal of Applied Bacteriology**. v.52, p.235-243.1982.

SAMI, M.; IKEDA, M.; YABUUCHI, A. S. Evaluation of the Alkaline Methylene Blue Staining Method for Yeast Activity Determination. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 78, n. 3, p. 212–216, 1994.

SILVA, M.A.S. et al. Real-time monitoring of yeast growth based on bioimpedance spectroscopy. **IFMBE Proceedings**. v.68, p.525-529. 2018.

SPLITTSTOESSER, D.F.; LEASOR, S.B.; SWANSON, K.M.J. Effect of food composition on the heat resistance of yeast ascospores. **J. Food Sci.** v.51, p.1265–1267. 1986.

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA CONSUMO HUMANO DE UM MUNICÍPIO DO OESTE DO ESTADO DO PARANÁ

Callegary Vicente Viana

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
discente do curso de licenciatura em Ciências
Biológicas
Cascavel – Paraná

Leanna Camila Macarini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
discente do curso de licenciatura em Ciências
Biológicas
Cascavel – Paraná

Helena Teru Takahashi Mizuta

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas,
docente do curso de Farmácia
Cascavel – Paraná

Fabiana André Falconi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas,
docente do curso de Farmácia
Cascavel – Paraná

RESUMO: Devido ao grande desenvolvimento populacional, a contaminação da água tem se tornado cada vez mais recorrente, em consequência à poluição e más condições de saneamento. A água de consumo pode ser obtida de diversas fontes, entre elas os poços rasos, susceptíveis a contaminação devido à menor profundidade. A saúde pública requer

água potável, que seja livre de patógenos. Portanto, a avaliação de sua qualidade é essencial, principalmente a água destinada ao consumo humano. O objetivo deste trabalho foi determinar a qualidade microbiológica de água para consumo humano de um município da região Oeste do Paraná. De fevereiro a dezembro de 2017, foram coletadas 112 amostras de água destinadas ao consumo humano de um município do Oeste do Paraná e transportadas sob refrigeração para a Unioeste, campus de Cascavel. Foi realizada a determinação de coliformes totais e *E. coli*, pelo método Colilert®. Do total das amostras de água analisadas, 28,6% apresentaram-se contaminadas por *E. coli*, indicando riscos à saúde da população que consome esta água.

PALAVRAS-CHAVE: *E. coli*, coliformes totais, água potável.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF WATER FOR HUMAN CONSUMPTION IN THE CITY OF WEST OF PARANÁ STATE

ABSTRACT: Due to large population development, water contamination has become increasingly recurrent as a result of pollution and poor sanitation. Drinking water can be obtained from a variety of sources, including shallow wells, which are susceptible to contamination due to its lower depth. Public health requires

potable water that is free of pathogens. Therefore, the assessment of its quality is essential, especially water intended for human consumption. The objective of this work was to determine the microbiological quality of water for human consumption of a municipality in the western region of Paraná. From February to December 2017, 112 samples of water intended for human consumption were collected from a municipality of Western Paraná and transported under refrigeration to Unioeste, Cascavel campus. Total coliforms and *E. coli* were determined by the Colilert® method. Of the total water samples analyzed, 28.6% were contaminated with *E. coli*, indicating risks to the health of the population that consumes this water.

KEYWORDS: *E. coli*; Total coliforms; Potable water.

1 | INTRODUÇÃO

Água potável é definida como água para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde (BRASIL, 2011).

A disponibilidade de água potável é um fator crítico para a sobrevivência e desenvolvimento da vida. Cerca de 90% do território brasileiro apresenta um excedente hídrico durante o ano, no entanto, apesar disso, a água não existe em seu estado puro e vários fatores mudam sua qualidade (SILVANO; PELLI, 2018). A segurança e potabilidade depende do funcionamento adequado de etapas desde o tratamento até a distribuição. (MORAES et al., 2018). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 780 milhões de pessoas no mundo têm acesso a fontes de abastecimento potencialmente nocivas (BURGOS et al., 2014). Segundo Zerwes e colaboradores (2015), estima-se que mais da metade dos rios do mundo está poluída pelos despejos dos esgotos domésticos, efluentes industriais, agrotóxicos e dejetos de animais. No Brasil, as péssimas condições sanitárias verificadas em muitas das bacias hidrográficas densamente e desordenadamente ocupadas, resultam na degradação generalizada dos elementos naturais e, obviamente, dos recursos hídricos (LIBÂNIO et al., 2005). Alguns dos maiores surtos que acometeram a população humana foram originados de sistemas de distribuição de água (ALVES et al., 2017).

No meio rural, as principais fontes de abastecimento de água são consideradas fontes susceptíveis de contaminação: os poços rasos, nascentes, córregos e rios (FERREIRA et al., 2017).

As doenças de veiculação hídrica são causadas principalmente por microorganismos patogênicos de origem animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água contaminada. Entre as doenças de veiculação hídrica, a contaminação bacteriana pode contribuir para a transmissão de doenças como cólera, salmonelose, shigelose e gastroenterites causadas por *Escherichia coli* (BURGOS et al., 2014). A falta de saneamento e a má qualidade da água são efetivos no aumento

de casos de doenças de veiculação hídrica que vem matando milhões de pessoas (REIS; FORTUNA, 2014).

A saúde pública requer água potável segura, que seja livre de patógenos (FORTUNA et al., 2007). Com o aumento da utilização das águas subterrâneas, intensifica-se a importância da qualidade dessas águas e uma das fragilidades desta alternativa é muitas vezes a ausência de controle da qualidade da água utilizada para consumo pela população (REIS; FORTUNA, 2014). Portanto, a escassez de água adequada ao consumo é uma das grandes problemáticas ambientais enfrentadas pela população e o monitoramento das fontes de abastecimento é indispensável à preservação ambiental e a saúde da população (ZERWES et al., 2015).

Para analisar a qualidade da água utilizada para consumo humano, são utilizados indicadores biológicos; dentre esse se destaca o grupo dos coliformes, sendo formado por quatro gêneros da família *Enterobacteriaceae*. Este grupo é considerado um dos bioindicadores mais apropriados tendo como representante mais conhecido a *Escherichia coli* (BURGOS et al., 2015).

Os coliformes totais são definidos como bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tenso ativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ no período de 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase. Os coliformes termotolerantes fazem parte de um subgrupo do grupo coliformes totais que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas. O principal representante deste subgrupo é a *E. coli*, que é um coliforme exclusivamente de origem fecal (SILVA et al., 2007).

O uso das bactérias coliformes termotolerantes para indicar poluição sanitária mostra-se mais significativo que a determinação dos coliformes totais, porque a bactéria *E.coli* está restrita ao trato intestinal de animais homeotermos (CETESB, 2012).

O objetivo deste trabalho foi verificar se as amostras de água, provenientes de um município da região do Oeste do Paraná, estavam de acordo com a legislação vigente quanto aos parâmetros coliformes totais e *Escherichia coli*.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras

De fevereiro a dezembro de 2017, foram coletadas 112 amostras de água para consumo humano de um município do Oeste do Paraná, utilizando-se frascos de vidros esterilizados. Após a coleta, os frascos foram encaminhados, sob refrigeração, para o laboratório de Controle Microbiológico da Água, Alimentos e Medicamentos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE, Campus de Cascavel, para análises microbiológicas.

Foi determinada a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*, pelo método de Colilert®.

2.2 Determinação de coliformes totais e *E. coli*

Nas amostras de 100 mL de água foi adicionado o reagente de Colilert®, que contém os substratos ONPG (orto-nitrofenol- β -galactopiranoside) e MUG (4-metil-umbeliferil- β -d-glucurônico). As amostras foram homogeneizadas e despejadas em cartelas Quanti-Tray. As cartelas foram seladas e incubadas por 24 horas a uma temperatura de 35° C, para visualização do resultado.

Após 24 horas, foi realizada a leitura dos resultados, sendo que a cor amarela representava a presença de coliformes totais e a cor azul, sob a luz UV, a *E. coli*. Os coliformes totais se reproduzem e metabolizam o indicador de nutrientes ONPG, alterando a coloração transparente das amostras para o amarelo. Já *Escherichia coli* metaboliza, além do ONPG, o MUG, produzindo fluorescência em contato com a luz ultravioleta.

Os resultados foram obtidos utilizando-se a tabela específica que acompanha o reagente e expressos em NMP de Coliformes totais e *E.coli* em 100 mL de amostra de água.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observam-se os resultados obtidos após a determinação de coliformes totais e *E.coli* em amostras de água coletadas em um município do Paraná, no período de fevereiro a dezembro de 2017.

Meses	Satisfatório	Insatisfatório (<i>E. coli</i>)	Total de amostras analisadas no mês
Fevereiro	09	03	12
Março	08	04	12
Abril	07	03	10
Mai	0	0	0
Junho	02	04	06
Julho	10	01	11
Agosto	07	05	12
Setembro	11	02	13
Outubro	03	03	06
Novembro	11	07	18
Dezembro	12	0	12
Total por coluna	80 (71,43%)	32 (28,57%)	112 (100%)

Tabela 1: Resultados da Contagem de coliformes totais e *E.coli* em 112 amostras de água coletadas em um município do Oeste do Paraná, distribuídas durante os meses de fevereiro a dezembro de 2017.

Aportaria nº 2914, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), estabelece a qualidade da água para consumo humano, regulamentando que deve possuir ausência de *Escherichia coli* e/ou coliformes termotolerantes para 100 mL de amostra, sendo que em amostras individuais procedentes de formas de abastecimento sem distribuição canalizada, não tratada, tolera-se a presença coliformes totais. Observa-se na Tabela 1, que 32 das 112 amostras de água apresentaram de contaminação por *E. coli*, sendo consideradas impróprias para o consumo humano.

Na pesquisa de Satake et al. (2012), sobre a qualidade da água consumida nas propriedades rurais situadas na microbacia do Córrego Rico em Jaboticabal/SP, onde foram coletadas 146 amostras de água de poços ou mina, foi observado que, aproximadamente, 50% das amostras estavam fora dos padrões de potabilidade, devido à presença de *Escherichia coli*. Em estudos realizados por Wendt et al. (2010), sobre amostra de água coletadas em poços localizados em áreas urbanas no município de Três Barras/SC, os resultados obtidos mostraram que 91,6% das amostras apresentaram-se positivas para coliformes totais e *E.coli*.

Zerwes e colaboradores (2015), após coletarem amostras de água de consumo provenientes de 10 (dez) poços artesianos do município de Imigrante, localizado no Vale do Taquari, RS e realizarem análises microbiológicas para a determinação de coliformes totais e *E. coli* pela metodologia padrão (tubos múltiplos), encontraram *E. coli* em 02 das amostras (20%), indicando que a água proveniente destes poços não estariam adequadas para o consumo humano.

Em estudo de Burgos e colaboradores (2014), após a análise de 168 (cento e sessenta e oito) amostras provenientes de poços rasos, na região de Londrina, Paraná, no período de 2005 a 2010, os autores observaram que 93 das amostras (55,3%) apresentaram-se contaminadas por coliformes totais e *Escherichia coli*.

Reis & Fortuna (2014), após pesquisarem coliformes totais e termotolerantes, em 15 (100%) amostras de água para consumo humano, provenientes de diferentes poços rasos residenciais, do município de Teixeira de Freitas, Bahia, determinaram que três amostras (20%), apresentaram contaminação por coliformes totais e termotolerantes.

Em um estudo conduzido por Colvara e colaboradores (2009), das 20 amostras coletadas de poços artesianos nos municípios de Canguçu, Capão do Leão, Monte Bonito, Morro Redondo e Pelotas, no Estado do Rio Grande do Sul, todas as amostras (100%) mostraram-se contaminadas por coliformes totais e por *E. coli*.

No presente estudo foi identificado uma porcentagem de 28,6% das amostras com a presença de *E. coli*, evidenciou-se uma contaminação em vários pontos de coleta deste município do Oeste do Paraná, não apresentando condições de potabilidade, portanto, capaz de transmitir enfermidades de veiculação hídrica.

Vários fatores podem ser responsáveis pela contaminação da água de poços artesianos em nível de propriedade, tanto rural quanto urbana: falta de manutenção do reservatório; localização inadequada do poço; e falta de cuidado e higiene com a

água antes do consumo (COLVARA et al., 2009) . Portanto, ressalta-se, a importância das ações de monitoramento, controle e tratamento da água para favorecer uma distribuição da mesma com padrões mínimos de potabilidade (BRASIL, 2011).

Em estudo realizado por Libânio et al. (2005) , que avaliou a qualidade da água e sua disponibilidade, foi verificado que bem-estar das populações no território nacional é melhor retratado pela abrangência dos serviços de água e de esgotamento sanitário, do que propriamente pelo potencial hídrico ou pela disponibilidade de água *per capita*, mostrando a importância de fontes de água de boa qualidade.

Silvano e Pellli (2018), ao analisarem três amostras provenientes de poço superficial, raso e profundo, verificaram que apenas a amostra coletada do poço profundo apresentou qualidade de água própria para o consumo humano e concluíram que quanto maior a profundidade, melhor a qualidade.

Estes dados chamam a atenção para a necessidade de monitoramento da qualidade microbiológica da água não tratada, de poços e minas, consumida pela população do município analisado. A falta de monitoramento acaba criando condições favoráveis para o desenvolvimento e a sobrevivência de micro-organismos patogênicos aos seres humanos. (MORAES et al., 2018).

4 | CONCLUSÕES

Pode-se concluir, através dos resultados das amostras analisadas que, quando comparados com os padrões de potabilidade da Portaria nº 2914/2011, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), 28,6% da água proveniente do município analisado estão contaminadas com *E.coli*, tornando-as impróprias para consumo humano, podendo acarretar danos à saúde da população.

O presente estudo, bem como os demais supracitados, demonstrou a importância do monitoramento da qualidade microbiológica de água de consumo, evitando as doenças de veiculação hídrica, um problema de saúde pública, além da implantação de medidas efetivas pelos gestores para melhor controle da água.

REFERÊNCIAS

ALVES, S.G.S.; ATAIDE, C.D.G.; SILVA, J.X.. Microbiológica de coliformes totais e termotolerantes em água de bebedouros de um parque público de Brasília, Distrito Federal. **Revista Científica Sena Aires**. v.7, n.1, p.12-17, 2017.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; FERREIRA, F. L. A. & BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, v.37, p.510-514, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências**. Portaria nº 2914. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 12 de dezembro de 2011.

BURGOS, T.N., SCHUROFF, P.A., LOPES, A.M., LIMA, N.R., PELAYO, J.S. Água de consumo humano proveniente de poços rasos como fator de risco de doenças de veiculação hídrica. **Revista Ciência e Saúde**, v. 16, n. 1, p. 34-38, 2014.

CETESB. Companhia de Tecnologia Ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em: [http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/42-indice-de-qualidade-das-aguas-\(iqa\)](http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/42-indice-de-qualidade-das-aguas-(iqa)) Acesso em: 10 de dezembro de 2012.

COLVARA, J. G.; LIMA, A. S.; SILVA, W. P.. Avaliação da contaminação de água subterrânea em poços artesianos no sul do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 11-14, 2009.

FERREIRA, F.S.; QUEIROZ, T.M.; SILVA, T.V.; ANDRADE, A.C.O.. À margem do rio e da sociedade: a qualidade da água em uma comunidade quilombola no estado de Mato Grosso. **Saúde e Sociedade**. São Paulo. v.26, n.3, p.822-828, 2017.

FORTUNA, J. L.; RODRIGUES, M. T.; SOUZA, S. L.; SOUZA, L. Análise microbiológica da água dos bebedouros do Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF): coliformes totais e termotolerantes. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 153, p.102-105, 2007.

LIBÂNIO, P.A.C.; CHERNICHARO C.A.L.; NASCIMENTO, N.O. A dimensão da qualidade de água: avaliação da relação entre indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública. **Revista Engenharia Sanitária**, v. 10, n. 3, p.219-228, 2005.

MORAES, S.; MOREIRA, D.A.S.; SANTOS, J.T.L.A.; OLIVEIRA, A.P.; SALGADO, R.L.. Avaliação microbiológica de fontes de água de escolas públicas e privadas da cidade de Santa Rita (PB). **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.23, n.3, p.431-435, 2018.

REIS, S.F.; FORTUNA, J.L. Pesquisa de coliformes em água de poços residenciais no município de Teixeira de Freitas-BA. **Revista Ciências do Ambiente on-line**. v. 10, n. 2, p. 43-47, 2014.

SATAKE, F. M.; ASSUNÇÃO A. W. A.; LOPES, L. G.; AMARAL, L. A. (2012). Qualidade da água em propriedades rurais situadas na Bacia Hidrográfica do Córrego Rico, **Ars Veterinaria**, v. 28, n. 1, 2012.

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: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVANO, S.R.; PELLI, A.. Qualidade da água consumida pela população rural em Uberaba e Monte Alegre de Minas/MG. **Journal of the Health Sciences Institute**. v.36, n.3, p.170-173, 2018.

WENDT, S.B.T.; BEZERRA, A.; PETRY, L..Análise microbiológica de água de poços, em comunidades do bairro de São Cristóvão, no município de Três Barras, SC. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, p. 135-141, 2011.

ZERWES, C.M., SECCHI, M.I., CALDERAN, T.B., BORTOLI, J., TONETTO, J.F., TOLDI, M., OLIVEIRA, E.C. & SANTANA, E.R.R. Análise da qualidade da água de poços artesianos do município de Imigrante, Vale do Taquari/RS. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 4, p. 651-663, 2015.

ASPECTOS DA SEGURANÇA ALIMENTAR NO CONSUMO DE INVERTEBRADOS MARINHOS DO MERCADO INFORMAL

Érika Fabiane Furlan

Instituto de Pesca/APTA – SAA-SP, Centro de Pesquisa do Pescado Marinho, Santos /SP.

Tatiana Caldas Pereira

Instituto Adolfo Lutz – CLR IX, Santos/SP.

Andrea Gobetti Coelho Bombonatte

Instituto Adolfo Lutz – CLR IX, Santos/SP.

Rubia Yuri Tomita

Instituto de Pesca/APTA – SAA-SP, Centro de Pesquisa do Pescado Marinho, Santos /SP.

Luiz Miguel Casarini

Instituto de Pesca/APTA – SAA-SP, Centro de Pesquisa do Pescado Marinho, Santos /SP.

RESUMO: A atividade extrativa e o comércio informal de alguns organismos marinhos, tais como, do gastrópoda saquiritá (*Stramonita haemastoma*), pepinos-do-mar (*Holothuria grisea*), ouriços-do-mar (*Echinometra lucunter*) e mexilhões (*Perna perna*), é prática comum em áreas adjacentes aos costões rochosos na Baía de Santos-SP. O presente estudo objetivou diagnosticar o risco microbiológico no consumo de organismos marinhos extraídos e por vezes comercializados na região costeira da Baía de Santos-SP, utilizando métodos oficiais e limites normatizados para a discussão dos dados. Concluiu-se que o comércio informal de invertebrados marinhos na região pode colocar em risco a saúde dos consumidores e o meio

ambiente, sendo imprescindível a informação quanto a origem do pescado para garantir a segurança no seu consumo e a sustentabilidade da sua produção.

PALAVRAS-CHAVE: Inocuidade, pescado, extrativismo.

FOOD SAFETY ASPECTS IN MARINE INVERTEBRATES CONSUMPTION FROM INFORMAL TRADE

ABSTRACT: The extractive activity and informal trade of some marine organisms, such as red-mouthed rock shell gastropoda (*Stramonita haemastoma*), sea cucumbers (*Holothuria grisea*), sea urchins (*Echinometra lucunter*) and mussels (*Perna perna*) is common practice in areas adjacent to rocky shores in Santos Bay-SP. The present study has diagnosed the microbiological risk in the consumption of marine organisms extracted and sometimes commercialized in the coastal region of Santos Bay-SP, Brazil, using official methods and standard limits for data discussion. It was concluded that the informal trading of marine invertebrates in the region can offer risk to consumer health and environment. Information on the origin of fish is essential to ensure safe consumption and sustainable production.

KEYWORDS: Security, fish, marine extractivism.

1 | INTRODUÇÃO

Muitos consumidores sabem que o pescado e produtos derivados são itens alimentares altamente perecíveis, mas poucos conhecem a complexidade desta cadeia produtiva e quão complicada pode ser a trajetória até o prato do consumidor (SCHRÖDER, 2008). A exemplo disto, a Baía de Santos representa naturalmente um laboratório de observação das espécies capturadas pela atividade extrativista local, que são geralmente crípticas no comércio formal e na estatística pesqueira, tais como, o mexilhão *P. perna*, o gastrópode *S. haemastoma* (saquaritá); equinodermos *H. grisea*, *E. lucunter* e *Lytechinus variegatus*, caranguejos *Menippe nodifrons* (guaiá), *Eriphia gonagra*, *Pachygrapsus transversus*, crustáceos decápodes, entre outros.

A atividade extrativista de forma desordenada pode impactar negativamente os estoques pesqueiros, como a extração de mexilhões durante o período de defeso (1/09 a 31/12) e a extração de indivíduos <50 mm. (CASARINI *et al.*, 2010). Somado a isso, as regiões do mediolitoral costeiros são consideradas mais vulneráveis às mudanças climáticas (HELMUTH *et al.*, 2006). Segundo DEUS *et al.*, (2014), as frequentes ressacas do mar com intensidade moderada impactam os costões rochosos da Baía de Santos entre agosto e novembro. As ressacas com ondas acima de 2 m, geralmente, aumentam a mortalidade dos estoques de mexilhão, principalmente dos indivíduos com comprimento > 50 mm, que se soltam do substrato. No entanto, as ressacas com ondas acima de 3 m têm ocasionado maior impacto no mediolitoral e infralitoral, afetando os estoques de *E. lucunter* que são carregados e mortos.

Além disso, existe uma forte influência do estuário de Santos-São Vicente, com aporte de resíduos sólidos, efluentes diversos, incluindo das atividades portuárias, ocupações irregulares e do próprio tráfego marítimo. Dentro deste contexto e diante da crescente demanda por produtos pesqueiros para o consumo no mercado nacional, traz-se à tona a preocupação não somente ambiental, mas também de saúde pública, ligada ao consumo de organismos oriundos de áreas contaminadas e obtidos através de práticas de manipulação higiênicas-sanitárias deficientes.

O pescado pode ser veiculador de uma gama enorme de microrganismos patogênicos para o homem, a maior parte deles oriunda da contaminação ambiental. Neste sentido, é importante destacar as bactérias do gênero *Salmonella* spp e *Shigella* spp. encontradas em águas poluídas por esgotos ou excretas animais. No caso particular da pesca marinha, a captura em águas costeiras oferece maiores riscos do que a realizada em alto mar (GERMANO *et al.*, 2008).

Outra importante fonte de contaminação é a manipulação do pescado, desde o momento da captura até o consumo. Como consequência direta da manipulação inadequada tem-se apontado os *Streptococcus* spp e o *Staphylococcus aureus*, ambos de origem humana, presentes nas mucosas e superfície da pele e que encontram no pescado um ambiente favorável à sua multiplicação (FURLAN, 2013).

Frente ao exposto e a escassez de dados publicados relativos à contaminação

microbiológica de invertebrados marinhos, informações fundamentais para a qualificação dos mesmos para o consumo humano; este estudo teve como objetivo avaliar o risco microbiológico no consumo de *S. haemastoma*, *H. grisea*, *E. lucunter* e *P. perna* coletados na região da Baía de Santos-SP.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo foi a Baía de Santos, localizada no litoral do estado de São Paulo e incluiu localidades que possuem costões rochosos, a saber, a Ilha das Palmas (24° 00',32" S / 46°19'28,29" W), ilustrada na Figura 1 e o sul da Ilha Porchat (23°58'55,92" S / 46°22'4,95" W). Foram realizadas coletas assépticas de saquiritás (*S. haemastoma*), pepinos-do-mar (*H. grisea*), ouriços-do-mar (*E. lucunter*) e mexilhões (*P. perna*) através de mergulho científico (*snorkel*) no infra litoral dos costões rochosos seguindo normas do ICMBio (registro protocolo SISBio nº 61408), como mostra a Figura 2. Os organismos foram coletados com o auxílio de raspadeiras metálicas, acondicionados em sacos plásticos estéreis e transportados em caixas isotérmicas com gelo reciclável, em temperatura de 2 a 8°C, para o laboratório de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, em Santos-SP.

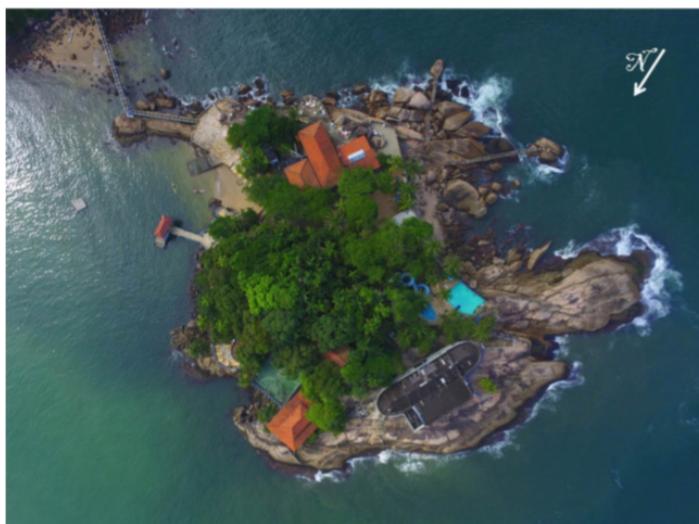


Figura 1. Vista aérea dos costões rochosos da Ilha das Palmas, na Baía de Santos-SP.

As coletas dos organismos *in natura* ocorreram em três períodos de 2018 (primavera, verão e inverno). Para a avaliação microbiológica das espécies marinhas foram realizadas a pesquisa de *Salmonella spp* e *Escherichia coli* e as contagens de *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e termotolerantes. O preparo das amostras e os ensaios foram realizados de acordo com o *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods* (SALFINGER & TORTORELLO, 2015).

Para os ensaios microbiológicos foram coletadas 25 g de amostra de cada organismo e acrescentados a 225 mL Solução Salina Peptonada. Foram preparadas diluições seriadas até a diluição 10^{-5} , com exceção da pesquisa de *Salmonella spp*

que foi realizada por meio da diluição de 25g de amostra em 225 mL de caldo lactose.

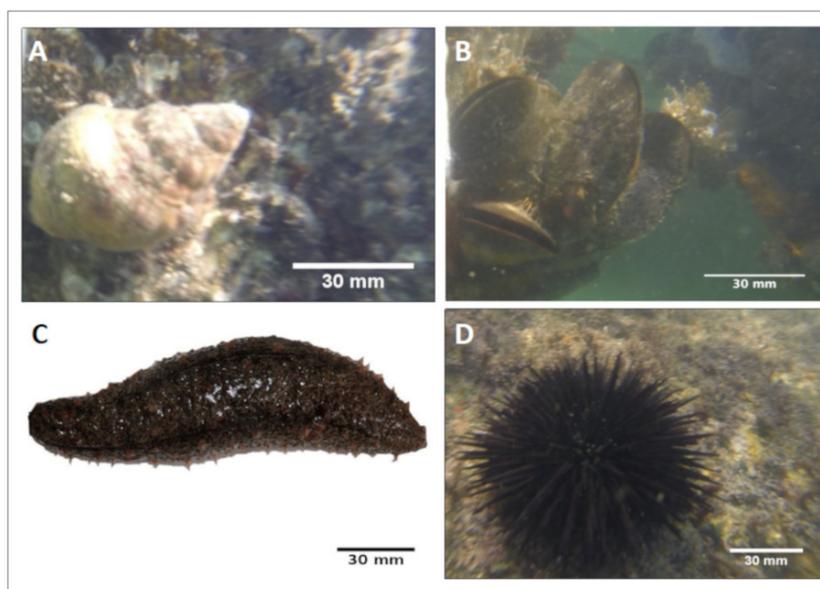


Figura 2. Invertebrados marinhos utilizados neste estudo: (A) *S. haemastoma*, (B) *P. perna*, (C) *H. grisea* e (D) *E. lucunter*.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas coletas da primavera estiveram escassos os saquiritãs e ouriços-do-mar, sendo possível apenas as coletas de mexilhões e pepinos-do-mar, cujas análises não evidenciaram risco microbiológico para o consumo. Em relação aos equinodermos (pepinos-do-mar) não há um regulamento sanitário que contemple padrões microbiológicos para os mesmos, assim utilizou-se para a discussão, os parâmetros microbiológicos normatizados para pescado (BRASIL, 2001). Os resultados das demais coletas são apresentados na Tabela 1.

VERÃO				
Contagens /Espécies Marinhas	<i>S. haemastoma</i>	<i>P. perna</i>	<i>E. lucunter</i>	<i>H. grisea</i>
Coliformes totais (NMP/g)	9,3 x 10	2,4 x 10 ²	2,4 x 10 ³	< 3,0
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	3,6	9,3 x 10	3,6	< 3,0
<i>E. coli</i>	Ausência	Presença	Ausência	Ausência
<i>Estafilococos aureus</i> (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella</i> spp (Ausência em 25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
INVERNO				
Coliformes totais (NMP/g)	2,1 x 10	1,1 x 10⁴	4,3 x 10³	< 3,0
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	6,2	1,1 x 10⁴	9,2	< 3,0
<i>E. coli</i>	Ausência	Presença	Presença	Ausência
<i>Estafilococos aureus</i> (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella</i> spp (Ausência em 25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Tabela 1 – Contagens de microrganismos em invertebrados marinhos extraídos na região costeira da Baía de Santos-SP, durante o verão e inverno de 2018.

Apesar dos resultados atenderem a RDC nº12 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), que dispõe sobre os limites microbiológicos para pescado, ovas de peixes, crustáceos e moluscos cefalópodes *in natura*, resfriados ou congelados não consumidos cru; a pesquisa microbiológica encontrou contagens elevadas de coliformes totais em mexilhões e ouriços do mar nas duas campanhas de estudos.

Foi também diagnosticada a presença de *E.coli* nos mexilhões e ouriços que apresentaram as maiores contagens de coliformes totais e termotolerantes, provavelmente, ocasionadas pelo despejo de esgotos na região; indicando o risco de infecção pelo consumo de invertebrados marinhos oriundos da região de estudo, em especial os filtradores, evidenciando a importância de se conhecer a origem do pescado para garantir a segurança no consumo.

FURLAN (2013) aponta a relevância da certificação de origem dos produtos pesqueiros para garantia da segurança do consumidor do pescado, sobretudo para os moluscos.

A necessidade do monitoramento da qualidade das águas onde são coletados organismos marinhos para o consumo, em especial os filtradores, já é bastante difundido e previsto em lei para moluscos bivalves, através da instrução normativa interministerial nº 7 de 8 de maio de 2012 (BRASIL, 2012). Entretanto, no presente caso, há ainda a necessidade de ações para formalização do comércio, de forma a assegurar uma colheita, manipulação e conservação adequadas, bem como, um processo de cocção eficiente (65°C/ 10 min. ou 75°C/ 5 min.), visando a oferta de um alimento seguro para os consumidores quanto ao aspecto microbiológico.

PASSOS *et al.* (2011) analisaram amostras de *P. perna* coletadas mensalmente, de agosto de 2010 a julho de 2011, em bancos naturais na mesma região e observaram que em 20,7% do total das amostras avaliadas o resultado foi positivo para *Salmonella* spp, revelando quatro diferentes sorotipos, o que corrobora quanto à necessidade de ações para formalização do comércio, regulamentação e monitoramento.

Como destacado por SCHRÖDER (2008), a intensificação do comércio global de alimentos tem direcionado a busca pela garantia da qualidade, transparência e proteção da saúde do consumidor. Para PADULA (2014) há países mais desenvolvidos, a exemplo dos EUA, onde a filosofia do sistema de segurança alimentar foi drasticamente alterado “*da reação para prevenção*”, desenhado de forma a prevenir problemas com os alimentos antes que eles ocorram. Neste sentido, este trabalho visa comunicar que as informações levantadas até o momento indicam que o comércio informal desses invertebrados, oriundos da Baía de Santos – SP, incorre em risco à saúde dos consumidores.

4 | CONCLUSÃO

O comércio informal de invertebrados marinhos na região da baía de Santos,

estado de São Paulo, incorre em risco à saúde dos consumidores e à extinção destes organismos. Assim, a informação quanto a origem do pescado é pré-requisito para a garantia da segurança no seu consumo e da sustentabilidade na sua produção.

5 | AGRADECIMENTOS

Ao clube de Pesca de Santos pelo transporte e acesso as instalações da ilha das Palmas e ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelas bolsas Pibic e Pibiti concedidas.

REFERÊNCIAS

BRASIL 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, 2001.

BRASIL 2012 Ministério da Pesca e Aquicultura. Instrução normativa interministerial n.7, de 8 de maio de 2012, Brasília: **D.O.U.** de 09 de maio de 2012, p.55-59.

CASARINI, L.M; HENRIQUES, M.B; GRAÇA-LOPES, R; SOUZA, M.R. 2010. Chemical and bacteriological evaluation of the water and mussels from Santos bay, São Paulo, Brazil **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.3.

DEUS, S. R. F.; COSTA, J. A.; MOTTA, N. S.; CASARINI, L. M. 2014. Population density of *Perna perna* and *Stramonita haemastoma* mollusks and the echinoid *Echinometra lucunter* in reefs rocky of Santos Bay. **Unisanta Bioscience**, v.3, p.1-9.

FURLAN, É.F. Qualidade das matérias-primas de origem animal: pescado. In: GERMANO, PM.L.; GERMANO, M.I.S. **Sistema de gestão: qualidade e segurança dos alimentos**. Cap 6. Barueri, SP: Manole, 2013.

GERMANO, PM.L.; GERMANO, M.I.S.; OLIVEIRA, C.A.F. Qualidade do pescado. In: GERMANO, PM.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária dos alimentos**. 3.ed. Cap 8. Barueri, SP: Manole, 2008.

HELMUTH, B.; MIESZKOWSKA, N.; MOORE, P.; HAWSKINS, S.J. 2006. Living on the edge of two changing worlds: forecasting the responses of rocky intertidal ecosystems to climate change. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v.37, p.423–31.

PASSOS, E.C.; MELLO, A.R.P.; SOUSA, C.V.; OLIVEIRA, M.A.; CASARINI, L. M; MOTTA, N.S.; HENRIQUES, M.B.; MACHADO, I.C.; DE ROSSO, V.V.; RIVERA, I.N.G. 2011. Detecção de *Salmonella* spp. em mexilhões *Perna perna* dos bancos naturais de baía densamente urbanizada. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.4, p. 631-6.

PADULA, M. 2014. Interdependência: alimentos e segurança. In: **Sustentabilidade e sustentação da produção de alimentos no Brasil: Consumo de alimentos: implicações para a produção agropecuária** - Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. v.3, Cap.V, p.85-101.

SCHRÖDER, U. 2008 Challenges in traceability of seafood. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Switzerland**, v.3, n.1, p.45-48.

SALFINGER, Y; TORTORELLO, ML. 2015. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5th Edition. Washington: APHA Press; 2015.

Autora a ser contatada: Érika Fabiane Furlan. Pesquisadora científica da Unidade Laboratorial de Referência em Tecnologia do Pescado - UL RTP do CPPM – Instituto de Pesca/Apta/SAA-SP. Avenida Bartolomeu de Gusmão, 192, Ponta da Praia – Santos-SP. E-mail: effurlan@pesca.sp.gov.br.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS VERDE FRENTE A BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS COMERCIAIS

Alexsandra Iarlen Cabral Cruz

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Milena da Cruz Costa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Jessica Ferreira Mafra

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Leydiane da Paixão Serra

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Mariza Alves Ferreira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Aline Simões da Rocha Bispo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e

Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

RESUMO: Este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato da própolis verde frente a cepas Gram positivas e Gram negativas resistentes a antimicrobianos comerciais. Inicialmente, foi realizado teste de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Listeria monocytogenes* frente a oito antimicrobianos comerciais. Em seguida, foi verificado a atividade antimicrobiana da própolis verde com base na concentração inibitória mínima e concentração bactericida apenas para as cepas que se mostraram resistentes. Foi possível verificar, com exceção de *E. coli*, que as demais bactérias apresentaram resistência a mais de um antimicrobiano, e o extrato de própolis verde apresentou valores de CIM e CBM variando de 0,18 a 6,20 mg mL⁻¹ e 0,37 a 50,0 mg mL⁻¹, respectivamente. O extrato da própolis verde apresenta potencial atividade antimicrobiana em substituição ao uso de antimicrobianos sintéticos.

PALAVRAS-CHAVE: sensibilidade antimicrobiana, substância natural, *Escherichia coli*, betalactâmicos.

GREEN PROPOLIS ANTIMICROBIAN ACTIVITY AGAINST BACTERIA RESISTING COMMERCIAL ANTIMICROBIANS

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of green propolis extract against Gram positive and Gram negative strains resistant to commercial antimicrobials. Antimicrobial susceptibility testing of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* strains against eight commercial antimicrobials was performed. Subsequently, the antimicrobial activity of green propolis was verified based on the minimum inhibitory concentration and bactericidal concentration only for strains that proved to be resistant. Except for *E. coli*, it was possible to verify that the other bacteria presented resistance to more than one antimicrobial and green propolis extract showed MIC and CBM values ranging from 0.18 to 6.20 mg mL⁻¹ and 0.37 to 50.0 mg mL⁻¹, respectively. Green propolis extract has potential antimicrobial activity as a substitute for synthetic antimicrobials.

KEYWORDS: antimicrobial sensitivity, natural substance, *Escherichia coli*, *betalactamics*.

1 | INTRODUÇÃO

Em escala global, a resistência bacteriana aos antimicrobianos tem se tornado um problema de saúde pública decorrente do seu uso indiscriminado, uma vez que as bactérias anteriormente suscetíveis a esses antimicrobianos vem deixando de responder a esses agentes. Isso tem ocorrido tanto no setor agropecuário quanto no setor de saúde humana devido a ocorrência de microrganismos patogênicos resistentes (JOÃO; ROQUE; TEIXEIRA, 2016). Entre as bactérias que vêm apresentando quadro de resistência se destacam *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas aeruginosa* (NEVES et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016; ALMEIDA et al., 2018).

S. aureus é um microrganismo comensal encontrado frequentemente na pele e mucosas dos seres humanos. Esse microrganismo pode se tornar patogênico e causar infecções, pois possui habilidade em desenvolver mecanismos de resistência aos antimicrobianos, causando preocupação para a comunidade médica e científica (FREITAS et al., 2016). *L. monocytogenes* é um patógeno que sobrevive em condições adversas, e consegue se desenvolver em temperaturas de refrigeração, resistir ao congelamento e algumas classes de antimicrobianos (SOSNOWSKI et al., 2018).

A resistência antimicrobiana em isolados de *P. aeruginosa* também tem sido vista com preocupação no meio científico, visto que é uma bactéria responsável por causar infecções hospitalares graves com elevada letalidade. Mundialmente e no Brasil há relatos da redução da suscetibilidade de *P. aeruginosa* aos antimicrobianos de maior espectro de ação, como os carbapenêmicos e as cefalosporinas anti-pseudomonas (MAMIZUKA; LEVY; LINCOPAN, 2011).

Os antimicrobianos são comumente utilizados na produção animal de forma

terapêutica, profilática e para aumentar o crescimento e a eficiência alimentar dos animais (BEZERRA et al., 2017). Em 2015, o uso global de antimicrobianos na produção animal foi de aproximadamente 63.000 toneladas, com a estimativa de um aumento de quase 70% até 2030, o que é preocupante, uma vez que o uso de antimicrobianos tem dificultado o tratamento de algumas infecções devido ao aumento da resistência microbiana (ALHAJI; ISOLA, 2018). Uma alternativa para minimizar o aumento da resistência microbiana tem sido a investigação de compostos bioativos naturais (PISOSCHI et al., 2018) como flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres, aldeídos fenólicos e cetonas (FERNANDES JUNIOR et al., 2006).

A própolis é uma substância natural, resinosa, coletada pelas abelhas em brotos, flores e exsudatos de plantas. Essa resina geralmente é utilizada pelas abelhas como forma de defesa na colmeia, conferindo proteção contra insetos e microrganismos invasores. A própolis tem sido amplamente utilizada devido as suas propriedades antioxidante, antifúngica e antimicrobiana que estão diretamente relacionadas com a sua composição química incluindo o teor de flavonoides e fenóis presente (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018).

Estudos in vitro têm relatado que alguns tipos de própolis tem propriedades antibacterianas significativas sobre vários microrganismos (SINHORINI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; EL-GUENDOZ et al., 2018). A própolis verde, por exemplo, inibiu de maneira significativa isolados de *S. aureus* resistentes a meticilina (AGUIAR; LIMA; ATHAYDE, 2014). A atividade antimicrobiana da própolis está associada a substâncias antimicrobianas, como os flavonóides, galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol (ODA et al., 2016).

Diante dessa problemática, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito antimicrobiano da própolis verde sobre cepas Gram positivas e Gram negativas resistentes a antimicrobianos comerciais.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A suscetibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de difusão de disco em placas seguindo a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2016). Para o antibiograma, as cepas padrão de *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC43300 e *Listeria monocytogenes* CERELA foram repicadas em meio Triptona Soja Agar (TSA). O inóculo foi suspenso em 9 mL de solução salina 0,85% e padronizado em 0,08 a 0,10 em espectrofotômetro no comprimento de onda de 625 nm (10^8 UFC mL⁻¹) (CLSI, 2016). A cultura foi espalhada em ágar Mueller-Hinton e os discos de antimicrobianos transferidos para o meio, com incubação das placas a 37°C por 24 h. Os halos de inibição foram medidos usando paquímetro digital (Digilab - Modelo Digimess).

Os antimicrobianos testados para as bactérias Gram positivas foram clindamicina (2 µg), cefepime (30 µg), eritromicina (15 µg), cloranfenicol (30 µg), sulfazotrin (25 µg), vancomicina (30 µg), oxacilina (1 µg) e tetraciclina (30 µg), e para as Gram negativas foram aztreonam (30 µg), amicacina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), ceftazidima (30 µg), imipenem (10 µg), tetraciclina (30 µg), sulfazotrim (25 µg), cloranfenicol (30 µg), ácido nalidíxico (10 µg) e ampicilina (10 µg).

Para verificar a eficácia do extrato de própolis verde frente as bactérias que apresentaram resistência aos antimicrobianos foi realizado o teste de microdiluição em placa para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em Caldo Muller-Hinton. Inicialmente, foi adicionado 100 µL do extrato de própolis verde a 20% no primeiro poço e, após homogeneização, uma alíquota de 100 µL foi transferida para o segundo e assim sucessivamente, a fim de obter concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,2, 0,31, 0,15 e 0,07 mg.mL⁻¹. Após a diluição do extrato, 10 µl (1x10⁴ UFC mL⁻¹) do inóculo padronizado foi adicionado nos poços e as microplacas incubadas a 35°C por 24 h. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato de própolis verde capaz de inibir o crescimento microbiano.

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram retirados 10 µL das três últimas concentrações do extrato onde não houve crescimento bacteriano e semeados em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e a CBM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de causar a morte das células (CLSI, 2016)

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 apresentam os resultados da suscetibilidade antimicrobiana das bactérias frente aos antimicrobianos estudados. Ao contrário de *E. coli* que não apresentou resistência, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* apresentaram resistência a três dos antimicrobianos testados. Esse fato chama a atenção devido à frequência com que essas bactérias têm sido relacionadas a quadros de infecções no homem, particularmente em pacientes hospitalizados (NEVES et al., 2011).

As cepas de *S. aureus* e *L. monocytogenes* apresentaram resistência a oxacilina, antimicrobiano pertencente à classe dos beta-lactâmicos (Tabela 2). A resistência de bactérias frente aos agentes beta-lactâmicos se tornou um importante problema clínico, devido à transferência por plasmídeos de genes de resistência, o que tem contribuído para o aumento significativo de bactérias que não respondem a terapia com antimicrobianos dessa classe (LOUREIRO et al., 2016). Recentemente Silva et al. (2018) relataram situação semelhante à constatada neste estudo, com percentual de 55,6% de resistência a um ou mais antimicrobianos para cepas de *S. aureus*, enquanto, Noll, Kleta e Dahouk (2017) verificaram um alto índice de resistência para cepas de *L. monocytogenes*, com quadro de multirresistência.

Antimicrobianos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	Halo de inibição (mm)	Classificação	Halo de inibição (mm)	Classificação
Aztreonam (ATM)	26,24	*S	31,74	*S
Ceftriaxona (CRO)	20,12	**I	30,42	S
Ceftazidima (CAZ)	22,93	S	28,33	S
Tetraciclina (TET)	10,24	R	23,43	S
Sulfazotrim (SUT)	0	R	27,57	S
Clorafenicol (CLO)	16,67	I	33,52	S
Ácido nalidixico (NAL)	16,70	I	30,05	S
Ampicilina (AMP)	0	***R	20,48	S

Tabela 1. Suscetibilidade antimicrobiana das bactérias Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

Sensível* **Intermediária *** Resistente

Antimicrobianos	<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Halo de inibição (mm)	Classificação	Halo de inibição (mm)	Classificação
Clindamicina (CLI)	20,09	**I	0	R
Cefepime (CPM)	0	***R	15,01	I
Eritromicina (ERI)	32,69	*S	0	R
Clorafenicol (CLO)	31,37	S	25,26	S
Sulfazotrim (SUT)	33,31	S	31,77	S
Vancomicina (VAN)	25,84	S	19,98	S
Oxacilina (OXA)	0	R	0	R
Tetraciclina (TET)	16,70	R	22,98	S

Tabela 2. Suscetibilidade antimicrobiana das bactérias Gram positivas *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*.

Sensível* **Intermediária *** Resistente

A disseminação de bactérias resistentes associadas ao uso de antimicrobianos na produção animal tem sido motivo de preocupação, uma vez que esses animais são destinados ao consumo humano, existindo o risco das bactérias e seus genes de resistência ser transmitidos e incorporados a microbiota humana, reduzindo a eficácia dos antimicrobianos (BEZERRA et al., 2017). Muitos estudos vêm relatando a presença de cepas resistentes a múltiplos fármacos em produtos de origem animal, carne bovina, aves e peixes em mercados e fazendas de todo o país (BROUGHTON; WALKER, 2009; JIANG et al., 2011; JIANG et al., 2012; JIANG; SHI, 2013; LAI et al., 2014).

A Tabela 3 mostra os valores da CIM e CBM do extrato hidroalcolico de própolis verde frente as cepas de *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *P. aeruginosa*. A atividade antibacteriana do extrato foi mais eficiente para as bactérias Gram positivas quando comparada com as Gram negativas. Este fato pode estar relacionado com a

composição química mais complexa da parede celular das bactérias Gram negativas, que contêm em sua parede celular uma membrana externa de lipopolissacarídeos e proteínas que não é encontrada nas bactérias Gram positivas (ANDRADE et al., 2012). A membrana externa atua como barreira, tornando as bactérias mais resistentes à ação da própolis, dificultando a bacteriólise (MIRZOEVA; GRISHANIN; CALDER, 1997).

Microrganismos	CIM (mg mL ⁻¹)	CBM (mg mL ⁻¹)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,70	6,20
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,18	0,37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,20	50,0

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde frente as cepas com resistência microbiana.

CIM - Concentração inibitória mínima. CBM - Concentração mínima bactericida

O perfil de sensibilidade das cepas multirresistentes aos antimicrobianos frente ao extrato hidroalcoólico da própolis verde demonstra que os mecanismos de resistências que as cepas apresentam para inativar a ação dos antimicrobianos sintéticos não apresentam a mesma ação frente aos compostos bioativos da própolis verde. Segundo Aguiar, Lima, Athayde (2014) o sítio de ação dos compostos naturais presentes em plantas não é conhecido pelas bactérias e, portanto, estas não conseguem inibi-los.

A maior atividade antimicrobiana da própolis foi observada para *L. monocytogenes*, ao apresentar menor concentração bactericida, quando comparada com *S. aureus* que apresentou maior CIM e CBM (Tabela 3). Embora as duas bactérias sejam Gram positivas, o extrato pode ter mecanismo de ação diferente nas bactérias. O extrato também possui compostos fenólicos que podem ter um espectro de ação maior e melhor para um determinado microrganismo em detrimento de outro (RODRIGUEZ, 2010). Segundo Daglia (2012), existe compostos fenólicos que apresentam maior eficácia contra *L. monocytogenes* do que para *S. aureus*.

A eficiência da própolis verde também foi observada por Chen et al. (2018), ao relatarem valores de CIM e CBM em torno de 20 µg mL⁻¹ frente a cepas de *S. aureus* e *L. monocytogenes*, enquanto Viega et al. (2017) encontraram valores de CIM variando de 78,40 a 392,0 µg mL⁻¹ frente a diferentes cepas de *S. aureus* para o extrato de própolis verde. É possível verificar uma diferença nas concentrações mínimas inibitórias e nas concentrações mínimas bactericidas da própolis verde, o que é compreensível, uma vez que a eficiência da própolis frente a microrganismos pode variar em decorrência de sua composição química. Essa composição está relacionada a vários fatores, tais como, a localização geográfica, condições climáticas, sazonalidade e flora da região (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018).

4 | CONCLUSÃO

O extrato hidroalcoólico da própolis verde apresentou atividade antimicrobiana frente as bactérias resistentes, em especial, as bactérias Gram positivas mostrando ser promissor no controle de patógenos multirresistentes aos antimicrobianos.

5 | AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e FAPESB – Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. G.; LIMA, L. G.; ATHAYDE, L. A. Efeito antimicrobiano da própolis verde frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 12-16, 2014.
- ALHAJI, N. B.; ISOLA, T. O. Antimicrobial usage by pastoralists in food animals in North-central Nigeria: The associated socio-cultural drivers for antimicrobials misuse and public health implications. **One Health**, v. 6, p. 41-47, 2018.
- ALMEIDA, R N.; CHESCA, A. C.; SILVA, A. D.; SEVERINO, E. C. V.; MARTINS, O. A.; RAGHIANTE, F. Antimicrobial sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from beef. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 3, p. 254-261, 2018.
- ANDRADE, N. P. C.; SILVA, E. M. S.; MOTA, R. A.; VESCHI, J. L. A.; RIBEIRO, M. F.; KREWER, C. C.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos etanólicos de própolis de três estados brasileiros sobre *Aeromonas hydrophila* isoladas de peixes. **Arquivo Instituto Biológico**, v.79, n.1, p.9-15, 2012.
- BEZERRA, W. G.; HORN, R. H.; SILVA, I. N. G.; TEIXEIRA, R. S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, Á. H.; CARDOSO, W. C. Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 301-307, 2017.
- BROUGHTON, E. I.; WALKER, D. G. Prevalence of antibiotic-resistant *Salmonella* in fish in Guangdong, China. **Foodborne Pathogens And Disease**, v. 6, n. 4, p. 519-521, 2009.
- CHEN, Y.; YE, S. R.; TING, C.; YU, Y. H. Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 2, p. 761-768, 2017.
- Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI.** (2016). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. Approved standard - 26th Edition. M101-S26. Pennsylvania: EUA.
- DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 174-181, 2012.
- EL-GUENDOUIZ, S.; AAZZA, S.; LYOUSSI, B.; BANKOVA, V.; POPOVA, M., NETO, L.; FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. D. G. Moroccan propolis: A natural antioxidant, antibacterial, and antibiofilm against *Staphylococcus aureus* with no induction of resistance after continuous exposure. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

- FERNANDES JUNIOR, A.; LOPES, M. M. R.; COLOMBARI, V.; MONTEIRO, A. C. M.; VIEIRA, E. P. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n.1, p. 294-297, 2006.
- FREITAS, A.; MARCOS, I.; FONTES, L.; MARTINS, S. Abordagem terapêutica nas infecções por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina. **Gazeta Médica**, v. 3, n.4, p. 186-190, 2016.
- JIANG, H.; TANG, D.; LIU, Y.; ZHANG, X.; ZENG, Z.; XU, L. Prevalence and characteristics of β -lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n.10, p. 2350-2353, 2012.
- JIANG, H. LÜ, D. H.; CHEN, Z. L.; WANG, X. M.; CHEN, J. R.; LIU, Y. H.; LIAO, X. P.; LIU, J. H.; ZENG, Z. L. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 1, p. 99-103, 2011.
- JIANG, X.; SHI, L. Distribution of tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance genes in aerobic bacteria isolated from cooked meat products in Guangzhou, China. **Food Control**, v. 30, n. 1, p. 30-34, 2013.
- JOÃO, R.; ROQUE, F.; TEIXEIRA, A. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 4, n. 1, p. 77-84, 2016.
- LAI, J.; WU, C.; WU, C.; QI, J.; WANG, Y.; WANG, H.; WANG, H.; LIU, Y.; SHEN, J. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* in food-producing animals in Shandong province of China, 2009 and 2012. **International Journal of Food Microbiology**, v. 180, p. 30-38, 2014.
- LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 4, n. 1, p. 77-84, 2016.
- MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.
- MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiological Research**, v.152, n. 3, p. 239-246, 1997.
- NEVES, P. R.; MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.
- NOLL, M.; KLETA, S.; DAHOUK, A. L. S. Antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 4, p. 572–577, 2017.
- ODA, H.; NAKAGAWA, T.; MARUYAMA, K.; DONO, Y.; KATSURAGI, H.; SATO, S. Effect of Brazilian green propolis on oral pathogens and human periodontal fibroblasts. **Journal of Oral Biosciences**, v. 58, n. 2, p. 1-5, 2016.
- OLIVEIRA, A. V.; OLIVEIRA, S. P.; XAVIER, A. R. E. O.; SOUZA, C. N.; CUNHA, G. S. P.; MELO JÚNIOR, A. F.; XAVIER, M. A. S.; SANGLARD, D. A.; ALMEIDA, A. C. Identificação genotípica de *Staphylococcus aureus* multiresistentes a drogas isolados de animais de produção. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 45-51, 2016.
- OLIVEIRA, A. V.; FERREIRA, A. L.; NUNES, S.; DANDLEN, S. A.; MIGUEL, M. D. G.; FALEIRO, M. L. Antibacterial activity of propolis extracts from the south of Portugal. **Pakistan Journal of**

Pharmaceutical Sciences, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2017.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Biomedicine & pharmacotherapy potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, n. 2017, p. 469-483, 2018.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; GEORGESCU, C.; TURCUS, V.; OLAH, N. K.; MATHE, E. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p.922-935, 2018.

RODRIGUEZ, M. J.; FERNANDEZ, P. A. A.; NADRA, M. C.; SAAD, A. M. S. Phenolic compound combinations on *Escherichia coli* viability in a meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n.10, p. 6048-6052, 2010.

SILVA, A. C.; IACUZIO, R.; CÂNDIDO, T. J. S.; RODRIGUES, M. X.; SILVA, N. C. C. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isolados de carcaças de frangos: resistência a antibióticos e óleos essenciais. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 95-103, 2018.

SINHORINI, W. A.; BORDIN, J. T.; VIGNOTO, V. K. C.; CARDOZO, R. M.; MARTINS, R. R.; WOSIACKI, S. R. Atividade antibacteriana in vitro da própolis testadas em cepas bacterianas padrão. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 1, n. 2, p. 107-111, 2015.

SOSNOWSKI, M.; LACHTARA, B.; WIECZOREK, K.; OSEK, J. Antimicrobial resistance and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Poland. **International Journal of Food Microbiology**, v. 289, n. 2018, p. 1-6, 2018.

VEIGA, R. S.; MENDONÇA, S.; MENDES, P. B.; PAULINO, N.; MIMICA, M. J.; NETTO, A. A. L.; LIRA, I. S.; LOPEZ, B. G. C.; NEGRÃO, V.; MARCUCCI, M. C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p. 911-920, 2017.

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE AMOSTRAS DO BANCO DE LEITE DE UM HOSPITAL NO OESTE DO PARANÁ

Bianca Maliska Klauck

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas,
discente do curso de Farmácia. Cascavel –
Paraná

Larissa Villvock De Menech

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas,
discente do curso de Farmácia. Cascavel –
Paraná

Fabiana André Falconi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas,
docente do curso de Farmácia. Cascavel –
Paraná

RESUMO: Os Bancos de Leite Humano (BHL) são responsáveis pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e pela coleta e controle de qualidade do leite humano (LH). O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru, de um BLH, descartado durante a análise inicial de acidez, para verificar a possível contaminação microbiana do produto pelas mães doadoras. Foram coletadas 25 amostras de LH de caráter ácido, e realizadas análises quanto à contagem de bactérias mesófilas, de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase-positiva. De 25 amostras analisadas, 40% apresentaram alta contagem de bactérias mesófilas e 24% de coliformes totais. Não

houve presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva. Os resultados mostraram um alto grau de contaminação no leite cru, que podem ter ocorrido devido às condições higiênicas inadequadas durante o processo de coleta, transporte e estocagem do mesmo.

PALAVRAS-CHAVE: análise microbiológica; leite materno; contaminação.

EVALUATION OF HYGIENIC-SANITARY CONDITIONS OF SAMPLES FROM THE MILK BANK OF A HOSPITAL IN THE WEST OF PARANÁ

ABSTRACT: Human Milk Banks (HMB) are responsible for promoting the encouragement of breastfeeding and for the collection and quality control of human milk (HM). The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of raw milk from a HMB discarded during the initial acidity analysis to verify the possible microbial contamination of the product by donor mothers. Twenty-five samples of acidic HM were collected, and analyzes were performed on the count of mesophilic bacteria, total and thermotolerant coliforms, and coagulase-positive *Staphylococcus*. Of 25 samples analyzed, 40% showed high mesophilic bacterial counts and 24% total coliforms. There was no presence of coagulase-positive *Staphylococcus*. The results showed a high degree of contamination

in raw milk, which may have occurred due to inadequate hygienic conditions during its collection, transportation and storage process.

KEYWORDS: microbiological analysis; breast milk; contamination.

1 | INTRODUÇÃO

O leite é um fluido aquoso secretado pelas glândulas mamárias das fêmeas logo depois do parto. É um alimento fundamental por conter todas as substâncias necessárias ao crescimento e desenvolvimento dos recém-nascidos durante os primeiros meses de vida. A composição química do leite humano tem a função de atender às necessidades nutricionais (suplementação), de garantir a proteção para o lactente, além de restringir e/ ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas (FREITAS et al., 2004; SOUZA & SILVA, 2010).

O ato de amamentar traz inúmeros benefícios à saúde da criança, repercutindo no seu desenvolvimento cognitivo e emocional. Na vida da mãe também há benefícios, que envolvem o fortalecimento do vínculo afetivo com o filho, proteção contra o câncer de mama, redução do risco de diabetes e recuperação do útero pós parto, o que diminui o risco de hemorragias e nova gravidez. Em contrapartida, a não amamentação e/ou a introdução precoce de outros alimentos antes do período mínimo estabelecido, é associada a um número expressivo de episódios de diarreia, hospitalização por doenças respiratórias e até mesmo risco de desnutrição quando os alimentos introduzidos tiverem valor nutricional inferior ao do leite materno (OLIVEIRA et al., 2017).

A recomendação do Ministério da Saúde é que todos os recém-nascidos sejam amamentados, sem alimentos complementares, de quatro a seis meses de vida, já a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a amamentação, como complemento, até o segundo ano de idade, pois é benéfica mesmo para crianças maiores (FREITAS et al., 2004).

Nas situações de recém-nascidos hospitalizados, que não dispõem de condições para sugar o leite materno, ou que estão em situações fisiológicas especiais como prematuridade, neonatos de baixo peso, recém-nascidos infectados, portadores de deficiência imunológica, de perturbação gástrica, aos alérgicos a proteínas heterólogas provenientes de outros tipos de leite e casos especiais, nos quais a mãe encontra-se impossibilitada de amamentar, houve a necessidade de criar uma alternativa segura que garanta o desenvolvimento da criança (ALMEIDA et al., 2012; SERAFINI et al., 2003; NOBRE et al., 2015).

Para atender à necessidade desses lactentes, tornou-se crescente a utilização de leite humano ordenhado e pasteurizado para suprir a demanda, exigindo-se a utilização de técnicas adequadas de coleta, processamento e controle de qualidade, uma vez que quando o mesmo não é pasteurizado de maneira ineficaz, pode apresentar micro-organismos, dentre eles o *S. aureus*, reduzindo o valor nutricional e

a qualidade do leite (CARVALHO et al., 2018).

Os Bancos de Leite Humano (BLH) são instituições especializadas, vinculado a um hospital materno e/ou infantil, responsável pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e execução das atividades da coleta, processamento e controle de qualidade de colostro, leite de transição e leite humano maduro, para posterior distribuição (NOBRE et al., 2015).

Acreditava-se que o leite humano era estéril, entretanto, sabe-se agora que ele abriga uma comunidade microbiana que se altera de acordo com as características maternas como também ao longo da lactação (CODO, 2017). Por isso, todo leite humano recebido pelo Banco de leite deve ser submetido a procedimentos iniciais de seleção e classificação, como a verificação da embalagem, presença de sujidades, cor, off-flavor e Acidez Dornic. Os produtos que não preencherem as especificações determinadas quanto aos aspectos sensoriais, físico-químicos e microbiológicos, deverão ser descartados (SOUZA & SILVA, 2010).

Uma grande preocupação dos BHL é manter estoques de leite suficientes para atender à demanda, diminuindo o volume descartado após as análises do leite cru. Porém, o leite humano pode ser um meio de cultura para o desenvolvimento de vários micro-organismos contaminantes, pois não dispõe de barreira física que impeça a penetração destes (GRAZZIOTINI et al., 2010; SOUZA & SILVA, 2010).

Um grande problema dos Bancos de Leites é o controle bacteriológico do leite doado, pois o consumo de leite humano contaminado pode causar doenças neonatais, como septicemias, meningites, pneumonias, candidíase neonatal, entre outras. Por isso, é importante o controle microbiológico do leite doado ao Banco de Leite Humano, para reduzir a incidência dessas doenças e, conseqüentemente, minimizar os índices de mortalidade infantil (SANTOS et al., 2016).

As possíveis causas de elevação da quantidade de micro-organismos no leite humano podem estar relacionadas com as técnicas inadequadas, as condições de higiene e ao armazenamento do alimento. (SOUZA & SILVA, 2010; FREITAS et al., 2004). Convém ressaltar que é a qualidade do leite cru que determinará a qualidade do leite pasteurizado, assim, um produto com uma contagem muito elevada de bactérias, mesmo após a pasteurização, ainda apresentará valores elevados (MESQUITA et al., 2016).

A presença de sujidades e o aumento da acidez do leite, resultante das más práticas de higiênicas e transporte, representa um desafio nos BLHs, sendo responsável pelo descarte de muitas amostras durante a análise inicial (NOBREL et al., 2015).

Torna-se importante a obtenção de mais dados epidemiológicos sobre a contaminação bacteriana de leite humano e o desenvolvimento de um trabalho educativo com as mães, enfermeiras, técnicos de enfermagem, nutricionistas, médicos pediatras e intensivistas, conscientizando-os sobre os riscos na preparação e consumo do leite humano (SERAFINI et al., 2003).

Diante do exposto, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru recebido pelo BLH do Hospital Universitário, descartado durante a análise inicial de acidez, com a finalidade de verificar a possível contaminação microbiana do produto, durante a coleta pelas mães doadoras.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de fevereiro a outubro de 2018, em Cascavel, utilizando-se amostras de leite humano do Banco de Leite Humano do Hospital Universitário. A coleta domiciliar do leite humano e todos os procedimentos técnicos foram realizados normalmente pela equipe do banco de leite. Após a análise de acidez Dornic pela equipe, o leite coletado que não atendeu aos requisitos de qualidade, ou seja, acidez Dornic fora do estabelecido pela RDC nº 171, foram selecionados para análise de micro-organismos que indicam a qualidade higiênico-sanitária da ordenha e coleta do leite humano.

As amostras foram transportadas, sob refrigeração, para o laboratório de microbiologia da Unioeste, para análise de Contagem de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes e Contagem de *Staphylococcus coagulase positivo*, segundo metodologia preconizada pela legislação (BRASIL, 2001).

Para o preparo de cada amostra foram realizadas diluições, onde a amostra obtida corresponde à diluição 100. A partir desta, foi transferido, 25mL para um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1%, correspondendo a diluição 10⁻¹. Em seguida, foram realizadas diluições consecutivas.

Contagem de bactérias mesófilas aeróbias: Foram inoculados 0,1 mL das diluições no Ágar Padrão de Contagem (PCA) e espalhado pelo meio com uma alça de Drigalski. Após o procedimento, as placas foram incubadas a 35-37°C por 24-48 horas. Após a incubação, foi realizada a contagem total de micro-organismos.

Contagem de Coliformes Totais pelo método do Número Mais Provável (NMP): 1,0 mL de cada diluição foi inoculado em série de três tubos contendo 9 mL do meio Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durhan invertidos, sendo incubados a 35-37°C por 24-48 horas. Dos tubos que apresentaram resultado positivo para coliformes totais – crescimento (turvação) e produção de gás em meio LST – foi transferida uma alçada para tubos contendo 10,0 mL de caldo *Escherichia coli* (EC) e tubos de Durhan invertidos, sendo incubados em banho-maria a 44,5-45,5°C por 24 horas.

Contagem e Identificação de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva: foram utilizadas placas de Petri contendo meio Ágar Baird-Parker, onde foram inoculados 0,1 mL de cada diluição. Com o auxílio de uma alça de Drigalski, o inóculo foi espalhado sobre a placa. Após, as mesmas foram incubadas por 48 horas a uma temperatura

de 35-37°C. Posteriormente, foram selecionadas as placas com crescimento de colônias circulares, pretas, pequenas, rodeadas por um halo transparente, que são as características típicas de *Staphylococcus aureus*. Após, foram realizadas as seguintes provas bioquímicas para confirmação da presença do micro-organismo: Coloração de Gram, Teste da Catalase, Teste da Coagulase e Teste da DNase. Os resultados serão expressos em UFC/mL de alimento.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta o resultado das análises de 25 amostras de leite humano quanto à contagem de bactérias mesófilas, de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva*.

Amostras	Contagem de Bactérias Mesófilas (UFC/mL)	Contagem de Coliformes totais (NMP/mL)	Contagem de Coliformes termotolerantes (NMP/mL)	Contagem <i>Staphylococcus coagulase-positiva</i> (UFC/mL)
1	<10 ²	< 3	< 3	<10 ²
2	6,9.10 ⁴	3,0	< 3	<10 ²
3	1,9.10 ⁶	1100	< 3	<10 ²
4	7,0.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
5	<10 ²	< 3	< 3	<10 ²
6	<10 ²	< 3	< 3	<10 ²
7	1,8.10 ⁵	1100	1100	<10 ²
8	6,3.10 ⁴	15	15	<10 ²
9	1,1.10 ⁴	< 3	< 3	<10 ²
10	3,6.10 ⁴	460	< 3	<10 ²
11	2,0.10 ³	460	3,0	<10 ²
12	6,6.10 ¹	< 3	< 3	<10 ²
13	9,9.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
14	1,3.10 ³	1100	< 3	<10 ²
15	2,0.10 ³	< 3	< 3	<10 ²
16	4,3.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
17	5,1.10 ⁴	3,0	3,0	<10 ²
18	4,0.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
19	1,0.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
20	3,0. 10 ²	< 3	< 3	<10 ²
21	2,0.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
22	3,0.10 ⁵	≥2400	< 3	<10 ²
23	1,5.10 ²	< 3	< 3	<10 ²
24	3,0.10 ⁵	≥2400	< 3	<10 ²
25	3,0.10 ⁵	≥2400	< 3	<10 ²

Tabela 1 – Contagem de bactérias mesófilas, de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* em 25 amostras de leite humano de doadoras do Banco de Leite Humano do Hospital Universitário do Oeste do Paraná.

Das amostras analisadas, 10 (40,0%) apresentaram contagem de bactérias

mesófilas acima de 10^4 UFC/mL. A determinação da contagem total de bactérias mesófilas é uma importante avaliação, pois funciona como indicador da qualidade sanitária do leite, visto que, a maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar é mesófila. Valores elevados desta contagem indicam, de forma indireta, que a qualidade do material analisado não é satisfatória (MESQUITA et al., 2016). Portanto, a contagem de bactérias mesófilas aeróbias é um parâmetro fundamental das condições higiênico-sanitárias do LH que será oferecido ao lactente.

De 25 amostras analisadas, aproximadamente 24% apresentaram coliformes totais, com valores acima de 10^3 NMP/mL e uma amostra de coliformes termotolerantes. A presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras é indicativo de condições higiênicas precárias e pode indicar contaminação, cruzada ou não, de material fecal. A coleta e manipulação são as principais causas da elevação da quantidade de micro-organismos no leite humano (SOUSA & SILVA, 2010; ALMEIDA, 2003). Novak et al. (2008) avaliaram a presença de coliformes totais em 343 amostras de leite humano e obtiveram populações variando de $3,0 \times 10^0$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/ml, em 30% de amostras analisadas. Nobre et al. (2015) também observou o crescimento de coliformes em amostras de leite humano cru, sendo que de 66 amostras, 19 apresentaram resultado positivo para coliformes totais e 12 para coliformes fecais.

Borrell et al. (2009) correlacionou a presença de microrganismos em três fases de apresentação do leite humano – colostro, transição e maduro – após o armazenamento e aquecimento a 4° e 55°C , respectivamente. Foi observado crescimento de coliformes totais, sendo observado crescimento bacteriano mais uniforme entre os períodos de preservação do leite humano. Não houve presença significativa de coliformes fecais nas amostras coletadas.

Conforme observado na Tabela 1, não houve presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva nas 25 amostras analisadas. *Staphylococcus* coagulase-positiva são patógenos de importância em alimentos, pois são os principais responsáveis por intoxicação alimentar, causadas pela produção de enterotoxinas estafilocócicas. Pode ser transmitido ao leite humano facilmente, uma vez que essa bactéria está presente na microbiota normal da mucosa nasal (Silva, 2017).

Sousa & Silva (2010) avaliaram a presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva e outros microrganismos, em 20 amostras de leite humano, além de amostras de mão de manipuladores e recipientes para armazenamento do mesmo. Não foi detectado a presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva no leite e mãos de manipuladores, sendo considerado similar se comparado ao presente estudo.

Em contrapartida, o estudo de Castro (2006) se contrapôs ao trabalho referido, uma vez que 46,7% das 60 amostras de leite humano analisadas foram positivas para *Staphylococcus* coagulase-positiva, sendo explicada por contaminação secundária a partir da pele e fossas nasais das doadoras.

Em estudo realizado em Campinas, foram obtidas 72 amostras antes da pasteurização (AP), 47 delas, ou seja, 65,3% estavam contaminadas. Após a

pasteurização foram obtidas 67 amostras das quais apenas uma (1) apresentou contaminação, representando 1,5% (CODO, 2017).

Deve-se ressaltar que os microrganismos presentes no leite humano serão eliminados no processo de pasteurização, entretanto, a presença dos mesmos prejudica a qualidade do leite, diminuindo seu valor nutricional e outros fatores de defesa, devido a utilização desses componentes pelos microrganismos (FREITAS et. al, 2004).

Scarso (2008) analisou 72 amostras de leite humano cru recebidas do Banco de Leite do Conjunto Hospitalar de Sorocaba, sendo que 48 amostras tinham acidez aceitável (até 8° D) e outras 24 acidez acima desse limite. Nas amostras rejeitadas (acidez $\geq 8^{\circ}\text{D}$) as contagens máximas tanto para o grupo de mesófilos como de bactérias lácticas foram da ordem 10^7 UFC/mL. Do total de amostras analisadas, o grupo dos coliformes foi detectado em 52,94% das amostras ácidas, destas 33,33% apresentaram crescimento de *E. coli*.

Em um estudo foram coletadas 430 amostras de leite humano cru congeladas do posto de coleta de leite humano do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora e Hospital João Penido, Juiz de Fora, MG, sendo que 40 (9,3%) foram consideradas impróprias para o consumo por apresentarem microrganismos pertencentes ao grupo coliforme (ARAÚJO et al., 2010).

O LHO por doadoras saudáveis é livre de microrganismos patogênicos, mas quando presentes, estes podem ser provenientes de fontes externas de contaminação. Sendo assim, a qualidade de todo produto coletado, processado, armazenado e distribuído pelos BLH deve ser resultado de um esforço constante para se manter controle rígido em todas as fases do processo, desde a captação da nutriz doadora até a administração do leite ao neonato (BORGES, 2016). A autora, em seu trabalho avaliou a contaminação do leite ordenhado em domicílio e no BLH, identificando em 2% das amostras ordenhadas no BLH e em 6% das amostras ordenhadas no domicílio a cultura microbiológica foi positiva para coliformes totais.

SANTOS et al. (2016) destacam, em seu trabalho, a importância da pesquisa microbiológica de amostras do leite não pasteurizado, pois a mesma traz um indicativo da qualidade da antissepsia realizada durante a coleta, armazenamento e transporte do leite, direcionando a necessidade de orientação das mães no procedimento, destacando a importância de uma avaliação do processo, desde o contato inicial com a mãe, até a coleta do leite em sua residência. Todos esses aspectos merecem atenção, pois, ao final irão garantir que quantidades cada vez menores de leite sejam descartadas durante a análise sensorial.

Além disso, este alimento será ministrado a recém-nascidos, que apresentam resistência comprometida. Portanto, o processamento do LH necessita de um rigoroso controle de qualidade em todas suas etapas de produção, para assegurar a integridade do produto desde a ordenha realizada pelas doadoras até a pasteurização de distribuição aos recém-nascidos (SILVA et al., 2008).

4 | CONCLUSÕES

Os resultados mostraram um alto grau de contaminação no leite cru, principalmente de bactérias mesófilas. Diante disso, acredita-se que as condições higiênico-sanitária durante o processo de coleta, transporte e estocagem do mesmo, muitas vezes, não são adequadas.

Além de pesquisas que auxiliem na implementação de ações para a promoção, proteção, apoio e incentivo ao aleitamento materno e à doação de leite humano, também são importantes medidas mais rigorosas de monitoramento da qualidade do leite humano, bem como, práticas educativas junto às doadoras, que são imprescindíveis para garantir um alimento seguro, tendo em vista a vulnerabilidade dos recém-nascidos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. M. et al.. ALMEIDA, V.M.; NASCIMENTO, A.R.; CHAVES, N.P.; ALMEIDA, V.M.; BEZERRA, D.C.; ALVES, L.M. Diagnóstico das condições higienico-sanitárias de um banco de leite humano na cidade de São Luís, MA, Brasil, **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 1, p. 95-99, 2012.
- ARAÚJO, L.P.P.; SILVA, M.G.; SANTOS, D.S.; BESSA, M.E.; RODARTE, M.P.; FURTADO, A.M.; PINTO, M.A.O. Análise de coliformes em leite humano ordenhado. **Interagir: pensando a extensão**, Rio de Janeiro, n. 15, p. 29-34, 2010.
- BORGES, M.S.. **Avaliação da qualidade do leite humano ordenhado** [Dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde; 2016.
- BORRELL, J. G., ZILBERSTEIN, B., & QUINTANILHA, A. G. Influence of storage and heating on mother's milk microbiota. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 22, n.1, p. 19-24, 2009.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Resolução nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. **Diário Oficial da União**, 02 de jan. de 2001.
- CARVALHO, B.C.O.; MOREIRA, C.G.; DIAS, I.N.; COSTA, M.E.S.F.; MEIRELES, M.M.; BELLO, C.M.M. Contaminação por *Staphylococcus aureus* em leite humano pasteurizado e a presença deste microorganismo em sítios variados da lactante em um município de Minas Gerais. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 28, n. 4, p. 27-32, 2018.
- CASTRO, M. R. C. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de leite humano cru recebido em Banco de Leite Humano**. [Dissertação], Ciências e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.
- CODO, C.R.B. **Composição de eletrólitos e minerais e avaliação microbiológica do leite de lactantes a termo coletado antes e após a pasteurização e de leite cru de mães de recém-nascidos pré-termo à beira do leite**. [Tese] Saúde da Criança e do Adolescente. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, 2017.
- FREITAS, K. E. F., OLIVEIRA, C. C.; OLIVEIRA, C.O; MAGALHÃES, M. J.; VILELA, M.A.P; SANTOS, D.S; MATTOS, E.C. (2004). Qualidade microbiológica do leite humano ordenhado. Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF. Disponível em: www.ufjf.br/laaa/files/2008/08/09-XXII-Congresso-Nacional-de-Laticinios-2005.pdf

Acesso em: 14/12/2018.

GRAZZIOTINI, A. L.; GRAZZIOTINI, M. C. B.; LETTI, L. A. J. Descarte de leite humano doado a Banco de Leite antes e após medidas para reduzir a quantidade de leite imprópria para consumo, **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, V. 86, n.4, p.290-294, 2010. .

MESQUISTA, M.S.; SILVA, A.A.M.; TAVARES, A.P.S.R.; ALMEIDA, A.E.C.C.. Contagem de bactérias mesófilas aeróbias e características físico-químicas do leite humano armazenado em embalagem de polietileno. **Vigilância Sanitaria**, v.4, n. 3, p.51-56, 2016.

NOBRE, G. C.; COELHO, R. C.; SILVA, N.M.; DINIZ, B.; GUERRA, R.C. Análise microbiológica do leite humano cru do banco de leite de um hospital em Araguaína-TO. **Revista Científica do ITPAC**, v. 8, n. 2, p. 4-7, 2015.

NOVAK, F. R., JUNQUEIRA, A. R., DIAS, M. D. S., & ALMEIDA, J. A. Sensorial analysis of expressed human milk and its microbial load. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 2, p. 181-184, 2008.

OLIVEIRA, A.K.O; MELO, R.A; MACIEL, L.P; TAVARES, A.K; AMANDO, A.R.; SENA, C.R.S.Práticas e crenças populares associadas ao desmame precoce, **Av Enferm.**, v. 35, n. 3, p.303-312, 2017.

SANTOS, S.L.F.; ALVES, H.H.S.; BARROS, K.B.N.T.; BANDEIRA, I.C.J. Contaminação na análise microbiológica de leite humano. In: **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, 12. Anais... Quixadá: Centro Universitário Católica de Quixadá, 2016.

SCARSO, I.S. **Estudo dos fatores que condicionam acidez elevada em Leite Humano: aspectos microbiológicos e nutricionais**. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2008.

SERAFINI, A.B.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; RODRIGUES, M.V.; KIPNIS, A.; CARVALHO, C.O.; CAMPOS, M.R.H.; MONTEIRO, E.C.; MARTINS, F.; JUBÉ, T.F.N. . Qualidade microbiológica de leite humano obtido em bancos de leite, 37(6), **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n.6, p.775-779, 2003.

SOUSA, P. P. R. D., & SILVA, J. A. Monitoramento da qualidade do leite humano ordenhado e distribuído em banco de leite de referência. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 07-14, 2010.

SILVA, J. F. M., FEITOSA, A. C., & RODRIGUES, R. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Desafios**, v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017.

SILVA, E.R.; ABDALLAH, V.O.S.; OLIVEIRA, A.M.M. Qualidade microbiológica do leite humano ordenhado no domicílio: Eficácia de uma ação educativa. In: **4ª Semana do Servidor e 5ª Semana Acadêmica**. Anais... Universidade Federal de Uberlândia. 2008.

BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA ALIMENTAR EM ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

Milena da Cruz Costa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Alexsandra Iarlen Cabral Cruz

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Mariza Alves Ferreira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Aline Simões da Rocha Bispo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aquicultura, Cruz das Almas, Bahia.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade microbiológica das especiarias canela, orégano e pimenta do reino comercializadas na feira livre de Cruz das Almas no Recôncavo da Bahia,

usando os bioindicadores coliformes a 45°C, *Staphylococcus* spp., *S. coagulase* positiva, *Bacillus* spp., *B. cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. A pimenta do reino apresentou maior contagem ($p > 0,05$) quando comparado com a canela e o orégano. A prevalência de *S. coagulase* positiva foi de 60%, 57% e 47% para pimenta do reino moída, orégano e canela, respectivamente. *E. coli* e *Salmonella* estiveram presentes na pimenta do reino em 94% e 20%, respectivamente. A contagem de coliformes a 45 °C na pimenta foi maior (3,4 log NMP g⁻¹) em relação a canela (0,5 log NMP g⁻¹) e o orégano (ausência). A pimenta do reino moída apresentou alta carga microbiana com patógenos de importância alimentar como *Salmonella* spp., *Staphylococcus coagulase* positiva e *B. cereus*.

PALAVRAS-CHAVE: *Salmonella* spp., Pimenta do reino, Feira livre, Segurança alimentar.

FOOD IMPORTANT BACTERIA IN SPICES COMMERCIALIZED IN CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

ABSTRACT: The objective of this work was to analyze the microbiological quality of cinnamon, oregano and black pepper spices marketed at Cruz das Almas fair in Recôncavo da Bahia, by the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., Coliform quantification at

45 °C, *Staphylococcus* spp., Coagulase positive *Staphylococcus*, *Bacillus* spp. and *Bacillus cereus*. Black pepper differed statistically ($p > 0.05$) showing higher counting when compared with cinnamon and oregano. The prevalence of positive *S. coagulase* was 60%, 57% and 47% for freshly ground black pepper, oregano and cinnamon, respectively. *E. coli* and *Salmonella* spp. were present in black pepper in 94% and 20%, respectively. The coliforms count at 45 °C in pepper was higher (3.4 log NMP g⁻¹) compared to cinnamon (0.5 log NMP g⁻¹) and oregano (absence). The freshly ground black pepper presented a high microbial load with food-important pathogens such as *Salmonella* spp., Coagulase positive *Staphylococcus* and *B. cereus*.

KEYWORDS: *Salmonella* spp., Black pepper, Food security.

1 | INTRODUÇÃO

A avaliação microbiológica das especiarias é realizada em diferentes países do mundo como alternativa no controle de qualidade da cadeia produtiva e muitos trabalhos foram desenvolvidos na investigação de especiarias contaminadas principalmente pelo patógeno *Salmonella*. Como resultado muitos países como o Brasil, Japão, Índia, Trinidad e Áustria apresentaram dados preocupantes (KNEIFEL; BERGER, 1994; FREIRE; OFFORD, 2002; BANERJEE; SARKAR, 2003; HARA-KUDO et al., 2006).

No Brasil, a veiculação de bactérias em alimentos é confirmada pelo Ministério da Saúde (MS), por meio de dados referentes a surtos alimentares, entre os anos de 2007 a 2018, em que as bactérias representam 95,9% dos surtos. Dentre os agentes envolvidos se destacam *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (BRASIL, 2019). Segundo o Ministério da Saúde no ano de 2016 foram registrados 538 surtos de doenças veiculadas por alimentos - DVA e 9.935 casos, contra 598 surtos e 9.320 casos em 2017. No período de 2007 a 2017, a região Nordeste ocupou a segunda posição com notificações de casos de DVA (BRASIL, 2018).

As especiarias estão sujeitas à contaminação microbiana, principalmente quando expostas às precárias condições nas práticas agrícolas, secagem, armazenamento e transporte (GARBOWSKA, BERTHOLD-PLUTA, STASIAK-RÓŻAŃSKA, 2015). Outros fatores que também podem contribuir com a contaminação destes produtos são as condições higiênicas de comercialização nas feiras que muitas vezes são inadequadas, além do excesso de manipulação e o maior fluxo de pessoas e animais que favorecem a proliferação de microrganismos patogênicos (MARTINS; FERREIRA, 2011).

Golin et al. (2016) relataram a falta de segurança higiênicossanitária em feiras livres de Santa Maria/RS devido à baixa qualidade microbiológica dos produtos e a ausência de boas práticas no manuseio dos alimentos comercializados. No Recôncavo Baiano as feiras livres se caracterizam como uma forma de mercado varejista ao ar

livre. Elas são organizadas semanalmente, funcionando principalmente aos sábados, como serviço de utilidade pública dos municípios, voltadas para a comercialização de produtos da região. Alguns feirantes comercializam os produtos provenientes da agricultura familiar, enquanto a maioria negocia produtos trazidos de regiões próximas (MATOS et al., 2018).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica das especiarias, canela (*Cinnamomum zeylanicum* Ness), orégano (*Origanum vulgare* L.) e pimenta-do reino (*Piper nigrum*) comercializadas em Cruz das Almas, no Recôncavo da Bahia, Brasil.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na feira livre do município de Cruz das Almas, Bahia, durante o período de fevereiro a junho de 2018. Foram realizadas três coletas das especiarias pimenta do reino moída, canela triturada e orégano comercializadas a granel na feira livre. Para isso, foi adquirido cerca de 100 g de cada produto em cinco barracas de feirantes, a fim de obter uma amostra composta, ou seja, 500 g para cada especiaria. As amostras foram obtidas da mesma forma como são disponibilizadas para os clientes, em sacos transparentes de polietileno. O isolamento e identificação dos bioindicadores coliformes a 45°C, *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *S. coagulase* positiva, *E. coli*, *B. cereus* e *Salmonella* spp. foi realizado segundo o Bacteriological Analytical Manual (BAM) descritas por Silva et al. (2010).

As análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 3.4.1 (R CORE TEAM, 2017), com a utilização dos pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013). Os valores das variáveis NMP g⁻¹ e UFC g⁻¹ foram transformados em Log (x+1). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com significância de 5% de probabilidade.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem microbiana das especiarias comercializadas na feira livre de Cruz das Almas é apresentada na Tabela 1. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) para os microrganismos analisados, porém quando verificado a carga microbiana por especiaria se observou diferença estatística ($p > 0,05$) para a pimenta do reino quando comparada com a canela e o orégano.

As contagens de *Bacillus* spp. foram mais elevadas quando comparadas aos demais indicadores em todas as especiarias, principalmente para a pimenta (Tabela 1). A legislação de alimentos não estabelece limites para *B. cereus* em especiarias. No entanto, a presença dessa bactéria desperta interesse, uma vez que o número de células viáveis de *B. cereus* (10⁶ ou 6 log UFC) pode acarretar manifestações

de síndromes, provenientes da toxina diarreica e emética (WANG et al., 2014). Mesmo a maior contagem de *B. cereus* ter sido 4,16 log UFC g⁻¹, o risco não pode ser minimizado, uma vez que os endósporos presentes podem se desenvolver em condições favoráveis. O risco de *B. cereus* em especiarias também foi relatado por Fogele et al. (2018) ao relatarem que a pimenta moída apresentou altas concentrações de *B. cereus* com a presença de quatro genes codificadores de toxina diarreica.

Amostras	<i>Bacillus</i> spp. (log UFC g ⁻¹)	<i>B. cereus</i> (log UFC g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> spp. (log UFC g ⁻¹)	Médias**
Pimenta	6,00	4,16	3,88	4,68a
Canela	3,15	3,10	2,91	3,05b
Orégano	3,21	2,82	2,59	2,87b
*Médias	4,12a	3,36 ^a	3,13 ^a	

Tabela 1. Média microbiana (log UFC g⁻¹) de *Bacillus* spp., *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* spp. em especiarias comercializadas na feira livre de Cruz das Almas-BA.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade;

**Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O microrganismo *S. aureus* foi confirmado nas três especiarias (Figura 1). A presença do gênero *Staphylococcus* nas amostras também compromete a inocuidade das especiarias uma vez que estes microrganismos podem apresentar espécies patogênicas responsáveis por surtos de intoxicação alimentar como é o caso da espécie *S. aureus*. Essa bactéria é associada principalmente a manipulação, desde a produção até a comercialização (SANTOS et al., 2015). Como as especiarias são comercializadas a granel, os feirantes não utilizam equipamentos de proteção, como o uso de luvas no momento da pesagem do produto, contribuindo para a contaminação do produto.

A pimenta do reino apresentou contaminação por microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp. e *E. coli* foi verificado em 20% e 94% das amostras, respectivamente. (Figura 1). A legislação de alimentos preconiza que as especiarias devem apresentar ausência de *Salmonella* spp. em 25 g da amostra (BRASIL, 2001). A presença dessa bactéria em pimenta do reino se deve a sua alta tolerância a dessecação, o que favorece sua sobrevivência por longos períodos (LINS, 2018).

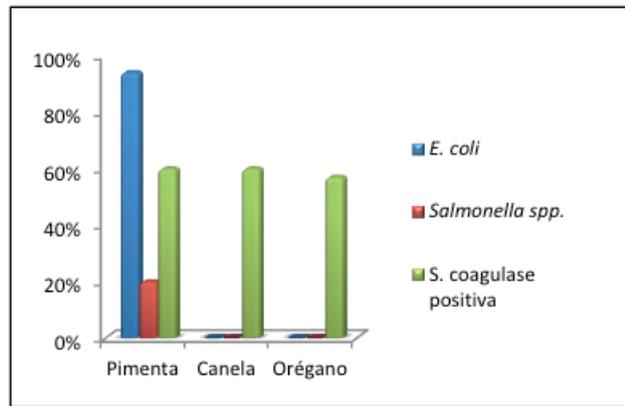


Figura 1. Presença dos bioindicadores *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* nas especiarias pimenta, canela e orégano, comercializadas em feira livre de Cruz das Almas-BA.

Resultados semelhantes foram relatados por Silva et al. (2013) ao encontrarem *Salmonella spp.* em amostras de alecrim, cominho e pimenta do reino. Apesar do elevado percentual de *Salmonella* em pimenta, o mesmo não ocorre em outras especiarias, como canela, cravo, açafrão e gengibre (SOSPEDRA, SORIANO e MANES, 2010) corroborando com os dados encontrados para a canela e o orégano. Acredita-se que a presença de *Salmonella spp.* na pimenta do reino se deve a atividade antimicrobiana fraca a moderada contra esse patógeno (LINS, 2018).

Com relação à presença de coliformes a 45 °C a pimenta do reino e a canela apresentaram contaminação (Figura 2). De acordo com a Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001), o limite para a presença de coliformes a 45 °C em especiarias é de 5×10^2 ou 2,69 log NMP g⁻¹. Apenas a pimenta do reino apresentou contagem acima do limite estabelecido pela legislação. O elevado crescimento de coliformes na pimenta do reino pode ser relacionado com as condições higiênicas dos maquinários e dos manipuladores durante o processo de moagem, ou devido à forma inadequada na produção e condições de cultivo dessa especiaria, bem como o uso de adubação orgânica do solo ou a água utilizada na irrigação das plantações que pode favorecer o crescimento de *Escherichia coli*.

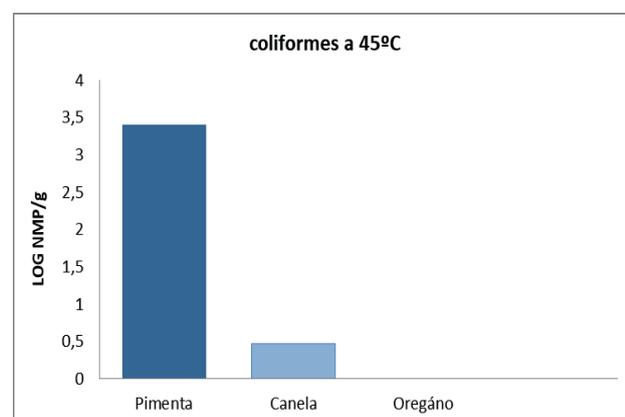


Figura 2. Presença de coliformes a 45 °C (log NMP g⁻¹) nas especiarias pimenta, canela e orégano, comercializadas em feira livre de Cruz das Almas-BA.

Outro fator que contribui para o elevado crescimento de microrganismos em pimenta do reino moída é a capacidade destes se adaptarem às substâncias antimicrobianas presentes como por exemplo, o eugenol. Segundo Trajano et al. (2009) óleo de *P. nigrum* não apresentou ação bacteriostática sobre cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* e *S. entérica*.

As amostras de canela e orégano apresentaram o menor índice de contaminação microbiana. Esse fato pode ser associado aos compostos bioativos com propriedades antimicrobianas devido à presença de compostos fenólicos, alcaloides e flavonoides (SANTURIO et al., 2011). A ação inibitória do orégano está relacionada ao elevado teor dos compostos carvacrol e timol. A sua eficiência já foi descrita contra patógenos transmitidos por alimentos, como *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* e *Campylobacter jejuni* (PESAVENTO et al., 2015). Segundo Lai e Roy (2004) a ausência de bactérias na canela se deve a presença de compostos como aldeído cinâmico e eugenol.

As especiarias por ser adicionadas a outras preparações como ingredientes contribuem como uma fonte de contaminação dos produtos. Nesse sentido a segurança alimentar é o aspecto mais importante quando se trata do consumo de especiarias. Apesar da baixa atividade de água desses alimentos a contaminação ao longo da cadeia de produção torna esses ingredientes potenciais riscos de surtos de DVA, por meio da contaminação microbiana (SZÉKÁCS et al., 2018).

4 | CONCLUSÃO

A pimenta do reino apresentou elevada carga microbiana com a presença de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp., *B. cereus* e *S. coagulase* positiva, enquanto a canela e o orégano apresentaram o menor nível de contaminação. Dessa forma, a pimenta do reino moída pode aumentar os níveis de riscos de origem alimentar, podendo atuar como veículo para surtos de toxinfecções alimentares.

5 | AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB.

REFERÊNCIAS

BANERJEE, M.; SARKAR, P. K. Microbiological quality of some retail spices in India. **Food Research International**, v. 36, n. 5, p. 469-474, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 12. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, p.1-48, jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde-MS. **Surtos de Doenças transmitidas por alimentos no Brasil- Junho de 2018**. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>. Acesso em: 12. out. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos Alimentares no Brasil – Dados Atualizados em Fevereiro de 2019**. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta-o-Surtos-DTA-Feveireiro-2019.pdf>. Acesso em: 15. out. 2018.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – A mini review. **Journal of Functional Foods**, v.18, p. 811-819, 2015.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: experimental designs package. R package version (1.1.2). 2013. Disponível em: <http://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes/index.html>. Acesso em: 14 de nov. 2018.

FOGELE, B.; RITA, G.; VALCIN, O.; BERZIN, A. Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. **Food Control**, v. 83, p. 1-6, 2018.

FREIRE, F. C; OFFORD, L. Bacterial and yeast counts in Brazilian commodities and spices. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 33, n. 2, p. 145-148, 2002.

GARBOWSKA, M.; BERTHOLD-PLUTA, A.; STASIAK-RÓŻAŃSKA, L. Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of *Cronobacter* spp. **Food Microbiology**, v. 49, p. 1-5, 2015.

GOLIN, A.; CODEN, M. A. S.; ROLIM, R. I.; BERTAGNOLLI, S. M. M.; MARGUTTI, K. M. M.; BASSO, C. Hygienic-sanitary quality and the marketers and users profile of santa maria's street markets. **Disciplinarum Scientia**, v. 17, n. 3, p. 423-434, 2016.

GULDIKEN, B.; OZKAN, G.; CATALKAYA, G.; CEYLAN, F. D.; YALCINKAYA, I. E.; CAPANOGLU, E. Phytochemicals of herbs and spices: Health versus toxicological effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 37-49, 2018.

HARA-KUDO, Y.; OHTSUKA, L. K.; ONOUE, Y.; OTOMO, Y.; FURUKAWA, I.; YAMAJI, A.; SEGAWA, Y.; TAKATORI, K. *Salmonella* prevalence and total microbial and spore populations in spices imported to Japan. *Journal of Food Protection*, v. 69, n. 10, p. 2519-2523, 2006.

KNEIFEL, W; BERGER, E. Microbiological criteria for random samples of spices and herbs marketed on the Austrian market. **Journal of Food Protection**, v. 57, p. 893-901,1994.

LAI, P. K., ROY, J. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, n. 11, p. 1451-1460, 2004.

LINS, P. Antimicrobial activities of spices and herbs against *Salmonella* Oranienburg. **Food Control**, v. 83, p. 123-130, 2018.

MARTINS, A. G.; FERREIRA, C. S. Caracterização das condições higiênico-sanitária das feiras livres da cidade de Macapá e Santana-AP. **Revista Arquivo Científicos**, v. 1, n.1, p. 28-35, 2018.

MATOS, D. A. Mapas cotidianos da feira livre de Cachoeira – BA : cultura, hegemonia e estrutura de sentimento. **E-compós**, 2018.

PESAVENTO, G.; Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. **Food Control**, v. 54, p.188-199, 2015.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 14 out. 2018.

SANTOS, K. R. Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. **Demetra; Food Nutrition and Health**, v. 10, n. 2, p. 279-287, 2015.

SANTURIO, D. F.; COSTA, M. M.; MABONI, G.; SÁ, C. P. C.; POZZO, M. D.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

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 e Água**. 4^a ed. São Paulo, SP: Varela, 2010.

SOSPEDRA, I.; SORIANO, J. M.; MANES, J. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs commercialized in Spain. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, p. 364-368, 2010.

SZÉKÁCS, A.; WILKINSON, M. G.; MADER, A.; APPEL, B. Environmental and food safety of spices and herbs along global food chains. **Food Control**, v. 83, p. 1-6, 2018.

TRAJANO, N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, p. 542-545, 2009.

WANG, J.; DING, T.; OH, D. H. Effect of temperatures on the growth, toxin production, and heat resistance of *Bacillus cereus* in cooked rice. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 2, p. 133-137, 2014.

CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA MARÍTIMA E DE MEXILHÕES EM UMA FAZENDA MARINHA DO MUNICÍPIO DE ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ

Carolina Siqueira dos Reis

Instituto Federal Fluminense (IFF)

Cabo Frio – Rio de Janeiro

Adriana Paula Slongo Marcussi

Instituto Federal Fluminense (IFF)

Cabo Frio – Rio de Janeiro

Mayara Alves de Menezes

Instituto Federal Fluminense (IFF)

Cabo Frio – Rio de Janeiro

Guilherme Burigo Zanette

Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ)

Pedro Vianna Tavares

Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ)

RESUMO: Os mexilhões são moluscos bivalves que se alimentam por filtração, atribuindo à capacidade de acumular substâncias tóxicas e atuar como um bioindicador da qualidade da água. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo o monitoramento microbiológico da água de cultivo e de mexilhões em uma fazenda marinha no município de Armação dos Búzios, RJ. Uma das maneiras mais favoráveis de realizar o controle da qualidade da água e do produto é através da presença de indicadores de poluição fecal. Amostras de água e de mexilhões foram coletadas na fazenda marinha e submetidas à análise microbiológica mediante

ao método do Número Mais Provável. Após o monitoramento verificou-se que a incidência de coliformes nas amostras se intensificou em períodos com maior atividade turística e com maior índice pluviométrico. A não ocorrência de um monitoramento pode trazer riscos à saúde do consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: Água, Contaminação, Mexilhão.

CHARACTERIZATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SEAWATER AND MUSSELS IN A MARINE FARM IN THE CITY OF ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ

ABSTRACT: Mussels are bivalve molluscs that feed by filtration, attributing the ability to accumulate toxic substances and act as a bioindicator of water quality. Thus, this work aims to microbiological monitoring of cultivation water and mussels in a marine farm in the city of Armação dos Búzios, RJ. One of the most favorable ways to perform water and product quality control is through the presence of fecal pollution indicators. Water and mussel samples were collected from the marine farm and submitted to microbiological analysis by the Most Probable Number method. After monitoring it was found that the incidence of coliforms in the samples intensified in periods with higher

tourist activity and higher rainfall. Failure to monitor can pose risks to consumer health.

KEYWORDS: Contamination, Mussels, Water.

1 | INTRODUÇÃO

O cultivo de mexilhões é uma prática de grande importância em razão de seu alcance social e econômico nas pequenas cidades. Em consequência de sua relativa facilidade, a atividade vem crescendo em todo o mundo e tem sido reportada por diversos autores como excepcional alternativa de produção e renda, principalmente para pescadores artesanais (OLIVEIRA, B. L., 2005). Em termos mundiais, dentro da maricultura, o cultivo extensivo de mexilhões, ou a mitilicultura, é uma atividade que tem crescido em importância (Smaal, 1991), fenômeno que também vem sendo observado no Brasil nos últimos anos. (MARENZI et al., 2006).

Os mexilhões são moluscos bivalves bioacumuladores, portanto, qualquer ligação de esgoto doméstico com a área do cultivo, pode gerar sérios prejuízos à qualidade dos moluscos, que por serem filtradores, podem absorver grandes quantidades de impurezas (OLIVEIRA, B. L., 2005). Estes mitilídios apresentam diversas características desejáveis para um biomonitor, como tamanho razoável para coleta e estudo, biologia e ecologia conhecidas e, sobretudo, capacidade de acumular contaminantes do ambiente em que vive (WALLNER- KERSANACH & BIANCHINI, 2008). Considerando a constante atividade turística na cidade de Armação dos Búzios, RJ, além da presença de contaminantes oriundos de efluentes domésticos, o conhecimento dos parâmetros microbiológicos, e dos Coliformes Totais (Ct) e Coliformes Termotolerantes (CT), que são indicadores de poluição fecal, é de extrema importância, em virtude de os bivalves serem capazes de filtrar e acumular tais substâncias.

A condição em que o mexilhão se encontra está diretamente relacionada com a água marítima onde estão inseridos, visto que, os moluscos bivalves são organismos filtradores que se alimentam das partículas e microalgas que se encontram na água e acumulam, em seus tecidos, grandes quantidades de substâncias orgânicas, inorgânicas, além dos micro-organismos presentes no ambiente, atuando como bioindicador da insalubridade da água (PEREIRA et al., 2006; ZANETTE et al., 2006).

A segurança alimentar tem sido o tema central de algumas recentes mudanças políticas, do aumento da sensibilização da população, e de vários incidentes envolvendo a saúde pública. Esses fatos indicam que existe a necessidade de um sistema que possa identificar os riscos à segurança dos alimentos na fase inicial da produção, para que possam ser resolvidos em tempo útil, antes de evoluírem para um perigo real. Esses riscos só podem ser eliminados por meio da introdução de programas de boas práticas nos locais de produção, assim como a emissão e vigilância de normas e regulamentos por parte das autoridades competentes (MARTINEZ & RODRIGUES, 2003; KLETER & MARVIN, 2009). Na tentativa de

minimizar os problemas relacionados à qualidade sanitária dos moluscos bivalves, alguns programas, tais como Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB, 2011) e *Codex Alimentarius* (CODEX, 2008), estabelecem limites permissíveis de contaminação de origem fecal para os moluscos (DOI et al., 2015).

Perante o exposto, um programa de monitoramento contínuo da água de cultivo e dos mexilhões torna-se indispensável e fundamental. A qualidade microbiológica da água foi monitorada pelos níveis de bactérias indicadoras de contaminação fecal, tais como os coliformes. Este bioindicador se relaciona com o risco potencial de contrair doenças infecciosas por meio de sua utilização para recreação e nos alimentos contaminados (TOURON et al., 2007). O presente trabalho tem como objetivo atuar na caracterização da qualidade microbiológica da água marítima e de mexilhões em uma fazenda marinha do município de Armação dos Búzios, RJ.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O município de Armação dos Búzios, localizado na região das baixadas litorâneas, RJ, limita-se a norte, a leste e a sul com o Oceano Atlântico, e a oeste com o município de Cabo Frio. Foram coletadas mensalmente amostras de água e mexilhões na fazenda marinha Associação dos Trabalhadores na Aquicultura – ATA, localizada na praia da Rasa no município de Armação dos Búzios (22° 44' 20.1" S e 41° 56' 52.3" O), a qual se encontra representada na Figura 1.

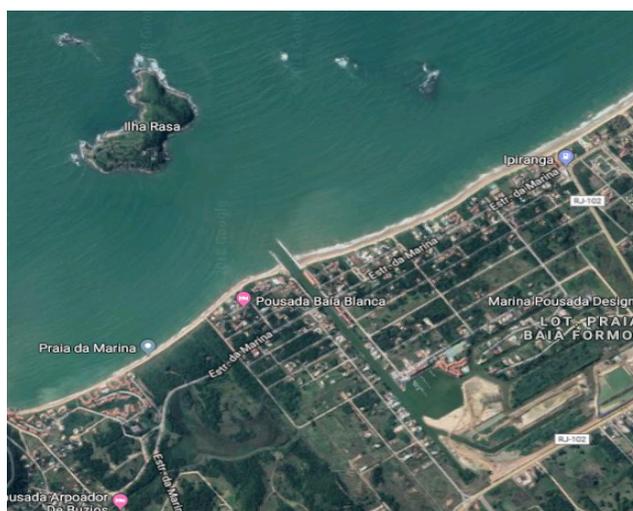


Figura 1. Localização da fazenda marinha da Associação dos Trabalhadores na Aquicultura – ATA, localizada no município de Armação dos Búzios.

A água e os mexilhões foram coletados nas mesmas condições e levados para o Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (LEMAM) do Instituto Federal Fluminense - IFF campus Cabo Frio, RJ. No laboratório, as amostras foram

submetidas à análise de coliformes totais e termotolerantes através da técnica do Número Mais Provável (NMP).

Coleta das amostras

As amostragens de água foram coletadas em garrafas de água mineral, onde o conteúdo da água mineral foi despejado no ambiente, e após o descarte, as garrafas foram lavadas três vezes na água do mar e a coleta foi realizada a uma profundidade de cerca de 0,5m em relação a superfície. As amostras de mexilhão foram coletadas e acondicionadas em uma caixa isotérmica contendo gelo, e enviadas para o Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (LEMAM) do IFF campus Cabo Frio para quantificação através do método do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (Ct) e termotolerantes (CT), baseando-se na Técnica dos Tubos Múltiplos e seguindo a metodologia descrita pelo “Standard Methods for the examination of water and wastewater” (APHA, 2005), assim como as amostras de água. O período amostral foi de janeiro de 2017 a março de 2019.

Análise microbiológica das amostras

A água foi diluída em solução tamponada de proporção 1:9, obtendo três diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001) realizadas em duplicatas (água) e triplicatas (mexilhão). Um total de 25g do tecido mole do mexilhão foi homogeneizado em 225 mL de solução salina peptonada 0,1% da marca Kasvi, assim como os demais meios de cultura utilizados nesta análise. A partir desta diluição inicial as amostras foram diluídas conforme APHA (2005), contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) com tubos de Durhan invertidos, os quais foram posteriormente incubados de 36°C por 24 a 48 horas.

Os tubos que apresentaram formação de gás, no Caldo LST, tiveram alíquotas semeadas em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose, que apresenta em sua composição bile bovina e um corante derivado do trifenilmetano (verde brilhante) responsáveis pela inibição de micro-organismos Gram positivos, foram incubadas a 36°C \pm 1°C, para prova confirmativa para coliformes totais.

E os tubos que apresentaram formação de gás, no Caldo LST, tiveram alíquotas semeadas em tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), que apresenta em sua composição uma mistura de fosfatos que lhe confere um poder tamponante impedindo a sua acidificação e sais biliares responsáveis pela inibição de micro-organismos Gram positivos, garantindo sua seletividade, foram incubados em temperatura de 45°C \pm 0,2°C, em banho-maria com agitação ou circulação de água, por um intervalo de 18 a 24 horas, para prova confirmativa para coliformes termotolerantes.

Após esse período, foram considerados positivos os tubos que apresentaram produção de gás. O resultado das densidades dos coliformes totais e termotolerantes nas águas foram expressos em NMP/100 mL e NMP/g para o tecido do mexilhão.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos segue a Instrução Normativa Interministerial MAPA nº07 de 08 de maio de 2012, a qual institui o Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves, onde assim se pode estabelecer os limites para comercialização dos mesmos. Para ser comercializado os limites de NMP para *E.coli* devem ser menores do que 230 NMP/100g de amostra, liberado sob condição os limites devem se encontrar até 46.000 NMP/100g e suspenso quando o NMP estiver acima de 46.000.

A Tabela 1 apresenta os resultados do período de monitoramento de mexilhões e da água.

Mês	Mexilhão (NMP/ 100g)		Água (NMP/ 100mL)	
	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
Janeiro/2017	1,5x10 ²	7x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Abril/2017	1,57x10 ³	Ausente	3x10 ¹	Ausente
Junho/2017	1,67x10 ³	1,2x10 ²	1,2x10 ²	5x10 ¹
Agosto/2017	1,8x10 ²	Ausente	Ausente	Ausente
Setembro/2017	4,6x10 ¹	5x10 ¹	Ausente	Ausente
Novembro/2017	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Fevereiro/2018	1,3x10 ²	3x10 ¹	8,5x10 ²	3x10 ¹
Março/2018	5x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Julho/2018	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Agosto/2018	8,06x10 ³	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Setembro/2018	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Outubro/2018	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Novembro/2018	4,3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Dezembro/2018	4,63x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Janeiro/2019	5x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Fevereiro/2019	5,03x10 ¹	4,6x10 ¹	3x10 ¹	3x10 ¹
Março/2019	4,93x10 ¹	9,6x10 ⁰	3x10 ¹	3x10 ¹

Tabela 1. Dados obtidos do monitoramento do mexilhão e da água de fazenda marinha do município de Armação dos Búzios.

Foi verificado que a presença de Coliformes Totais e Termotolerantes nas amostras de água e de mexilhão se amplia nos meses de alta temporada, devido a atividade turística intensa e aumento do despejo de efluentes na área de estudo, assim como em períodos de alto índice pluviométrico como abril e junho de 2017 e agosto de 2018, períodos estes de baixa atividade turística, mas com grande concentração de água da chuva. Contudo, a produção não foi afetada a ponto de ter os bivalves suspensos de acordo com a Instrução Normativa Interministerial MPA/MAPA nº 07,

de 08 de maio de 2012.

Uma vez que os moluscos são capazes de bioacumular uma série de substâncias e agentes potencialmente nocivos, entre eles toxinas produzidas por microalgas, metais pesados, bactérias e vírus, a presença destes na água, na maioria dos casos, é relacionada a descargas de poluição doméstica, agropecuária ou industrial. O monitoramento mensal destas áreas de cultivo nos proporciona obter indicações seguras sobre os períodos que são mais ou menos afetadas por poluição, com base em investigações sistemáticas sobre a qualidade da água e dos moluscos bivalves.

O monitoramento da água da fazenda de mexilhões e dos moluscos bivalves é de extrema importância para a segurança alimentar e da qualidade do produto ao consumidor.

4 | CONCLUSÕES

Os mexilhões cultivados na praia Rasa em Armação dos Búzios/RJ apresentaram no período do monitoramento concentrações de *E. coli* inferiores aos estabelecidos pelo PNCMB, ficando liberados para o consumo. A efetividade do monitoramento frequente da água de cultivo e dos mexilhões da fazenda marinha garantiu a importância do trabalho, proporcionando uma segurança no consumo do produto, além proporcionar uma precaução através da detecção de contaminantes, reforçando o controle higiênico-sanitário. A criação de programas de monitoramento torna-se fundamental para a sustentabilidade dos cultivos de moluscos bivalves em todo Brasil, garantindo uma cadeia produtiva com produtos certificados, seguros e com qualidade para os consumidores.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21th.ed. New York: APHA, 2005

BARAJ, B. et al. **Trace metal content trend of mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from the Atlantic coast of southern Brazil**. *Water, Air & Soil Pollution*, v.145, p.205-214, 2003.

BRASIL. MPA. Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB). (2011) Estabelece os requisitos mínimos necessários para inocuidade e qualidade dos moluscos bivalves destinados ao consumo humano, bem como monitorar e fiscalizar. **Instrução Normativa Interministerial, portaria 122**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 55-58.

_____. **Instrução Normativa Interministerial MPA/Mapa nº 07, de 8 de maio de 2012**. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências.

Codex Alimentarius (CODEX). (2008) Standard for live and raw bivalve molluscus. **Codex Standard 292-2008**, p. 1-7.

DOI, S.A.; OLIVEIRA, A. J.F.C.; BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole

das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro , v. 20, n. 1, p. 111-118, Mar. 2015 .

KETLER, G.A & MARVIN, H.J.P. **Indicators of emerging hazards and risks to food safety. Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1022-1039, 2009.

MARENZI, Adriano WC; BRANCO, Joaquim Olinto. O cultivo do mexilhão Perna perna no município de Penha, SC. **Bases ecológicas para um desenvolvimento sustentável: estudos de caso em Penha, SC**, v. 291, p. 227-244, 2006.

MARTINEZ, O.C. & RODRIGUES, L.M. Manual de buenas practicas de producción acuicola de moluscos bivalvos para la inocuidad alimentaria. **Centro de Investigación em Alimentación y Desarrollo**, A.C. SENASICA-Mexico. 2003.

OLIVEIRA, B. L. Impacto da Mitilicultura no desenvolvimento das comunidades tradicionais ao entorno das Praias da Cerca e Guaibura, Guarapari, ES. **ES. 67f. Monografia (Graduação em Oceanografia)-Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória**, 2005.

PEREIRA, M.A.; NUNES, M.M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C.R.V. (2006) Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianopolis – **Brazil. Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 159-163.

REGALLA JR, C.; WEBER, L.I.; CONCEIÇÃO, MB da. O mexilhão Perna perna (L.): biologia, ecologia e aplicações. **Interciência, Rio de Janeiro**, 2008.

TOURON, A.; BERTHE, T.; GARGALA, G.; FOURNIER, M.; RATAJCZAK, M.; SERVAIS, P.; PETIT, F. (2007) **Assessment of faecal contamination and the relationship between pathogens and faecal bacterial indicators in an estuarine environment (Seine, France)**. Marine Pollution Bulletin, v. 54, n. 9, p. 1441-1450.

WALLNER-KERSANACH, M.; BIANCHINI, A. **Metais traço em organismos: monitoramento químico e de efeitos biológicos**. In: BAPTISTA NETO, J.A. et al. Poluição marinha. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. Cap.9, p.237-283.

WOOD, P.C. Manual de hygiene de los mariscos. **Zaragoza: Acribia**, 1996, 83p.

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J.M.; BIANCHINI, A. (2006) **Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries**. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 143, n. 2, p. 187-195.

ISOLAMENTO DE *Enterococcus* SPP. DE MORTADELA VENDIDA FATIADA EM NITERÓI/RJ

Bruna Pennafort Gomes da Silva

Universidade Federal Fluminense (UFF),
Faculdade de Veterinária, Niterói - RJ, Brasil.

Rayssa Goncalves de Souza

Universidade Federal Fluminense (UFF),
Faculdade de Nutrição, Niterói - RJ, Brasil.

Carolina Riscado Pombo

Universidade Federal Fluminense (UFF),
Faculdade de Veterinária, Niterói - RJ, Brasil.

RESUMO: Os derivados cárneos vêm, ao longo dos anos, se fazendo cada vez mais presentes no cardápio do brasileiro e, entre eles, a mortadela é de grande importância no setor de frios e embutidos e de maior aceitação mundialmente. Foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do bairro de Icaraí em Niterói/RJ 33 amostras de mortadela, sendo encaminhadas ao Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, onde foram submetidas a pesquisa de enterococos. Das 33 amostras de mortadelas analisadas no presente trabalho, 11 delas apresentaram resultados negativos para a presença de *Enterococcus* spp.. Entretanto, foram encontrados *E. casseliflavus*, *E. faecium* e *E. faecalis*. A presença do *Enterococcus* como microbiota contaminante pode tornar o seu consumo perigoso para a saúde humana.

PALAVRAS-CHAVE: Mortadela, *Enterococcus* spp., Controle Microbiológico.

ABSTRACT: Meat products have, over the years, become increasingly present in the menu of the Brazilian and, among them, the mortadella is of great importance in the sector of cold and sausages and most accepted worldwide. A total of 33 mortadella samples were purchased at commercial establishments in the Icaraí neighborhood of Niterói / RJ and sent to the Laboratory of Microbiological Control of Animal Products of the Faculty of Veterinary, Fluminense Federal University, where they were submitted to enterococci research. Of the 33 mortadella samples analyzed in the present study, 11 of them had negative results for the presence of *Enterococcus* spp. However, we found *E. casseliflavus*, *E. faecium* and *E. faecalis*. The presence of *Enterococcus* as a contaminating microbiota can make its consumption dangerous to human health.

KEYWORDS: Mortadella, *Enterococcus* spp., Microbiological Control.

1 | INTRODUÇÃO

Os produtos cárneos podem ser processados, principalmente, a partir de carne bovina, suína e de frango. São, de preferência, obtidos a partir de carne fresca que sofra um ou

mais tipos de processo, entre eles, cozimento, salga, defumação ou mesmo somente a adição de condimentos e temperos (BENEVIDES e NASSU, 2010). Guerra (2010) destaca que os derivados cárneos vêm, ao longo dos anos, se fazendo cada vez mais presentes no cardápio do brasileiro e, entre eles, a mortadela é de grande importância no setor de frios e embutidos e de maior aceite mundialmente. No Brasil, o consumo se popularizou, especialmente por ser um produto elaborado a partir de carnes de várias espécies de animais e por possuir uma legislação que permite a sua vasta classificação.

A necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos faz com que seja observado o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos - RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), entretanto, essa legislação não faz referência ao gênero *Enterococcus* spp..

O gênero *Enterococcus* é indicador de contaminação fecal em alimentos que foram submetidos a tratamentos físicos e/ ou químicos usados rotineiramente em Produtos de Origem Animal (POA). Sua enumeração torna-se necessária pela natureza das amostras (carnes frigorificadas), pois esses microrganismos podem permanecer viáveis em temperatura de refrigeração. Além disso, estes microrganismos apresentam grande importância em segurança alimentar, uma vez que podem determinar o aparecimento de aminas biogênicas, dentre elas a histamina podendo ocasionar intoxicação alimentar aos consumidores (MANTILLA, et al., 2007). Os microrganismos do gênero *Enterococcus* são descritos morfológicamente como cocos Gram-positivos que geralmente se dispõem aos pares e em curtas cadeias, e são catalase negativos. Também podem ser encontrados no solo, em alimentos, na água, em animais, pássaros e insetos (TEIXEIRA e FACKLAM, 2003). Além de serem amplamente distribuídos na natureza, fazem parte da microbiota normal do ser humano, principalmente do trato gastrointestinal. Dentre as espécies descritas, os *E. faecalis* e *E. faecium* são os mais associados a manifestações clínicas. Outras espécies como *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans* e *E. avium* são clinicamente de menor importância (ANVISA, 2018).

Santos et al. (2012) relatam em seu trabalho que as doenças originadas por agentes etiológicos provenientes de alimentos de origem microbiológica, na maioria das vezes, atribuem-se a contaminações devido à manipulação incorreta, falta de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e condições higiênico-sanitárias inadequadas. Os autores ainda descrevem que as Boas Práticas de Fabricação abrangem um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com os regulamentos técnicos.

Mantilla et al. (2007), em sua pesquisa, relatam que o *Enterococcus faecalis*, é utilizado como indicador da qualidade microbiológica e determina intoxicações

alimentares. Existem evidências que o *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus faecalis*) e suas variantes sejam responsáveis por intoxicações alimentares. O fator tóxico está presente na própria célula bacteriana ou nos produtos tóxicos do metabolismo, especialmente a tiramina. O sinergismo microbiano pode ser outra causa de intoxicação alimentar por enterococos. Os autores destacam que muitos enterococos podem estar presentes em alimentos sem afetar a saúde do consumidor. O significado etiológico destes microrganismos em intoxicações alimentares tem sido um assunto de discussão, porque nenhuma doença experimental foi produzida no homem.

Potes (2007) relata em seu trabalho que a crescente incidência de toxinfecções alimentares está relacionada a diversos fatores como a modificação no estilo de vida e hábitos alimentares dos consumidores, levando a um aumento no consumo de alimentos industrializados ou produzidos fora do lar; alterações nas práticas de produção, distribuição, armazenagem e preparo dos alimentos; adaptação dos microrganismos frente às adversidades ambientais; uso indiscriminado de antimicrobianos e maior facilidade de diagnóstico das doenças de origem alimentar, devido à evolução tecnológica, entre outros.

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, numa análise feita entre os anos 2007 – 2017, foram notificados 7473 surtos de doenças de origem alimentar, envolvendo 131.285 doentes e 123 óbitos, ressaltando que 95,9% desses surtos foram causados por bactérias. Os agentes etiológicos mais frequentes associados aos surtos foram *Salmonella* sp responsável por 42,2% *Staphylococcus* sp, por 20,5%; *Bacillus cereus* por 7% e *Clostridium perfringens* por 4,9% (BRASIL, 2017).

O gênero *Enterococcus* também é relatado por Leitão (1988) como indicador de contaminação fecal dos alimentos oferece restrições, porque, a exemplo dos coliformes, os estreptococos são encontrados em outros “habitats” que não o trato gastrointestinal de mamíferos e evidenciam maior persistência e sobrevivência no solo, vegetais e alimentos. São mais resistentes à desidratação, ação de desinfetantes e às flutuações de temperatura, comparativamente às enterobactérias patogênicas. A autora ainda expõe que a contagem de *Enterococcus* é significativa como indicadora das condições higiênicas no preparo e manipulação de alimentos, particularmente em alimentos refrigerados ou congelados, pasteurizados, ou submetidos a outros tratamentos capazes de destruir ou injuriar os indicadores mais sensíveis, caso de coliformes fecais e totais. Apesar das restrições, Franco e Landgraf (2008) reforçam que sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento às condições que permitam a multiplicação de microrganismos indesejáveis. O microrganismo ainda é relatado como potencial formador de aminas biogênicas, sendo este fato de importância para a saúde pública.

Apesar de não haver padrões microbiológicos quantitativos e qualitativos referentes aos *Enterococcus* em alimentos na legislação vigente, é amplamente descrito que estes microrganismos podem oferecer riscos à Saúde Pública.

O trabalho teve como objetivo a análise da qualidade microbiológica de amostras de mortadela a partir da identificação de *Enterococcus* spp. a fim de monitorar os produtos oferecidos para consumo, uma vez que, este é um alimento que pode ser consumido sem nenhum tratamento térmico após a compra e como microbiota contaminante e patogênica provoca alterações que podem diminuir o tempo de comercialização dos produtos e até tornar o seu consumo perigoso para a saúde humana. Além disso, obter informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O objeto do estudo é constituído de amostras de mortadela de forma embalada no estabelecimento e fatiada na hora adquiridas no comércio formal – supermercados e padarias dos bairros Jardim Icaraí e Icaraí no município de Niterói (RJ).

2.1 Obtenção das amostras

Foram visitados onze estabelecimentos comerciais (supermercados e padarias) nos bairros Jardim Icaraí e Icaraí, da cidade de Niterói-RJ, e adquiridas 33 amostras de mortadela de diferentes marcas pela compra direta nos diferentes estabelecimentos – supermercados e padarias. As amostras foram adquiridas simulando uma situação real de compra pelo consumidor. Dessas amostras, 11 haviam sido previamente embaladas no estabelecimento e de escolha aleatória nas gôndolas de exposição à venda e 22 amostras adquiridas fatiadas na hora pelo responsável do setor no estabelecimento. As amostras foram acondicionadas, após a compra, nas embalagens fornecidas pelos estabelecimentos e encaminhadas diretamente ao Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense - UFF onde foram realizadas as análises.

2.2 Preparo da amostra

O preparo da amostra teve início com a pesagem de $25 \pm 0,2$ gramas da amostra de mortadela, transferida para 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e imediatamente procedeu-se a homogeneização em *Stomacher* por 60 segundos.

2.3 Análises Microbiológicas

Para a Identificação do gênero *Enterococcus* spp. foram semeados 1mL da solução salina peptonada 0,1% inicial em tubo contendo cada 10mL do meio “Chromocult Enterococci broth”. A incubação ocorreu a 35-37°C durante 24 a 48h até obter-se a mudança de coloração do tubo para verde azulado. Os tubos que

apresentaram cor verde azulada forte, indicaram a presença de *Enterococcus* spp..

A partir da identificação do gênero, as bactérias crescidas em meio “Chromocult Enterococci broth” (Merck®), sugestivas de *Enterococcus* spp., foram transferidas para caldo BHI e incubadas a 36°C por 48 horas para posterior inoculação utilizando Enterokit (PROBAC® do Brasil). A interpretação do kit é realizada através de sistema numérico, permitindo identificar espécies importantes para a clínica médica.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 33 amostras de mortadelas analisadas no presente trabalho, 11 (33,4%) delas apresentaram resultados negativos para a presença de *Enterococcus* spp.. Entretanto, 14 (42,4%) amostras apresentaram *E. casseliflavus*, 5 (15,1%) amostras apresentaram *E. faecium* e 3 (9%) amostras apresentaram *E. faecalis*. Esse resultado está de acordo com o apresentado por Malavazi (2007) que também relata em seu trabalho ter encontrado, após identificação por PCR, 139 (46,5%) *E. faecium*, 80 (26,8%) *E. faecalis*, 36 (12%) e 8 (2,7%) *E. gallinarum*. Mantilla et al. (2007) ressaltam que embora a RDC n° 12 (BRASIL, 2001) não estabeleça padrões quantitativos ou qualitativos referentes aos Enterococcus em produtos de origem animal, tem-se o conhecimento que este microrganismo é capaz de descarboxilar o aminoácido histidina e outros, produzindo respectivamente histamina e outras aminas biogênicas responsáveis por intoxicações e problemas alérgicos ao desenvolver-se nos alimentos. Esta afirmação pode ser confirmada ao consultar a RDC n° 12, que no item 1.2.2 relata que são considerados impróprios para o consumo, os alimentos cujos resultados analíticos demonstram a presença ou quantificação de microrganismos patogênicos ou toxinas que representem riscos à saúde do consumidor.

A ANVISA (2012) expõe no Relatório de pesquisa em vigilância sanitária de alimentos que é comum a presença de *E. faecalis* em diversos alimentos e que nem sempre a presença do mesmo está associada com a contaminação fecal do alimento. Isto se deu devido os *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. durans* estarem presentes na maioria dos animais de produção tais como, suínos, ovinos, bovinos e também encontrarem-se distribuídos no solo, água, plantas, vegetais e insetos. Ainda segundo o descrito no Relatório, a resistência dos Enterococos às temperaturas de pasteurização, e sua adaptabilidade à diferentes substratos e condições de crescimento (baixa e altas temperaturas, pH extremos e salinidade) implica que os mesmos podem ser encontrados em qualquer alimento de origem animal (carne ou leite) ou não, alimentos processados crus ou que tenham sido submetidos à tratamento térmico. Isto significa que estas bactérias podem ser encontradas em qualquer ponto do fluxograma de produção de diversos tipos de alimentos destacando a importância de um constante monitoramento com relação aos cuidados higiênico-sanitários.

4 | CONCLUSÕES

Apesar de não haver padrões microbiológicos quantitativos e qualitativos referentes aos *Enterococcus* spp em alimentos de origem animal na Legislação vigente (RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001), estes microrganismos podem oferecer riscos à Saúde Pública. Dessa maneira, durante o processamento da mortadela/fatiamento/embalagem, o controle microbiológico apresenta-se como uma etapa de fundamental importância para a obtenção de um alimento aceitável e seguro ao consumo, visto que a presença do *Enterococcus* como microbiota contaminante e patogênica provoca alterações que podem diminuir a vida de prateleira dos produtos e até tornar o seu consumo perigoso para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária Relatório de pesquisa em vigilância sanitária de alimentos: **Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF www.anvisa.gov.br. Brasília, 2012.

_____. _____. - **Módulo 4 – Enterococcus spp**. http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/imp_ent.htm. Acesso do arquivo em 28 de novembro de 2018.

BENEVIDES, S. D.; NASSU, R.. **Árvore Do Conhecimento: Ovinos de Corte Produtos cárneos**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica - AGEITEC Brasília: EMBRAPA, http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html#. Acesso do arquivo em 28 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. (2001) **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. (Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vig. em Saúde do Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017>. Acesso do arquivo em 01 de dezembro de 2018.

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

GUERRA, I.C.C.D. **Efeito do teor de gordura na elaboração de mortadela utilizando carne de caprinos e de ovinos de descarte**. Dissertação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFPB. João Pessoa, PB. 2010.

LEITÃO, M. F. F.. **Tratado de microbiologia: Microbiologia de alimentos, sanitária e industrial**. São Paulo: Manole, 1988. 186p.

MALVAZI, B. C. G.. **Enterococos em amostras de alimentos e águas: avaliação da virulência e do desempenho como indicadores de higiene**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP Tese. São Paulo, SP. 2007.

MANTILLA, S. P. S.; GOUVEA, R.; FRANCO, R. M.; MANO, S. B.. **Enterococcus em corte de carne bovina: Enumeração, identificação bioquímica e análises físico-químicas**. Higiene Alimentar, v. 21, p. 67-72, 2007.

POTES, M. E. **Segurança alimentar em produtos tradicionais**. Rev. de Ciências Agrárias, v.30, p.439-447, 2007.

TEIXEIRA, L.M.; FACKLAM, R.R. **Enterococcus**. In: MURRAY, P.R. et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 8. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 2003. p. 422-33.

XAVIER, D.B. **Prevalência e variabilidade genética de enterococos com resistência à vancomicina isolados de frangos caipiras de regiões do Distrito Federal. Universidade de Brasília, DF**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Tese. Brasília, DF. 2007. 33 p..

OCORRÊNCIA DE BOLORES E LEVEDURAS EM CARNE BOVINA MOÍDA *IN NATURA* COMERCIALIZADA EM MANAUS, AMAZONAS

Rodiney Medeiros dos Reis

Universidade Estadual do Amazonas (UEA)
Escola Superior de Ciências da Saúde (ESA/UEA)
Manaus, Amazonas

Kelven Wladie dos Santos Almeida Coelho

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Programa de Pós Graduação em Ciência Animal
Manaus, Amazonas

Érika Tavares Pimentel

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Programa de Pós Graduação em Ciência Animal
Manaus, Amazonas

Joziane Souza da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Amazonas (IFAM)
Campus Manaus Zona Leste
Manaus, Amazonas

Luciene Almeida Siqueira de Vasconcelos

Universidade Nilton Lins (Uniniltonlins)
Curso de Medicina Veterinária
Manaus, Amazonas

Pedro de Queiroz Costa Neto

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Faculdade de Ciências Agrárias (FCA)
Manaus, Amazonas

Felipe Faccini dos Santos

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Amazonas (IFAM)
Campus Manaus Zona Leste
Manaus, Amazonas

RESUMO: A carne moída destaca-se por sua alta popularidade, baixo custo e versatilidade. Por possuir maior superfície de contato, favorece a proliferação microbiana, o que traz possíveis riscos ao consumidor. O objetivo desse trabalho foi realizar a quantificação e identificação de bolores e leveduras na carne moída comercializada em Manaus, Amazonas. Foram analisadas amostras de duas redes de supermercados com oito coletas em cada e oito coletas únicas em açougues de bairro. De cada estabelecimento, foram adquiridas duas amostras, sendo uma proveniente de carne previamente moída e outra da carne moída na aquisição, totalizando 48 amostras analisadas entre janeiro a dezembro de 2018. Foram realizadas contagens segundo a IN No 62/2003 do MAPA e identificação de fungos filamentosos pela técnica de microcultivo. Não ocorreu diferença entre as contagens obtidas, sendo obtidos valores médios de $3,0 \times 10^5$ UFC/g para carne moída na aquisição e $3,4 \times 10^5$ UFC/g para carne previamente moída. Para a rede de Supermercados A, B e açougues, respectivamente, $5,8 \times 10^5$; $3,1 \times 10^5$ e $6,1 \times 10^4$ UFC/g. Dentre as 48 amostras, foi realizada uma amostragem para identificação dos gêneros de fungos que contaminavam as carnes, sendo: seis amostras da carne moída na aquisição (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp.) e cinco na

carne previamente moída (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Cladosporium* spp.). A identificação de bolores potencialmente toxigênicos na microbiota das carnes pode ser considerada um perigo à saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: contaminação, *Penicillium*, *Aspergillus*, toxinas, fungos.

OCCURRENCE OF MOLDS AND YEASTS IN FRESH GROUND BEEF MARKETED IN MANAUS, AMAZONAS

ABSTRACT: Ground beef stands out for its high popularity, low cost and versatility. As it has a larger contact surface, it favors microbial development, which brings possible risks to the consumer. The objective of this work was to quantify molds and yeasts in ground beef marketed in Manaus, Amazonas. Samples from two supermarket chains, with eight samplings in each, and eight unique samplings at neighborhood butchers were analyzed. From each establishment, two samples were acquired, one from previously ground beef and one from beef ground at acquisition, with a total of 48 samples, analyzed from January to December 2018. Counts were performed according to MAPA IN No 62/2003 and identification of filamentous fungi by the microculture technique. There was no difference between the counts obtained, with average values of 3.0×10^5 CFU/g for beef ground at acquisition and 3.4×10^5 CFU/g for previously ground beef. For supermarkets A, B and butchers it was obtained, respectively, 5.8×10^5 ; 3.1×10^5 and 6.1×10^4 CFU / g. Among the 48 samples, some were selected to identify the genera of fungi that contaminated the meat: six samples of ground beef at acquisition (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Cladosporium* spp.) and five in previously ground beef (*Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. and *Aspergillus* spp.). The identification of potentially toxigenic molds in the meat microbiota can be considered a public health hazard.

KEYWORDS: contamination, *Penicillium*, *Aspergillus*, toxines, fungi.

1 | INTRODUÇÃO

A carne bovina possui muitas propriedades nutricionais, tais como proteínas, ácidos graxos, vitaminas e minerais para o bom funcionamento do organismo. Por suas características intrínsecas, como composição química, elevada atividade de água e pH próximo à neutralidade, torna-se um ótimo meio para a multiplicação de microrganismos (FONTOURA et al., 2010).

Uma forma alternativa e econômica de ter acesso aos benefícios da carne bovina é através da carne moída, que se destaca dentre os produtos cárneos mais populares pelo seu preço reduzido, praticidade no preparo e disponibilidade nos mais variados estabelecimentos de comercialização de carnes (MOTTA et al., 2000).

Seu processo produtivo consiste na moagem dos tecidos cárneos, o que torna o produto mais exposto e passível à contaminação. Por ter uma maior superfície de contato e sofrer maior manipulação, pode se tornar um importante veiculador de

microrganismos patogênicos, que comprometem a segurança do produto e pode ser contaminado por microrganismos deteriorantes que prejudicam sua qualidade. Assim, conhecer e prevenir a presença de microrganismos que encontram na carne um ambiente propício para a sua proliferação constituem pontos determinantes para a preservação de sua qualidade.

O Código Sanitário de Manaus, descreve que nos estabelecimentos que comercializem carnes será facultada a venda de carne fresca moída, sendo feita essa operação obrigatoriamente em presença do comprador, ficando, porém, proibido mantê-la estocada nesse estado (MANAUS, 1997). Entretanto, é comum encontrarmos a carne moída exposta nas vitrines dos balcões frigorificados de açougues e supermercados em Manaus, contrariando a legislação vigente. Aliado à temperatura e acondicionamento inadequados, maus hábitos de higiene dos manipuladores ou ainda limpeza e sanitização deficiente de equipamentos e utensílios, pode se tornar um risco iminente à saúde do consumidor.

Dentre os microrganismos que podem estar presentes, os bolores e as leveduras são capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os alimentos, provocam deterioração. Os bolores podem produzir metabólitos tóxicos quando estão se multiplicando nos alimentos denominado “micotoxinas”, que ao serem ingeridos com os alimentos, causam alterações biológicas prejudiciais tanto no homem como nos animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008) e algumas leveduras de origem alimentar podem desencadear reações alérgicas (SILVA et al., 2017). São conhecidas mais de 100 espécies de fungos que elaboram micotoxinas. Muitos desses fungos pertencem aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* (QUINN et al., 2005).

A presença de fungos filamentosos e leveduras viáveis em índices elevados nos alimentos fornecem informações sobre condições higiênicas deficientes nos equipamentos e utensílios, matéria prima contaminada, falha no processamento ou na estocagem (VELD, 1996).

Apesar de não haver limites máximos na legislação brasileira pra esses microrganismos na carne moída, sua quantificação é importante, já que números elevados levam a deterioração da carne e caracteriza-se por alterações na coloração e superfície viscosa, pegajosa (BRASIL, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Desta forma foi observada a necessidade de estudar esta casuística, avaliando a ocorrência desses microrganismos na carne moída, tão amplamente comercializada e consumida na cidade de Manaus, Amazonas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas 16 coletas em duas redes de supermercados, sendo oito em cada, e coletas em oito açougues, contemplando as quatro regiões da cidade para

melhor distribuição da amostragem. De cada estabelecimento, foram adquiridas duas amostras, sendo uma amostra proveniente de carne previamente moída e outra da carne moída no momento da aquisição, utilizando-se o corte bovino patinho para a carne moída no momento da aquisição. Optou-se por esse corte, por ser geralmente utilizado também na carne previamente moída nos estabelecimentos. Com isso, totalizando 48 amostras analisadas entre os meses de janeiro a dezembro de 2018.

As amostras foram acondicionadas na sua embalagem original em caixa isotérmica com gelo reciclável em temperatura não superior a 8°C, e enviadas ao laboratório e armazenadas em geladeira entre 5±3 °C por até 12 horas para processamento. As análises foram realizadas no Laboratório de Ciências Biológicas e da Saúde do Campus Manaus Zona Leste do Instituto Federal do Amazonas (IFAM) e no Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana/UFAM.

Inicialmente, foram pesadas assepticamente 25g da amostra de carne moída e colocada em Erlenmeyer contendo 225mL de solução salina peptonada 1% tamponada. A homogeneização da amostra foi feita com agitação manual durante um minuto. Em seguida foram realizadas diluições subseqüentes de 10⁻² a 10⁻⁴, em solução salina peptonada 0,1 %.

Foi inoculado 0,1 mL, das diluições selecionadas (10⁻² a 10⁻⁴) em placas contendo meio Ágar Batata dextrose (BDA) acidificado em pH 3,5 ± 0,2 pela adição de 1,5 mL de solução de ácido tartárico 10% para cada 100 mL de meio. A alíquota foi espalhada com auxílio de alça de Drigalski, até sua completa absorção e as placas foram incubadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) por período de 5 a 7 dias. Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias (Figura 1). As contagens foram registradas, multiplicando a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia/1,0 g de amostra I(UFC/g) (BRASIL, 2003). Após a contagem, as colônias de bolores foram isoladas em tubos de ensaio contendo Ágar Batata Dextrose (BDA) inclinado e a identificação de fungos filamentosos foi realizada através da observação de suas estruturas reprodutivas pela técnica de microcultivo em Ágar Malte e BDA por até 7 dias. As lâminas foram posteriormente coradas com azul de lactofenol (ONIONS et al., 1981).

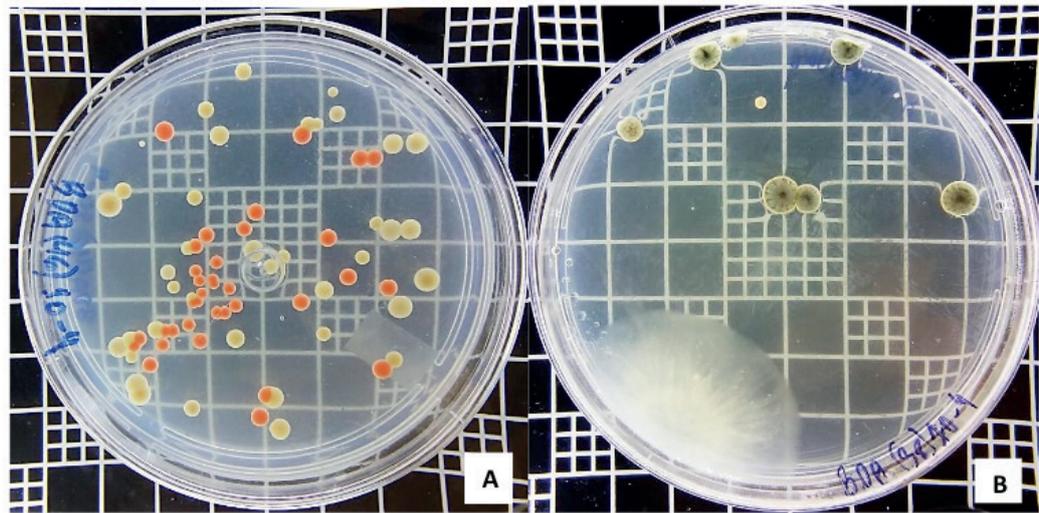


Figura 1. A e B - Contagem em placas com 15 a 150 colônias, após 7 dias.

A comparação das médias entre os resultados da carne moída na aquisição com a carne previamente moída e a análise comparativa entre as médias dos resultados de carne moída dos supermercados A, B e Açougues, foram analisadas respectivamente pelo teste de Mann-Whitney e pela ANOVA/Kruskall-Wallis. As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do software InStat 3.1 (Graphpad), todos a um nível de significância de 5%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não ocorreu diferença entre as contagens obtidas das duas formas de exposição (Tabela 1) e entre os estabelecimentos (Tabela 2). A legislação brasileira (Brasil, 2001) não define limites máximos de bolores e leveduras para carne moída, mas determina máximo de 10^4 UFC/g para purês e doces em pasta ou massa. As contagens foram superiores para carne moída na aquisição e a carne previamente moída, bem como entre os estabelecimentos.

No presente estudo 17 amostras de carne moída na aquisição e 19 de carne previamente moída tiveram valores acima de 10^4 UFC/g, totalizando 36 amostras, o que equivale a 75% das amostras. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (2008), que obtiveram contagens superiores a 10^4 UFC/g em 60% de amostras de carnes moídas comercializadas em Lavras, e por Marchi (2006), que observou a maioria das amostras (76,7%) apresentando contagens entre $1,0 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ UFC/g na cidade de Jaboticabal.

As contagens elevadas desses microrganismos possivelmente foram devido às inadequadas condições de manipulação e higiene com instalações, equipamentos e utensílios, bem como ao tempo maior de estocagem e acondicionamento inadequado, favorecendo a germinação dos esporos.

Forma de comercialização	N	Bolors e leveduras	
		log ₁₀ UFC/g ± DP	UFC/g
Moída na aquisição	24	5,47 ^a ± 0,84	3,0 x 10 ⁵
Previamente moída	24	5,53 ^a ± 0,91	3,4 x 10 ⁵

Tabela 1 – Valores médios ± desvio padrão (DP) da contagem de bolors e leveduras, obtidos das amostras de carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).

*Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem significativamente entre si (Mann-Whitney, p<0,05).

Estabelecimento	N	Bolors e leveduras	
		log ₁₀ UFC/g ± DP	UFC/g
Supermercado A	12	5,76 ^a ± 1,23	5,8 X 10 ⁵
Supermercado B	12	5,50 ^a ± 0,64	3,1 x 10 ⁵
Açougues	10	4,78 ^a ± 0,55	6,1 x 10 ⁴

Tabela 2 - Valores médios ± desvio padrão (DP) da contagem de Bolors e leveduras, obtidos de amostras de carne moída de duas redes de supermercados (A e B) e de açougues.

*Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem significativamente entre si (Kruskall-Wallis, p<0,05).

Dentre as 48 amostras, foi realizada uma amostragem para identificação dos gêneros de fungos que contaminavam as carnes, sendo: seis amostras da carne moída na aquisição (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp.) (Figura 2, 3, 4 e 5 respectivamente) e cinco na carne previamente moída (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Cladosporium* spp.) (Figura 2, 3 e 5).

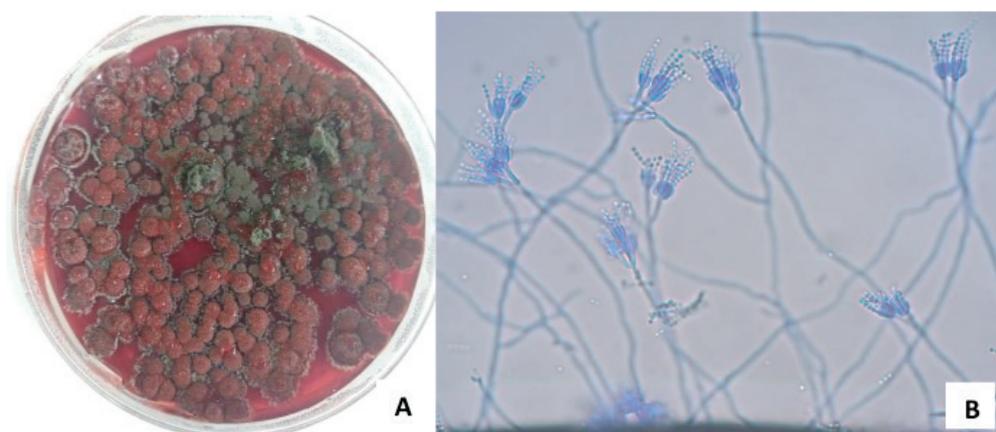


Figura 2 – Aspecto da colônia de *Penicillium* spp. em meio BDA (A) e aspecto microscópico dos corpos de frutificação corados com corante azul de lactofenol (B).

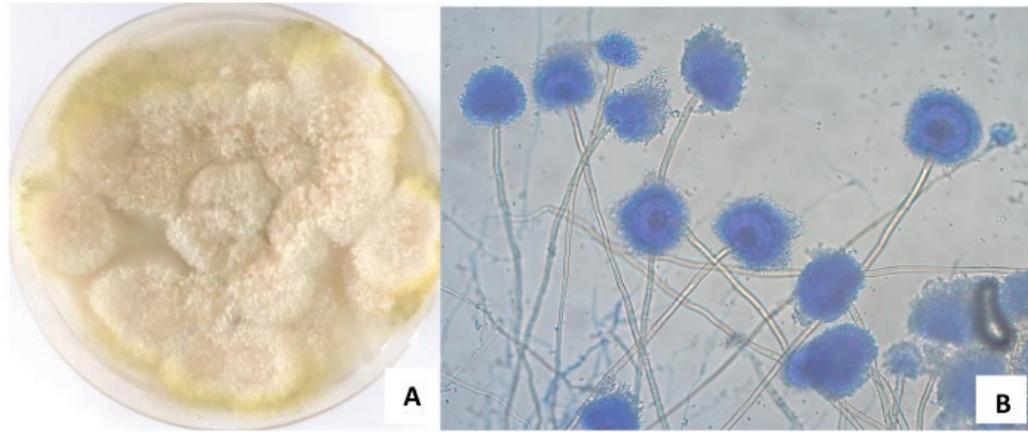


Figura 3 – Aspecto da colônia de *Aspergillus* spp. em meio BDA (A) e aspecto microscópico dos corpos de frutificação corados com corante azul de lactofenol (B).

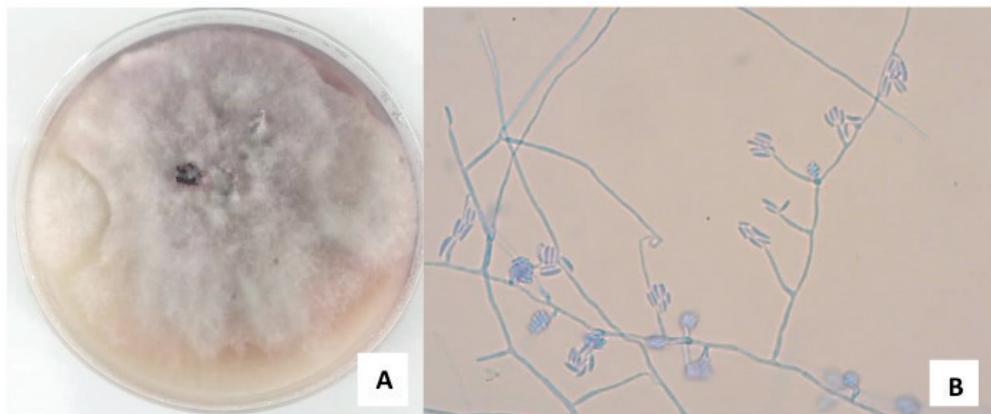


Figura 4 – Aspecto da colônia de *Fusarium* spp. em meio BDA (A) e aspecto microscópico dos corpos de frutificação corados com corante azul de lactofenol (B).

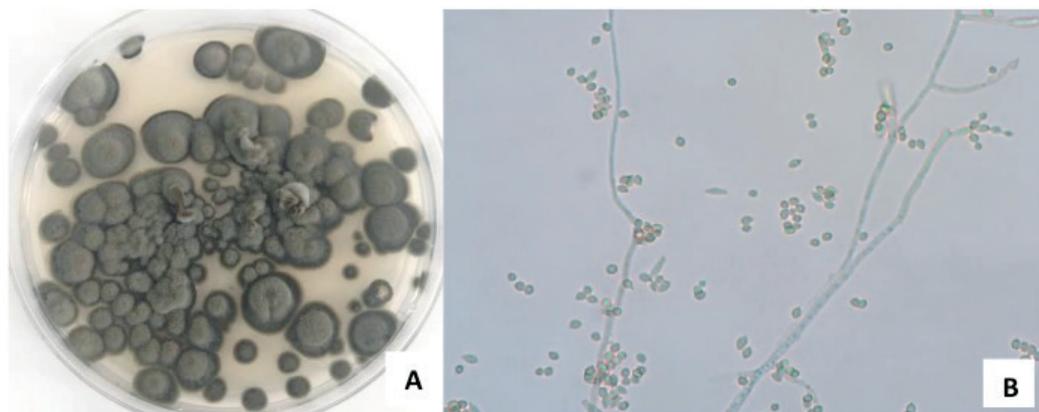


Figura 5 – Aspecto da colônia de *Cladosporium* spp. em meio BDA (A) e aspecto microscópico dos corpos de frutificação corados com corante azul de lactofenol (B).

A ocorrência de bolores com potencial toxigênicos e leveduras nos alimentos é considerada um perigo à saúde devido a possibilidade da produção de micotoxinas e ocorrência de alergias alimentares, respectivamente (SILVA et al., 2017).

4 | CONCLUSÕES

A identificação de bolores potencialmente toxigênicos na microbiota das carnes pode ser considerada um perigo à saúde pública. É fundamental um rígido controle de higienização e sanitização nos setores de manipulação, aliado a investimentos em programas de capacitação pra manipuladores de alimentos, visando minimizar possíveis riscos à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em: 30 janeiro 2019.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>> Acesso em: 30 Janeiro 2019.
- FONTOURA, C. L. E.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; MARTINELLI, T.M.; CERESER, N. D. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influencia da refrigeração sobre a microbiota contaminante. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 189-193, abril/jun. 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_2/fontoura.pdf> Acesso em: 28 fevereiro 2019
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p.
- MARCHI, P. G. F. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos** (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista, faculdade de ciências agrárias e veterinárias. Jaboticabal/São Paulo – Brasil, (2006).
- MANAUS, Código Sanitário do Município de Manaus. Lei n. 392, de 27 de junho de 1997 e decreto n. 3910 de 27 de agosto de 1997. **Prefeitura Municipal de Manaus. Secretaria Municipal de Saúde – SEMSA**. Departamento de Vigilância à saúde – COVISA. Manaus: s. n, 1997. 111 p. Disponível em: <<https://leismunicipais.com.br/a2/am/m/manaus/lei-ordinaria/1997/40/392/lei-ordinaria-n-392-1997-dispoe-sobre-a-competencia-e-campo-de-acao-da-secretaria-municipal-de-saude>> Acesso em: 26 Janeiro 2019.
- MOTTA, M. R. A., BELMONTE, M. A., PANETTA, J. C. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região Oeste de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 59-62, 2000.
- OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICOLLI, R. H. Condições higiênic-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n6/v32n6a31.pdf>> Acesso em: 26 janeiro 2019.
- ONIONS, A. H. S., ALLSOPP, D., EGGINS, H. O. W. **Smith's Introduction to Industrial Mycology**. 7th Ed. Edward Arnold, 1981.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed, São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

VELD, J. H. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 1-18, nov. 1996. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8913806>> Acesso em: 28 jan 2019.

OCORRÊNCIA DE PARASITAS HUMANOS E ELEMENTOS EXÓGENOS EM ALFACES CULTIVADAS NA REGIÃO DE INHUMAS – GOIÁS

Angel José Vieira Blanco

Departamento de Áreas acadêmicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Camília Silveira de Melo

Departamento de Áreas acadêmicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Flávia Janaína da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Leonardo Fidelis Gama

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Luana Bárbara Fernandes

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Marília Oliveira Costa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

Simone Silva Machado

Departamento de Áreas acadêmicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas.

RESUMO: O trabalho teve por objetivo avaliar as condições higiênico – sanitárias de alfaces cultivadas na região de Inhumas – GO, quanto à ocorrência de ovos de helmintos, cistos de protozoários e de elementos exógenos como materiais inorgânicos, restos de insetos e pelos de

roedores. As amostras foram coletadas em sete diferentes hortas, envolvendo quatro ciclos de amostragem. Ovos de dois diferentes parasitas foram encontrados entre as amostras de alface estudadas. Analisando-se as características dos pontos de coleta e os resultados obtidos a partir de métodos de sedimentação e microscopia, é possível concluir que as alfaces cultivadas em Inhumas e no seu entorno não seguem padrões adequados para consumo humano, estando também em desacordo com a RDC nº 14 de 2014 – ANVISA, que define como parâmetro a ausência de sujidades em alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: helmintos, sujidades, saúde pública.

OCCURRENCE OF HUMAN PARASITES AND EXOGENOUS ELEMENTS IN CULTIVATED LETTUCE IN THE REGION OF INHUMAS-GOIÁS

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the hygienic - sanitary conditions of lettuce grown in Inhumas - GO region, regarding the occurrence of helminth eggs, protozoan cysts and exogenous elements such as inorganic materials, insect remains and rodent hair. Samples were collected in seven different gardens, involving four sampling cycles. Eggs from two different parasites were found among the lettuce samples studied. Analyzing the

characteristics of the collection points and the results obtained from sedimentation and microscopy methods. It can be concluded that lettuce grown in and around Inhumas does not follow adequate standards for human consumption, and is also in disagreement with RDC 14 of 2014 - ANVISA, which defines the absence of dirt in food as a parameter.

KEYWORDS: helminths, dirt, public health

INTRODUÇÃO

Localizada na região central do Estado de Goiás, a Cidade de Inhumas possui aproximadamente cinquenta mil habitantes e uma área territorial de 615,278 km² (IBGE, 2016). Inhumas concentra parte significativa do comércio regional, possuindo atividade industrial e agropecuária diversificadas. Assim como acontece em outros locais do interior do Brasil, muitos gêneros alimentícios comercializados nas feiras e supermercados de Inhumas têm origem no seu entorno, ou mesmo na zona rural do próprio município. Dessa forma, é comum encontrar dentro dos limites da cidade áreas onde são produzidos peixes, frangos, bovinos e suínos, leite, ovos e diversos tipos de hortaliças.

Apesar de todas as características benéficas da alface (e das demais hortaliças) associadas à saúde e à qualidade nutricional de humanos, seu consumo *in natura* tem conduzido as populações a um crescente número de casos de infecção alimentar, por helmintos e protozoários (FALAVIGNA *et al.*, 2005). A alta demanda pela utilização do sistema orgânico de produção (ARBOS *et al.*, 2010) associada à condição tropical do Brasil (MONTANHER *et al.*, 2007) apontam para um crescente risco de infecções. Outros fatores podem contribuir para aumentar a ocorrência de parasitoses em humanos, entre eles destacam-se: idade, hábitos de higiene dos indivíduos, grau de escolaridade, condições socioeconômicas e de saneamento básico (ABRAHAM *et al.*, 2007).

As enteroparasitoses representam algumas das principais causas de infecções parasitárias em homens e animais (ATIAS, 1998). Os enteroparasitas são adquiridos através da ingestão de formas infectantes tais como ovos, larvas, cistos ou oocistos, de helmintos e protozoários, contidos em alimentos ou água contaminada (VOLLKOPF *et al.*, 2006). Estes organismos provocam doenças que elevam a morbidade e a mortalidade nas populações humanas, assim como perdas econômicas significativas que acabam comprometendo indivíduos enfermos, famílias e comunidades, por vezes limitando o desenvolvimento socioeconômico em algumas regiões (ATIAS, 1998).

Tais doenças atingem pessoas de todas as faixas etárias, que geralmente apresentam sintomas como: diarreia, má absorção de nutrientes, anemia, emagrecimento, diminuição da capacidade de aprendizado e de trabalho e redução na velocidade de crescimento (FARIAS *et al.*, 2008, PAULA *et al.*, 2003). Estima-se que nos últimos anos, infecções parasitárias mataram aproximadamente 200 mil pessoas e deixaram mais de 300 milhões severamente doentes em regiões pobres

do planeta (DUEDU *et al.*, 2014).

Apesar da contaminação de alfaces por organismos parasitários como helmintos e protozoários ser um fato recorrente no Brasil, existem outros problemas associados ao consumo dessas hortaliças que também representam riscos à saúde coletiva de humanos. Parte significativa da produção de alface em pequenas cidades como Inhumas é representada por arranjos produtivos, de agricultura familiar, cujas instalações são precárias e onde normalmente não se adotam boas práticas agrícolas durante o ciclo de produção.

Dessa forma, dado que as parasitoses humanas representam um sério problema de saúde pública no Brasil, que muitos locais de cultivo de alface possuem infraestrutura inadequada, que os serviços públicos de fiscalização nem sempre atuam de forma eficiente, considerando ainda a ausência de informações sobre o tema na região, torna-se necessário um primeiro passo na tentativa de traçar, mesmo que de modo incipiente, um diagnóstico do perfil higiênico-sanitário das alfaces produzidas no município. Este trabalho teve, portanto, como objetivo, a avaliação do perfil higiênico-sanitário de alfaces cultivadas em hortas na região de Inhumas – GO, através da identificação de ovos e larvas de helmintos, cistos de protozoários e de elementos estranhos à constituição desses vegetais.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das amostras foi realizada em sete diferentes hortas de pequenos produtores, localizadas no município de Inhumas e no seu entorno. Foram realizados quatro ciclos de amostragens, dois em cada semestre de 2017 (1º e 2º ciclo: Maio/Junho respectivamente – 3º e 4º ciclo: Setembro/Outubro respectivamente). Em cada um dos quatro ciclos foram coletadas 04 amostras de alface nas sete áreas escolhidas, representando o total de 112 plantas. O período de coleta se manteve em dias de seca não havendo nenhuma incidência de chuva frequente. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e posteriormente encaminhadas ao laboratório de Biologia e Microbiologia do Campus Inhumas, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, para processamento e análise.

As amostras foram preparadas seguindo o método de sedimentação espontânea descrito por HOFFMAN *et al.* (1934), adaptado para avaliação parasitológica em alimentos, em função de sua eficiência na detecção de um maior número de formas parasitárias, como ovos, larvas e cistos.

As alfaces foram introduzidas em um recipiente com água onde foi adicionado NaCl (0,9%). Posteriormente, adicionou-se detergente neutro para auxiliar no desprendimento de sujidades e possíveis parasitas das folhas. Em seguida, as amostras de alface foram submetidas à agitação durante o período de 30 minutos com o auxílio de um bastão de vidro. Decorrido esse tempo, a água resultante dessa lavagem foi coada por uma peneira plástica descartável, própria para o exame

parasitológico em cálices próprios, para sedimentação, ficando em repouso por 24 horas.

Após o período de sedimentação, com a utilização de uma pipeta, aproximadamente 50 μ L do sedimento foi transferido para uma lâmina de vidro, corando-se o sedimento com uma gota de solução de lugol. Em seguida, as lâminas foram cobertas por lamínulas e analisadas em microscópio óptico (100 e 400x). Para cada amostra foram feitas 30 lâminas.

Na tentativa de dimensionar quantitativamente o nível de sujidades nas amostras analisadas, uma escala de classificação em três níveis (baixo, moderado e elevado) foi desenvolvida. Nesse sentido realizou-se a contagem do número de insetos, fragmentos de insetos e demais artefatos encontrados nas amostras ao longo dos quatro ciclos. Assim, os estabelecimentos cujas amostras apresentaram entre 0 e 10 desses elementos por amostra foram classificados como de baixo nível de sujidades; entre 11 e 20, nível moderado; e maior ou igual a 21, como de nível elevado.

Foram realizados registros fotográficos dos resultados do processo de análise das lâminas ao microscópio. Tais imagens sugestivas de parasitas foram comparadas com imagens apresentadas em Atlas de parasitologia – ICB/UFJF, ricamente ilustrado, disponível em sites de busca, com o objetivo de identificar parasitas humanos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises microscópicas revelaram a presença de sujidades e fragmentos de insetos nas alfaces avaliadas. De maneira surpreendente, esses elementos foram observados em todas as 112 amostras coletadas (Figura 1). Levando-se em consideração que a RDC nº 14 (ANVISA, 2014) - que dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas - estabelece que insetos ou partes de insetos representam potenciais vetores de transmissão de microrganismos patogênicos, capazes de causar danos ao consumidor, os resultados indicam a falta de condições higiênico-sanitárias satisfatórias para a comercialização da alface produzida nos estabelecimentos avaliados.

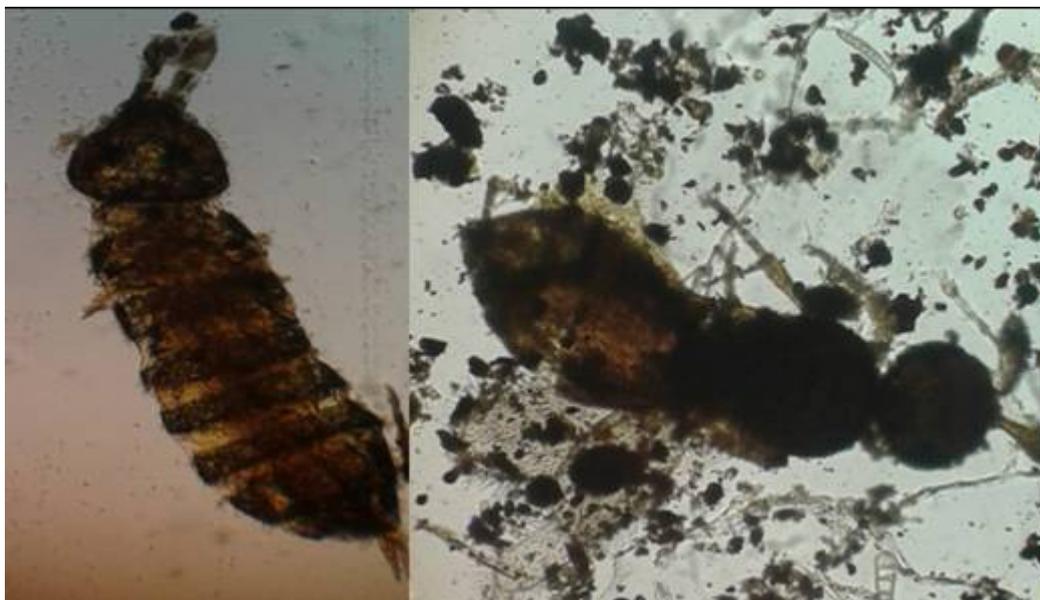


Figura 4- Insetos encontrados durante as análises microscópicas dos sedimentos encontrados nas alfaces estudadas. Fonte: Acervo pessoal (2017).

O nível de sujidades variou entre amostras de um mesmo estabelecimento e entre diferentes estabelecimentos (Tabela 1). Em especial, a horta “A” apresentou um elevado índice de sujidades nas amostras de alface, considerando os quatro ciclos de amostragem. Esta observação pode estar associada, circunstancialmente, ao fato desta horta estar localizada dentro do perímetro urbano da cidade. Por outro lado, a horta “C” apresentou um dos menores níveis de sujidades e não coincidentemente encontra-se bem distante dos núcleos urbanos de Inhumas e do seu entorno.

Hortas	Média
A	33
B	13
C	3
D	11
E	8
F	20
G	11

Tabela 1- Índice Médio de sujidades* observadas nas análises microscópicas de sedimentos das alfaces estudadas na região de Inhumas-GO.

*São considerados como sujidades matérias estranhas que podem ser encontradas num alimento, como a presença de insetos, aranhas, fungos, pêlos, penas, areia, vidro, fragmentos metálicos e outras impurezas estranhas à sua composição.

A ocorrência de sujidades em amostras de alface é um fato recorrente no Brasil, como pode ser observado nos trabalhos de GONÇALVES et al. (2013); SANTANA (2006) e SILVA (2015), transformando-se assim num problema de saúde pública. Os procedimentos utilizados na produção dessas hortaliças devem sempre ser conduzidos sob boas práticas de higiene e devem minimizar os perigos potenciais à saúde pela

presença e ocorrência de contaminantes (EMBRAPA, 2004). A classificação das hortas de acordo com a escala proposta para o nível de sujidades nas amostras é apresentada na Tabela 2.

Nível de sujidades	Horta	% de hortas por nível de sujidades
Baixo	C e E	28,6%
Médio	B, D, F e G	57,14%
Alto	A	14,28%

Tabela 2- Classificação das hortas de acordo com o nível* de sujidades observadas nos sedimentos das amostras de alfaces, através de análises microscópicas.

*Baixo: 0 a 10 sujidades por amostra; Médio: 11 a 20 sujidades por amostra; Alto: igual ou maior que 21 sujidades por amostra.

Outro fato que merece destaque é a ocorrência de animais domésticos como galinhas, vacas e cães, próximos aos canteiros de cultivo, na maior parte dos estabelecimentos estudados. Na horta A, por exemplo, não existia qualquer tipo de cerca ou divisão impedindo o acesso dos animais ao local de cultivo. Além disso, nesse mesmo estabelecimento não foi difícil perceber que o reservatório de água utilizado para irrigação apresentava-se em condições inadequadas para tal finalidade. Na horta C, diferentemente do que fora visto na horta A, não foram observados animais na área de produção, uma vez que existiam cercas dificultando o acesso ao cultivo de alface. Dentre os estabelecimentos estudados, a horta C é certamente o que mais se aproximou dos padrões esperados para Boas Práticas Agrícolas, como pode ser visto no manual elaborado por MALDONADE *et al.* (2014). Entretanto, um ovo de helminto foi identificado nas amostras de alface provenientes desta horta.

A discussão sobre fontes utilizadas para irrigação, presença de animais domésticos nas áreas de cultivo e a proximidade de hortas com áreas de grande circulação de pessoas é importante porque estes fatores representam importantes indutores de partículas inorgânicas, além de insetos e seus fragmentos nas alfaces que são posteriormente comercializadas.

Tratando especificadamente sobre a irrigação, ficou evidente que nenhum dos estabelecimentos avaliados apresentou qualquer sistema para tratar a água utilizada nos cultivos. Observou-se que o processo de captação da água era normalmente realizada em riachos próximos, ou em poços, cujas condições podem ser consideradas inadequadas. Além disso, os reservatórios utilizados para a lavagem das hortaliças estavam precários e apresentavam água suja ou com muita matéria orgânica em suspensão, indicando que não havia adequada renovação de água.

Os estabelecimentos avaliados compreendem propriedades de pequenos produtores que, muito provavelmente, praticam sistemas de agricultura familiar para complementação de renda. Nesse sentido, não existem perspectivas de investimentos na infraestrutura local, tais como sistemas de tratamento da água, por exemplo.

A partir de observações feitas durante as coletas é possível afirmar, com elevado grau de certeza, que análises para a verificação da qualidade da água utilizada nos cultivos nunca foram realizadas. De acordo com o manual de Boas Práticas Agrícolas desenvolvido por MALDONE et al. (2014), é importante que os produtores identifiquem a origem da água que será utilizada para irrigar as plantações (que pode ser de distribuição, poços, canal, reservatório, rios, lagos e etc) e avaliem sua qualidade através de análises laboratoriais para garantir a ausência de contaminantes químicos, físicos e biológicos e assim não comprometer a saúde humana, animal e até mesmo dos vegetais.

Outra fonte potencial de contaminantes, sujidades e artefatos em geral é o solo utilizado para o cultivo. O Manual de Boas Práticas Agrícolas (MALDONADE et al., 2014) recomenda que o solo a ser utilizado durante o cultivo seja submetido a uma avaliação criteriosa, com o objetivo de verificar a presença de elementos que não fazem parte da sua microbiota natural ou de sua composição e que possam representar riscos à segurança dos vegetais e de quem os consome. Apesar disso, nenhum dos estabelecimentos, cujas alfaces foram avaliadas neste trabalho, passou por algum tipo de análise laboratorial de solos antes do início do cultivo das hortaliças, conforme afirmação dos próprios produtores.

É importante afirmar também que a contaminação das hortaliças pode acontecer via manipulação humana (COELHO et al., 2001). Durante os trabalhos de coleta não foi observada a adoção de princípios básicos de higiene por parte das pessoas envolvidas no processo produtivo. Foi possível perceber que, de forma geral, os colaboradores que trabalham nas áreas estudadas não possuíam conhecimentos práticos relacionados aos procedimentos de higiene, normalmente utilizados durante a manipulação de vegetais. Como afirma SOARES & CANTOS (2006), devem existir barreiras sanitárias entre os indivíduos que manipulam os alimentos e os consumidores, de forma que as pessoas que manipulem sejam selecionadas e tenham conhecimento para desempenhar este processo de forma segura.

Considerando o total de amostras estudadas e levando-se em consideração também a organização e estrutura das hortas avaliadas, os resultados obtidos para a ocorrência de ovos de parasitas humanos não foram expressivos, apesar de serem significativos. Apenas nas hortas A (ovo fértil de *Ascaris lumbricoides*); C (ovo infértil de *Ascaris lumbricoides*) e D (*Hymenolepis nana*) foram positivas para parasitas. A significância desses resultados está na associação que existe entre esses organismos e fezes humanas (LANDIVAR & VIDIGAL, 2015; REIS, 2014).

Ascaris lumbricoides está entre os mais resistentes patógenos entéricos humanos e afeta mais de 25% da população mundial (NORTHROP-CLEWS & SHAW, 2000). Sua ocorrência varia de acordo com fatores como; clima, condições ambientais e principalmente com o grau de desenvolvimento da população (ROSA, 2012). Em países subdesenvolvidos, ou em desenvolvimento, como Arábia Saudita (AL-BINALI et al., 2006); Egito (ERAKY et al., 2014); Índia (GUPTA et al., 2009); Iran (FALLAH

et al., 2016) e Nigéria (ADENUSI et al., 2015) a ocorrência desses organismos é ricamente descrita.

No Brasil, *Ascaris lumbricoides* encontra condições ideais para se desenvolver e se disseminar, uma vez que o país apresenta várias características importantes para o seu ciclo de vida, tais como clima, ausência de saneamento básico e baixo nível de escolaridade, em muitas regiões. Já foram descritos ocorrência desses parasitas em hortaliças em Santo Antônio de Jesus – Bahia (SILVA, 2016); Maringá – Paraná (GUILHERME, 1999); Videira – Santa Catarina (ROSA, 2012); Caruaru, Pernambuco (ESTEVEZ & FIGUEIRÔA, 2009), João Pessoa – Paraíba (NETO, 2012), entre outros.

Pessoas acometidas por *Ascaris lumbricoides* podem se tornar gravemente doentes. Quando estão no intestino delgado os ovos desses parasitas dão origem ao verme no seu estado adulto. Isto também pode acontecer em outras regiões do organismo como, o duodeno, jejuno e o íleo. Os vermes podem se locomover para o apêndice, para a vesícula biliar, ou ainda outros locais, provocando náuseas, vômitos, diarreia, desconforto intestinal, além de eventuais complicações mais severas como a oclusão intestinal, pancreatite e obstrução das vias biliares (ABUASSI & ABUASSI, 2006).

O outro ovo de helminto encontrado neste trabalho é um importante parasita humano, conhecido pelo nome de *Hymenolepis nana*. Estima-se que 75 milhões de pessoas que vivem em condições sanitárias precárias sejam atingidas por esse organismo (NEVES, 2005). A transmissão ocorre quando há a ingestão de ovos do meio externo ou por autoinfecção a partir da liberação intraluminal de ovos. As larvas cisticercóides se alojam nas vilosidades intestinais, depois retornam ao lúmen e se tornam adultas. O ciclo pode durar até 30 dias (MELO & COELHO, 2004).

Visto que a situação sanitária e de saneamento básico no Brasil encontram-se em condições precárias, não é difícil verificar a ocorrência deste enteroparasita nas mais diversas regiões do país, como pode ser observado na literatura específica. Na cidade de Marília, SP, em 1999, foi detectada a presença de *Hymenolepis nana* em 30 amostras de alface e 30 de couve (MOURA, et al., 2016). Estudos conduzidos em 2001, na cidade de Ribeirão Preto, SP, detectaram 67% de estruturas parasitárias em amostras de alface, com destaque para *Hymenolepis nana*. Em Florianópolis, SC, em 2006, também foi observada a presença de ovos *Hymenolepis nana* em folhas de alface (OLIVEIRA & PEREZ, 2014).

Além dos ovos dos parasitas identificados, as análises microscópicas revelaram a presença de estruturas semelhantes a ovos de outros parasitas humanos. Tais estruturas podem ser apenas artefatos presentes nas amostras, mas podem também ser estruturas parasitárias que sofreram alteração em sua morfologia em função, muito provavelmente, do longo período de exposição ao detergente e ao sal utilizados na metodologia.

CONCLUSÃO

Considerando a ocorrência de sujidades e parasitas nas análises realizadas, ficou claro que nenhum dos estabelecimentos selecionados para fazer parte desse estudo comercializa alface em condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo humano. Além disso, esses resultados reforçam a necessidade de um criterioso processo de higienização das folhas de alface por parte do consumidor antes de ingeri-las, a fim de eliminar, ou diminuir o máximo possível, a quantidade de sujidades e parasitos nas hortaliças. O desenvolvimento de postura crítica como consumidor também é fundamental para atingir a produção de alimentos seguros, e depende fundamentalmente de investimentos em educação.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, R. S.; TASHIMA, N. T.; SILVA, M. A. Prevalência de Enteroparasitoses em Reeducandos da Penitenciária Maurício Henrique Guimarães Pereira de Presidente Venceslau. SP. 2007. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 39, n. 1, p. 39-42.

ABUASSI, C.; ABUASSI, W.L. Parasitoses intestinais na adolescência. **Revista Adolescência & Saúde**. Rio de Janeiro, v.3, n.3, p.43-46, out. 2006. Disponível em: <http://www.adolescenciaesaude.com/detalhe_artigo.asp?id=133>. Acesso em: 08 Dez. 2017.

ADENUSI, A. A.; ABIMBOLA, W. A.; ADEWOGA, T. O. S. Human intestinal helminth contamination in pre-washed, fresh vegetables for sale in major markets in Ogun State, southwest Nigeria. 2015. **Food Control**, vol. 50. 843-849.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (**ANVISA**). RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº 14. 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0014_28_03_2014.pdf> Acesso em: 18 ago. 2017.

AL-BINALI A. M. et al. **The prevalence of parasites in commonly used leafy vegetables in South Western**. 2006. Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 27: 613-616.

ARBOS, K. A. et al. **Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.30, n.1, p.215-220, mai. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/33.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2017.

ATIAS, A. Parasitologia Médica. 3 ed. Santiago – Chile: Mediterraneo, 1998.

COELHO, L. P. S. Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. 2001. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 34, n.5, p. 479-482,

DUEDU, K. et al. A comparative survey of the prevalence of human parasites found in fresh vegetables sold in supermarkets and open-aired markets in Accra, Ghana. 2014. **BMC Res Note**, 7: 836.

ERAKY, M. A. et al. Parasitic Contamination of Commonly Consumed Fresh Leafy Vegetables in Benha, Egypt. **Journal of Parasitology Research**, 2014, Egypt.

ESTEVES, F.A.M.; FIGUEIRÔA, E.O. Detecção de enteroparasitas em hortaliças comercializadas em feiras livres no município de Caruaru (PE). **Revista Baiana de Saúde Pública**. Salvador, v.33, n.2, abr./jun. 2009. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-0233/2009/v33n2/a004.pdf>>. Acesso em: 08 Dez. 2017.

- FALLAH, A. A.; MAKHTUMI, Y.; PIRALI-KHEIRABADI, K. Seasonal study of parasitic contamination in fresh salad vegetables marketed in Shahrekord, Iran. 2016. **Food Control**, vol. 60, 538-542.
- FALAVIGNA, L. M. et al. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. 2005. **Parasitologia Latino Americana**, n. 3/4, p. 144-149.
- FARIAS, G. F.; MAIA, M. C.; CALDEIRA, F. V. N. D.; OLIVEIRA, J. P. **Frequência de enteroparasitos em amostras de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Ipatinga, Minas Gerais**. 2008. Disponível em: <http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/frequencia_enteroparasitos_a_mostras_alfaces.pdf>. Acesso em: 01 de mar. 2017.
- GONÇALVES, R. M.; SILVA, S. R. P.; STOBBE N. S. Frequência de parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) consumidas em restaurantes Self-service de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. 2013. **Parasitologia Tropical**, Rio Grande do Sul, vol. 42, n. 3, p. 328.
- GUILHERME, A. L. F. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da feira do produtor de Maringá, Paraná. 1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32 (4): 405-411.
- GUPTA N, KHAN DK, Santra SC. Prevalence of intestinal helminth eggs on vegetables grow in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal. India. 2009. **Food Control**, 29:942-5.
- HOFFMANN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. 1934. Sedimentation concentration method in schistosomiasis, Puerto Rico. **J. Public Health**, 9: 283-298.
- IBGE. **Informações Estatísticas**. 2016. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=521000>>. Acesso em: 22 de ago. 2017.
- LANDIVAR, E.; VIDIGAL, T. Avaliação Parasitológica de Alfaces Crespas Comercializadas em Feiras e Supermercados no Município de São Miguel do Oeste, SC. 2015. **Unoesc & Ciência- ACBS Joaçaba**, v.6, n.1, p.29-36, jan./jun.
- MALDONADE, I. R.; MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L. **Manual de boas práticas agrícolas na produção do alface**. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 2014.
- Manual de Boas Práticas Agrícolas e Sistema APPCC Brasília**: EMBRAPA/SEDE, 2004. 101 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA.
- MELO, A.L.; COELHO, P.M.Z. Schistosoma mansoni e a doença. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. Chile. 1º edição. São Paulo: Editora Atheneu, cap. 34, p.193-212. 2004.
- MONTANHER, C. C.; CORADIN, D. C.; SILVA, S. E. F. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes self-service por quilo, da Cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. 2007. **Estudo de Biologia**. V. 29, p. 63-71.
- MOURA, L. R.; SANTOS, T.; VIEGAS, A. A. Avaliação parasitológica em *Lactuca Sativa* (alface) e *Brassica Oleracea* L. (couve) procedentes da CEASA no município de Anápolis-GO. 2016. **RESU – Revista Educação em Saúde**: V4, N1.
- NEVES, D.P. et al. **Parasitologia Humana** - 11ªed. São Paulo: Editora Atheneu. 2005.
- NETO, N. J. G. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. 2012. **Food Control**, 28, 47-51.
- NORTHROP-CLEWES, C. A., E SHAW, C. Parasites. 2000. **British Medical Bulletin**, 56, (1) 193-208.

PAULA, P. et al. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. 2003. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, 36: 535-537.

REIS, R. R. **Avaliação parasitológica de hortaliças comercializadas em feiras livres da cidade de Anápolis, Goiás**. 2014. Disponível em: http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao_12_Reis_Randall_Rodrigues.pdf. Acesso em: 09 Dez. 2017

ROSA, T. M. et al. **Determinação de estruturas parasitárias em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas nos maiores supermercados na cidade de Videira- SC**. 2012. Disponível em: <[HTTPS://editora.unoesc.edu.br/index.php/apeuv/article/view/12032/6410](https://editora.unoesc.edu.br/index.php/apeuv/article/view/12032/6410)>. Acesso em: 09 Dez. 2017.

SANTANA, L. R. R. et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. 2006. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 264-269, abr./jun.

SILVA, A. S. et al. Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia (Brasil). 2016. **Revista Visa em Debate**, 4, (3): 77-85.

SILVA, M. F. M. et al. Avaliação parasitária em alfaces (*Lactuca sativa*) provenientes do Ceasa e de saladas servidas em self servisse localizados em bairros do Recife. 2015. **Ciência e Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 18, n. 2, p. 155. Maio/junho.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. 2006. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 42, n. 3, julho/setembro.

VOLLKOPF, P. C. P.; LOPES, F. M. R.; NAVARRO, I. T. Ocorrência de enteroparasitos em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Porto Murtinho-MS. 2006. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, 9: 37-40.

PESQUISA DE *Salmonella* SPP. E *Listeria monocytogenes* EM QUEIJO MUÇARELA FATIADO COMERCIALIZADO EM HIPERMERCADOS DE RECIFE-PE

Maria Goretti Varejão da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Nataly Sayonara da Silva Melo

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Jéssica Martins de Andrade

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Fernanda Maria Lino de Moura

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Medicina Veterinária, Recife-PE.

Elizabeth Sampaio de Medeiros

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Medicina Veterinária, Recife-PE.

RESUMO: O queijo muçarela, tipo mais utilizado no Brasil em preparações culinárias especialmente por características como fatiamento e derretimento, está sujeito a contaminações microbiológicas durante todo o processo que o leva à mesa do consumidor. Diante disso, objetivou-se pesquisar *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em queijo muçarela fatiado comercializado em hipermercados de Recife-PE. Foram analisadas quarenta e nove amostras de queijo muçarela fatiado e todas foram negativas

para os microrganismos pesquisados. Porém, observou-se *Listeria innocua* em 4,1% das amostras (2/49). Estes resultados sugerem provável falha de higienização no local de fatiamento ou embalagem do produto, sendo necessárias ações que garantam a inocuidade dos alimentos ofertados ao consumidor, de forma a não pôr em risco a saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Microrganismos patogênicos; Saúde pública; Segurança de alimentos.

SEARCH OF *Salmonella* SPP. AND *Listeria monocytogenes* IN SLICED MUÇARELLA CHEESE MARKETED IN HYPERMARKETS OF RECIFE-PE

ABSTRACT: Sliced muçarella cheese, the type most used in Brazil in culinary preparations especially for characteristics such as slicing and melting, is subject to microbiological contamination throughout the process that leads to the consumer's table. Therefore, the objective was to research *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in sliced muçarella cheese sold in Recife-PE hypermarkets. Forty-nine samples of sliced muçarella cheese were analyzed and all were negative for the microorganisms investigated. However, *Listeria innocua* was observed in 4.1% of the samples (2/49). These results suggest probable hygiene failure at the

place of slicing or packaging of the product, requiring actions to ensure the safety of food offered to the consumer, so as not to endanger public health.

KEYWORDS: Pathogenic microorganisms; Public health; Food safety.

1 | INTRODUÇÃO

A segurança dos alimentos vem adquirindo importância mundial e as cobranças por parte dos órgãos públicos, das empresas, dos consumidores e da sociedade para que os alimentos não ofereçam risco à saúde são crescentes (FILHO et al., 2011). Porém, apesar do desenvolvimento constante de métodos que assegurem a qualidade higiênico-sanitária dos produtos alimentícios, as doenças transmitidas por alimentos (DTA) ainda representam um problema de saúde pública (AKUTSU et al., 2005; WHO, 2018).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2018), o leite e seus derivados representaram 3,24% dos mais de doze mil casos de surto alimentar notificados entre os anos 2000 e 2017 no país. Nesse contexto, *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. merecem destaque como bactérias relacionadas às doenças transmitidas por alimentos.

Entre os anos de 2000 e 2017 o agente causador da salmonelose foi o primeiro microrganismo patogênico mais identificado em casos de surtos de DTA no Brasil, estando envolvido em 35% dos casos (BRASIL, 2018). Já os casos de surtos envolvendo o agente causador da listeriose humana ainda não são notificados oficialmente no país. Porém, na Europa dados foram registrados, destacando a importância de estudos relacionados à presença e sobrevivência de *Listeria monocytogenes* em alimentos (EFSA, 2015; BOTSARIS, 2016).

A. L. monocytogenes é considerada um patógeno psicrófilo de origem alimentar emergente, possuindo capacidade de sobreviver e se multiplicar em temperaturas entre -0,4 a 50°C, assim permitindo seu crescimento em alimentos que são adequadamente refrigerados (TU et al., 2016). Além de possuir ampla distribuição no ambiente, pode crescer em condições de anaerobiose e tolerar sucessivos processos de congelamento e descongelamento (LIU, 2006; HARTMANN et al., 2009).

A contaminação de queijos com *L. monocytogenes* tem sido apontada como causa de vários surtos de listeriose em vários países (YOON et al., 2016; CDC, 2018a). Em humanos este microrganismo pode causar infecções graves, como meningite, encefalite, endocardite e pneumonia. Já em gestantes pode causar aborto, morte fetal, nascimento prematuro, septicemia ou meningite neonatal (PARIHAR et al., 2008; FAI et al., 2011).

Microrganismos comumente encontrados no trato gastrointestinal de animais e amplamente distribuídos na natureza, *Salmonella* spp. são anaeróbios facultativos e podem crescer em temperaturas de 5 °C a 45 °C, com crescimento ótimo de 35 °C a 37 °C (CONCORAN, 2013). Responsável pela salmonelose, este patógeno

pode provocar diarreia, febre e dor abdominal entre 12 a 72 horas após a infecção. Indivíduos susceptíveis podem apresentar diarreia mais severa, necessitando de hospitalização já que caso não ocorra tratamento adequado os pacientes podem ir a óbito (CDC, 2018b).

Dentre os derivados do leite, os queijos são suscetíveis à contaminação microbiológica, dado o método de sua fabricação com vários processos envolvidos. O queijo muçarela é o tipo de queijo mais produzido no Brasil e é amplamente utilizado na culinária devido às suas propriedades de fatiamento e facilidade de derretimento (COELHO et al., 2012).

Algumas etapas do processo de produção do queijo muçarela são capazes de reduzir a contaminação microbiana, como a pasteurização e a filagem. Porém a manipulação nas etapas subsequentes até a embalagem do produto pode representar pontos importantes de recontaminação (FAGNANI et al., 2013).

De acordo com a RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), que define os padrões microbiológicos em alimentos, em relação ao queijo muçarela, classificado como de média umidade, é exigida a ausência de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* em 25g. Assim, objetivou-se pesquisar *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em queijo muçarela fatiado comercializado em hipermercados da cidade do Recife-PE.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e nove amostras de queijo muçarela fatiado foram adquiridas em oito hipermercados da cidade de Recife-PE, contemplando todas as marcas comercializadas no momento da visita ao estabelecimento. Das amostras, vinte e nove foram fatiadas e embaladas no local de compra e vinte foram fatiadas e embaladas ainda na indústria. Todas as amostras foram mantidas em suas embalagens, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e levadas imediatamente ao Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram conservadas em refrigeração até a realização das análises.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., 25g de cada amostra foram colocados em 225 mL de água peptonada tamponada 1% (Merck), e seguiu-se com a homogeneização durante 60 segundos em *Stomacher*. Em seguida incubou-se por 16 a 20h a 36°C ±1 para pré-enriquecimento. O enriquecimento seletivo foi realizado em caldo Rappaport Vassiliadis (Oxoid) e caldo Tetrionato (Himedia) a 41°C ±0,5 por 24 a 30 horas. Os meios seletivos diferenciais utilizados foram ágar *Salmonella*-*Shigella* (Kasvi) e Ágar de desoxicolato-lisina-xilose (Kasvi) incubados em placas de Petri a 36±1°C por 18 a 24h. Foram retiradas 3 colônias características de *Salmonella* spp. das placas com crescimento para realização das provas bioquímicas (BRASIL, 2003), utilizando-se os meios Ágar ferro-açúcar triplo (Ágar TSI), Meio IAL (PESSOA e SILVA, 1972) e

Ágar Citrato de Simons (BRASIL, 2011).

Para a pesquisa de *L. monocytogenes* 25g de cada amostra foram colocados em 225 mL de caldo UVM- enriquecimento Listeria (Acumedia) e homogeneizou-se durante 60 segundos em *Stomacher*. Incubou-se por 24h a 30°C±1 e em seguida 0,1 mL da diluição foi inoculado em 10 mL de caldo Fraser (Acumedia) e incubado a 30°C±1 por 24 a 48h. Utilizou-se como meios seletivos diferenciais ágar Palcam (Acumedia) e ALOA (Merck), incubados em placas de Petri a 30°C±1, por 24 a 48h. Foram retiradas 3 colônias suspeitas para provas de identificação e confirmação da espécie, sendo utilizadas prova da catalase, coloração de Gram, motilidade (BRASIL, 2003) e identificação automatizada em equipamento VITEK® 2 Compact (bioMÉRIEUX).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontram-se na tabela 1, abaixo. Todas as amostras apresentaram resultado negativo para *Salmonella* spp. e para *Listeria monocytogenes*. Porém, observou-se que 4,1% (2/49) das amostras apresentaram resultado positivo para *Listeria innocua*. Mesmo não sendo objetivo da pesquisa, esse resultado ressalta a importância da presença deste microrganismo em alimentos, já que Mackey et al. (1990) sugeriram que a *L. innocua* pode possuir resistência térmica similar à da *L. monocytogenes*.

Apenas *L. monocytogenes* é considerada consistentemente patogênica para o homem, embora infecções ocasionais pelas outras espécies venham sendo relatadas (CHAMBEL et al., 2007; HITCHINS, 2012). Assim, *L. innocua*, não é considerada patogênica, porém há na literatura um relato de óbito por bacteremia causada por essa espécie em um paciente de sessenta e dois anos (PERRIN et al., 2003).

No estudo realizado por Lima et al. (2015), com amostras de queijo muçarela fatiado e comercializado em estabelecimentos varejistas na cidade de Goiânia-GO, observou-se 11,75% (4/34) de amostras positivas para *Listeria monocytogenes* e 2,9% (1/34) amostras positivas para *Listeria innocua*. Silva et al. (1998) avaliaram a presença de *Listeria* spp. em queijos tipicamente brasileiros obtidos em mercados varejistas da cidade do Rio de Janeiro e observaram contaminação por *L. innocua* em 12,62% das amostras. Já Silva et al. (2015), relatou a ausência de *Listeria monocytogenes* em 30 amostras de queijo muçarela fatiado em uma pesquisa realizada em Ribeirão Preto, São Paulo.

No presente estudo as duas amostras positivas para *L. innocua* foram adquiridas no mesmo hipermercado, no mesmo dia, fatiadas e embaladas na própria loja, sendo de marcas diferentes, indicando uma possível falha na higienização dos equipamentos utilizados para fatiar o queijo, assim como manipulação inadequada do produto.

Em estudo realizado por Marinheiro et al. (2015), em estabelecimentos varejistas

de Pelotas, Rio Grande do Sul, foi constatada a presença de *Salmonella* spp. em uma amostra (5%) de queijo muçarela fatiado, entre as 40 amostras avaliadas. Regis et al. (2017) analisaram 10 amostras de queijo muçarela a granel comercializadas em Jataí, Goiás e encontraram 20% (2/10) das amostras positivas para *Salmonella* spp. Em pesquisa realizada por Castro et al. (2012), em queijos do tipo muçarela comercializados no CEASA de Vitória da Conquista-Bahia, de doze amostras analisadas, 4 (33,3%) foram positivas para *Salmonella* spp.

Assim como observado nesse estudo em relação à *Salmonella* spp., Santos-Koelln et al. (2009) também observaram que nenhuma das amostras analisadas foi positiva para este microrganismo quando realizaram avaliação microbiológica do queijo tipo muçarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. Assim como Apolinário et al. (2014), que analisaram 31 amostras de queijos na Zona da Mata Mineira e constataram ausência de *Salmonella* em 100% delas.

A ausência de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas nesse artigo pode estar associada à qualidade da matéria-prima, às boas condições higiênico-sanitárias, assim como à execução adequada das boas práticas de manipulação nos locais de comercialização.

Forma de comercialização	<i>Salmonella</i> spp. (%)	<i>L. monocytogenes</i> (%)	<i>Listeria innocua</i> (%)	Total
Fatiado/embalado no local	0	0	2(6,9)	29
Fatiado/embalado na indústria	0	0	0	20
Total	0	0	2(4,1)	49

Tabela 1. Resultados das análises realizadas em amostras de queijo muçarela fatiado comercializado em hipermercados de Recife-PE em pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

Como pode-se observar, do total de 49 amostras analisadas nesse estudo nenhuma estava em desacordo com a RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001). A técnica de fabricação deste tipo de queijo inclui a etapa de filagem realizada com água em torno de 80°C, onde espera-se que boa parte da contaminação inserida no produto até essa etapa seja eliminada. No entanto, os processos seguintes de desenformagem, salga, secagem e embalagem do produto são pontos de recontaminação microbiológica e requerem monitoramento das condições higiênicas e de permanente vigilância e implementação ou adequações às Boas Práticas de Fabricação (BPF) pelos laticínios com o intuito de garantir a qualidade microbiológica destes produtos (SILVA, 2005).

Além de ser imprescindível garantir a segurança dos alimentos ao consumidor, preconiza-se a obtenção de um produto competitivo, capaz de atender às exigências do mercado (ROSA et al., 2017). Qualidade, segurança e integridade são conceitos

desafiadores devido a sua abrangência e complexidade sob o ponto de vista da ciência de alimentos. Quando esses conceitos se aplicam aos produtos lácteos o desafio torna-se ainda maior (DERETI e BONNET, 2017).

4 | CONCLUSÃO

Apesar da obtenção de resultados compatíveis com o dos padrões das normas vigentes no Brasil no que diz respeito a *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em queijo muçarela, a presença de *Listeria innocua* indica provável falha de higienização no local de fatiamento ou embalagem do produto. Sendo assim, são necessárias ações que garantam a inocuidade dos alimentos ofertados ao consumidor, minimizando a possibilidade de contaminação de produtos prontos para consumo de forma a não pôr em risco a saúde pública. Considera-se também de grande relevância a garantia da qualidade do leite utilizado na fabricação dos seus derivados, imprescindível para o fornecimento de alimentos seguros à população.

REFERÊNCIAS

AKUTSU, R.C. et al. **Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação.** Revista de Nutrição, v. 18, n. 3, p. 419-427, 2005.

APOLINÁRIO, T.C.C.; SANTOS, G. S.; LAVORATO, J. A. A. **Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal produzido por laticínios do estado de Minas Gerais.** Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes, v. 69, n. 6, p. 433-442, 2014.

BOTSARIS, G.; NIKOLAOU, K; LIAPI, M.; PIPIS, C. **Prevalence of listeria spp. and listeria Monocytogenes in cattle farms in Cyprus Using bulk tank milk samples.** Journal of Food Safety, 00 (2016) 00–00 VC, Wiley Periodicals, Inc., 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. Diário Oficial [da] União, Brasília, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp.,** Brasília DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil, junho de 2018.** Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>>, acesso em: 07 de novembro de 2018.

CASTRO, A.C.S. et al. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de queijos do tipo mussarela comercializados no CEASA de Vitória da Conquista-Bahia.** Alim. Nutr., Araraquara, v.23, p.407-413, 2012.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Listeria (Listeriosis).** 2018a. Disponível em:<<https://www.cdc.gov/listeria/>>. Acesso em: dezembro de 2018.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Outbreak of *Salmonella* Infections Linked to Ground Beef**. 2018b. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/salmonella/newport-10-18/index.html> >, acesso em: 27de novembro de 2018.

COELHO, K.O.; et al. **Níveis de células somáticas sobre a proteólise do queijo Mussarela**. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 13, n. 3, p. 682-693, 2012.

CORCORAN, M. ***Salmonella* enterica - biofilm formation and survival of disinfection treatment on food contact surfaces**, [tese], National University of Ireland, Galway, p.4, 2013.

DERETI, R.; BONNET, M. **Evolução da pesquisa em pecuária leiteira. Qualidade, segurança e integridade em lácteos no Brasil: desafios e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 76 p., 2017.

EFSA. European Food Safety Authority. **The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013**. EFSA Journal, v. 13, n. 1, p. 3991, 2015.

FAI, A.E.C. et al. ***Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública**. Ciência e Saúde Coletiva [online], v. 16, n. 2, p. 657-662, 2011.

FAGNANI, R. et al. **Pontos de contaminação microbiológica em indústrias de queijo muçarela**. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 35, n. 3, p. 217-223, 2013.

FILHO, L.D.; MAINIER, F.B.; FILHA, A.M.B.B. **Avaliação Crítica de Possíveis Contaminações por Metais Tóxicos em Leite em Pó Durante o Processo Produtivo**. VIII SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia. Resende – RJ, 2011.

HARTMANN, W. **Qualidade microbiológica do leite cru produzido na Região Oeste do Paraná e ocorrência de *Listeria monocytogenes***. Ars Veterinaria, v.25, n.2, 072-078, 2009.

LIMA, A.C.M. et al. **Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em queijo muçarela fatiado comercializado em estabelecimentos varejistas na cidade de Goiânia, GO**. Eletronic Journal of Pharmacy, v. XII, n. 4, p. 87-92, 2015.

LIU, D. **Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen**. Journal of Medical Microbiology, 55, 645–659, 2006.

MACKEY, B. M. et al. **Heat resistance of *Listeria*: strain differences and effects of meat type and curing salts**. Lett. Appl. Microbiol., 10:251-255, 1990.

MARINHEIRO, M.F.; GHIZZI, L.G.; CERESER, N.D.; **Qualidade microbiológica de queijo mussarela em peça e fatiado**. Ciências Agrárias, v.36, p.1329-1334, 2015.

PARIHAR, V. S. et al. **Characterization of human invasive isolates of *Listeria monocytogenes* in Sweden 1986-2007**, J. Foodborne Pathogenes and Disease, v.5, n.6, p. 755-761, 2008.

PERRIN, M.; BEMER, M.; DELAMARE, C. **Fatal Case of *Listeria innocua* Bacteremia**. Journal of Clinical Microbiology, p. 5308–5309, v. 41, n. 11, 2003.

ROSA, J. F. et al. **Pontos críticos de contaminação na produção leiteira**. Expressa Extensão, 22(1), 90-103, 2017.

SANTOS-KOELL, F.T.; MATTANA, A.; HERMES, E. **Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná**. Revista Brasileira de

Tecnologia Agroindustrial, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.

SILVA, A.S. et al. ***Listeria monocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos no Brasil: Uma Revisão.** Cient Ciênc Biol Saúde, 13(1):59-67, 2011.

SILVA, F.T. **Queijo mussarela.** Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 52p, 2005.

PESSOA, G.V.A.; SILVA, E. A. M. **Meios de Rugai e lisina motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 32, n. 1, p. 97-100, 1972.

SILVA, M.C.D.; HOFER, E.; TIBANA, A. **Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil.** J. Food Protect, 3:354-356, 1998.

REGIS, J.T.A.; RODRIGUES, A.C.B.; SILVA, C.J. **Qualidade microbiológica e físico química do queijo mussarela a granel comercializado em Jataí (Goiás, Brasil).** Rev. Colomb. Investig. Agroindustriales, v.4, p.69-77, 2017.

TU, Z. et al. **Identification and characterization of species-specific nanobodies for detection of *Listeria monocytogenes* in milk.** Analytical Biochemistry, v. 493, p. 1-7, 2016.

WHO. World health organization. **Foodborne Diseases, Food Safety.** Disponível em: < http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/en/>, acesso em: 08 de novembro de 2018.

YOON, Y. et al. **Microbial benefits and risks of raw milk cheese.** Food Control, 63, 201-215, 2016.

PESQUISA DE *Salmonella* SPP. EM CARNE BOVINA MOÍDA COMERCIALIZADA EM MERCADO PÚBLICO DE RECIFE-PE

Nataly Sayonara da Silva Melo

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Maria Goretti Varejão da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Jéssica Martins de Andrade

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife-PE.

Fernanda Maria Lino de Moura

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Medicina Veterinária, Recife-PE.

Elizabeth Sampaio de Medeiros

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Medicina Veterinária, Recife-PE.

RESUMO: A carne moída é um derivado da carne bovina bastante consumido, porém algumas situações podem propiciar sua contaminação por microrganismos patogênicos. Desta forma, representa risco para a ocorrência de doenças transmitidas por alimentos, como a salmonelose. Objetivou-se pesquisar *Salmonella* spp. em carne bovina moída comercializada em um mercado público de Recife-PE. Foram adquiridas em duas etapas 20 amostras de carne bovina moída e estas foram transportadas em caixas isotérmicas até

o laboratório onde seguiram-se as análises. Observou-se ausência de *Salmonella* spp., estando todas as amostras de acordo com a legislação brasileira. Estes resultados não excluem a necessidade de constante monitoramento destes microrganismos nos produtos cárneos, visando o fornecimento de alimentos que não sejam prejudiciais à saúde dos consumidores.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças transmitidas por alimentos; Microrganismos patogênicos; Saúde pública.

SEARCH FOR *Salmonella* SPP. IN GROUND BEEF MARKETED IN PUBLIC MARKET OF RECIFE-PE

ABSTRACT: Ground beef is a widely consumed beef derivative, but some situations may lead to its contamination by pathogenic microorganisms. This poses a risk for foodborne diseases such as salmonellosis. The objective was to research *Salmonella* spp. in ground beef sold in a public market in Recife-PE. Twenty samples of ground beef were acquired in two steps and transported in isothermal boxes to the laboratory where the analyzes were followed. *Salmonella* spp. Absence was observed, and all samples were in accordance with Brazilian legislation. These results do not exclude the need for constant monitoring of these microorganisms in meat

products, aiming at the supply of foods that are not harmful to consumers' health.

KEYWORDS: Foodborne diseases; Pathogenic microorganisms; Public health.

1 | INTRODUÇÃO

As Doenças transmitidas por alimentos (DTA) são um importante problema de saúde pública em todo o mundo (WHO, 2018). Devido a isso, institutos governamentais buscam monitorar e reportar frequentemente surtos de doenças de origem alimentar. Em 2017, o Centro de Controle e Doenças da Rede de Vigilância Ativa de Doenças Transmitidas por Alimentos nos Estados Unidos registrou 24.484 infecções, 5.677 hospitalizações e 122 mortes (CDC, 2018a).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2018), 12.660 casos de surto alimentar foram notificados do ano de 2000 a 2017, e a carne bovina e seus derivados representaram 2,42% deles. No que diz respeito aos doentes, aproximadamente 240 mil indivíduos apresentaram algum sintoma relacionado a essas doenças nesse mesmo período.

De acordo com o Instituto Nacional de Saúde Pública e Meio Ambiente, na União Europeia 96,039 casos suspeitos de salmonelose foram reportados em 2016 e destes, 94,530 casos foram confirmados (EFSA, 2017). No Brasil, entre 2000 e 2017 o agente causador da salmonelose foi o microrganismo patogênico mais identificado, estando envolvido em 35% dos casos (BRASIL, 2018).

A salmonelose é causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp., que pertencem a família enterobacteriaceae, são Gram-negativos, não formadores de esporos e em forma de bacilo, são móveis com exceção de *Salmonella Pullorum* e *S. Gallinarum*. Além disso, são anaeróbios facultativos e podem crescer em temperaturas de 5°C a 45°C, com crescimento ótimo de 35°C a 37°C (FRANCO e LANDGRAF, 2005; BHUNIA, 2008). Além disso, *Salmonella* spp. são microrganismos patogênicos zoonóticos e comumente encontrados no trato gastrointestinal de animais, sendo amplamente distribuídas na natureza (CONCORAN, 2013).

Os sintomas da salmonelose são diarreia, febre e dor abdominal entre 12 a 72 horas após a infecção. A maioria dos indivíduos apresentam cura sem tratamento após 4 a 7 dias, no entanto, indivíduos susceptíveis como idosos, crianças e imunodeprimidos podem apresentar diarreia mais severa, necessitando de hospitalização. Nesses casos a infecção pode disseminar dos intestinos para a corrente sanguínea e atingir outros órgãos. Assim, o óbito pode ocorrer se o paciente não receber tratamento adequado (CDC, 2018).

Dentre os produtos cárneos destaca-se a carne bovina, que é uma fonte importante de proteínas, minerais e outros nutrientes. Porém, essas características propiciam que estes alimentos sejam um importante substrato para o crescimento e multiplicação de microrganismos. Entre os derivados de carne bovina, destaca-se a

carne moída, por se tratar de um produto de baixo custo, e ser bastante utilizado para confeccionar pratos mais práticos e rápidos, aumentando assim seu consumo (SILVA et al., 2004).

Porém, a moagem da carne pode favorecer a sua contaminação. Nesse processo, além da manipulação, se a carne for composta de tecidos gordurosos estes podem conter nódulos linfáticos contendo microrganismos. Depois deste processo, a carne moída possui maior superfície de contato, e quando vendidas expostas a temperatura ambiente, estes fatores contribuem substancialmente para o risco de contaminação deste produto por microrganismos (ALMEIDA, 2002; JAY, 2005).

Considerando a grande aceitação da carne moída pelos consumidores e aos riscos de contaminação microbiológica desse produto durante o processo de produção e manipulação, objetivou-se avaliar a presença de *Salmonella* spp. em carne bovina moída comercializada em um mercado público da Região Metropolitana de Recife-PE.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas 20 amostras de carne bovina moída em um mercado público da Região Metropolitana de Recife-PE, onde a carne foi moída, pesada e embalada no momento da compra com material utilizado pelo vendedor. As coletas foram divididas em duas etapas, sendo adquiridas 10 amostras num primeiro momento e mais 10 amostras após 15 dias. As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável em temperatura aproximada a 4 °C para o Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Para as análises, 25g de cada amostra foram colocados em sacos estéreis *stomacher* contendo 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1% para o pré-enriquecimento, e incubados por 24 horas à temperatura de 35 ± 1 °C. Após a incubação 1,0 mL do caldo pré-enriquecido de cada amostra foi transferido para tubos contendo 9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (CRV) e 0,1 mL transferidos para tubos contendo caldo Tetracionato, seguindo-se a incubação em banho maria por 24 h à temperatura de 42 ± 0,2 °C e 35 ± 1 °C, respectivamente.

Em seguida, uma alçada de cada amostra oriunda dos tubos de Rappaport Vassiliadis e Tetracionato foi plaqueada em meio seletivo e diferencial, Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Hektoen Enteric Ágar (HE) e incubadas durante 24 h à temperatura de 35 ± 1 °C. Posteriormente, colônias típicas indicativas de *Salmonella* spp. foram observadas nas placas de Petri e três colônias típicas de cada placa foram submetidas a testes bioquímicos com Tríplice Açúcar Ferro (TSI), caldo Ureia Base e Lisina Ferro (LIA), incubadas por 24h à temperatura de 35 ± 1 °C (BRASIL 2003; BRASIL, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após os testes bioquímicos, observou-se que nenhuma das 20 amostras foi positiva para *Salmonella* spp. É possível que a ausência deste microrganismo nas amostras analisadas esteja relacionada com a qualidade da matéria-prima e com as condições higiênico-sanitárias, assim como execução de boas práticas de manipulação nos locais de comercialização, evitando assim a contaminação do alimento.

Estes resultados corroboram com os resultados encontrados por Livoni et al. (2013), onde foram analisadas 40 amostras de carne moída bovina em diferentes estabelecimentos do município de Umuarama no PR, e não foi constatado *Salmonella* spp. nas amostras.

Em outro estudo, Luz et al. (2015), também não obtiveram resultados positivos para *Salmonella* spp. ao analisarem 20 amostras de carne bovina moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte. Da mesma forma, Oliveira et al. (2017) não confirmaram a presença deste microrganismo em 60 amostras de carne moída bovina adquiridas em açougues de Bom Jesus, no Piauí.

A legislação brasileira, por meio RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece que a presença de *Salmonella* spp. em 25g de carnes e produtos cárneos torna-os inapropriados para o consumo. Porém, em alguns estudos foi demonstrada a presença de *Salmonella* spp. em carne bovina moída.

Na pesquisa feita por Gomes et al. (2017), os autores encontraram esta bactéria em 100% das 20 amostras investigadas. Em estudo realizado por Dammer et al. (2014), foi analisado um total de 14 amostras e encontraram *Salmonella* spp. em 14,28% das amostras de carne moída bovina.

De acordo com Soares et al. (2015), a carne bovina *in natura* pode representar um risco a saúde dos consumidores, principalmente quando o processo de manipulação é inadequado. Em relação à carne moída, esta apresenta uma superfície de contato maior, tornando-a ampla fonte de contaminação.

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2008), foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne e mãos de manipuladores em estabelecimentos comerciais do município de Lavras, e observou-se a higienização inadequada das máquinas de moer e mão dos manipuladores, o que de acordo com os autores estaria sendo responsável pelo significativo aumento da contagem de microrganismos deteriorantes e patogênicos na maioria das amostras das carnes após a moagem e manipulação, encontrando-se muitas vezes impróprias para o consumo humano.

Nesse contexto, ressalta-se que em outubro de 2018 foi realizado um recall de aproximadamente 6.5 milhões de toneladas de carne bovina, incluindo carne moída, sob a suspeita de contaminação por *Salmonella* Newport. Ainda neste período foi reportado que 120 pessoas em 22 estados dos Estados Unidos foram infectadas

também por cepas de *Salmonella* Newport, e destas 33 foram hospitalizadas (CDC, 2018b).

São diversos os fatores que corroboram com a contaminação da carne, e além de deficiências higiênicas durante o processo do abate, o tempo e a temperatura que o produto fica estocado no varejo e nos pontos de venda deve ser levado em consideração (LOPES et al., 2017).

Assim, de acordo com Antunes et al. (2016), para garantir a segurança no consumo de carnes, devem ser considerados as condições de abate, o transporte e armazenamento, e principalmente submetê-las a processos de cocção adequados, atingindo temperaturas seguras no centro geométrico, garantindo assim a eliminação de bactérias patogênicas.

Além disso, os consumidores também precisam ser orientados sobre a importância de adquirir o produto em locais adequados que atendam as condições higiênico-sanitárias e sobre o risco do consumo de alimentos contaminados.

4 | CONCLUSÃO

As amostras de carne bovina moída analisadas estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira no que diz respeito a ausência de *Salmonella* spp. em produtos cárneos. Porém, estes resultados não excluem a necessidade de constante monitoramento destes microrganismos, principalmente por serem patogênicos, visando o fornecimento de alimentos com qualidade higiênico-sanitária aos consumidores e assim evitando pôr em risco a saúde pública.

Para tanto, é imprescindível realizar periodicamente treinamentos com a equipe de manipuladores no que diz respeito às boas práticas envolvendo o processo de produção e manipulação de alimentos a fim de evitar a contaminação dos produtos.

Além disso, é importante também orientar e treinar comerciantes de produtos cárneos sobre as boas práticas de manuseio, assim como esclarecer os mesmos sobre a importância de manter o ambiente livre de qualquer possibilidade de contaminação do produto.

REFERÊNCIAS

AKBAR, A.; ANAL, A. K. **Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v. 3, n. 2, p. 163 – 168, 2013.

ANTUNES, A. R. et al. **Pesquisa de coliformes em carne bovina comercializada no Município do Vale do Jequitinhonha - MG.** Higiene Alimentar, v. 30, n. 256/257, p. 82-86, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Diário Oficial da União de 18/09/2003.

BRASIL. Ministério da saúde. Diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*, Manual Técnico de

Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp., Séries A. **Normas e manuais técnicos**, Brasília – DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, **Secretária de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, junho de 2018, disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>>, acesso em: 07 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2001.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Salmonella**. 2018a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>, acesso em: 27 de novembro de 2018.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Outbreak of Salmonella Infections Linked to Ground Beef**. 2018b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/newport-10-18/index.html>>, acesso em: 27 de novembro de 2018.

CORCORAN, M, **Salmonella enterica - biofilm formation and survival of disinfection treatment on food contact surfaces**, [tese], National University of Ireland, Galway, p.4, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10379/3515>>, acesso em: 09 de julho de 2018.

DAMER, J. R. S.; DILL, R. E.; GUSMÃO, A. A.; MORESCO, T. R. **Contaminação de Carne Bovina Moída Por Escherichia coli e Salmonella Spp**. REVISTA Contexto & saúde. v. 14 n. 26 p. 20-27. 2014.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, EFSA (European Food Safety Authority) e European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), **The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016**. EFSA Journal, n. 15, v. 12, 228 pp, 2017.

GOMES, A. F.A.; ALMEIDA, E. E. S.; SOUZA, S. A.; SILVA, J. P.; AMÂNCIO, T. A.; SANTOS, C. C.; BARBOSA, R. P.; OLIVEIRA, F. S.; FARIAS, P. K. S., **Avaliação microbiológica de carnes moídas bovinas em diferentes estabelecimentos comerciais, comunicação**. Caderno Ciências Agrárias, v. 9, n. 3, p. 95–100, 2017.

GONÇALVES, K. O.; YAMANAKA, E. H. U.; ALMEIDA, A. P. I.; CHANO, L. J.; RIBEIRO, A. B. **Campylobacter spp. em carne de frango**. Alim. Nutr., v. 23, n. 2, p. 211-216, abr./jun. 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LIVONI, J. F. L. S.; BEGOTTI, I. L.; MERLINI, L.S. **Qualidade higiênico-sanitária da carne bovina moída comercializada no município de Umuarama, PR., Brasil**. Enciclopédia Biosfera Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.9, n.16, p.1881-1886, 2013.

LOPES, M. A. et al. **Fatores associados a percepção e atitude de consumidores de carne bovina com certificação de origem em Uberlândia, Minas Gerais**. Revista Ceres, v. 64, n. 1, p.31-39, 2017.

LUZ, J. R. D.; ARAÚJO, J. H. L.; BATISTA, D.; SILVA, T. C.S.; ARAÚJO, L. B. A.; CARVALHO, C.T., **Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte**. Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde, Natal, v. 2, n. 2, p.86-90, 2015.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICCOLI, R. H. **Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída**. Ciênc. agrotec., v. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008.

OLIVEIRA, M. S.; SOUSA, V. C.; OLIVEIRA, C. P.; NUNES, G. S.; NATYLANE, E. F.; MACHADO, F. C. F.; MACHADO JÚNIOR, A. A. N., **Qualidade físico-química e microbiológica da carne moída de bovino em açougues**. REDVET Revista Electrónica de Veterinária, v. 18, n. 12, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Foodborne Diseases, Food Safety**, disponível em: < http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/en/>, acesso em: 08 de novembro de 2018.

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE GENGIBRE APLICADOS EM HAMBÚRGUER DE FRANGO

Valesca Kotovicz

Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Departamento de Engenharia de Alimentos,
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/3132790170808504>

Laís Juliana Moreto

Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Departamento de Engenharia de Alimentos,
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/6744071856122849>

Deise Caroline Biassi

Universidade Federal da Fronteira Sul, Colegiado
de Engenharia de Alimentos, Laranjeiras do Sul –
PR
<http://lattes.cnpq.br/3450909367389389>

Eduarda Molardi Bainy

Universidade Federal da Fronteira Sul, Colegiado
de Engenharia de Alimentos, Laranjeiras do Sul –
PR
<http://lattes.cnpq.br/7555755574722844>

Roberta Letícia Kruger

Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Departamento de Engenharia de Alimentos,
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/6022126815262731>

Michele Cristiane Mesomo Bombardelli

Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Departamento de Engenharia de Alimentos,
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/9550512702059307>

RESUMO: Dentre as possibilidades para substituir parcialmente ou totalmente os aditivos sintéticos em alimentos encontra-se a utilização de extratos vegetais, que são capazes de impedir ou retardar a degradação e oxidação de compostos presentes nos alimentos. Os produtos a base de carne de frango foram escolhidos como alvo da pesquisa pelo fato de que a carne de frango apresenta boa aceitação pelos consumidores além de ser muito apreciada por pessoas que buscam hábitos de vida mais saudáveis, sem conservantes sintéticos. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação antioxidante do óleo essencial e do extrato supercrítico de gengibre em carne processada de frango e comparar com o conservante convencional (sal de cura). A formulação base utilizada foi caracterizada quanto ao teor de umidade, cinzas, proteína, lipídeos e carboidratos totais. Foram testadas quatro formulações diferentes de hambúrguer de frango, e os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e a atividade antioxidante por TBA (ácido tiobarbitúrico) foram avaliados após 0, 12, 24 e 48 horas de armazenamento. A caracterização físico-química do hambúrguer atendeu as especificações técnicas estabelecidas pela legislação vigente para este produto, quanto ao teor de lipídeos e proteínas. Para todas as formulações foi observado diminuição

da luminosidade (L*) nas primeiras 12 h de armazenamento. Os maiores teores de malonaldeído (MDA) foram observados após 12 h de armazenamento para todas as formulações investigadas. O teor máximo observado foi de 1,297 mg MDA/ Kg de produto apresentado pela formulação desenvolvida com aplicação de conservante sintético. Os resultados sugerem que os extratos de gengibre podem ser utilizados como substitutos parciais ou totais de agentes oxidantes sintéticos em alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: *Zingiber officinale* Roscoe, extrato vegetal, produtos cárneos, TBA.

ANTIOXIDANT POTENTIAL OF GINGER EXTRACTS APPLIED IN CHICKEN HAMBURGER

ABSTRACT: Among the possibilities for partially or totally replacing synthetic additives in foods is the use of plant extracts, which can prevent or retard the degradation and oxidation of compounds present in foods. Chicken meat products were chosen as a research target because chicken meat is well accepted by consumers and is much appreciated by people looking for healthier lifestyle without synthetic preservatives. Thus, this article aimed to evaluate the antioxidant activity of ginger essential oil and ginger supercritical extract in processed chicken meat and compare it with conventional preservative (curing salt). The base formulation used was characterized by moisture content, ash, protein, lipids and total carbohydrates. Four different chicken hamburger formulations were tested, and color parameters (L*, a* and b*) and antioxidant activity by TBA (thiobarbituric acid) were evaluated after 0, 12, 24 and 48 hours of storage. The physicochemical characterization of hamburger met the technical specifications established by the current legislation for this product, regarding the lipid and protein content. For all formulations a decrease in brightness (L*) was observed in the first 12 h of storage. The highest levels of malonaldehyde (MDA) were observed after 12h storage for all formulations investigated. The maximum observed content was 1.297 mg MDA / kg of product presented by the formulation developed with application of synthetic preservative. The results suggest that ginger extracts can be used as partial or total substitutes for synthetic oxidizing agents in foods.

KEYWORDS: *Zingiber officinale* Roscoe, plant extract, meat products, TBA.

1 | INTRODUÇÃO

Os rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e seus extratos são amplamente utilizados na medicina popular e existem muitos estudos que confirmam seus efeitos benéficos contra os sintomas de doenças, atuando como anti-inflamatório, antitumoral, analgésico, anti-hemorragico, antifúngico e antibacteriano (Sunilson, et al., 2009; Chan et al., 2009; Sivasothy et al., 2011; Mesomo et al., 2012; Shukla et al., 2019).

Os extratos de gengibre foram identificados em muitos estudos como contendo um alto conteúdo de compostos antioxidantes (Singh et al., 2008; Purnomo et al.,

2010; Oboh et al., 2012). Os antioxidantes são compostos que atuam como inibidores na formação de radicais livres interferindo no mecanismo de oxidação lipídica. A rancidez oxidativa é a deterioração mais importante que ocorre em produtos cárneos, definindo a vida útil, na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (Fennema et al., 2010). Para evitar tais problemas tecnológicos são aplicados conservantes sintéticos (sal de cura) em produtos cárneos. Porém o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos está diminuindo devido aos efeitos colaterais como alergias e possíveis ações promotoras de câncer. Além disso, estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de esses antioxidantes apresentarem efeito tóxico.

Nesse caso, a procura por substâncias antioxidantes naturais tem aumentado nas últimas décadas, em especial os produtos naturais extraídos de plantas medicinais. Os extratos, devido a sua origem, são classificados como produtos naturais, o que tem aumentado a aceitação por parte dos consumidores, que estão cada vez mais preocupados em obter alimentos saudáveis (Sacchetti et al., 2005; Sivasothy et al., 2011; Lima Júnior et al., 2013). Antioxidantes naturais na indústria de alimentos são importantes não apenas devido a sua utilidade como método de prevenção da oxidação, aumentando a vida útil de uma grande variedade de alimentos (Ibañez et al., 2003; Fennema et al., 2010, Mesomo et al., 2012; Mattje et al., 2019), mas também devido seus efeitos benéficos na saúde humana.

Atualmente, o teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) ou TBARS (Substâncias reativas no ácido 2-tiobarbitúrico) é o mais utilizado para verificação dos efeitos da oxidação lipídica em carnes e derivados. Esse teste quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos dos ácidos graxos poli-insaturados. Sendo formado durante o processo oxidativo o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos um e três (Osawa, et a., 2005; Junior et al., 2013).

Neste contexto, o presente trabalho teve o objetivo de verificar o potencial antioxidante do óleo essencial e extrato supercrítico de gengibre aplicados em hambúrguer de frango, e comparar com o produto produzido com antioxidante sintético (sal de cura).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Os hambúrgueres de frango foram elaborados a partir da formulação base descrita na Tabela 1. Foram retiradas todas as gorduras e ossos presentes nas carnes de frango. Em seguida, os demais ingredientes foram pesados em balança analítica e colocados em um multiprocessador para desenvolvimento de uma massa homogênea. Foram realizadas as medidas de umidade, cinzas, proteína, gordura e pH da formulação base conforme as técnicas descritas pela AOAC (1995). Os carboidratos

totais foram estimados por diferença. Foram produzidos mini-hambúrgueres com aproximadamente 10 g cada um. Duas amostras de cada formulação foram produzidas a fim de serem analisadas a atividade antioxidante por meio da metodologia TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) e a mudança de cor, pelos parâmetros L*, a* e b* determinados com o auxílio de colorímetro.

Ingredientes	Peso (g)
Peito de frango	50
Coxa sobre coxa	50
Cebola	12,5
Pimenta preta moída	0,1
Sal	3,75
Farinha de rosca	15
Óleo de soja	0,38

Tabela 1 - Composição da receita base do hambúrguer de frango

Foram analisadas quatro formulações: A primeira (F1) consistiu apenas na formulação base (sem aplicação de conservantes), a segunda (F2) conteve adição de sal de cura, a terceira (F3) conteve adição de óleo essencial de gengibre, e a quarta (F4) conteve adição de extrato supercrítico de gengibre, conforme quantidades especificadas na Tabela 2. Após a elaboração, os hambúrgueres de frango foram armazenados em estufa a 30 °C, e as análises de malonaldeído (MDA) por TBA, segundo a metodologia proposta por Bragagnolo et al. (2005) e a determinação da cor instrumental foram realizadas nos tempos 0, 12, 24 e 48 horas. Como conservantes naturais com possível potencial antioxidante, foram utilizados óleo essencial e extrato supercrítico obtidos a partir de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) via hidrodestilação e extração supercrítica, respectivamente. O óleo essencial de gengibre foi obtido no Laboratório de Processos de Separação (LaProS) no DEALI/ UNICENTRO e o extrato supercrítico de gengibre foi cedido pelo Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada (LACTA) do DEQ/UFPR.

Formulação	Ingredientes
F1	Formulação base
F2	Formulação base + 0,576 % de sal de cura
F3	Formulação base + 1,0 % de óleo essencial de gengibre
F4	Formulação base + 1,0 % de extrato supercrítico de gengibre

Tabela 2 - Formulações dos hambúrgueres de frango contendo substâncias com potencial antioxidante, a partir da receita base.

O desenvolvimento dos produtos bem como as análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Processos de Separação (LaProS), Usina de Carnes, Laboratório de Análise de Alimentos da Unicentro e Laboratório de Carnes da UFFS.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal da formulação base de hambúrguer de frango elaborado está expressa na Tabela 3. Os resultados obtidos foram comparados com a composição média citada pela TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, 2011), para o hambúrguer bovino.

Nutriente	Hambúrguer de Frango	Hambúrguer Bovino
Umidade	63,70 ± 0,19	63,6
Cinzas	3,91 ± 0,02	2,9
Proteínas	17,17 ± 1,77	13,2
Lipídeos Totais	1,48 ± 0,41	16,2
Carboidratos	13,73 ± 1,62	4,2

Tabela 3 - Composição centesimal por nutriente ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1} \pm \text{DP}$) da formulação base do hambúrguer de frango e de hambúrguer bovino cru, em base úmida (b.u.).

Os teores de umidade e cinzas apresentaram-se próximos aos valores médios declarados para amostras de hambúrguer bovino, pela TACO. O teor de proteínas apresentou-se superior no hambúrguer de frango quando comparado ao bovino, enquanto o teor de gordura foi consideravelmente mais baixo. Isso deve-se provavelmente ao fato de toda pele e gordura terem sido retiradas das carnes de aves usadas na elaboração do produto, além do baixo conteúdo de óleo de soja adicionado na formulação. Segundo a Instrução Normativa N°20, de 31 de julho de 2000 do MAPA (Brasil, 2000) que aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer, a quantidade máxima de gordura permitida é de 23 %, enquanto o teor mínimo de proteínas exigido é de 15 %. Desta forma, o hambúrguer de carne de frango atende as especificações técnicas exigidas. O elevado teor de carboidratos determinado no produto de frango deve-se possivelmente a adição da farinha de rosca na formulação.

A cor da carne e de produtos cárneos é um importante aspecto de aceitabilidade do consumidor, dependente principalmente do estado químico e físico do pigmento mioglobina, que pode se apresentar com diferentes cores sob várias condições de estocagem, ou que são produzidos pela cura e/ou aquecimento do produto. A cor observada na superfície das carnes é o resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros importantes componentes, como as fibras musculares e

suas proteínas, sendo também influenciada pela quantidade de líquido livre presente na carne (Sabadini et al., 2001). A quantidade de mioglobina em carnes de aves é menor, quando comparada com carnes bovinas ou suínas, por isso a carne de aves se apresenta mais branca e pálida.

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises de cor para hambúrguer de frango armazenados a 30 °C por até 48 horas. Para todas as formulações foi observado diminuição da luminosidade (L*) nas primeiras 12 h de armazenamento. É possível que este fato seja explicado pela adição de sal e condimentos, pela temperatura de armazenamento ou pelo contato com o ar, que podem produzir alteração da mioglobina para metamioglobina (de cor castanha) e devido a reações de oxidação.

Formulação	Tempo (h)	L*	a*	b*
F1	0	59,69 ± 1,49 ^a	3,37 ± 0,44 ^c	20,78 ± 0,24 ^a
	12	43,68 ± 0,49 ^b	6,49 ± 0,01 ^a	20,97 ± 0,64 ^a
	24	40,42 ± 0,19 ^b	4,65 ± 0,38 ^b	16,93 ± 0,01 ^a
	48	41,92 ± 3,47 ^b	4,63 ± 0,10 ^b	19,01 ± 2,93 ^a
F3	0	60,92 ± 1,51 ^a	3,17 ± 0,42 ^a	22,34 ± 0,19 ^a
	12	41,60 ± 0,82 ^b	6,90 ± 0,01 ^a	22,47 ± 0,61 ^a
	24	38,39 ± 0,11 ^b	6,79 ± 0,02 ^a	18,71 ± 0,43 ^a
	48	39,05 ± 2,98 ^b	6,43 ± 2,15 ^a	18,15 ± 3,81 ^a
F4	0	64,04 ± 0,90 ^a	1,57 ± 0,16 ^c	32,29 ± 0,04 ^a
	12	41,76 ± 1,09 ^b	6,73 ± 0,16 ^a	26,37 ± 1,40 ^b
	24	40,17 ± 0,24 ^b	6,22 ± 0,16 ^{ab}	22,58 ± 0,80 ^b
	48	40,53 ± 0,83 ^b	5,14 ± 0,71 ^{ab}	23,52 ± 1,01 ^b

Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros L*, a* e b* dos hambúrgueres de frango para cada formulação (F1: Formulação base, F2: Formulação base com sal de cura, F3: Formulação base com óleo essencial de gengibre; F4: Formulação base com extrato supercrítico de gengibre), armazenados a 30°C por 48 horas

^{abc} Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), para cada formulação

O parâmetro a* demonstram que as coordenadas cromáticas das amostras indicam vermelho, quando valores de a* são positivos. Houve variações significativas deste parâmetro pelo teste de Tukey (p<0,05) para as formulações F1 e F4, que apresentaram tendência ao aumento após 12 h de armazenamento. Para o parâmetro b*, houve uma propensão ao amarelo (valores +), sendo que o tratamento F4 obteve maiores valores, devido a coloração amarelo escuro apresentado pelo extrato supercrítico.

A rancidez oxidativa de lipídios, é a deterioração mais importante que ocorre em carnes e seus derivados, definindo a vida útil, na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos

graxos essenciais. O método mais usual na avaliação da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA (ácido tiobarbitúrico). O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda (Osawa et al., 2005).

A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas de malonaldeído. Os padrões mais frequentemente utilizados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) neste estudo foi utilizado o sal de malondialdeído tetrabutilamonio da Sigma Aldrich (cod. 63287-1G-F). Os resultados são expressos em unidades de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra (Osawa et al., 2005).

Na Tabela 5 são apresentados os valores de MDA encontrados para as diferentes formulações de hambúrguer de frango. Foi observado para todas as formulações que a maior quantidade de MDA foi encontrada após 24 h de armazenamento a 30° C. Esta não é a temperatura recomendada para o armazenamento deste produto, que deve ser armazenado em temperatura de refrigeração ou congelamento, porém para viabilizar o estudo e simular condições de oxidação aceleradas optou-se por essa temperatura.

Formulação	0h	12h	24h	48h
F1	0,417 ± 0,008 ^{cC}	0,372 ± 0,006 ^{dD}	0,750 ± 0,004 ^{dA}	0,468 ± 0,006 ^{cB}
F2	0,445 ± 0,015 ^{bcD}	0,958 ± 0,017 ^{aB}	1,297 ± 0,010 ^{aA}	0,809 ± 0,006 ^{aC}
F3	0,606 ± 0,013 ^{aD}	0,815 ± 0,011 ^{bB}	1,100 ± 0,012 ^{bA}	0,742 ± 0,004 ^{bC}
F4	0,453 ± 0,006 ^{bC}	0,495 ± 0,002 ^{cB}	0,881 ± 0,010 ^{cA}	0,423 ± 0,002 ^{dD}

Tabela 5 - Resultados da atividade antioxidante (mg MDA/Kg de carne) em hambúrgueres de frango (F1: Formulação base, F2: Formulação base com sal de cura, F3: Formulação base com óleo essencial de gengibre; F4: Formulação base com extrato supercrítico de gengibre), armazenados a 30°C por 48h

^{abcd} Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

^{ABCD} Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Quanto aos diferentes tratamentos estudados, a aplicação do extrato supercrítico produziu os menores valores de MDA após 48 horas de armazenamento, sendo então considerado um ótimo agente antioxidante, seguido do tratamento sem conservantes. É possível que a formulação sem conservantes tenha apresentado valor de MDA inferior a formulação com aplicação do óleo essencial de gengibre devido a oxidação

do próprio óleo essencial de gengibre. Resultados similares para oxidação lipídica foram encontrados para as formulações de fishburger de tilápia controle e com adição de óleo essencial e com extrato supercrítico de gengibre (Mattje et al., 2019). Os altos valores de MDA encontrados para a formulação com adição de sal de cura não corroboram as informações encontradas na literatura. Segundo Osawa et al. (2005) a presença de nitritos em produtos curados interfere no teste de TBA, sendo que as notas sensoriais e os números de MDA de carnes curadas não apresentam a correlação elevada encontrada para produtos cárneos cozidos não-curados. A interferência do nitrito ocorre até mesmo em pequenas quantidades de nitrito, da ordem de 10 mg/kg, são capazes de reduzir significativamente o número de MDA e tal redução aumenta de forma linear com o aumento da concentração de nitrito. A presença do agente de nitrosação em excesso pode converter os compostos a cetoaldeídos ou a dicetonas, ou ainda, todo o malonaldeído ou parcelas dele podem se tornar indisponíveis para reagir com o TBA, dependendo da quantidade presente do agente, tendo como resultado menores valores de MDA.

4 | CONCLUSÕES

A formulação base de hambúrguer desenvolvida atendeu aos parâmetros de identidade estabelecidos pela legislação vigente para este produto. Foi possível constatar que o extrato supercrítico e o óleo essencial de gengibre, apontados como bons agentes antioxidantes pela literatura, podem ser substitutos dos antioxidantes sintéticos em alimentos, pois além de terem apresentado melhores resultados na conservação do produto, diminuindo seu grau de oxidação em relação ao sal de cura, eles não apresentam riscos à saúde humana como causadores de alergias ou possíveis ações promotoras de câncer.

REFERÊNCIAS

AOAC. Official Methods of Analysis **Association of Official Analytical Chemists International**, Arlington, 1995.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. **Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment**. European Food Research and Technology, v. 221, n. 5, p. 610-615, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 20, de 31/07/2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer. **Instrução Normativa n° 20**. Brasília, 2000.

CHAN, E.W.C.; LIM, Y.Y.; WONG, S.K.; LIM, K.K.; TAN, S.P.; LIANTO, F.S.; YONG, M.Y. **Effect of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species**. Food Chemistry, v. 113, p. 166–172, 2009.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª edição.

Porto Alegre: Artmed, 2010.

IBAÑEZ, E.; KUBÁTOVÁ, A.; SEÑORÁNS, F. J.; CAVERO, S.; REGLERO, G.; HAWTHOME, S. B. **Subcritical Water Extraction of Antioxidant Compounds from *Rosemary* Plants**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, n.51, p.375, 2003.

LIMA JÚNIOR, D.M.; RANGEL, A.H.N.; URBANO, S.A.; MORENO, G.M.B. **Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina**. Acta Veterinaria Brasilica, v. 7, n. 1, p. 14-28, 2013.

MATTJE, L.G.B.; TORMEN, L.; BOMBARDELLI, M.C.M.; CORAZZA, M.L.; BAINY, E.M. Ginger essential oil and supercritical extract as natural antioxidants in tilapia fish burger. **Journal of Food Processing and Preservation**, 2019.

MESOMO, M. C.; SCHEER, A. DE P.; PEREZ, E.; NDIAYE, P. M.; CORAZZA, M. L. **Ginger (*Zingiber officinale* R.) extracts obtained using supercritical CO₂ and compressed propane: Kinetics and antioxidant activity evaluation**. Journal of Supercritical Fluids, v.71, p.102-109, 2012.

OBOH, G.; AKINYEMI, A.J.; ADEMILUYI, A.O. **Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro**. Experimental and Toxicologic Pathology, v. 64, p. 31–36, 2012.

OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. **Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos**. Química Nova, v. 28, n. 4, p.655-663, 2005.

PURNOMO, H.; JAYA, F.; WIDJANARKO, S.B. **The effects of type and time of thermal processing on ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) rhizome antioxidant compounds and its quality**. International Food Research Journal, v. 17, p. 335–347, 2010.

SABADINI, E.; HUBINGER, M.D.; SOBRAL, P.J. do A.; CARVALHO, B.C. **Alteração da atividade de água e da cor da carne no processo de elaboração de carne salgada desidratada**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 21, p.14-19, 2001.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. **Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods**. Food Chemistry, v.91, p.621-632, 2005.

SHUKLA, A.; NAIK, S.N.; GOUD, V.V.; DAS, C. **Supercritical CO₂ extraction and online fractionation of dry ginger for production of high-quality volatile oil and gingerols enriched oleoresin**. Industrial Crops and Products, v. 130, p.352-362, 2019.

SINGH, G.; KAPOOR, I.P.S.; PRATIBHA, S.; HELUANI, C.S.; LAMPASONA, M.P.; CATALAN, C.A.N. **Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale***. Food and Chemistry Toxicology, v. 46, p. 3295–3302, 2008.

SIVASOTHY Y.; CHONG, W.; HAMID, A.; ELDEEN, I. M.; SULAIMAN, S. A. F.; AWANG, K. **Essential oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and their antibacterial activities**. Food Chemistry, v. 124 p. 514–517, 2011.

SUNILSON, J.A.J.; SURAJ, R.; REJITHA, G.; ANANDARAJAGOPA, K. **In vitro antibacterial evaluation of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa* and *Alpinia galangal* extracts as natural food preservatives**. American Journal of Food Technology, v. 4, p. 192–200, 2009.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO. 4ª edição rev. e ampl. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) COMERCIALIZADA NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Alciléia Costa Vieira

Discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso- IFMT

Ariane Barbosa Alves

Discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso- IFMT

Marilu Lanzarin

Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso- IFMT

Daniel Oster Ritter

Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso- IFMT

Gilma Silva Chitarra

Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso- IFMT

Marcos Miranda Pereira

Possui graduação em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Mato Grosso (2004) e mestrado em Administração pela Universidade Federal de Rondônia - UNIR (2018).

Nagela Farias Magave Picanço Siqueira

Possui graduação em Licenciatura em Economia Doméstica pela Universidade Federal Rural do

Rio de Janeiro (1991), mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2003) e doutorado em Agronomia (Energia na Agricultura) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2010)

RESUMO: A castanha-do-Brasil é um produto extrativista de grande relevância econômica. Condições ambientais, manipulação impertinente e características do fruto oferecem subsídios para o crescimento de microrganismos contaminantes. O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária de Castanha-do-Brasil comercializada na Amazônia Ocidental através da pesquisa de *Salmonella* sp. e quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas. Foram coletadas duas amostras de Castanha-do-Brasil de três diferentes locais de comercialização: Boca do Acre (AM), Cujubim e Ji-Paraná (RO), totalizando seis amostras. A partir das análises realizadas foi identificado a presença de *Salmonella* sp. em duas amostras demonstrando que o consumo deste produto poderia trazer risco a saúde do consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: Castanha, *Salmonella* sp., Microbiologia.

INTRODUÇÃO

A castanha-do-Brasil é um produto extrativista de grande relevância econômica para a Amazônia brasileira, após beneficiada constitui um dos principais produtos de exportação, encontrado em floresta tropical úmida (SOUZA *et al*, 2004a), pertence à família *Lecythidaceae*, do gênero *Bertholletia* e espécie *Bertholletia excelsa* H.B.K., também conhecida popularmente como: castanha-do-pará, castanheira, castanheira-verdadeira, castanheiro, castanha-do-Brasil, amendoeira-da-américa castanha-da-Amazônia e castanha-mansa (CORRÊA, 1984; LORENZI, 1992). O Ministério da Agricultura através do Decreto 51209 de 18/09/1961, para efeito de comércio exterior, regulamentou a denominação de Castanha-do-Brasil (BRASIL, 1961).

Para a obtenção das sementes, os ouriços (frutos) são coletados no chão após sua queda espontânea. Posteriormente retira-se as sementes dos frutos através do quebramento do invólucro lenhoso (CORRÊA, 1984; LORENZI, 1992). O contato das castanhas com o solo por um período que pode variar de poucos dias até 4 meses, consiste em uma etapa relevante em virtude das condições ambientais e da decomposição da matéria orgânica aderida externamente à casca com resultante proliferação de microrganismos (SOUZA *et al*, 2004a). Por essa razão a coleta assim como o armazenamento da castanha-do-Brasil é uma etapa na qual deve ser realizada buscando a obtenção de um produto de qualidade e seguro.

No período pós-colheita e durante o processamento, alguns microrganismos podem estar presentes naturalmente no ambiente de produção da castanha-do-Brasil, que sob condições propícias, como: alta atividade de água, temperatura ambiente com elevada umidade relativa, bem como baixo nível tecnológico e organizacional da cadeia produtiva, beneficiam sua proliferação (ÁLVARES e WADT, 2011).

Diante do exposto o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária de Castanha-do-Brasil comercializada na Amazônia Ocidental através da pesquisa de presença e ausência de *Salmonella* sp. e quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas duas amostras de Castanha-do-Brasil de três diferentes locais de comercialização: Boca do Acre (AM), Cujubim e Ji-Paraná (RO). Essas amostras foram identificadas e transportadas em temperatura ambiente ao laboratório de microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, *Campus Cuiabá Bela Vista*.

Antes de se iniciar as análises microbiológicas os materiais e meios utilizados

foram submetidos a esterilização em autoclave a 121°C por 15 minutos. As mãos do analista assim como a superfície de trabalho foram higienizadas com álcool 70%. As amostras foram trituradas na embalagem e pesadas, em balança analítica.

Para pesquisa de *Salmonella* sp. foram pesadas 25 g de amostra e adicionado 225mL de Água Peptonada Tamponada (APT) 1% em recipiente estéril e homogeneizada durante 60 segundos sendo incubada em estufa a 36°C por 20 horas sendo a etapa de pré enriquecimento. Após a etapa de pré enriquecimento foi realizado o enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport Vassiliadis e Caldo Selenito Cistina, plaqueamento em Ágar Verde Brilhante e Ágar Xilose Lisina Desoxilato, sendo então confirmadas as colônias características em testes bioquímicos. Os resultados foram tabulados e submetidos a análise descritiva.

Na quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas foram pesadas 25 g de amostra e adicionada à 225 mL de Solução Salina Peptonada a 0,1% (SSP) obtendo-se a diluição inicial 10^{-1} , e partir da mesma, foram realizadas as demais diluições decimais seriadas, transferindo assepticamente 1 mL da diluição 10^{-1} para tubos contendo 9mL de SSP 0,1%, obtendo-se as diluições 10^{-2} e posteriormente 10^{-3} . Foi utilizado a técnica de plaqueamento em profundidade (“pour plate”) e o meio ágar padrão para contagem, sendo as placas incubadas em estufa a 36°C por 48 horas. Os resultados foram tabulados e submetidos a Análise de Variância e teste de médias.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Brasil (2003) e Silva et al (2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas de Castanha-do-Brasil (Tabela 1) foram comparados com os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira para pesquisa de *Salmonella* sp. para amêndoas e similares (BRASIL, 2001), sendo que para quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas não há especificação na legislação brasileira.

Local de Coleta	BHAM (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp.
Boca do Acre - AM	$1,0 \times 10^4$ a	Presente
Cujubim - RO	$4,0 \times 10^3$ ab	Ausente
Ji-Paraná - RO	$2,1 \times 10^3$ b	Presente

Tabela 1- Resultado da Pesquisa de *Salmonella* sp. e Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) em Castanha-do-Brasil comercializada na Amazônia Ocidental

Médias seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

Duas das três amostras analisadas, apresentaram presença de *Salmonella* sp.

A *Salmonella* sp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos Gram-negativos não produtores de esporos, estão presentes no trato gastrointestinal de humanos e animais, são uma das principais bactérias responsáveis por intoxicações alimentares no mundo. Essas bactérias podem ser transmitidas através de contaminação cruzada como mãos mal higienizadas, utensílios e equipamentos contaminados (FORYSTHE, 2013). A presença de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas pode indicar falha na manipulação e condição higiênico sanitária ineficaz durante o beneficiamento do produto.

Segundo Souza *et al* (2004a), a microbiota da castanha-do-Brasil pode conter bactérias potencialmente patogênicas como *Salmonella* sp, *Shigella*, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* que podem contaminar as castanhas ao longo de toda a cadeia produtiva, especialmente nas etapas que ocorrem maior manipulação, como é o caso do beneficiamento, em indústrias não automatizadas.

Em estudo com castanha do brasil Santos (2012) avaliou as características físicas, físico-química e microbiológica e verificou ausência desse microrganismo, mostrando assim que a matéria prima e seu respectivo processamento estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente e com eficiente aplicação de boas práticas de fabricação e higiene. Rodrigues *et al* (2012) avaliou a qualidade microbiológica de castanhas de caju (*Anacardium occidentale*, L.) industrializadas e processadas artesanalmente e também não encontrou a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras. Entretanto, no presente estudo observou-se a presença de *Salmonella* sp. em duas das amostras analisadas apontando para possíveis falhas na cadeia produtiva e contaminação da castanha-do-Brasil tornando-a imprópria para o consumo.

Na qualidade microbiológica os aspectos econômicos devem ser observados, tendo em vista que um alimento contaminado ou deteriorado ocasiona elevadas perdas econômicas e de saúde pública pois pode ser um agente de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2011). Castanhas contaminadas podem causar intoxicações e riscos significativos à saúde humana. A implantação de Boas Práticas de Fabricação durante o processo produtivo da Castanha-do-Brasil é extremamente necessária pra a obtenção de um produto de qualidade e seguro.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 1, observa-se uma contaminação mais acentuada por bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas nas amostras de Boca do Acre, sendo estatisticamente semelhante aos resultados encontrados para as amostras coletadas em Cujubim e estatisticamente diferente de Ji-Paraná, sendo esta a que apresentou menor contagem para este grupo de bactérias. A contagem elevada desse grupo de bactérias indica condição higiênico sanitária insatisfatória durante o processamento e/ou armazenamento do produto (FRANCO, 2008).

A alta contagem dessas bactérias nas amostras pode ter ocorrido em virtude

do período que pode variar de dias até quatro meses que as castanhas permanecem expostas em contato com o solo durante a coleta, sendo que as condições ambientais e a decomposição da matéria orgânica aderida externamente à casca resulta na proliferação de microrganismos. Segundo Souza *et al* (2004a), na Castanha-do-Brasil podem ser encontradas bactérias mesófilas aeróbias ou facultativas tanto na forma vegetativa como esporulada, por essa razão a coleta assim como o armazenamento da castanha-do-Brasil é uma etapa importante e que deve ser realizada buscando a obtenção de um produto de qualidade e seguro.

O beneficiamento da Castanha-do-brasil envolve muita manipulação, portanto exige rigorosa atenção e higienização para obtenção de um produto com qualidade microbiológica garantida. A manipulação inadequada e implementação ineficiente de boas práticas de fabricação favorecem a proliferação de microrganismos indesejáveis que comprometem a qualidade do produto.

Souza *et al* (2004b) avaliou a qualidade microbiológica de Amêndoas de castanha-do-Brasil em usinas de beneficiamento e detectou índices elevados de bactérias mesófilas aeróbias ou facultativas, presentes tanto na forma vegetativa como esporulada, segundo os autores a presença dessas bactérias ocorreram em virtude de condições inadequadas durante uma ou mais fases do processamento, principalmente pela manipulação sem cuidados higiênicos necessários.

CONCLUSÃO

A presença de *Salmonella* sp em duas das amostras analisadas, demonstra que o consumo deste produto poderá trazer risco a saúde do consumidor, estando este impróprio para o consumo. Os índices elevados de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas podem indicar falhas na aplicação das boas práticas de fabricação, no processamento, na embalagem e/ou no armazenamento do produto.

REFERÊNCIAS

ÁLVARES, V. S.; WADT, L. H. O. Procedimentos para o controle higiênico-sanitário da castanha-do-brasil na floresta. Rio Branco, **Embrapa Acre**, 2011. Disponível em < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/938589/1/24416.pdf> >. Acesso em 8 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análise Microbiológica para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 51.209, de 18/08/1961. Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização da exportação da “Castanha-do-Brasil”. Brasília/DF: **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 de agosto de 1961. p.853-855.

CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **In:** Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **Imprensa Nacional** Brasília, 1984.

FORYSTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos/** - 2. Ed.- Porto Alegre: Armend, 2013.

FRANCO, B. D.G. M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo, Ed. Atheneu, 2008.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum 352p.-col.illus. Por Geog, v. 4, 1992.

OLIVEIRA, W. M; OLIVEIRA, M. L. M. Parâmetros de Qualidade de Amêndoas de Castanha- do-Brasil Comercializadas Em Rio Branco-Acre. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 2, 2011.

RODRIGUES, A. M. D. et al. Qualidade microbiológica de castanhas de caju (*Anacardium occidentale*, L.) industrializadas e processadas artesanalmente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 415-419, 2012

SILVA, N. **Manual de Métodos de Análise microbiológica de alimentos e água/** Neusely da Silva... (et al) 5º ed.-São Paulo: Blucher.2017.

SOUZA, J. M. L. et al. Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Castanha do Brasil. **Embrapa Acre**, 2004. Disponível em < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Manual+castanha_000g2hia5yh02wx5ok0ghx3a9j5yyj4v.pdf >. Acesso em 12 de Out. 2018. 2004a.

SOUZA, J. M. L. et al. Avaliação microbiológica de amêndoas de castanha-do-brasil em usinas de beneficiamento no Acre. **Embrapa Acre-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2004.b

SANTOS, O. V. Estudo das potencialidades da castanha-do-brasil: produtos e subprodutos. Tese (Doutorado Tecnologia Bioquímica Farmacêutica) - **Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciência Farmacêutica.** São Paulo, 2012.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEIXE PINTADO AMAZÔNICO (*Pseudoplatystoma fasciatum* X *Leiarius marmoratus*) COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ - MT

Talitha Maria Porfírio

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá – MT

Alessandra Almeida da Silva

Bacharel em Engenharia de Alimentos- IFMT Campus Cuiabá- Bela Vista, Cuiabá – MT

Iara Oliveira Arruda

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

Helen Cristine Leimann

Curso de Engenharia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

Thamara Larissa de Jesus Furtado

Curso de Engenharia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

Natalia Marjorie Lazon de Moraes

Curso de Engenharia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

Daniel Oster Ritter

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

Marilu Lanzarin

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de

Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá - MT

RESUMO: A busca por melhor qualidade de vida e hábitos alimentares saudáveis vem causando aumento no consumo do pescado devido ao seu alto valor nutritivo. Porém o pescado devido a suas características é susceptível a deterioração o que prejudica sua qualidade. O objetivo deste estudo foi verificar a qualidade microbiológica de filés de peixe pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* X *Leiarius marmoratus*) comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Cuiabá - MT. Das amostras analisadas, duas apresentaram contaminação por *Salmonella* sp. e presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Os resultados indicam que duas amostras estavam impróprias para consumo podendo acarretar riscos à saúde do consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: Pescado; Qualidade; Contaminação.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PINTADO AMAZÔNICO FISH TEARS (*Pseudoplatystoma fasciatum* X *Leiarius marmoratus*) COMMERCIALIZED IN THE MUNICIPALITY OF CUIABÁ - MT

ABSTRACT: The search for better quality of life and healthy eating habits has been causing an

increase in fish consumption due to its high nutritional value. But the fish due to its characteristics is susceptible to deterioration which impairs its quality. The objective of this study was to verify the microbiological quality of painted fish fillets (*Pseudoplatystoma fasciatum* X *Leiarius marmoratus*) sold in different establishments in the city of Cuiabá - MT. From the analyzed samples, two presented contamination by Salmonella sp. and presence of positive coagulase Staphylococcus. The results indicate that two samples were unfit for consumption and could pose risks to consumer health.

KEYWORDS: Fish; Quality; Contamination.

1 | INTRODUÇÃO

Nos últimos anos é possível observar, no Brasil, um aumento tanto na produção quanto no consumo de pescado. Em 2015, foram produzidas cerca de 483 mil toneladas de peixe, 1,5% a mais em relação a 2014, e o consumo já ultrapassou o recomendado pela Organização Mundial da Saúde, de 12 kg por habitante ao ano, chegando a 14,4 kg por habitante/ ano em 2015. Dentre os estados produtores, Mato Grosso ocupa o 3º lugar, com 47,4 mil toneladas, atrás apenas dos estados de Rondônia e Paraná com 84,3 mil e 69,2 mil toneladas, respectivamente (PORTAL BRASIL, 2017).

Este aumento no consumo pode ser justificado uma vez que a população está em busca de qualidade de vida, aliando a prática de exercícios com uma alimentação mais saudável. Neste contexto, a carne de pescado se destaca frente aos demais produtos de origem animal em virtude de suas características nutricionais, como proteínas de alto valor biológico, presença de lipídeos insaturados da série ômega 3 e 6, além da alta digestibilidade da sua carne (BARRETO et al., 2012; DE OLIVEIRA SARTORI e AMANCIO, 2012).

Apesar do aumento de consumo e do seu alto valor nutricional, o pescado é um alimento altamente propenso a deterioração, por apresentar em sua composição química pH próximo a neutralidade, alta atividade de água e diversos nutrientes que favorecem o crescimento de diversos microrganismos. Além dos fatores intrínsecos, existem ainda os fatores extrínsecos, como temperatura, manipulação da carne e condições de armazenamento, que podem acarretar em perdas de qualidades físicas químicas, sensoriais e microbiológicas do pescado. (DELBEM et al., 2010; BARRETO et al, 2012; DE PAIVA SOARES e GONÇALVES; 2012).

Devido a isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de filés de peixe pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Cuiabá - MT.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de filés de pintado amazônico (*P. fasciatum* x *L. marmoratus*) congelado em três estabelecimentos distintos em Cuiabá - MT. As amostras adquiridas foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável, mantidas resfriadas a 4°C, e transportadas em prazo inferior a duas horas para o laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) para a realização das análises microbiológicas.

Antes de iniciar os procedimentos, todo o material foi esterilizado em autoclave, e a bancada sanitizada com álcool 70%. Para obtenção das diluições decimais foram pesados 25 gramas da amostra em balança analítica e adicionado 225 mL de Solução Salina Peptonada a 0,1% (SSP) obtendo-se a diluição inicial 10^{-1} . A partir da mesma, foram realizadas as demais diluições decimais seriadas, transferindo assepticamente 1 mL da diluição 10^{-1} para 9mL de SSP 0,1%, obtendo-se a diluição 10^{-2} e posteriormente a diluição 10^{-3} , sendo estas utilizadas para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva por meio de plaqueamento em superfície. Para a pesquisa de ausência ou presença de *Salmonella* spp., foram pesados 25 gramas da amostra e adicionado 225mL de Água Peptonada Tamponada (APT) 1% em recipiente estéril e homogeneizada durante 60 segundos, obtendo-se o pré enriquecimento e a partir deste passou-se para as etapas de enriquecimento seletivo, plaqueamento e testes bioquímicos.

Todas as análises foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela Instrução Normativa nº 62, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003) e Silva et al (2017), e os resultados obtidos foram tratados e avaliados por análise estatística descritiva para *Salmonella* spp e por análise estatística de variância (ANOVA) e teste de média de Tukey a 5% de significância utilizando o software R Core Team para *Staphylococcus* coagulase positiva.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas de filés de peixe pintado amazônico estão expressos na Tabela 1 e foram comparados com a legislação brasileira vigente. De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pescados "*in natura*", resfriados ou congelados não consumidos crus, devem apresentar na avaliação de qualidade microbiológica ausência de *Salmonella* sp. em 25g de alimento, e a tolerância de 10^3 UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva. (BRASIL, 2001).

Amostras	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp.
A	1×10^1 UFC/g ^b	Positivo
B	$9,5 \times 10^1$ UFC/g ^a	Negativo

Tabela 1: Resultados da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* sp. em filés de peixe pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) comercializados em Cuiabá-MT.

Letras iguais na mesma coluna, os resultados não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5%, para as amostras avaliadas.

Fonte: Autor (2018).

Ao observar a tabela 1, é possível observar que as amostras dos estabelecimentos A e C não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, enquanto as amostras do estabelecimento B obtiveram contagens estatisticamente superiores.

Das três amostras analisadas, apenas uma exibiu a ausência *Staphylococcus* coagulase positiva, no entanto as duas amostras que apresentaram a presença da mesma, estão dentro dos padrões que a legislação brasileira estabelece. Geralmente, bactérias do gênero *Staphylococcus* são transmitidas pelo manipulador, pois estão naturalmente presentes na pele e mucosas do mesmo, e por isso a presença no alimento pode indicar falhas nas práticas de higiene.

Ao contrário deste estudo, Delbem e colaboradores (2010) durante a avaliação microbiológica de pintado obtido no rio Paraguai, na região do Pantanal e conservado em gelo não constataram a presença de *Staphylococcus*, assim como De Paiva Soares (2014) que verificaram a ausência de *Staphylococcus* coagulase positivo em todas as amostras filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a verificação da sua qualidade microbiológica durante o armazenamento em gelo.

Na pesquisa de ausência ou presença de *Salmonella* spp., duas das três amostras analisadas apresentaram a presença da mesma, estando fora dos padrões estabelecidos pela legislação, que prevê a ausência deste patógeno em 25g de alimento. Esse resultado demonstra que o pescado em questão está impróprio para o consumo, uma vez que bactérias desse gênero são extremamente patogênicas, podendo causar Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's).

Bactérias do gênero *Salmonella* sp. estão naturalmente presentes no trato intestinal de animais de sangue quente e de humanos, portanto no pescado a sua presença pode indicar falha na obtenção do pescado e/ou falhas durante a manipulação, na adoção de boas práticas de manipulação, acarretando na contaminação do filé durante o processamento, através do manipulador, do contato com superfícies mal higienizadas e/ou contaminação cruzada (BARTOLOMEU et al., 2011).

Em estudo sobre avaliação microbiológica de pintado obtido no rio Paraguai e conservado em gelo, Delbem et al. (2010) verificaram a ausência da *Salmonella* em todas as amostras analisadas, resultado associado pelos autores ao cumprimento dos princípios de higiene durante o todo o processo de manipulação do pescado.

4 | CONCLUSÃO

Com base nos resultados observou-se que das amostras analisadas de filés de pintado amazônico comercializados em Cuiabá-MT, duas apresentaram contaminação por *Salmonella* sp., estando impróprias para consumo e podendo acarretar riscos à saúde do consumidor como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's).

REFERÊNCIAS

- BARRETO, N. S. E. et al. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas, Bahia.** Revista Caatinga, v. 25, n. 3, p. 86-95, 2012.
- BARTOLOMEU, D. A. F. S. et al. **Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*).** Archives of veterinary Science, 2011, 16.1.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos,** Diário Oficial da União. Brasília - DF, 2001.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003 que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água,** Diário Oficial da União. Brasília-DF, p. 14-18, 2003.
- DELBEM, Á. C. B. et al. **Avaliação microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscas*) obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e conservado em gelo.** Embrapa Pantanal - Artigo em anais de congresso 5. SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SOCIOECONÔMICOS DO PANTANAL, 2010, Corumbá, MS. Corumbá: Embrapa Pantanal: UFMS; 2010.
- DE OLIVEIRA SARTORI, A. G.; AMANCIO, R. D. **Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil.** Segurança alimentar e nutricional, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.
- DE PAIVA SOARES, K. M.; GONÇALVES, A. A. **Qualidade e segurança do pescado.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.
- DE PAIVA SOARES, K. M.; GONÇALVES, A. A.; BARBOSA DE SOUZA, L. **Qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo.** Ciência Rural, 2014, 44.12.
- PORTAL BRASIL. **Produção de peixes no Brasil cresce com apoio de pesquisas da Embrapa. [2017].** Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa#wrapper> >. Acesso em: 26 de out. 2018.
- SILVA, N. da. **et al.** Manual de Métodos de análise de microbiológica de alimentos e água. 5º ed. - São Paulo: Blucher, 2017.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS E ÁGUA E O PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM CEPAS DE *Escherichia coli*

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Mariza Alves Ferreira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Aline Simões da Rocha Bispo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Manuela Oliveira Pereira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Aline dos Santos Ribeiro

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

Moacyr Serafim Junior

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
Biológicas, Núcleo de Estudos em Pesca e
Aqüicultura, Cruz das Almas, Bahia.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar o grau de contaminação por coliformes na água e ostras de extrativismo, e verificar o perfil de resistência microbiana em cepas de *Escherichia coli*. Foram realizadas coletas de água e ostras nas regiões de Baixão de Guaí e Capanema, estuário da Baía do Iguape, BA durante 12 meses para a contagem de coliformes à 35°C e a 45°C. As cepas de *E. coli* após identificação foram submetidas a testes de suscetibilidade antimicrobiana a diferentes famílias de antimicrobianos. Índices mais baixos de contaminação por coliformes à 45°C na água foi observado no período seco tanto em Baixão do Guaí (log de 1,78 NMP/100mL) quanto em Capanema (log de 1,90 NMP/100mL). Já nas ostras se verificou valores mais elevados no período chuvoso, com a região de Baixão do Guaí apresentando contagem de log de 3,15 NMP/100g e Capanema log de 2,92 NMP/100g. As ostras se encontravam próprias para consumo direto em 53% das amostras, enquanto em 38% das ostras coletadas em Baixão do Guaí e 46% em Capanema necessitavam de depuração antes da comercialização. Apesar de todas as cepas de *E. coli* apresentarem resistência à oxacilina, 100% apresentaram sensibilidade à ciprofloxacina, gentamicina, amicacina, aztreonam; 97% ao imepenem e ceftriaxona e 93% à sulfametoxazol trimetropima. As águas estuarinas da Baía do Iguape recebem esgotos

domésticos provenientes da falta de saneamento básico na região e apesar da presença de coliformes, a maioria das cepas se mostraram sensíveis aos antimicrobianos testados.

PALAVRAS-CHAVE: ação antrópica, antimicrobianos, oxacilina, coliformes.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF OYSTERS AND WATER AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE IN *Escherichia coli* STRAINS

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the degree of coliform contamination in water and oysters extracted from nature, and to verify the microbial resistance profile in strains of *Escherichia coli*. Water and oysters were collected in the regions in the Baixão of Guaí and Capanema, estuary environment Bay of Iguape, BA for 12 months for coliform counting at 35°C e a 45°C. The strains of *E. coli* after identification were submitted to antimicrobial susceptibility tests to different families of antimicrobials. Lower coliform contamination rates at 45°C in water was observed in the dry season in the Baixão of Guaí (log 1,78 NMP/100mL) while in Capanema (log 1,90 NMP/100mL). In the oysters, it was observed higher values in the rainy season in region in the Baixão of Guaí presented count of log 3,15 NMP/100g and Capanema log 2,92 NMP/100g. The oysters were fit for direct consumption in 53% of samples, while in 38% of oysters collected in the Baixão of Guaí e 46% in Capanema needed to go through the depuration process before marketing. Even though all strains of *E. coli* exhibit oxacillin resistance, 100% showed sensitivity to ciprofloxacin, gentamicin, amikacin, aztreonam; 97% to imepenem and ceftriaxone and 93% to sulfamethoxazole trimetropime. The estuarine waters in the Bay of Iguape receive domestic sewage, and poor sanitation in the region and despite the presence of coliforms, most strains were sensitive to the antimicrobials tested.

KEYWORDS: anthropic action, antimicrobials, oxacillin, coliforms.

1 | INTRODUÇÃO

As cepas de *Escherichia coli* têm sido investigadas em análises microbiológicas, visto que sua presença indica contaminação fecal, por ocorrer em grande número na microbiota intestinal de humanos e animais endotérmicos. Enquanto as cepas comensais não apresentam determinantes especializados de virulência e podem ser benéficas para seu hospedeiro, linhagens de *E. coli* patogênica tem sido relatadas como causadora de um espectro de doenças como gastroenterite bacteriana, infecções do trato urinário e corrente sanguínea, trato respiratório e peritônio (BAKER, 2015; BAJAJ et al., 2016; POOLMAN e WACKER, 2016).

As infecções causadas por diversas *E. coli* patogênicas, especialmente em casos de infecções intestinais e extraintestinais são tratadas com o uso de antimicrobianos. No entanto, as bactérias a cada ano têm desenvolvido mecanismos de resistência aos antimicrobianos, em decorrência do seu uso indevido e/ou excessivo. Em muitos

casos, a resistência ocorre pela produção de enzimas codificadas por genes, que além de conferir resistência aos fármacos, são uma forma de poluição que entra no meio aquático pela liberação de bactérias fecais expostas à altos níveis de antimicrobianos no sistema digestório (BAJAJ et al., 2016; DIVYA e HATHA, 2018). Muitas bactérias produtoras de genes de resistência são encontradas em ambiente hospitalar, em diversos reservatórios ambientais (BLAAK et al., 2014; FRANZ et al., 2015), alimentos (THORSTEINSDOTTIR et al., 2010; HUSSAIN et al., 2017), peixes e frutos do mar (DIB et al., 2018).

O lançamento de efluentes no ambiente aquático atua como via de dispersão de bactérias resistentes, bem como, pode favorecer a troca de genes de resistência. As cepas resistentes limitam os tratamentos de doenças causadas por infecções bacterianas, representando uma ameaça à saúde pública (PITOUT et al., 2009). As ostras, por exemplo, são largamente consumidas in natura e podem causar sérios riscos à saúde humana devido ao seu hábito alimentar por filtração, sendo comum o registro de surtos de enfermidades relacionados ao consumo desses bivalves (MENDES et al., 2004).

A presença de bactérias resistentes em alimentos é indesejável, uma vez que pode constituir um reservatório para a aquisição de genes de resistência a antimicrobianos para o homem (MO et al., 2017). Estudos para detecção de *E. coli* em diferentes regiões são fundamentais para se monitorar a veiculação e cepas resistentes e os mecanismos de resistência aos antimicrobianos comerciais. Este estudo teve como objetivo a avaliação do grau de contaminação por coliformes na água e em ostras de extrativismo, visando o isolamento de cepas de *E. coli* para avaliar seu perfil de resistência aos antimicrobianos comerciais.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de água e ostras nas comunidades de Baixão do Guaí 12°52'207"S e 38°56'111'O e Capanema 12°50'876"S e 38°56'032'O (regiões estuarinas da Baía do Iguape), com periodicidade mensal, durante 12 meses. Ao todo foram analisadas 39 amostras de água e 26 de ostras, durante maré vazante para realização da contagem de coliformes a 35°C e a 45°C e isolamento de *E. coli*. As amostras foram agrupadas de acordo com a temperatura e pluviosidade da região, e para os meses compreendidos entre maio e outubro foram definidas como período chuvoso, enquanto os meses de novembro à abril foram classificados como período seco. Os resultados foram expressos em log de NMP/100mL para as amostras da água e log de NMP/100g para as amostras de ostras.

As amostras de água foram coletadas em frascos âmbar estéreis com capacidade para 1000 mL e as amostras de ostras foram realizadas com o apoio de marisqueiras. Os mariscos foram coletados junto às raízes dos mangues. Em cada coleta foram

obtidos em média duas dúzias de ostras por localidade. As ostras foram armazenados em embalagens plásticas de primeiro uso e transportadas em caixa isotérmica. A salinidade, temperatura e o pH foram aferidos durante cada amostragem.

As ostras, após passarem por uma lavagem em água corrente foram abertas assepticamente e, retiradas 25g da massa visceral e adicionadas a 225 mL de solução salina a 0,85%. A partir da diluição 10^{-1} foram feitas diluições sucessivas até 10^{-3} . As amostras de água e ostras para a estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes à 35°C e a 45°C e presença de *E. coli* foi determinada por meio da técnica de fermentação em tubos múltiplos em três etapas: prova presuntiva, prova confirmatória e prova bioquímica seguindo a metodologia proposta em Silva et al. (2010).

A suscetibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de difusão de disco em placas, seguindo a metodologia proposta por *Clinical and laboratory standards Institute* (CLSI, 2003). Para realização dos testes, 30 cepas (12 isoladas de água e 18 de ostras) de *E. coli* foram repicadas em meio Triptona Soja Ágar (TSA) inclinado e incubadas a 35°C/24h. Após esse período, uma alçada da cultura foi emulsionada em 9 mL de solução salina estéril 0,85% até que a densidade bacteriana lida no espectrofotômetro (modelo Spectrum SP-1105) estivesse no intervalo de 0,08 a 0,10, a 625 nm, correspondente a densidade 10^8 UFC/mL. Da solução, os isolados foram semeados em placas contendo Ágar Mueller-Hinton, com o auxílio de um *swab* estéril umedecido na solução. Em seguida, os discos de antimicrobianos foram depositados, com o auxílio de pinça estéril e as placas foram incubadas por 24h a 35°C.

Para o antibiograma foram utilizados discos com antimicrobianos da marca LABORCLIN pertencentes as famílias β -lactâmicos – AMO: amoxicilina (10 μ g), AMP: ampicilina (10 μ g), ATN: azetronan (30 μ g), IMP: imipenem (10 μ g), CFL: cefalotina (30 μ g), CRO: ceftriaxona (30 μ g), OXA: oxacilina (1 μ g); Aminoglicosídeos – AMI: amicacina (30 μ g), GEN: gentamicina (10 μ g); Quinolonas – NAL: ácido nalidíxico (30 μ g) e CIP: ciprofloxacina (5 μ g); Sulfanamidas – SUT: sulfametoxazol-trimetropim (25 μ g); e, Tetraciclina: TET: tetraciclina (30 μ g). Como controle foi utilizada estirpe referência de *Escherichia coli* ATCC 25922. A atividade antimicrobiana foi determinada com base nas medidas dos halos de inibição, utilizando paquímetro digital. Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios descritos pelo CLSI (2003).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é possível observar que os maiores índices de contaminação por coliformes a 35°C nas amostras de água foram obtidos em Capanema no período seco e chuvoso. Para os coliformes a 45°C houve maior predominância do grupo de bactérias no período chuvoso. Para as amostras de ostras a região de Baixão do Guaí apresentou contagens para coliformes a 35° e a 45°C superiores aos observados

para as amostras de água, com contagens de log de 3,15 NMP/100g em Baixão do Guai e log de 2,92 NMP/100g em Capanema.

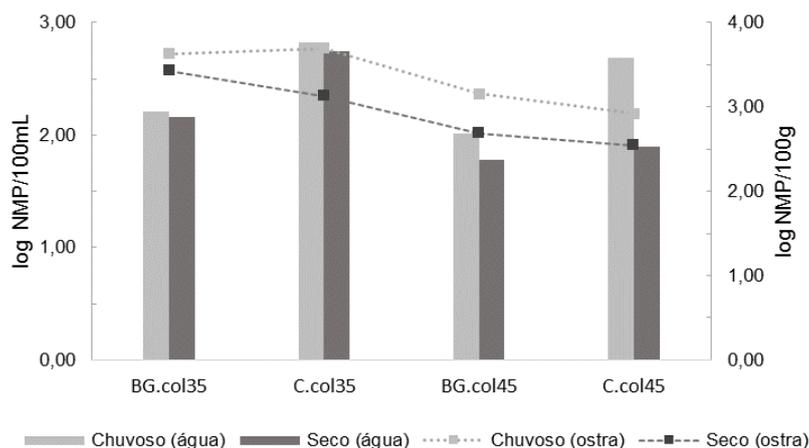


Figura 1. Contagem de coliformes à 35°C e a 45°C em amostras de água e ostras, das regiões de Baixão do Guai e Capanema, Estuário da Bahia do Iguape, BA. BG.col35 = Baixão do Guai, coliformes à 35°C; C.col35= Capanema, coliformes à 35°C; BG.col45= Baixão do Guai, coliformes à 45°C; C.col45= Capanema, coliformes à 45°C.

A presença de coliformes está associada à grande concentração de matéria orgânica, o que permite afirmar que no estuário há descarga de esgoto doméstico, favorecendo a proliferação de coliformes na coluna d'água (VIEIRA et al., 2007). A comunidade de Capanema está situada na porção interior da Baía do Iguape, recebendo um menor aporte de água salina. Além disso, as coletas foram realizadas durante a maré vazante e como as comunidades não dispõem de fossas assépticas, podem justificar os altos índices de contaminantes.

Segundo Kolm e Andretta (2008), existe uma relação direta entre as marés e a densidade de coliformes. Em seu trabalho, realizado no córrego do Perequê, Pontal do Sul (PR), os maiores valores de coliformes registrados ocorreram durante a maré baixa. Ramos et al. (2010), analisando amostras de água e de ostras em alguns pontos da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, constataram que em regiões com baixa circulação de água, os valores de coliformes são mais elevados.

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos com os testes de resistência microbiana, sendo verificado que todas as cepas de *E. coli* apresentaram resistência à oxacilina (OXA) e suscetibilidade de 100% à ciprofloxacina (CIP), gentamicina (GEN), amicacina (AMI), aztreonam (ATN); 97% ao imepenem (IMP) e ceftriaxona (CRO); 93% à sulfametoxazol trimetropima (SUT), e 90% a tetraciclina (TET) e ampicilina (AMP).

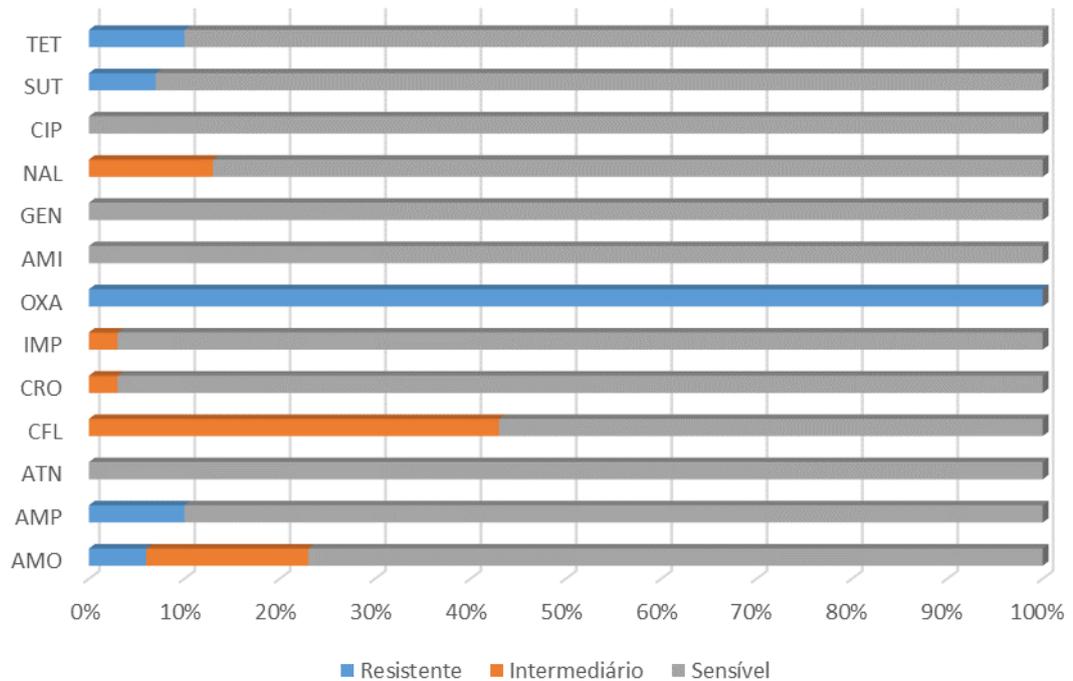


Figura 2. Suscetibilidade a antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* provenientes da água e das ostras, das regiões de Baixão do Guai e Capanema, Estuário da Bahia do Iguape, BA. (AMO= amoxicilina; AMP= ampicilina; ATN= azetronam; CFL= cefalotina; CRO= ceftriaxona; IMP= imepenem; OXA= oxacilina; AMI= amicacina GEN= gentamicina; NAL= ácido nalidíxico e CIP= ciprofloxacina; SUT= sulfametoxazol trimetropima; TET= tetraciclina).

Para o antimicrobiano cefalotina (CFL), os resultados foram distribuídos entre os perfis de resistência intermediária, com 43% dos isolados e sensíveis, com 57% das cepas avaliadas. Outro dado que vale ressaltar é a resistência obtida para a amoxicilina (AMO), com 77% das *E. coli* se mostrando sensíveis. Os resultados de sensibilidade a oxacilina, confirmam que esse fármaco não é eficiente contra o crescimento e evolução de cepas de *E. coli*. A resistência à oxacilina é atribuída a presença de um gene no DNA cromossômico, conhecido como gene MecA, que se acopla as proteínas ligadoras de penicilina ocasionando uma desativação (MIMICA et al., 2007).

Vários antimicrobianos testados se mostraram eficientes no controle total ou parcial da *E. coli*. Esses agentes costumam causar alterações na parede celular da bactéria, modificando o equilíbrio osmótico e promovendo a quebra celular (NIKOLAIDIS et al., 2014). O alerta, versa sobre o uso rotineiro destes fármacos no tratamento de infecções que acometem a população, pois tem contribuído veementemente para aumentar a resistência das bactérias aos mecanismos de combate do antimicrobiano.

Evangelista-Barreto et al. (2014) também encontraram valores superiores ao presente estudo ao analisarem cepas de *E. coli* isoladas de ostras e sururus na Baía do Iguape, relataram resistência à tetraciclina em 51,9% das cepas, seguida da ampicilina com 22%. Segundo os autores, o uso frequente desses antimicrobianos no tratamento de infecções em humanos tem contribuído para a resistência ao fármaco.

A presença de bactérias resistentes no ambiente pode se associar à liberação de

antimicrobianos em corpos d'água, uma vez que, parte do antimicrobiano é absorvido pelo organismo e outra parte é excretada na urina. A falta de saneamento básico nos municípios faz com que estes resíduos cheguem até os rios e estuários. No entanto, é importante notar que vários parâmetros físico-químicos ambientais desempenham papel adicional na prevalência de bactérias resistentes. O aumento da salinidade e da disponibilidade de nutrientes apresentam influência inversamente proporcional aos níveis de cepas resistentes (NA et al., 2018).

Por se tratar de uma região de estuário, o ambiente do qual a *E. coli* foi isolada recebe diversas fontes de poluição, como águas de lastro, do escoamento de águas pluviais e insumos orgânicos e até descargas de esgotos hospitalares, agrícolas e industriais. Todos estes fatores contribuem para um ambiente ideal para a troca de material genético, e, conseqüentemente, a disseminação da resistência aos antimicrobianos. Apesar de ser uma problema de saúde pública a resistência bacteriana, ainda é negligenciada em termos ambientais e sociais e necessita de esforços mútuos que considerem tanto os prejuízos humanos quanto ao ambiente.

4 | CONCLUSÃO

A região estuarina da Bia do Iguape, nas comunidades de Baixão do Guaí e Capanema sofrem com a contaminação por dejetos de origem fecal. A resistência microbiana das cepas de *E. coli* ao antimicrobiano oxacilina é um dado que caracteriza preocupação à saúde pública, devendo ser disciplinado por critérios farmacológicos quanto ao seu uso no combate à infecções ocasionadas por essa bactéria nas regiões de Baixão de Guaí e Capanema, BA.

REFERÊNCIAS

BAJAJ, P.; SINGH, N. S.; VIRDI, J. S. *Escherichia coli* β -Lactamases: What Really Matters. **Frontiers in microbiology**, v. 7, n. 417, p. 1-25, 2016.

BAKER K. S. Demystifying *Escherichia coli* pathovars. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 5, 2015.

BLAAK, H.; KRUIJF, P.; HAMIDJAJA, R. A.; HOEK, A. H.A.M.; HUSMAN, A.M. R.; SCHETS, F.M. Prevalence and characteristics of ESBL-producing *E. coli* in Dutch recreational waters influenced by wastewater treatment plants. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 3-4, p. 448-459, 2014.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Approved standards M02-A08. Wayne, PA, 2003.

DIB, A. L.; AGABOU, A.; CHAHED, A.; KUREKCI, C.; MORENO, E.; ESPIGARES, M.; Espigares, E. Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance of enterobacteriaceae isolated from fish and seafood. **Food Control**, v.8, p. 54-60, 2018.

DIVYA, S. P.; HATHA, A. A. M.; Screening of tropical estuarine water in south-west coast of India reveals emergence of ARGs-harboring hypervirulent *Escherichia coli* of global significance.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R.; FERREIRA, L. T. B. Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em moluscos bivalves. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 12, p. 25-34, 2014.

FRANZ, E.; VEENMAN, C.; HOEK, A. H. A. M.; HUSMAN, A. de R.; BLAAK, H. Pathogenic *Escherichia coli* producing Extended-Spectrum β -Lactamases isolated from surface water and wastewater. **Scientific Reports**, v. 5, p. 14372, 2015.

HUSSAIN, A.; SHAIK, S.; RANJAN, A.; NANDANWAR, N.; TIWARI, S. K.; MAJID, M.; BADDAM, R.; QURESHI, I. A.; SEMMLER, T.; WIELER, L. H.; ISLAM, M. I.; CHAKRAVORTTY, D.; AHMED, N. Risk of transmission of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from commercial broiler and free-range retail chicken in India. **Frontiers Microbiology**, v.8, p.2120, 2017.

KOLM, H.E; ANDRETTA, L. Bacterioplancton in diferente tides of the Perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 97-103, 2003.

MENDES, E. S.; MENDES, P. P.; LOPES, C. A. M.; COELHO, M. I. S.; SOUZA, J. C. R.; CRUZ, M. C. S.; ASSIS, A. S. Sazonalidade dos microrganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116, p. 79-87, 2004.

MIMICA, M J.; MENDES, C. M. F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.43, n.6, p.399-406, 2007.

MO, S. S.; SUNDE, M.; ILAG, H. K.; LANGSRUD, S.; HEIR, E. Transfer potential of plasmids conferring extended-spectrum-cephalosporin resistance in *Escherichia coli* from poultry. **Applied and Environmental Microbiology**, v.83, n.12, p.1-11, 2017.

NA, G.; LU, Z.; GAO, H.; ZHANG, L.; LI, Q.; LI, R.; YANG, F.; HUO, C.; YAO, Z. The effect of environmental factors and migration dynamics on the prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in estuary environments. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1663, 2018.

NIKOLAIDIS, I.; FAVINI-STABILE, S.; DESSEN, A. Resistance to antibiotics targeted to the bacterial cell wall. **Protein science: a publication of the Protein Society**, v. 23, n. 3, p. 243-59, 2014.

PITOUT, J.D.D.; GREGSON, D.B.; CAMPBELL, L.; LAUPLAND, L.B. Molecular characteristics of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* isolates causing bacteremia in the Calgary health region from 2000 to 2007: Emergence of clone ST131 as a cause of community-acquired infections. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.53, n.7, p. 2846-2851, 2009.

POOLMAN, J. T.; WACKER, M. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, a common human pathogen: challenges for vaccine development and progress in the field. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, p. 6-13, 2016.

RAMOS, R. J.; PEREIRA, M. A.; MIOTTO, L. A.; FARIA, L. F. B.; SILVEIRA JUNIOR, N.; VIEIRA, C. R. W. Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 29-37, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, N. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4. ed.. São Paulo: Varela, 2010.

THORSTEINSDOTTIR, T. R.; HARALDSSON, G.; FRIDRIKSDOTTIR, V. Prevalence and genetic relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from animals, foods and humans in

Iceland. **Zoonoses Public Health**, v. 57, p. 189-196, 2010.

VIEIRA, R. H. S. F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2007.

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* PROVENIENTES DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Luciana Furlaneto Maia

Docente do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Regiane Ramalho

Tecnóloga de Alimentos

Discente do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Heloísa de Carvalho Rodrigues

Tecnóloga de Alimentos

Discente do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

RESUMO: O uso frequente de antibióticos e promotores de crescimento na criação de animais tem acarretado elevada disseminação de bactérias resistentes aos antibióticos de uso veterinário e humano. Um dos microrganismos afetados por esse uso indiscriminado é a bactéria *Escherichia coli*. Este microrganismo pode ser comensal da microbiota animal, porém há diversos sorotipos patogênicos, e sua resistência se torna um problema de saúde pública. Portanto neste estudo, realizamos um levantamento dos artigos publicados a respeito da resistência dessa bactéria proveniente de alimentos de origem animal. Para isso, foram realizadas pesquisas bibliográficas de artigos

publicados no período de 2010 a 2019, nas fontes ScienceDirect e Periódicos CAPES. No total foram avaliadas 43 publicações científicas, onde *E. coli* apresentou resistência à pelo menos um dos antibióticos testados. Estes dados mostram a preocupação com a disseminação de resistência a antimicrobianos na cadeia alimentar.

PALAVRAS-CHAVE: antibióticos, alimentos cárneos, microbiota animal.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *Escherichia coli* FROM FOOD OF ANIMAL ORIGIN: A SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT: The frequent use of antibiotics and growth promoters in animal husbandry has led to the widespread dissemination of antibiotic resistant bacteria for veterinary and human use. One of the microorganisms affected by this indiscriminate use is *Escherichia coli*. This microorganism may be commensal of the animal microbiota, however there are several pathogenic serotypes, and its resistance becomes a public health problem. Therefore, in this study, we conducted a survey of published articles about the resistance of this bacterium from food of animal origin. For this, were carried out bibliographical researches of articles published in the period from 2010 to 2019, in the sources ScienceDirect and Periodical CAPES.

In total, 43 scientific publications were evaluated, where *E. coli* presented resistance to at least one of the antibiotics tested. These data show concern about the spread of antimicrobial resistance in the food chain.

KEYWORDS: antibiotics, meat foods, animal microbiota.

INTRODUÇÃO

Agentes antimicrobianos têm desempenhado um papel importante no tratamento de doenças e na redução da mortalidade, porém, algumas bactérias desenvolveram mecanismos de resistência eficazes contra esses antimicrobianos. A resistência antimicrobiana é o processo de desenvolvimento de um mecanismo de defesa por microrganismos contra agentes antimicrobianos por meio de mutação ou aquisição de novo material genético.

Escherichia coli pertence à família Enterobacteriaceae, que habita o intestino de seres humanos e animais, podendo acarretar infecções nosocomiais ou hospitalares e comunitárias, e é considerado um indicador de contaminação fecal em alimentos. A *E. coli* comensal, que faz parte da microbiota intestinal, não é patogênica e apresenta um importante papel fisiológico para o funcionamento do organismo, porém, pode transferir genes resistentes à antibióticos para diversos microrganismos, como bactérias patogênicas, especialmente quando expostos à antimicrobianos (OBAIDAT et. al., 2018; SAHNI et. al., 2019; SKOCKOVÁ et. al., 2015).

Cepas de *E. coli* são altamente capazes de adquirir e transferir genes de resistência a antimicrobianos. A resistência de *E. coli* a alguns antimicrobianos é comum em animais destinados à alimentação humana (SAHNI et al., 2019; SOUZA et. al., 2016).

O controle de infecções causadas por *E. coli* patogênica tem sido complicado desde o final da década de 90, devido ao surgimento da resistência antimicrobiana. Alguns antibióticos como as cefalosporinas, fluoroquinolonas e trimetoprim-sulfametoxazol são frequentemente utilizados para tratar infecções comunitárias e hospitalares causadas por *E. coli* e a resistência a estes agentes é responsável por atrasos na terapia apropriada com subsequente aumento da morbidade e mortalidade (REGINATO; LEAL, 2010).

A presente revisão sistemática teve por objetivo reunir e analisar as publicações científicas sobre a resistência da *E. coli* à diferentes antimicrobianos em animais e alimentos de origem animal. A revisão sistemática contribui para o entendimento do mecanismo desenvolvido da *E. coli* contra os antimicrobianos mais usuais no referido grupo de alimento. A revisão cita fontes confiáveis e atuais.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se uma revisão sistemática da literatura sobre a resistência da *E. coli*

à diversos antibióticos utilizados em animais destinados ao abate e alimentos de origem animal destinados ao consumo humano. As bases de dados analisados foram os Periódicos CAPES e ScienceDirect, no período de Abril a Junho de 2019. Foram utilizados os termos: resistência; *Escherichia coli*; antimicrobianos; e produtos de origem animal como descritor para a busca dos dados, bem como seu correspondente na língua inglesa.

Os estudos elegíveis foram os das bases de dados Medline, ScienceDirect e Lilacs, nas línguas: inglesa e portuguesa, disponíveis em texto completo. Os idiomas não foram utilizados como limitadores e não foram realizadas restrições quanto ao ano de publicação.

Utilizaram-se os seguintes descritores, com os termos booleanos, na base Medline, ScienceDirect e Lilacs: (*Escherichia coli* ou *E. coli* ou enterobactérias) e (*Escherichia coli* e resistência ou *Escherichia coli* e antimicrobianos ou *E. coli* e antimicrobianos ou *E. coli* e resistência) e (produtos de origem animal ou bovinos ou suínos ou aves). Na base de dados Lilacs, também foram utilizados os termos supracitados em língua portuguesa. A busca priorizou publicações no período de 2010 a 2019.

Os estudos utilizados neste trabalho foram avaliados quanto ao ano de publicação, tipo de revista, autores, amostra, metodologia, se foram utilizados antibióticos como antimicrobianos e principalmente se nos resultados encontrados houve resistência da *E. coli* aos antimicrobianos.

RESULTADOS

Foram encontradas 43 publicações científicas relacionadas à resistência a antimicrobianos de *E. coli* em animais destinados ao consumo humano e alimentos de origem animal. Destes, 27 artigos foram excluídos por estudarem a alimentação e alojamento de frangos e bezerros, moscas, animais domésticos e seus respectivos donos, humanos, pássaros, estudo post-mortem de suínos e/ou por utilizarem órgãos para realização do estudo, por apresentarem apenas revisão bibliográfica sobre o assunto e por apresentarem-se incompletos. Assim, 16 artigos foram incluídos nesta revisão, como apresentado na figura 1.

Descrição dos estudos

A sumarização do estudo está descrita na tabela 1. Dos artigos utilizados no estudo, 4 foram realizados no Brasil (25%) e 4 na Coréia do Sul (25%), seguido pela China, somando um total de 3 estudos (18,8%). Para as demais, foram encontradas 1 publicação de cada origem, sendo Canadá (6,25%), Arábia Saudita (6,25%), Jordânia (6,25%), Espanha (6,25%), República Checa (6,25%).

Os estudos realizados com maior frequência foram os que avaliam frangos em 5 das 16 pesquisas (31,25%). Na sequência temos as pesquisas envolvendo suínos,

em que temos 4 artigos avaliados (25%), seguidas de 3 artigos que estudaram bovinos (18,75%), 2 publicações envolvendo estudos em perus (12,5%), 2 estudos em leite bovino (12,5%), 1 em que ovos de galinha foram estudados (6,25%), 1 estudo em frutos do mar (6,25%) e 1 estudo em carnes cruas, peixe e alimentos processados (6,25%). Alguns desses estudos são em conjunto, onde em uma das publicações os autores avaliaram frangos e suínos e em outra que foram avaliados suínos, frangos e perus, simultaneamente.

De uma maneira geral, foram utilizadas técnicas específicas para seleção de cepas de *Escherichia coli*, como a inoculação das amostras em placas de ágar com o meio seletivo eosina e azul de metileno, de maneira que as cepas de *E. coli* fossem evidenciadas pela coloração verde-metálica das colônias formadas.

O método mais utilizado para avaliação do perfil de sensibilidade foi o método de difusão em discos (disco-difusão), sendo descritos em 12 artigos (75%), somado à confirmação através da reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção dos genes de resistência e identificação do DNA genômico, descritos por 6 artigos (37,5%).

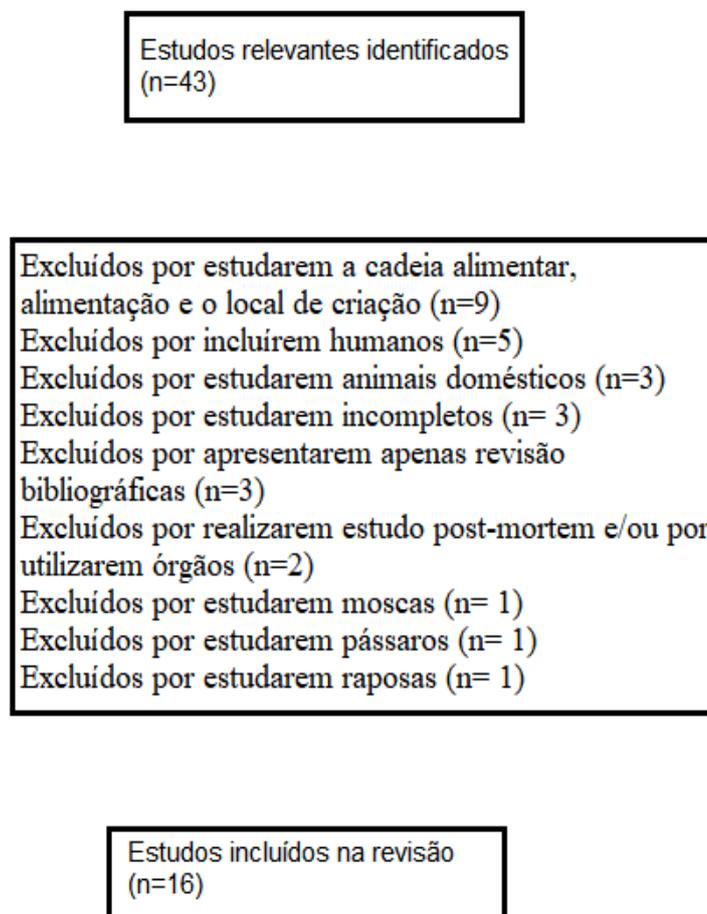


Figura 1. Fluxograma representando o processo de seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de <i>E. coli</i> isoladas	Resistência antimicrobiana
CARDOSO et al, 2015 ¹⁰	Brasil	Frangos	As amostras foram inoculadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados a 36°C ±1 por 24 hs. Após incubação, o material foi inoculado em placas contendo ágar sangue e ágar MacConkey e incubados. Para a metodologia bacteriológica, os isolados de <i>E. coli</i> foram submetidos ao teste de suscetibilidade à 12 antimicrobianos.	60%	Amoxicilina (96,7%), estreptomomicina (90%), enrofloxacina (88,3%), tetraciclina (71,7%), canamicina (70%), doxiciclina (66,7%), ceftiofur (61,7%), cefalexina (60%), sulfametoxazol/trimetoprim (58,3%), fosfomicina, gentamicina e norfloxacina (48,3%).
CUNHA et al., 2014 ¹⁴	Brasil	Perus	Foram isoladas cepas de <i>E. coli</i> provenientes de sacos aéreos de perus condenados por aerossaculite. As amostras foram coletadas por meio de swab. O perfil de resistência foi determinado pelo método de difusão em disco.	92%	Sulfonamidas (92,8%), eritromicina (79,5%) e tetraciclina (75%). Nenhuma cepa foi sensível a todos antibióticos.
FRANCO et. al., 2010 ¹⁵	Brasil	Suínos	O método de Kirb-Bauer foi utilizado para realização do teste de resistência antimicrobiana. Foram selecionadas quatro a cinco colônias iguais e emulsionadas em 4mL de água destilada esterilizada, padronizando-se a suspensão para uma turvação. A leitura dos resultados da sensibilidade aos antimicrobianos, foi realizada medindo-se o tamanho das zonas de inibição de crescimento bacteriano com um halômetro, sendo a cepa bacteriana classificada em sensível ou resistente em função do diâmetro da zona de sensibilidade padrão estabelecida para cada antimicrobiano.	-	Todas as cepas de <i>Escherichia coli</i> patogênicas foram resistentes a carbenicilina, ceftazidina, clindamicina, clo-ranfenicol, eritromicina, penicilina e rifampicina.
BENEDICT, et. al., 2015 ⁵	Canadá	Bovinos	Amostras fecais foram coletadas por reto e amostras de swabs de profundidade na nasofaringe na chegada dos gados ao confinamento. O teste de suscetibilidade foi conduzido usando protocolos que melhoram os padrões delineados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).	-	As cepas apresentaram resistência à ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefoxitina, ceftazidima, ceftiofur, ceftriaxona, ciprofloxacina, gentamicina e trimetoprim-sulfametoxazol.

KOO; WOO, 2012 ¹⁹	Coréia do sul	Carne crua, peixe e alimen- tos proces- sados	Para o teste de suscetibilidade de isolados de <i>E. coli</i> de origem alimentar, foram utilizados 20 agentes antimicrobianos, sendo conduzido pelo método de difusão em disco. Os determinantes da resistência antimicrobiana foram detectados por PCR e análises de sequenciamento, de acordo com o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados. Experimentos de conjugação foram conduzidos utilizando o método de cruzamento de caldo para determinar a transferibilidade de genes de integrons e resistente. A eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) foi conduzida para determinar as relações genéticas entre os isolados de <i>E. coli</i> positivos.	91,4%	As estirpes isoladas foram resistentes à Tetracycline, Streptomycin, Ampilicillin, Piperacillin, ácido nalidixico, trimetoprim-sulfametoxazol, cefalotina, tobramicina, ciprofloxacina Cloranfenicol, ampicilina-sulbactam, gentamicina, amoxicilina – clavulânico, cefoxitina.
CHEN, 2014 ¹⁰	China	Frangos	Foram realizados testes com 540 isolados contra 19 agentes antimicrobianos através do método de difusão em discos. A resistência multidroga foi definida como resistência a três ou mais classes de agentes antimicrobianos.	96,7%	Uma alta proporção de isolados foi resistente à tetraciclina (90,6%), ácido nalidíxico (80,6%), ampicilina (77,2%), trimetoprim-sulfametoxazol (76,9%) e estreptomycin (72,8%). Apenas 3,0% isolantes foi resistente a nitrofurantoína, e nenhum foi resistente ao meropenem.
BRISOLA, 2019 ⁶	Brasil	Suínos	Um total de 306 amostras foram coletadas de fazendas rurais produtoras de carne suína. A <i>E. coli</i> foi isolada sendo semeadas em placas de petri contendo Ágar Eosina e azul de Metileno e Ágar MacConkey, evidenciadas pela coloração verde-metálica. As colônias características foram submetidas ao teste de difusão em disco para verificar sua suscetibilidade antimicrobiana.	82,96%	O maior percentual de resistência foi para sulfametoxazol associado a trimetoprim, colistina, enrofloxacina.

ABO-A-MER; SHOBRAK; ALTALHI, 2018 ²	Arábia Saudita	Frangos	Os isolados foram caracterizados previamente caracterizados foram submetidos à teste de difusão em discos para determinação da susceptibilidade antimicrobiana. Os isolados de <i>E. coli</i> tiveram seu DNA genômico extraído e foram submetidos à amplificação por PCR.	-	As estirpes estudadas apresentaram maior resistência à oxacilina (99%), lincomicina (98%) e oxitetraciclina (97%).
OBAIDAT, 2018 ²²	Jordânia	Bovinos leiteiros	Primeiramente as amostras foram submetidas à testes de confirmação através da incubação em meio contendo eosina e azul de metileno, sendo então, evidenciadas pela coloração verde-metálica das colônias. Assim, estas foram levadas ao teste de resistência antimicrobiana, conduzidas através do método de difusão em discos.	65,6%	Os isolados apresentaram resistência à estreptomicina (47,5%), tetraciclina (45,4%) e ampicilina (34,2%).
SHIN, 2015 ³²	Coréia do Sul	Bovinos de corte	Um total de 290 cepas de <i>E. coli</i> foram isoladas de fezes coletadas de bovinos de corte. Foi realizado teste de resistência à tetraciclina em ágar MacConkey contendo o referido composto, as 155 cepas que apresentaram resistência foram selecionadas para teste de susceptibilidade antimicrobiana pelo teste de difusão em discos. Todos os isolados foram testados por PCR e o DNA bacteriano foi obtido pela suspensão de colônias cultivadas em caldo tríptico de soja.	94,2%	Os isolados resistentes à tetraciclina detectados no referido estudo mostraram resistência simultânea à estreptomicina (82,2%), ampicilina (45,3%), ácido nalidíxico (32,8%), cloranfenicol (28,8%), trimetoprim-sulfametoxazol (25,3%), ciprofloxacina (10,3% e gentamicina (5,5%)
ZHANG, 2017 ³⁶	China	Frangos e suínos	Durante 2008-2015, amostras fecais de galinhas e porcos de foram coletadas de fazendas convencionais. Todas essas amostras foram levadas para laboratório local e submetidas a isolamento bacteriano. As susceptibilidades antimicrobianas de <i>E. coli</i> a nove agentes antimicrobianos foram determinadas pelo método de sensibilidade à microdiluição em caldo.	89,20% (frangos) e 90,00% (suínos)	Em geral, a resistência à ampicilina, tetraciclina e sulfisoxazol foi altamente prevalente entre os isolados de <i>E. coli</i> para frangos e suínos.

BURGOS, 2016 ⁷	Espanha	Ovos de galinha, casca	Foram utilizados 180 ovos de galinha de 45 pacotes de ovos (contendo 12 ovos por pacote) comprados em 9 lojas diferentes em cinco dias diferentes. Cada ovo foi previamente triturado em saco de Stomacher contendo caldo de soja tripticase, do qual foram retirados 10mL para análise de isolamento através de incubação em ágar contendo eosina e azul de metileno, sendo evidenciadas pela coloração verde-metálica e extração do DNA. A resistência à antibióticos de isolados de <i>E. coli</i> foi determinada pelo método de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton com ajuste de cátions.	-	Apresentaram resistência à ampicilina, cefotaxima, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol, ácido nalidixico, ceftazidima, imipenem, ciprofloxacina e netilmicina.
SKOCKOVÁ et. al., 2015 ³¹	República Checa	Suíños, frangos, perus e veados	Um total de 322 amostras de carnes frescas embaladas individualmente e refrigeradas foram compradas em vários supermercados da República Tcheca durante os anos de 2012 e 2013. Foram coletados swabs superficiais de cada amostra. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para a detecção de genes que codificam fatores de virulência.	45,2%	Ampicillina, tetraciclina e ácido nalidixico,
RYU et. al., 2012 ²⁷	Coréia do Sul	Frutos do mar	Um total de 2663 produtos marinhos (971 peixes, 934 moluscos, 652 moluscos e 206 crustáceos) foram adquiridos dos mercados atacadista e varejista. A seleção das cepas de <i>E. coli</i> foram realizadas utilizando-se em ágar eosina e azul de metileno. O teste de suscetibilidade antimicrobiana a 16 antimicrobianos foi realizado em 179 isolados de <i>E. coli</i> pelo método de disco difusão em ágar Mueller-Hinton. Os genes de resistência e DNA genômico foram determinados por PCR.	60,9%	Observou-se resistência à tetraciclina (30,7%), estreptomicina (12,8%), cefalotina (11,7%), ampicilina (6,7%), trimetoprima/sulfametoxazol (6,7%), ticarcilina (6,1%), ácido nalidixico (5,6%) e canamicina (5%).

TARK et. al., 2017 ³³	Coréia do Sul	Leite bovino	Um total de 374 isolados de <i>E. coli</i> de leite mastítico de leite foram coletados e 4.437 amostras de leite de vacas em lactação de 137 rebanhos leiteiros. A seleção foi realizada por exame bacteriano das amostras com contagem de células somáticas e enviadas para testes de susceptibilidade antimicrobiana, que foram determinados pelo método de diluição em caldos. O sequenciamento genético foi determinado por PCR.	71,4%	A resistência mais frequentemente observada foi a tetraciclina (23,3%), seguida pela estreptomicina (17,1%), ampicilina (16,6%), neomicina (11,8%) e trimetoprima / sulfametoxazol (11,2%). Baixas taxas de resistência foram observadas para colistina (0,5%), cefoxitina (0,8%) e amoxicilina / ácido clavulânico (1,6%).
LIU et. al., 2014 ²⁰	China	Leite bovino	663 amostras de leite de mastite foram coletadas em seis grandes fazendas leiteiras e foram conduzidas ao teste de identificação e isolamento da <i>E. coli</i> através da técnica de plaqueamento em ágar eosina e azul de metileno. O método de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizado para classificar os grupos flogenéticos. Setenta isolados de <i>E. coli</i> foram testados pelo método de difusão em disco de Kirby Bauer em ágar MuellereHinton.	-	A maioria dos isolados foi resistente à estreptomicina (32,9%), canamicina (37,1%) ampicilina (47,1%). Em comparação, a maioria das coletas foi suscetível ao cloranfenicol (91,3%), à ciprofloxacina (81,4%) e ao sulfafurazol (80,0%).

Tabela 1 - Sumarização dos estudos sobre *Escherichia coli* resistentes à antimicrobianos, presente sem alimentos.

Resistência da *E. coli* em animais e alimentos de origem animal

A resistência da *Escherichia coli* à pelo menos um antimicrobiano foi relatado em todos os artigos pesquisados. O total de cepas que apresentaram resistência aos antimicrobianos foram relatados por 11 dos 16 artigos encontrados (68,75%).

Dos 16 artigos analisados, 11 apresentaram o percentual de isolamento, sendo que os maiores foram registrados em frangos e bovinos, com 96,7% e 94,2%, respectivamente.

Os principais genes de resistência aos antimicrobianos foram apresentados por 10 dos 16 artigos, e estão apresentados na tabela 2.

Cepa isolada	Perfil de resistência
gyrA e parC	ciprofloxacina
blaCMY-M2, blaTEM-1, qnrS	Multirresistencia
blaSHV e blaTEM	β -lactâmicos
[tet (A) e tet (B)], tet(C), tet(D) e tet(E)	tetraciclina
(catA1 e cmlA)	cloranfenicol
[A (A)]	eritromicina
[aac (3) -IV]	gentamicina
(aadA1)	estreptomicina
(sul1)	sulfonamida

Tabela 2 – Genes de resistência e seus respectivos perfis de resistência.

Fonte: KOO; WOO, 2012; BRISOLA et. al., 2019; ABO-AMER; SHOBRAK; ALTALHI, 2019; RYU et. al., 2012; SKOCKOVÁ et al., 2015; SHIN et. al., 2015.

Os demais artigos apresentaram outros genes isolados, porém não especificaram à que antimicrobiano conferiam resistência (BURGOS et. al., 2016; EGEA et. al., 2018; LIU et. al., 2014; TARK et. al., 2017).

DISCUSSÃO

E. coli é uma causa importante de infecções no trato urinário, infecções entéricas e infecções sistêmicas nos seres humanos (REGINATO; LEAL, 2010).

Esta revisão apresentou 16 artigos sobre o estudo da resistência da *Escherichia coli* de diferentes fontes, sendo em animais ou até mesmo no produto pronto para consumo.

Este assunto deve ser monitorado, considerando que as *E. coli* enteropatogênica (EPEC) podem ser isoladas de diferentes fontes como em: alimentos crus e processados; animais domésticos e silvestres; ambientes naturais como água, solo e areia de praia; fezes e solo de abatedouro bovino e fazendas (SOUZA et. al., 2016).

A resistência à tetraciclina, estreptomicina (aminoglicosídeos) e penicilinas é comum entre *E. coli* isolada de alimentos ou animais de origem. A razão pode estar na pressão seletiva antimicrobiana relativamente alta exercida sobre os animais alimentícios, uma vez que quantidades pesadas de antimicrobianos são usados em fazendas para fins preventivos e curativos. Estes isolados de *E. coli* podem subsequentemente colonizar humanos ou podem transferir genes de resistência para outras bactérias durante a passagem pelo trato intestinal (RYU et. al., 2012).

Há estudo que mostra, através do uso de ciprofloxacina, ácido amoxicilina-clavulânico, co-trimoxazol e fosfomicina, mais uma vez a relação sólida entre o uso de antimicrobianos e o desenvolvimento de resistência para um microrganismo tão

prevalente quanto a *E. coli* (EGEA et al., 2018).

Um dos principais fatores de estresse para bactérias patogênicas é o tratamento antibiótico da infecção. A expressão constitutiva de RNA do *rprA*-antisense pode induzir a resistência à ampicilina em *E. coli*. A ampicilina é um antibiótico que perturba a parede celular bacteriana durante o crescimento (SAHNI et al., 2019).

A resistência aos antibióticos β -lactâmicos atribuídos à algumas estirpes de *E. coli* podem estar relacionados com os genes β -lactamases AmpC mediadas por plasmídeo (por exemplo, tipos CMY), ESBL (por exemplo, CTX-Mtypes) e carbapomases (por exemplo, NDM) (REGINATO; LEAL, 2010).

Nas criações animais, os antibióticos podem atingir diretamente o ambiente por meio das excreções dos animais em pastejo ou, então, podem ser indiretamente disseminados ao ambiente pela aplicação de esterco animal no solo. Esta prática representa a principal via de entrada de antibióticos no ambiente, podendo ocasionar a contaminação de ambientes tanto aquáticos quanto terrestres, além de representar um risco à saúde pública por selecionar cepas resistentes que podem colonizar o trato digestivo humano e transferir genes de resistência aos patógenos.

Cepas com resistência à antimicrobianos podem contaminar a água destinada para consumo humano e até mesmo para fabricação de produtos alimentícios. A presença de microrganismos multirresistentes a antibióticos em água pode favorecer a disseminação de genes de resistência para diferentes ambientes e dificultar o tratamento de doenças em humanos e animais (REGINATO; LEAL, 2010).

As maiores taxas de resistência observadas em aves devem-se ao uso excessivo de antibióticos no setor avícola industrializado e pelas práticas de criação extensiva aviária. a resistência a antibióticos em isolados de *E. coli* aviários é alarmante e a possível disseminação de tais isolados para humanos e para o meio ambiente torna-se preocupante (ABBASSI et. al., 2017).

Muitos mecanismos podem ser utilizados pela bactéria para adquirir resistência aos antimicrobianos, dentre eles temos a chamada resistência adquirida, que é a expressão de bombas de efluxo que expulsam moléculas do antibiótico do meio intracelular para o extracelular, impedindo ou dificultando sua ligação com o sítio-alvo, causando, desta maneira, diminuição ou supressão da sensibilidade a múltiplos antimicrobianos ou podem ocorrer mutações em um ou mais genes que codificam regiões-alvo (proteínas) destes antimicrobianos (BAPTISTA, 2013; KREWER et. al., 2012; PETERSON; KAUR, 2018).

O método mais utilizado para o isolamento da *E. coli* foi o plaqueamento em ágar contendo eosina e azul de metileno, que é um meio para diferenciação ligeiramente seletivo utilizado para o isolamento e diferenciação de bacilos entéricos gram-negativos (enterobactérias e outros bastonetes gram-negativos). Os corantes de eosina e azul de metileno inibem as bactérias gram-positivas. As colônias de *E. coli* fermentam a lactose presente no meio, que confere uma coloração verde-metálica.

O método de difusão em discos e microdiluição foram relatados nos trabalhos

utilizados nesta revisão. As duas metodologias possuem concordância quanto à certeza dos resultados, sendo consideradas ideais. A metodologia de disco difusão em ágar é relevante para ser aplicada na rotina laboratorial, pois é uma técnica fácil, barata, e de confiança quando comparada ao teste de microdiluição em caldo (TARK et. al., 2017).

O método de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi amplamente utilizado para isolamento e identificação do DNA genômico, e foram somados à técnica de difusão em disco. A PCR é um ensaio enzimático simples, rápido, sensível e específico que permite a amplificação de um fragmento de DNA específico a partir de um complexo de DNA (FRANCO et. al., 2010; GARIBYAN; AVASHIA, 2013).

Uma grande preocupação são as infecções causadas por bactérias multirresistentes. Na última década as bactérias patogênicas que apresentam múltipla resistência a agentes antimicrobianos aumentaram significativamente e a propagação dessa resistência está relacionada à exposição aos fármacos que proporciona a pressão seletiva necessária (BARBOSA, 2017).

A contaminação de animais de abate e carnes destinados ao consumo humano por *E. coli* resistente a antimicrobianos pode afetar de maneira significativa a saúde do consumidor, podendo acarretar diversas doenças.

CONCLUSÃO

A presença de *E. coli* resistentes à antibióticos utilizados na criação de animais destinados ao consumo humano é amplamente abordado neste estudo, e indica que pode ser uma importante fonte de contaminação.

As técnicas empregadas para identificação e isolamento das cepas, bem como a identificação dos genes de resistência, determinados pela técnica de PCR, são recomendadas e trazem veracidade para os estudos analisados.

Devem ser adotados o uso adequado de antibióticos na pecuária bem como boas práticas de higiene e boas práticas na conservação de alimentos, evitando a proliferação destes microrganismos.

Outro ponto importante é o destino consciente dos dejetos animais, considerando que muitos agricultores utilizam deste material como adubo, o que pode ocasionar a contaminação de alimentos que são consumidos na forma *in natura*, como legumes e vegetais.

REFERÊNCIAS

ABBASSI M.S.; KILANI H.; ZOUARI M.; MANSOURI R.; OUSSAMA E.F.; HAMMAMI, S.; NOUREDDINE, B. C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry, bovine and ovine in tunisia: a real animal and human health threat. **J Clin Microbiol Biochem Technol**, v. 1, n. 3, p. 19-23, 2017.

ABO-AMER, A. E.; SHOBRAK, M. Y.; ALTALHI, A. D. Isolation and antimicrobial resistance of

Escherichia coli isolated from farm chickens in Taif, Saudi Arabia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 15, p. 65-68, 2018.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa.

BARBOSA, C. A. **Caracterização microbiológica, genotípica de *Escherichia coli* provenientes de *Mytella guyanensis* e sensibilidade a antimicrobianos**. 2017. Dissertação (Mestrado em microbiologia agrícola) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia.

BENEDICT, K. M.; GOW, S. P.; MCALLISTER, T. A.; BOOKER, C. W.; HANNON, S. J.; CHECKLEY, S. L.; NOYES, N. R.; MORLEY, P. S. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* recovered from feedlot cattle and associations with antimicrobial use. 2015.

BRISOLA, M. C.; CRECENCIO, R. B.; BITNER, D. S.; FRIGO, A.; RAMPAZZO, L.; STEFANI, L. M.; FARIA, G. A. *Escherichia coli* used as a biomarker of antimicrobial resistance in pig farms of Southern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 362-368, 2019.

BURGOS, M. J. G.; MÁRQUEZ, M. L. F.; PULIDO, R. P.; GÁLVEZ, A.; LÓPEZ, R. L. Virulence factors and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from hen egg shells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 89-95, 2016.

CAPELO, L. G.; SILVA, C. L. F. Comparação entre microdiluição e disco difusão para o teste de susceptibilidade aos antifúngicos contra *Candida* spp. Seminário: **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, n. 1, v. 33, p. 135-142, 2012.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M.; LUCIANO, R. L.; TESSARI, E. N. C. Avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. Instituto Biológico, Centro Avançado de **Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola** (CAPTAA), n. 5, v. 12, 2015.

CHEN, X.; ZHANG, W.; YIN, J.; ZHANG, N.; GENG, S.; ZHOU, X.; WANG, Y.; GAO, S.; JIAO, X. *Escherichia coli* isolates from sick chickens in China: Changes in antimicrobial resistance between 1993 and 2013. **The Veterinary Journal**, v. 202, p. 112-115, 2014.

COSTA, L. P.; SILVA JÚNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica** (UNIFAP), v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

COSTA, L. V. M. **Perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água destinada ao consumo**. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em farmácia) – Universidade Federal de Juiz de fora, Minas Gerais.

CUNHA, M. P. V. **Resistência aos antimicrobianos e virulência de *Escherichia coli* patogênica para aves (APEC) isoladas de perus com doenças respiratórias**. 2014. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

EGEA, M. A. A.; GONZÁLES, R. C.; CARRERA, O. H.; GONZÁLES, O. R.; ARIAS, A. A. Trend and seasonality of community-acquired *Escherichia coli* antimicrobial resistance and its dynamic relationship with antimicrobial use assessed by ARIMA models. **Enferm. Infecç. Microbiol. Clin.** N. 8, v. 36, p. 502-506, 2018.

FRANCO, R. M.; MATILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, n.1, v.4, p.31-36, 2010.

GARIBYAN, L.; AVASHIA, N. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). J. Invest. Dermatol, 2013.

- JOSHI, M.; DESHPANDE, J. D. polymerase chain reaction: methods, principles and application. **International Journal of Biomedical Research**, v. 5, p. 81-97, 2010.
- KREWER, C. C.; GRESSLER, L. T.; COSTA, M. M.; KREWER, C. C.; VARGAS, A. C. Suscetibilidade a desinfetantes e peril de resistência a antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli*. **Pesq. Vet. Bras.** v. 11, n. 32, p. 1116-1120, 2012.
- KOO, H.; WOO, G. Characterization of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* recovered from foods of animal and fish origin in Korea. **Journal of Food Protection**, n. 5, v. 75, p. 966-972, 2012.
- LIU, Y.; LIU, G.; LIU, W.; LIU, Y.; ALI, T.; CHEN, W.; YIN, J.; HAN, B. Phylogenetic group, virulence factors and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* associated with bovine mastitis. **Research in Microbiology**, v. 165, p. 273-277, 2014.
- MELO, D. B.; MENEZES, A. P. O.; REIS, J. N.; GUIMARÃES, A. G. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from humans and foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.4, v. 46, p. 1165-1170, 2015.
- OBAIDAT, M. M.; SALMAN, A. E. B.; DAVIS, M. A.; ROESS, A. A. Major diseases, extensive misuse, and high antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in large- and small-scale dairy cattle farms in Jordan. **American Dairy Science Association**, 2018.
- PETERSON, E.; KAUR, P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.
- PITOUT, J. D. D. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. **Frontiers in microbiology**, 2012.
- REGINATO, J. B.; LEAL, R. M. P. comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p.601-616, 2010.
- RYU, S.; LEE, J.; PARK, S.; SONG, M.; PARK, S.; JUNG, H.; PARK, G.; CHOI, S.; KIM, M.; CHAE, Y.; PARK, S.; LEE, Y. Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods. **International Journal of Food Microbiology**, V. 159, P. 263-266, 2012.
- RYU, S.; PARK, S.; CHOI, S.; HWANG, Y.; HAM, H.; KIM, S.; LEE, Y.; KIM, M.; PARK, G.; KIM, K.; CHAE, Y. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from commercial fish and seafood. **International Journal of Food Microbiology**, v. 152, p. 14-18, 2012.
- SAHNI, A.; HAJJARIB, M.; RAHEBC, J.; FROUGHMANDB, M.; ASGARIA, M. The non-coding RNA rprA can increase the resistance to ampicillin in *Escherichia coli*. **Microbial Pathogenesis**, v. 129, p. 266-270, 2019.
- SEKAR, R.; MYTHREYEE, M.; SRIVANI, S.; AMUDHAN, M. Prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in rural South India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.5, p. 80-85, 2016.
- SOUZA, C. O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. S. B.; MENEZES, E. M.; CARVALHO, A. C.; MONTEIRO, L. C. R. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Ver. Pan-Amaz. Saúde**, n.2, v.7, p. 79-91, 2016.
- SKOCKOVÁ, A.; KOLACKOVA, I.; BOGDANOVICOVA, K.; KARPISKOVA, R. Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. **Food Control**, v. 47, p. 401-406, 2015.

SHIN, S.W.; SHIN, M.K.; JUNG, M.; BELAYNEHE, K.M.; YOO, H.S. Prevalence of antimicrobial resistance and transfer of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolates from beef cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, 2015.

TARK, D.; MOON, D. C.; KANG, H. Y.; KIM, S.; NAM, H.; LEE, H.; JUNG, S.; LIM, S. Antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk in South Korea from 2012 to 2015. **American Dairy Science Association**, 2017.

VASCONCELOS JÚNIOR A.A.; MENEZES, E.A.; CUNHA, F.A.; CUNHA, M.C.S.O.; BRAZ, B.H.L. Comparação entre microdiluição e disco difusão para o teste de susceptibilidade aos antifúngicos contra *Candida* spp. **Semina Ciênc Biol Saúde**, n. 33, p. 135-142, 2012.

ZANKARI, E.; HASMAN, H.; COSENTINO, S.; VESTERGAARD, M.; RASMUSSEN, S.; LUND, O.; AARESTRUP, F. M.; LARSEN, M. V. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. **J. Antimicrob. Chemother**, v. 67, p. 2640-2644, 2012.

ZHANG, P.; SHEN, A.; ZHANG, C.; SONG, L.; WANG, B.; SHANG, J.; YUE, X.; QU, Z.; LI, X.; WU, L.; ZHENG, Y.; ADITYA, A.; WANG, Y.; XU, S.; WU, C. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008–2015. **Veterinary Microbiology**, v. 203, p. 49-55, 2017

QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO NO SUL DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO CONSIDERANDO A OCORRÊNCIA DE MASTITE SUBCLÍNICA

Jorge Ubirajara Dias Boechat

Instituto Federal Fluminense - Professor
Associado do Campus Bom Jesus do Itabapoana
– Rio de Janeiro

Cassiano Oliveira da Silva

Instituto Federal Fluminense - Engenheiro de
Alimentos do Campus Bom Jesus do Itabapoana
– Rio de Janeiro

Rhuan Amorim de Lima

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Médico Veterinário da EMBRAPA Rondônia - RO

Maria Emília Pozzatti de Souza

Médica Veterinária autônoma – Vitória - ES

Paulo César Amaral Ribeiro da Silva

Universidade Federal Fluminense – Professor
Associado da Faculdade de Veterinária – Niterói-
RJ

RESUMO: A mastite pode causar elevadas perdas na produção leiteira, com índices acima de 50% tornando o leite impróprio para o consumo devido a alterações em seus componentes e na qualidade microbiológica. Das 60 vacas estudadas, foram 13 positivas (65%) em Alegre; 8 positivas (40%) em Guaçuí e 10 resultados (50%) em Jerônimo Monteiro e, com baixa adequação de resultados de CBT aos padrões de legislação. De modo geral, não apresentaram alterações nos componentes do leite. Os municípios de Alegre e Guaçuí tiveram 30% dos resultados de CBT em conformidade

com a legislação e Jerônimo Monteiro 100%. Ressalta-se a necessidade de estudos sobre possíveis variáveis alterando a composição e a microbiologia do leite no sul do Estado do Espírito Santo. Com apoio da FAPES/FUNCITEC, entre UFES e o IF Fluminense – Campus Bom Jesus do Itabapoana - RJ.

PALAVRAS-CHAVE: infecção intramamária, microbiologia do leite, composição do leite.

QUALITY OF THE MILK PRODUCED IN THE SOUTH OF ESPÍRITO SANTO STATE CONSIDERING THE INCIDENT OF SUBCLINICAL MASTITIS

ABSTRACT: Mastitis can cause milk production losses with indexes above 50%, making the milk unfit for consumption due to changes in its components and microbiological quality. From the 60 studied cows, 13 were positives (65%) in Alegre, 8 positives (40%) in Guaçuí and 10 results (50%) in Jerônimo Monteiro and, with a low CBT result adequation to legal standards. In general, there were no observed alterations in the milk components. The municipalities of Alegre and Guaçuí had 30% of the CTB results in accordance with the legislation and Jerônimo Monteiro 100%. It's emphasized the necessity of studies about possible variables altering the milk's composition and microbiology in the south of Espírito Santo State. With FAPES/FUNCITC's

support, between UFES and IF Fluminense - Bom Jesus do Itabapoana Campus - RJ.
KEYWORDS: intramammary infection, milk microbiology, milk composition.

1 | INTRODUÇÃO

Com o advento das instruções normativas de números 51 e 62 do Ministério da Agricultura, o processo de conservação de leite cru passou por modificações consideráveis em favor da qualidade desse produto. Atualmente, a Instrução Normativa número 76 de 26 de novembro de 2018 revogou a IN nº 62 e veio ajustar ainda mais a obtenção higiênica do leite reforçando o uso de Boas Práticas Agropecuárias e plano de qualificação de fornecedores de leite que devem estar incluídos no Programa de Autocontrole dessa matéria-prima (BRASIL, 2018). A conservação de leite em temperaturas abaixo de 4°C em tanques resfriadores mantém este produto em condições microbiológicas adequadas até sua industrialização, porém, alguns gêneros de microrganismos crescem nessa temperatura causando alterações indesejáveis no leite. As bactérias psicrófilas são capazes de causar perdas por proteólise e por lipólise no leite. Altas contagens estão associadas a condições higiênicas deficientes dos equipamentos de ordenha, temperatura de refrigeração do leite inadequada ou período longo de estocagem do leite refrigerado (superior a 48 horas). Segundo MOLINERI et al., (2012), dentre as bactérias gram-negativas o gênero *Pseudomonas spp.* é o mais frequente sendo psicrófilo e, comumente encontrado em água não tratada, solo e vegetais, e a partir destas fontes são introduzidos no leite como resultado da contaminação do equipamento de ordenha e do exterior do úbere e dos tetos. Segundo citações de GARGOURI et al. (2013) cerca de 15% da população de mesófilos no leite cru eram bactérias psicrófilas. As boas práticas de ordenha podem minimizar os problemas de contaminação do leite e atendendo a uma adequação de parâmetros de legislação quanto à contagem bacteriana total (CBT), (NERO et al. 2009; BOZO et al. 2013). A higiene de ordenha torna-se um fator limitante na qualidade do leite. Segundo MOLINERI et al. (2012) as propriedades cujos ordenhadores não apresentavam boa higiene das mãos durante a ordenha tiveram uma probabilidade 7,81 vezes maior de ter contagem elevada de psicrófilos, tanto proteolíticos quanto lipolíticos. Ainda afirmam que o sistema de refrigeração usado e seu adequado procedimento de higienização tornam-se importantes para a obtenção de leite com baixas cargas microbianas de psicrófilos na propriedade, corroborando os achados de TAFFAREL et al. (2013). Considerando o sistema de armazenamento e resfriamento do leite, TAFFAREL et al. (2013) obtiveram um menor valor de mediana para contagem bacteriana de amostras resfriadas a granel quando comparadas ao sistema de refrigeração por imersão e, correspondendo a um menor valor de CBT de amostras de leite obtidas de ordenhadeira canalizada. Tais fatores contribuem para menores valores de mastite subclínica como observou GONÇALVES (2012).

MOTTA et al. (2015) concluíram que amostras de leite em desacordo com a legislação eram provenientes de vacas com mastite e de ordenha sem condições adequadas de higiene. Estudos concluídos por TORRES et al. (2015) indicaram que 53,86% dos animais pesquisados apresentaram mastite subclínica causando alterações na composição do leite, como concluíram NOGUEIRA et al. (2018). LANGONI (2013) estudando a qualidade sanitária do leite verificou que as mastites continuam sendo um dos principais problemas a onerar a pecuária leiteira, levando de mesma forma à perda de qualidade do leite além de proporcionar riscos à saúde humana. O presente trabalho teve por objetivo avaliar as condições sanitárias dos rebanhos leiteiros do sul do Estado do Espírito Santo avaliando-se a composição do leite e suas condições microbiológicas conforme a legislação vigente.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas doze pequenas propriedades leiteiras, contendo de dez a vinte vacas em lactação, com sistema de bezerro ao pé, localizadas nas cidades de Alegre-ES, Guaçuí-ES e Jerônimo Monteiro-ES. A amostragem foi composta de animais casualmente selecionados no rebanho sendo que cada animal formou uma amostra com leite dos quatro tetos após lavagem da região das tetas, e estas desinfetadas com álcool 70°GL tendo sido desprezados os três primeiros jatos de leite, coletando-se 20mL de leite de cada teta. Em cada município, foram estudadas vinte vacas em lactação, em regime de exploração extensiva a pasto e com uma ordenha diária, totalizando sessenta amostras. Para as análises físico-químicas foram coletadas amostras individuais aleatoriamente no início, meio e final do período da lactação totalizando 500mL para cada vaca. Foram feitas as seguintes análises em laboratório: Exame Bacteriológico para mastite conforme QUINN et al. (1994); Contagem Bacteriana Total (CBT), Determinação da acidez, densidade, Extrato Seco Total (EST); Extrato Seco Desengordurado (ESD) e determinação do percentual de gordura do leite conforme BRASIL (2017). Para análise dos dados, foi criado um banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2010. Os resultados foram analisados de acordo com as respectivas médias de cada variável estudada em termos de percentuais de adequação conforme PORTO et al. (2015), sendo que o percentual de adequação se refere ao percentual do total de amostras totais analisadas que atendem à legislação vigente. Os Quadros resultados obtidos foram comparados aos valores limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 76 (BRASIL, 2018).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados para mastite subclínica, dos 20 animais estudados em cada Município foram encontrados 13 positivos (65%) em Alegre; 8 positivos (40%)

em Guaçuí e 10 resultados (50%) em Jerônimo Monteiro pelo exame bacteriológico realizado (Tabela 1).

MUNICÍPIOS	Valores mínimos e máximos de CBT (UFC/mL) por município	% de Mastite pelo Exame Bacteriológico	% de Adequação de CBT à legislação (das amostras de cada município)
Alegre	1,92x10 ³ a 1,7x10 ⁶	65	30
Guaçuí	14,9x10 ⁴ a 6,5x10 ⁶	40	30
Jerônimo Monteiro	2,4x10 ³ a 9,3x10 ⁴	50	100

Tabela 1. Valores médios de Contagem Bacteriana Total (CBT) das amostras de leite por município do sul capixaba.

Do total de sessenta vacas analisadas nos três Municípios foi registrado um valor de 51,66% positivas para mastite subclínica (31 vacas) que ficou acima dos 33% referidos por SILVA (1999) e próximo aos 56% encontrados por OGOLA et al. (2007). Embora os percentuais de mastite subclínica tenham sido elevados, no presente trabalho, não foram observadas alterações expressivas nos teores dos componentes de leite mastítico e não mastítico (Tabela 2). A variação dos parâmetros do leite mastítico (Tabela 2) pode ser devido a lesão de células epiteliais produtoras de leite, aumento da permeabilidade vascular alterando níveis de lactose, gordura e proteína entre outras substâncias no leite como observou GONÇALVES (2012).

MUNICÍPIOS	n (amostras) vacas	Acidez °D	Densidade g/mL	Gordura %	EST %	ESD %
Alegre	20	17,8	1031,2	3,3	12,04	8,71
Guaçuí	20	17	1030,3	3,9	12,58	8,69
Jerônimo Monteiro	20	16,5	1030,8	3,4	12,03	8,65
Geral	60	17,1	1030,8	3,5	12,22	8,69
Leite mastítico	31 vacas	16,7	1030,7	3,8	12,51	8,69
Leite sem mastite	29 vacas	17,6	1030,9	3,2	11,91	8,68
Limites da legislação (IN n° 76)		14,0 a 18,0	1028,0 a 1034,0	Mínimo 3,0	Mínimo 11,40	Mínimo 8,40

Tabela 2. Médias de valores das análises físico-químicos das amostras de leite por município do sul capixaba.

Conforme estudo de Bozo et al. (2013), antes da adoção de boas práticas de ordenha e de recomendações quanto ao tratamento de mastites e à manutenção e higienização de equipamentos de ordenha, a contagem bacteriana total (CBT) média era de 1,36 x 10⁶ UFC/mL e a CCS média, de 1,87 x 10⁶ /mL. Concluíram também que a aplicação das boas práticas de ordenha, de todas as propriedades atingiram os padrões estabelecidos para CBT, com redução média de 93,4%. Em

situação semelhante, GARGOURI et al. (2013) registraram alto nível de número de contagem de células de leite em gado tunisiano, provavelmente devido a elevadas taxas de infecção por mastite. TAFFAREL et al. (2013) concluíram que a contagem bacteriana total (CBT) de ordenha mecânica canalizada apresentou menor CBT com valor de 259mil UFC/mL⁻¹ estando em conformidade com os limites previstos pela IN nº 76 (máximo de 300.000 UFC/mL). Dados estes, quando confrontados com os obtidos no presente trabalho mostraram que somente os rebanhos do município de Jerônimo Monteiro-ES apresentaram 100% de adequação à legislação (IN nº 76) em termos de CBT. Entretanto, o resultado do teste “gold” para mastite subclínica (Exame bacteriológico) revelou valores expressivos de mastite no presente trabalho, correspondendo ao baixo percentual de adequação CBT (30%) nos municípios de Alegre e Guaçuí enquanto que no município de Jerônimo Monteiro, com 50% de mastite subclínica teve valores de CBT 100% dentro dos parâmetros legais, sugerindo uma situação incomum. LANGONI (2013) verificou que as mastites causam consideráveis perdas econômicas e risco à saúde pública. Conclui que seu monitoramento a partir da contagem bacteriana total (CBT) e do exame bacteriológico de cada animal seja relevante para a preservação da qualidade do leite. Em trabalho realizado em 2011 o citado autor e colaboradores observaram que não houve diferença significativa entre os resultados de unidades formadoras de colônias (UFC) e mastite subclínica na maioria das propriedades exceto na propriedade com maior valor de CCS (870.000 células/mL) tendo maior prevalência desta doença. Considerando a CBT, no presente trabalho tal fato pode ser observado no município de Jerônimo Monteiro como foi descrito anteriormente.

Analisando os componentes físico-químicos do leite, de acordo com o trabalho de RIBEIRO NETO et al. (2012) o teor de gordura com média de 3,7%, foi o componente do leite que apresentou maior variação mediante ocorrência de mastite. Variação esta, próxima ao valor médio de gordura de 3,8% obtido no presente trabalho. Enquanto que valores percentuais de sólidos totais (ST) tiveram uma variação não significativa entre 12,11±0,72a e 12,12±0,61a acima do valor médio para leite sem mastite, embora próximo ao valor médio de 12,51% para leite mastítico do presente trabalho (Tabela 2).

MUNICÍPIOS	n (amostras)	Acidez	Densidade	Gordura	EST	ESD
Alegre	20	60%	95%	65%	70%	80%
Guaçuí	20	75%	85%	85%	90%	85%
Jerônimo Monteiro	20	85%	95%	55%	65%	75%
Geral	60	73,3%	91,7%	68,3%	75%	80%

Tabela 3. Percentuais de adequação aos requisitos físico-químicos das amostras de leite por município do sul capixaba.

Os percentuais de adequação apresentados na Tabela 3 mostram que mesmo os valores médios gerais estando de acordo com a legislação vigente existem requisitos físico-químicos que sendo analisados por município tiveram uma adequação baixa para alguns componentes do leite, como a gordura e a acidez no município de Alegre; percentuais de gordura no Município de Jerônimo Monteiro e valores de acidez no Município de Guaçuí no Espírito Santo. No geral todos os três municípios tiveram um extrato seco total (EST) com valor pouco pronunciado (75%) quando comparado com os de densidade (91,7%) em termos de adequação à legislação. Entretanto, os resultados do presente trabalho mostram uma situação incomum pois os valores gerais dos componentes físico-químicos encontrados, por município (Tabela 2) encontram-se dentro dos parâmetros legais.

4 | CONCLUSÃO

As propriedades estudadas no presente trabalho tiveram valores elevados de mastite subclínica e baixa adequação de resultados de CBT aos padrões de legislação, de modo geral, não apresentando alterações nos componentes do leite. Tal situação remete a uma necessidade de maiores estudos com relação à ocorrência de mastite subclínica em rebanhos leiteiros visando evidenciar variáveis que possam interferir de modo significativo em parâmetros como CBT e composição do leite.

REFERÊNCIAS

- BOZO, G.A.; ALEGRO, L.C.A.; SILVA, L.C.; SANTANA, E.H.W.; OKANO, W.; SILVA, L.C.C. **Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.65, n.2, p.589-594. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018.** Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. Diário Oficial da União, Seção 1, pag.09. Brasília, 30 nov. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA. 2017.
- GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. **Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis.** Journal of Food Science, Champaign, v. 78, n. 9, p. 1405-1411. 2013.
- GONÇALVES, J.L. **Produção e composição do leite de vacas com mastite causada por *Corynebacterium spp.*** Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2012. 128p. Doi:10.11606/D. 10.2012.tde-07062013-112423.
- LANGONI, H.; PENACHIO, D. S.; CITADELLA, J.C.C.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS, P.Y.; LUCHEIS, S.B.; MENOZZI, B.D. e SILVA, A.V. **Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, n. 12, p. 1059-1065. 2011.

LANGONI, H. **Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n. 5, p. 620-626. 2013.

MOLINERI, A. I.; SIGNORINI, M. L.; CUATRÍN, A. L.; CANAVESIO, V. R.; NEDER, V. E.; RUSSI, N.B.; BONAZZA, J. C.; CALVINHO, L.F. **Association between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk.** Revista Argentina de Microbiologia, v. 44, p. 187-194. 2012.

MOTTA, R. G.; SILVA, A. V.; GIUFFRIDA, R.; SIQUEIRA, A.K. **Indicadores de qualidade e composição de leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo.** Pesq. Vet. Bras. v. 35, n.5, p. 417-423, maio de 2015.

NERO, L.A.; VIÇOSA, G.N.; PEREIRA, F.E.V. **Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, n. 2, p. 386-390, abr./jun. 2009.

NOGUEIRA, M. B.; PONTES, L. A. E.; SOUZA, H. B.; RAGAZZI, F. G.; BARRETO, J.G. **Perfil da qualidade do leite em propriedade rural do município de Itaperuna, Rio de Janeiro, Brasil.** Acta Biomedica Brasiliensia. V. 9, n.1, abril de 2018.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. **Effect of mastitis on raw milk compositional quality.** Journal of Veterinary Science, (Suwon-si, Korea), v. 8, n.3, p. 237-42. 2007.

PORTO, R.G.C.L.; LOPES, L.A.R.; MOURA, J.C.S. **Caracterização físico-química de leite pasteurizado comercializado na cidade de Teresina-PI.** Ensaios Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde, v. 19, n. 1, p. 21-25. 2015.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary microbiology.** London: Wolfe, 1994.

RIBEIRO NETO, A.C.; BARBOSA, S.B.P.; JATOBÁ, R.B.; SILVA, A.M.; SILVA, C.X.; SILVA, M.J.A.; SANTORO, K.R. **Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.64, n.5, p.1343-1351. 2012.

SILVA, N. **Diagnóstico da mamite em animais de interesse econômico.** In: *III Encontro de Pesquisadores em Mamite.* FMVZ/UNESP, Botucatu, SP, *Anais...* p.51-55, UNESP.1999.

TAFFAREL, L.E.; COSTA, P.B.; OLIVEIRA, N.T.E.; BRAGA, G.C.; ZONIN, W.J. **Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.80, n.1, p.7-11, jan./mar. 2013.

TORRES, H. A. L.; RAIDAN, F. S. S.; ALMEIDA, A. C.; MORÃO, R. P.; VIEIRA, I. L. N. L.; OLIVEIRA, S.. **Uso de modelos de regressão logística para avaliar a composição físico-química do leite bovino *in natura*.** Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador, v.17, n.4, p. 642-651, out./dez. 2016.

SOBRE O ORGANIZADOR

Flávio Ferreira Silva - Possui graduação em Nutrição pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (2016) com pós-graduação em andamento em Pesquisa e Docência para Área da Saúde e também em Nutrição Esportiva. Obteve seu mestrado em Biologia de Vertebrados com ênfase em suplementação de pescados, na área de concentração de zoologia de ambientes impactados, também pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (2019). Possui dois prêmios nacionais em nutrição e estética e é autor e organizador de livros e capítulos de livros. Atuou como pesquisador bolsista de desenvolvimento tecnológico industrial na empresa Minasfungi do Brasil, pesquisador bolsista de iniciação científica PROBIC e pesquisador bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) com publicação relevante em periódico internacional. É palestrante e participou do grupo de pesquisa “Bioquímica de compostos bioativos de alimentos funcionais”. Atualmente é professor tutor na instituição de ensino BriEAD Cursos, no curso de aperfeiçoamento profissional em nutrição esportiva e nutricionista no consultório particular Flávio Brah. E-mail: flaviobrah@gmail.com ou nutricionista@flaviobrah.com

ÍNDICE REMISSIVO

A

Água 2, 3, 8, 11, 19, 20, 25, 32, 37, 41, 49, 51, 54, 55, 64, 71, 72, 73, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 102, 112, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 124, 127, 131, 137, 140, 141, 144, 145, 147, 152, 154, 155, 160, 162, 173, 175, 176, 178, 179, 181, 182, 184, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 198, 203, 204, 206, 210

Alfases 139, 141, 142, 143, 144, 145, 148, 149

Alimentar 9, 12, 14, 16, 18, 28, 31, 32, 50, 59, 60, 63, 83, 84, 86, 88, 92, 104, 108, 111, 113, 117, 121, 124, 125, 128, 129, 132, 137, 140, 147, 151, 159, 162, 184, 187, 192, 194, 199

Amêndoas 7, 8, 176, 178, 179

Antimicrobiana 31, 32, 33, 36, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 112, 115, 185, 188, 194, 195, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 206

Antioxidante 6, 9, 11, 13, 14, 16, 32, 38, 40, 41, 44, 45, 46, 47, 50, 92, 165, 167, 168, 171

B

Bactérias 30, 32, 33, 35, 79, 85, 90, 91, 93, 94, 95, 96, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 113, 115, 118, 121, 125, 127, 151, 159, 162, 174, 175, 176, 177, 178, 183, 186, 187, 188, 190, 191, 194, 195, 203, 204, 205, 210

Bolores 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137

C

Carne 32, 34, 39, 46, 47, 94, 123, 127, 128, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 137, 152, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 169, 170, 171, 173, 181, 199, 206

Castanha 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 170, 174, 175, 176, 177, 178, 179

Cervejas 1, 2, 3, 4, 5, 71

Conservação 30, 32, 47, 49, 88, 137, 172, 205, 210

Consumo 2, 7, 8, 14, 21, 24, 34, 39, 48, 49, 56, 57, 63, 77, 78, 79, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 94, 101, 105, 107, 113, 121, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 139, 140, 141, 147, 155, 160, 161, 162, 174, 177, 178, 180, 181, 183, 184, 185, 187, 196, 203, 204, 205, 206, 209

Correlação 23, 25, 172

Cravo 30, 32, 33, 34, 35, 112

Curva padrão 69

E

Erva mate 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45

Especiarias 18, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115

Extração 8, 10, 35, 41, 44, 62, 63, 64, 66, 67, 85, 168, 201

G

Glúten 1, 2, 3, 4, 5

H

Hipermercados 150, 152, 154

Hospital 99, 101, 102, 103, 105, 107

I

Invertebrados 84, 86, 87, 88

Isolamento 110, 123, 187, 200, 201, 202, 204, 205

L

Leite 17, 18, 21, 22, 50, 52, 60, 62, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 127, 140, 151, 152, 155, 156, 157, 160, 197, 202, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215

Levedura 5, 69, 70, 71, 74, 75

Listeria 90, 91, 92, 94, 95, 96, 97, 98, 114, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 177

M

Marinhos 84, 86, 87, 88, 201

Mastite 202, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215

Mercado 18, 24, 31, 48, 49, 61, 84, 85, 109, 154, 158, 160

Mexilhões 84, 85, 86, 87, 88, 89, 116, 117, 118, 120, 121

Microbiologia 86, 102, 118, 119, 128, 137, 141, 163, 174, 175, 179, 182, 206, 209, 215

Microbiológica 17, 18, 20, 22, 33, 34, 35, 36, 37, 72, 77, 82, 83, 86, 88, 99, 102, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 115, 116, 118, 119, 124, 126, 137, 138, 149, 152, 154, 155, 156, 157, 160, 163, 164, 174, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 192, 206, 209, 215

Microcápsulas 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60

Mortadela 123, 124, 126, 128

Muçarela 150, 152, 153, 154, 155, 156

O

Oxidação 12, 14, 31, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 165, 167, 170, 171, 172, 173

P

Parasitas 139, 141, 142, 145, 146, 147

Peixe 180, 181, 182, 183, 197, 199

Própolis 30, 32, 33, 34, 35, 36, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98

Q

Qualidade 1, 2, 16, 17, 18, 22, 28, 34, 35, 36, 39, 49, 58, 60, 63, 72, 77, 78, 79, 81, 82, 83, 88, 89, 99, 100, 101, 102, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 115, 116, 117, 118, 121, 124, 126, 132, 137, 140, 145, 148, 149, 151, 154, 155, 156, 157, 161, 162, 163, 164, 169, 172, 173, 174, 175, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 192, 209, 210, 211, 213, 214, 215

Química 1, 6, 12, 16, 17, 19, 22, 29, 36, 45, 46, 48, 50, 57, 58, 69, 92, 95, 100, 131, 155, 157, 164, 165, 172, 173, 177, 181, 215

R

Resistência 48, 58, 60, 69, 74, 75, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 98, 105, 127, 128, 129, 153, 185, 186, 187, 189, 190, 191, 192, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207
Revisão 96, 157, 194, 195, 196, 197, 203, 205, 206

S

Salmonella 17, 18, 19, 20, 21, 86, 87, 88, 89, 96, 97, 98, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 125, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 174, 175, 176, 177, 178, 180, 181, 182, 183, 184

T

Temperatura 10, 11, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 35, 41, 54, 62, 63, 64, 66, 67, 70, 71, 72, 75, 80, 86, 102, 119, 124, 125, 132, 133, 160, 162, 170, 171, 175, 181, 187, 188, 210
Torrefação 62, 63, 64, 66, 67

U

Ultrassom 62, 63, 64, 66, 67

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-766-6



9 788572 477666