

**PESQUISAS E AVANÇOS EM
MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS**
COLETÂNEA DE TRABALHOS PUBLICADOS NA III
SEMANA NACIONAL DE MICROBIOLOGIA DE
ALIMENTOS NA INDÚSTRIA

ORGANIZADORES

**JACKSON ANDSON DE MEDEIROS
WIASLAN FIGUEIREDO MARTINS**



AGRON FOOD
ACADEMY



3 EDIÇÃO

SEMICRO

SEMANA NACIONAL DA MICROBIOLOGIA
DE ALIMENTOS NA INDÚSTRIA

PESQUISAS E AVANÇOS EM MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

**COLETÂNEA DE TRABALHOS PUBLICADOS NA III
SEMANA NACIONAL DE MICROBIOLOGIA DE
ALIMENTOS NA INDÚSTRIA**

ORGANIZADORES

**JACKSON ANDSON DE MEDEIROS
WIASLAN FIGUEIREDO MARTINS**

ORGANIZADORES

JACKSON ANDSON DE MEDEIROS
Wiaslan Figueiredo Martins

EDITOR-CHEFE EDITORA AGRON FOOD ACADEMY

Jackson Andson de Medeiros

REVISÃO FINAL

Jackson Andson de Medeiros



Venda proibida



Open access



Revisado por pares

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Semana Nacional da Microbiologia de Alimentos na
Indústria (3. : 2023 : Jardim do Seridó, RN)
3 SEMICRO [livro eletrônico] : coletânea de
trabalhos publicados na III Semana Nacional de
Microbiologia de Alimentos na Indústria /
organização Jackson Andson de Medeiros,
Wiaslan Figueiredo Martins. -- 1. ed. --
Jardim do Seridó, RN : Agron Food Academy,
2023.

PDF

Vários autores.
Bibliografia.
ISBN 978-65-85062-08-4

1. Alimentos - Indústria e comércio - Brasil
2. Microbiologia 3. Tecnologia de alimentos
I. Medeiros, Jackson Andson de. II. Martins,
Wiaslan Figueiredo. III. Título.

23-179215

CDD-664.001579

Índices para catálogo sistemático:

1. Microbiologia dos alimentos : Tecnologia dos
alimentos 664.001579

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129



doi.org/10.53934/IIISEMICRO

Todas as opiniões e textos presentes neste livro são de inteira
responsabilidade de seus autores e coautores.

COMISSÃO AVALIADORA

**ANDRÉA GALINDO CARNEIRO ROSAL
DANIELA SOUZA FERREIRA
FABIANA REGINA LIMA
GIOVANA MENDONÇA
IASNAIA MARIA DE CARVALHO TAVARES
IRIS BARBOSA DE SOUZA
ISABELLE CRISTINE PROHMANN TSCHOEKE
JANE DELANE REIS PIMENTEL SOUZA
JOICE MILIANE DE OLIVEIRA
JÔNATAS CARVALHO SILVA
JULIANNE VIANA FREIRE PORTELA
LÍA ETHEL
MARIANA ALVES DA COSTA
MARILENE DA SILVA LIMA
MATEUS KAWATA SALGAÇO
RAIMUNDO BERNADINO FILHO
SOLANGE DE SOUSA
SUZANA PEDROZA DA SILVA
THIBÉRIO PINHO COSTA SOUZA
VICTOR JESÚS AREDO TISNADO
WIASLAN FIGUEIREDO MARTINS**

APRESENTAÇÃO

É COM GRANDE SATISFAÇÃO QUE APRESENTAMOS O LIVRO “PESQUISAS E AVANÇOS EM MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS”. ESTE LIVRO REPRESENTA UM MARCO IMPORTANTE NA DIVULGAÇÃO DO CONHECIMENTO GERADO DURANTE A III SEMANA NACIONAL DA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS NA INDÚSTRIA, UM EVENTO QUE REUNIU ESPECIALISTAS, PESQUISADORES E ACADÊMICOS DA ÁREA DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS.

ESTE LIVRO CONTÉM UMA COMPILAÇÃO ABRANGENTE DE ARTIGOS E ESTUDOS QUE REFLETEM A DIVERSIDADE E O APROFUNDAMENTO DAS PESQUISAS APRESENTADAS DURANTE O EVENTO. OS CAPÍTULOS ABORDAM UMA VARIEDADE DE TÓPICOS, DESDE A MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS EM DIFERENTES CATEGORIAS DE PRODUTOS ATÉ AVANÇOS EM TÉCNICAS DE ANÁLISE E MÉTODOS DE CONTROLE DE QUALIDADE.

OS AUTORES, ESPECIALISTAS E CIENTISTAS RENOMADOS, COMPARTILHAM SUAS DESCOBERTAS, INSIGHTS E EXPERIÊNCIA NESTE LIVRO. CADA CAPÍTULO OFERECE UMA VISÃO ÚNICA SOBRE OS DESAFIOS E OPORTUNIDADES NA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS, CONTRIBUINDO PARA O CRESCIMENTO CONTÍNUO DO CAMPO E O AVANÇO DA SEGURANÇA E QUALIDADE ALIMENTAR.

QUEREMOS EXPRESSAR NOSSO AGRADECIMENTO A TODOS OS AUTORES QUE CONTRIBUÍRAM PARA ESTE LIVRO, BEM COMO AOS PARTICIPANTES DA III SEMANA NACIONAL DA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS NA INDÚSTRIA POR TORNAREM O EVENTO UM SUCESSO NOTÁVEL. ESTE LIVRO SERVE COMO UM REGISTRO VALIOSO DE NOSSO COMPROMISSO COM A PESQUISA E A DISSEMINAÇÃO DE CONHECIMENTO NO CAMPO DA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS.

ESPERAMOS QUE ESTE LIVRO INSPIRE NOVAS PESQUISAS, PROMOVA DISCUSSÕES SIGNIFICATIVAS E FORTALEÇA AINDA MAIS A COMUNIDADE DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS. À MEDIDA QUE AVANÇAMOS NA BUSCA DE ALIMENTOS MAIS SEGUROS E DE ALTA QUALIDADE, ESTE LIVRO SE TORNA UM RECURSO INESTIMÁVEL PARA ESTUDANTES, ACADÊMICOS, PROFISSIONAIS DA INDÚSTRIA E TODOS OS INTERESSADOS NA CIÊNCIA DA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS.

DESEJAMOS A TODOS UMA LEITURA ENRIQUECEDORA E FRUTÍFERA DESTA LIVRO.

Sumário

Capítulo 01	5
DOI: 10.53934/IISEMICRO-01	5
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AÇAFRÃO (<i>Cúrcuma longa</i>) E PIMENTA-DO-REINO (<i>Piper nigrum</i>) COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES DE BARRA DO GARÇAS-MT E ARAGARÇAS-GO	5
Capítulo 02	15
DOI: 10.53934/IISEMICRO-02	15
PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DE BOMBONS DE MORANGO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS POR EMPRESAS DO MUNICÍPIO DE PELOTAS/RS	15
Capítulo 03	25
DOI: 10.53934/IISEMICRO-03	25
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA SALSICHA COMERCIALIZADA NA CIDADE DE CAXIAS, MA	25
Capítulo 04	33
DOI: 10.53934/IISEMICRO-04	33
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE PERNIL DE BODE SALGADO E DEFUMADO	33
Capítulo 05	41
DOI: 10.53934/IISEMICRO-05	41
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA DOS BEBEDOUROS DAS ESCOLAS DA REDE MUNICIPAL DE DUAS CIDADES NO INTERIOR DO CEARÁ	41
Resumo 01	50
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE AMENDOIM VERDE COZIDO PROVENIENTES DE MUNICÍPIOS SERGIPANOS	50
Capítulo 06	51
DOI: 10.53934/IISEMICRO-06	51
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE DOCES FINOS PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL	51
Capítulo 07	59
DOI: 10.53934/IISEMICRO-07	59
A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DAS BACTÉRIAS PERTENCENTES À FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE NA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS: REVISÃO DE LITERATURA	59

Resumo 02	69
PESQUISA DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EM FRANGO CRU COMERCIALIZADO NAS CIDADES DE NACALA E NAMPULA, MOÇAMBIQUE.	
Capítulo 08	70
DOI: 10.53934/IISEMICRO-08	70
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO DO RIZOMA DE <i>ZINGIBER OFFICINALE</i> COMO COMO CONSERVANTE NATURAL EM LINGUIÇA FRESCAL	
Resumo 03	78
RENDIMENTO DE CULTURA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS E LEVEDURAS DE KOMBUCHA PRODUZIDAS A PARTIR DE SUBSTRATO ALTERNATIVO	
Resumo 4	79
INFUSÃO DE CÁSCARA DE CAFÉ FERMENTADA COM CULTURA DE KOMBUCHA: AVALIAÇÃO DA ACIDEZ E ESTIMATIVA DO TEOR ALCOÓLICO	
Capítulo 09	80
DOI: 10.53934/IISEMICRO-09	80
UTILIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DECAFÉ ARÁBICA NA ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS: UMA REVISÃO	
Capítulo 10	91
DOI: 10.53934/IISEMICRO-10	91
MATRIZES VEGETAIS: UMA ALTERNATIVA PARA CARREAR MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS	
Capítulo 11	104
DOI: 10.53934/IISEMICRO-11	104
COMPOSTOS FENÓLICOS, BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA BIOMASSA MICELIAL DO FUNGO <i>L. theobromae</i> MMPI	
Capítulo 12	114
DOI: 10.53934/IISEMICRO-12	114
PROBIÓTICOS E PÓS-BIÓTICOS NA SAÚDE MENTAL: A RELAÇÃO INTESTINO - CÉREBRO	
Capítulo 13	129
DOI: 10.53934/IISEMICRO-13	129

A IMPORTÂNCIA DAS BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE ALIMENTOS NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS CAUSADORES DE DOENÇAS: REVISÃO DE LITERATURA	129
Capítulo 14	139
DOI: 10.53934/IIISEMICRO-14	139
POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE FILMES BICAMADA À BASE DE AMIDO DE BATATA-DOCE COM ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (<i>THYMUS VULGARIS</i>) ENCAPSULADO EM NANOFIBRAS DE ZEÍNA PARA A APLICAÇÃO EM ALIMENTOS	139
Capítulo 15	150
DOI: 10.53934/IIISEMICRO-15	150
EFEITOS ANTIMICROBIANOS DE EXTRATOS NATURAIS PARA CONSERVAÇÃO DE FRUTAS E HORTALIÇAS: REVISÃO DE LITERATURA	150
Capítulo 16	163
DOI: 10.53934/IIISEMICRO-16	163
APLICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA	163
Capítulo 17	176
DOI: 10.53934/IIISEMICRO-17	176
ÓLEO ESSENCIAL E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM MATRIZES ALIMENTÍCIAS	176

Capítulo 01

DOI: 10.53934/IISEMICRO-01

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AÇAFRÃO (*Cúrcuma longa*) E PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES DE BARRA DO GARÇAS-MT E ARAGARÇAS-GO

Keily Alves de Moura Oliveira ; Thiago Teixeira de Oliveira *; Amanda Sales Martins ; Jhoseff de Oliveira Moura Rodrigues ; Rafael de Jesus Freitas ; Emily Almeida de Jesus ; Renata Nardoni de Oliveira 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: thiagoteoliv@hotmail.com

Resumo: As especiarias contêm, geralmente, elevado número de microrganismos, podendo resultar em problemas de saúde aos consumidores e deterioração dos produtos. A avaliação microbiológica dos alimentos é importante, pois visa proteger a saúde pública. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do açafrão e pimenta-do-reino comercializadas em feiras livres das cidades de Barra do Garças (MT) e Aragarças (GO). As amostras foram avaliadas empregando-se a técnica do número mais provável (NMP) para a contagem de coliformes termotolerantes e plaqueamento para detecção de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, bem como fungos e leveduras, segundo a recomendação da legislação. Observou-se que as amostras de açafrão não apresentaram crescimento significativo de fungos e leveduras, mas, as amostras 1 e 2 de pimenta-do-reino apresentaram crescimento. Todos os condimentos apresentaram crescimento de coliformes termotolerantes, mas apenas as amostras 1 e 2 de pimenta-do-reino confirmaram presença de *E. coli* acima do estabelecido, estando imprópria para uso. Observou-se também a presença de *Salmonella* na amostra 2 de pimenta-do-reino e na amostra 4 de açafrão. 60% das amostras de pimenta-do-reino apresentaram contagem de *Staphylococcus aureus* e 66,67% para o açafrão. Notou-se também contagens das bactérias da Família Enterobacteriaceae em todas as amostras de pimenta-do-reino, mas no açafrão, apenas na amostra 1. A presença de microrganismos potencialmente patogênicos e deterioradores é indicativo de procedimentos higiênico-sanitários inadequados, logo, é preciso orientar os produtores rurais à adotarem as Boas Práticas Agropecuárias e as Boas Práticas de Fabricação, visando a obtenção de um produto seguro e de qualidade.

Palavras-chave: açafrão; pimenta-do-reino; qualidade

Abstract: Spices generally contain a high number of microorganisms, which may result in health problems for consumers and the consumption of products. The microbiological evaluation of food is important as it aims to protect public health. Therefore, the objective of this work was to evaluate the microbiological quality of saffron and black pepper sold in street markets in the cities of Barra do Garças (MT) and Aragarças (GO). The samples were evaluated using the most probable number (MPN) technique for counting thermotolerant coliforms and plating for the detection of *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*,

Enterobacteriaceae, as well as fungi and yeasts, as recommended by legislation. Note that the saffron samples did not show significant fungal and yeast growth, but black pepper samples 1 and 2 did show growth. All condiments adopted growth of thermotolerant coliforms, but only as Example 1 and 2 of black pepper confirmed the presence of *E. coli* above the established, they were unfit for use. Also note the presence of *Salmonella* in black pepper sample 2 and saffron sample 4. 60% of the black pepper samples had *Staphylococcus aureus* count and 66.67% for saffron. Counts of bacteria from the Enterobacteriaceae Family were also noted in all black pepper samples, but in saffron, only in sample 1. The presence of potentially pathogenic and deteriorating microorganisms is indicative of inadequate hygienic-sanitary procedures, therefore, it is necessary to guide agricultural producers to adopt Good Agricultural Practices and Good Manufacturing Practices, in order to obtain a safe and quality product.

Keywords: saffron; black pepper; quality

INTRODUÇÃO

Segundo Carrijo et. al. (1), o termo condimento é popularmente empregado, de modo genérico, para designar os ingredientes aromáticos, de sabor forte ou picante, adicionados com o objetivo de melhorar ou modificar o sabor dos produtos processados, possibilitando a diferenciação e diversificação de produtos, através de um paladar único. De acordo com a RDC n° 716, de 1° de julho de 2022, a especiaria é um produto constituído de partes de uma ou mais espécies vegetais tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas (2).

Pertencente à família Zingiberaceae, o açafrão (*Curcuma longa L.*) é conhecida, no Brasil também como cúrcuma, açafrão-da-terra ou açafrão-da-Índia (3). Cultivada em climas quentes e úmidos, é uma especiaria amarela, vendida como rizomas frescos ou em pó, usada em indústrias farmacêuticas e de alimentos, sendo geralmente utilizada como estudo de suas propriedades nutracêuticas e ingredientes para fabricação de mostardas e queijos, respectivamente (4).

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) é usada como agente medicinal na indústria farmacêutica, conservante na indústria de alimentos e em perfumarias na indústria de cosméticos. Além disso é usada em diferentes tipos de molhos e pratos, como pratos de carne, por seu sabor e aroma picante. Além disso, auxilia na digestão, por estimular o pâncreas e enzimas intestinais. Também possui atividades benéficas, como anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, dentre outras (5). Quando consumida *in natura* na forma de temperos adicionadas à alimentos prontos ou adicionada no final do processamento de um alimento, vários microrganismos podem estar presentes na pimenta-do-reino, dentre eles a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e fungos (6).

As especiarias contêm, geralmente, grande número de bactérias e fungos, com capacidade de sobrevivência durante longos períodos de tempo em alimentos secos, uma vez que as condições de manipulação após colheita permitem uma contaminação extensiva e o crescimento microbiano (7). Elas estão sujeitas a contaminação por microrganismos patogênicos e toxigênicos, que podem afetar os consumidores e a indústria de alimentos, ocasionando problemas de saúde e deteriorando os produtos, respectivamente. (8).

A RDC nº 724, de 1º de julho de 2022, define doenças transmitidas por alimentos (DTA's) como sendo doenças causadas pela ingestão de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, toxinas ou seus metabólitos (9).

Alguns fatores são determinantes para o aumento da incidência das DTA's, entre eles, a maior exposição da população aos alimentos pronto destinados ao consumo coletivo – fast-foods –, o consumo de alimentos em vias públicas, a utilização de novas modalidades de produção, o aumento no uso de aditivos e a mudanças de hábitos alimentares, sem deixar de considerar as mudanças ambientais, a globalização e as facilidades atuais de deslocamento da população, inclusive no nível internacional. Vários países da América Latina estão implantando ou implementando sistemas nacionais de vigilância epidemiológica das DTA's, em decorrência dos estudos que se tem dos agentes etiológicos, a forma como esses contaminam os alimentos e as quantidades necessárias a serem ingeridas na alimentação para que possa se tornar um risco à saúde (10).

No período de janeiro de 2016 a dezembro de 2019, foram notificados no Brasil 2.504 surtos. Entre os surtos notificados, 541 (21,6%) tiveram os agentes etiológicos identificados, entre os mais prevalentes estão *Escherichia coli* (35,7%), *Salmonella* (14,9%), *Staphylococcus* (11,5%), *Norovirus* (8,3%), *Bacillus cereus* (7,4%) e rotavírus (6,9%), entre outros (11).

Assim dito, a qualidade dos alimentos é uma questão de saúde pública, devendo ser prioridade e referência entre as indústrias de alimentos, visando a produção de alimentos seguros (12). Sendo assim, os programas de segurança alimentar devem propiciar um controle de qualidade efetivo de toda a cadeia alimentar, desde a produção até o consumo do alimento *in natura* e o processado, como também os processos de manipulações necessários (13). Ademais, é fundamental que as indústrias cumpram as medidas de ações preventivas ao longo de todo o processo de produção, como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), a Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), além de outros programas de qualidade (12).

A avaliação microbiológica dos alimentos é importante, pois visa a saúde pública, devido os alimentos serem veículos adequados para o transporte e proliferação de microrganismos patogênicos, promovendo surtos de toxinfecções e intoxicações alimentares nos consumidores. Além disso, a avaliação visa o aspecto econômico, pois a deterioração do alimento impossibilita a sua comercialização, gerando prejuízo ao produtor (14).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do açafrão e pimenta-do-reino comercializadas em feiras livres das cidades de Barra do Garças (MT) e Aragarças (GO).

MATERIAL E MÉTODOS

As especiarias foram adquiridas em feiras livres em pontos distintos nas cidades de Barra do Garças – MT e Aragarças – GO, as quais foram escolhidas de maneira aleatória de acordo com a quantidade de pontos de vendas de açafrão (*Curcuma longa L.*) e pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*). Todas as amostras coletadas eram comercializadas nos pontos de venda a granel. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em suas embalagens originais, identificadas e transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Mato Grosso, no Campus Universitário do Araguaia – CUA, Unidade II, em Barra do Garças – MT.

As amostras de açafrão e pimenta-do-reino foram avaliadas empregando-se a técnica do número mais provável (NMP) para a contagem de coliformes termotolerantes e plaqueamento para detecção de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, bem como fungos e leveduras, segundo a recomendação da legislação brasileira (15) e metodologias recomendadas pela American Public Health Association (16).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Codex Code of Hygienic Practice (17) estabelece que as especiarias não devem ser aceitas se conterem agentes químicos ou microbiológicos a níveis que possam causar riscos à saúde do consumidor, e se apresentarem contaminação com fezes de animais ou de material humano, devem ser rejeitadas, assim como se apresentarem danos causados por insetos ou crescimento fúngico devido ao perigo de micotoxinas. A instrução normativa em vigor no Brasil, a IN nº 161, de 1º de julho de 2022, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA / MS, define padrões microbiológicos para todos os grupos de alimentos. Para as especiarias, a ANVISA define um padrão máximo de 5×10^2 UFC/g de *Escherichia coli* e ausência de *Salmonella* em 25g (15). Sendo assim, os resultados do estudo se encontram na Tabela 1.

Tabela 1 - Análises microbiológicas de condimentos a granel

Condimento	Amostra	Coliformes termotolerantes (NMP.g ⁻¹)	Fungos e Leveduras (UFC.g ⁻¹)	<i>S.aureus</i> (UFC.g ⁻¹)	Enterobacteriaceae (UFC.g ⁻¹)	Salmonella
Pimenta-do-reino	1	460	$1,1 \times 10^4$	<10 est.	$7,2 \times 10^2$	Ausência
Pimenta-do-reino	2	<1100	$2,5 \times 10^4$	$7,0 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	Ausência
Pimenta-do-reino	3	23	<10 est.	$2,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$	Ausência
Pimenta-do-reino	4	< 3,0	<10 est.	$1,8 \times 10^2$	$5,0 \times 10^4$	Presença
Pimenta-do-reino	5	< 3,0	<10 est.	<10 est.	$1,0 \times 10^2$	Ausência
Açafrão	1	23	<10 est.	$1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^4$	Presença
Açafrão	2	23	<10 est.	$1,5 \times 10^2$	<10 est.	Ausência
Açafrão	3	43	<10 est.	$1,0 \times 10^1$	<10 est.	Ausência
Açafrão	4	43	<10 est.	$5,0 \times 10^2$	<10 est.	Ausência
Açafrão	5	43	<10 est.	<10 est.	<10 est.	Ausência
Açafrão	6	23	<10 est.	<10 est.	<10 est.	Ausência

Após as análises, confirmou-se que todas as amostras de açafrão não apresentaram crescimento significativo de fungos e leveduras, no entanto, apenas as amostras 1 e 2 de pimenta-do-reino apresentaram presença, com contagem de $1,1 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ e $2,5 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ respectivamente.

Neto et. al. (18), observaram que das 30 amostras de especiarias analisadas, 26 estavam contaminadas, sendo a maior frequência de microrganismos verificada na pimenta-

do-reino, com 178 cepas fúngicas isoladas. Walker et. al. (19) em 100% das amostras analisadas encontraram contagem de fungos e leveduras acima de $3 \log_{10}$ UFC g^{-1} , sendo no açafrão contagem de $5,41 \pm 1,57 \log_{10}$ UFC g^{-1} , e $3,95 \pm 0,27 \log_{10}$ UFC g^{-1} para pimenta-do-reino. De acordo com o trabalho de Souza (20) as amostras de especiarias como açafrão e pimenta-do-reino apresentaram contagem de fungos e leveduras de $1,0 \times 10^4$ UFC g^{-1} a $1,4 \times 10^5$ UFC g^{-1} e $1,0 \times 10^4$ UFC g^{-1} a $1,0 \times 10^5$ UFC g^{-1} respectivamente.

No estudo de Assis (21), analisando condimentos e especiarias a granel, comercializadas no município de Cuiabá, foi encontrado contagem de fungos filamentosos de $4,1 \times 10^3$ UFC ml^{-1} para o açafrão e ausência para a pimenta-do-reino e cominho. Oliveira et. al. (22), encontraram alta contagem de fungos para a pimenta do reino e manjerição, com >100 UFC g^{-1} , seguido do orégano com contagem média de $4,4 \times 10^2$ UFC g^{-1} e $2,8 \times 10^1$ UFC g^{-1} para o alecrim. Uchoa et al. (23) verificaram em suas análises de condimentos comercializados em feira livre, que em todas amostras houve um elevado crescimento de bolores e leveduras, com contagens variando de $2,3 \times 10^4$ a $8,6 \times 10^7$ UFC g^{-1} .

Os resultados de Lima et. al (24) referentes as análises de fungos e leveduras apresentaram valores variando de $1,1 \times 10^3$ a $2,2 \times 10^6$ UFC g^{-1} em amostras de pimenta-do-reino comercializadas em feiras livres e mercado municipal. Vieira et. al (25) encontraram contagem para fungos e leveduras em pimenta-do-reino *in natura* variando de $3,50 \times 10^6 \pm 0,422 \times 10^6$ UFC g^{-1} a $7,30 \times 10^6 \pm 0,99 \times 10^6$ UFC g^{-1} . Estudo de Veloso et. al (26) constataram que todas as amostras analisadas de especiarias apresentaram contaminação por fungos e leveduras, variando de $0,5 \times 10^1$ UFC g^{-1} a $1,75 \times 10^8$ UFC g^{-1} .

Conforme descrito na Tabela 1, todos os condimentos apresentaram crescimento de coliformes termotolerantes, sendo a pimenta-do-reino variando de $< 3,0$ a <1100 NMP g^{-1} . Nas amostras de açafrão, as contagens variaram de 23 a 43 NMP g^{-1} . Apenas as amostras 1 e 2 de pimenta-do-reino confirmaram presença de *E. coli*, acima do estabelecido, estando imprópria para uso.

O estudo de Silva et. al. (27), registrou presença de coliformes termotolerantes em 78% do material examinado, sendo que em 22%, foi excedido o limite de $1,1 \times 10^3$ NMP g^{-1} sendo a pimenta-do-reino e o cominho os produtos que apresentaram maior contagem destes microrganismos, além dos condimentos analisados apresentaram contaminação de *Escherichia coli*. Os resultados de Uchoa et. al (23) demonstraram que houve contaminação por coliformes a $35^\circ C$ em todas as amostras analisadas, variando de 43 a >1.100 NMP g^{-1} , sendo a canela em pó o condimento que apresentou maior contaminação, e a pimenta-do-reino a de menor contaminação.

Walker et. al. (19) em suas análises perceberam que houve alta contagem de Coliformes Totais em todas as seis amostras açafrão, com contagem >2400 NMP g^{-1} . Já na pimenta-do-reino variou de $<3,0$ NMP g^{-1} a >2400 NMP g^{-1} . De acordo com a Souza (20) dentre as especiarias analisadas, o açafrão apresentou alto índice de contaminação por coliformes totais com $>1,1 \times 10^3$ NMP g^{-1} em ambas as marcas analisadas, seguida da pimenta-do-reino, com $9,3 \times 10^1$ NMP g^{-1} e $1,1 \times 10^3$ NMP g^{-1} .

Lima et. al. (24), encontraram para a pimenta-do-reino *in natura*, comercializados em feiras e mercados de São Mateus -ES, contagem variando de $<3,0$ NMP g^{-1} a $7,4 \times 10^3$ NMP g^{-1} . Todas as amostras analisadas por Uchoa et. al. (23) apresentaram contaminação, porém com valores abaixo do padrão exigido pela legislação ($5,0 \times 10^2$ NMP g^{-1}).

Segundo o trabalho de Machado et. al. (28) houve variação na contagem para coliformes totais em pimenta-do-reino, de $0,3$ NMP g^{-1} a $11,0$ NMP g^{-1} . Veloso et. al. (26)

ao analisar pimenta-do-reino, orégano e urucum, houve variação na contagem para Coliformes Totais, de $<3,0 \text{ NMP g}^{-1}$ a $4,2 \times 10^2 \text{ NMP g}^{-1}$. Além disso, percebeu-se que as amostras de pimenta-do-reino foi o condimento que apresentou maior presença do grupo.

Praveen et. al. (29), verificaram contagem de $1,28 \times 10^1 \text{ NMP g}^{-1}$ de *Escherichia coli* em amostras de açafrão comercializadas *in natura.*, assim como Souza (20), que em seu trabalho encontrou valores acima do permitido na legislação para o açafrão ($>1,1 \times 10^3 \text{ NMP g}^{-1}$) e para a pimenta-do-reino ($9,3 \times 10^1 \text{ NMP g}^{-1}$ e $>1,1 \times 10^3 \text{ NMP g}^{-1}$). No trabalho de Machado et. al. (28), a contagem de coliformes termotolerantes variaram de $< 0,3 \text{ NMP g}^{-1}$ até $2,8 \text{ NMP g}^{-1}$.

Já no estudo de Teixeira-Loyola et. al. (30) os condimentos analisados provenientes de feiras livres obtiveram presença dessa bactéria apenas no manjerição. Oliveira et. al. (31) e Veloso et. al. (26). Lima et. al. (24) ao analisarem pimenta-do-reino apresentaram ausência de *E. coli*.

Pode -se observar também neste trabalho que a amostra 2 de pimenta-do-reino e a amostra 4 de açafrão apresentaram presença de *Salmonella* (Tabela 1). Trabalhos realizados por de Lima et. al. (24), Vieira et. al. (25) e Machado et al. (28), não detectaram a presença de *Salmonella* sp. ao avaliar amostras de pimenta-do-reino. Uchoa et. al. (23) e Veloso et. al. (26) em seus estudos não encontraram presença de *Salmonella* em nenhuma amostra analisada. No entanto, os trabalhos de Moreira et. al. (32) encontraram presença de *Salmonella* em 13 das 256 amostras, sendo a pimenta-do-reino a especiaria que mais apresentou presença do microrganismo. Silva et. al. (27) verificaram a presença de *Salmonella* em 60% das amostras analisadas, nos três estabelecimentos pesquisados. Além disso, nos estudos de Souza (20), o açafrão a foi a única amostra que apresentou contaminação por *Salmonella* spp. para ambas as marcas analisadas.

Ainda de acordo com a Tabela 1, 60% das amostras de pimenta-do-reino apresentaram contagem de *Staphylococcus aureus*, variando de $1,8 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ a $7,0 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$. Para as amostras de açafrão, 66,67% apresentaram contagem variando de $1,0 \times 10^1 \text{ UFC.g}^{-1}$ a $5,0 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$. Todas as amostras analisadas pelo trabalho de Silva et. al. (27) apresentaram presença de *Staphylococcus*. Já de acordo com o estudo de Praveen et. al. (29), não houve presença do microrganismo nas amostras analisadas de açafrão, assim como Moreira et. al. (32), Walker et. al. (19) e Veloso et. al. (26) nas amostras de condimentos analisados. Segundo os estudos de Lima et. al. (24), nas análises realizadas utilizando amostras pimenta-do-reino provenientes de feiras livres, mercado municipal, supermercados e indústria exportadora não foram identificadas contaminação por esse tipo de microrganismo.

Conforme descrito na Tabela 1, as amostras de pimenta-do-reino obtiveram contagens das bactérias da Família Enterobacteriaceae, variando de $1,0 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ a $5,0 \times 10^4 \text{ UFC.g}^{-1}$. Para o açafrão não houve crescimento significativo, com exceção da amostra 1, com $3,0 \times 10^4 \text{ UFC.g}^{-1}$. Moreira et. al (32) verificaram que 60,6% das especiarias comercializadas estavam presentes para bactérias mesófilas. Souza (20) verificou presença de $4,1 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ em pimenta-do-reino, e contagens de $3,3 \times 10^4$ e $1,2 \times 10^5$ no açafrão. De acordo com Lima et. al. (24) houve presença dessas bactérias, com valores compreendidos entre $2,5 \times 10^6$ a $7,7 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$ nas amostras analisadas de pimenta-do-reino em feiras livres. Vieira et. al. (25), observaram contagem para pimenta-do-reino *in natura* variando de $2,00 \times 10^7 \text{ UFC g}^{-1}$ até $3,50 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$.

CONCLUSÕES

Conclui-se que ao realizar as análises microbiológicas das amostras de açafrão e pimenta-do-reino comercializadas em feiras livres de Barra do Garças (MT) e Aragarças (GO) constatou a presença de microrganismos potencialmente patogênicos e deterioradores, sendo indicativo de procedimentos higiênico-sanitários inadequados, logo, é preciso orientar os produtores rurais à adotarem as Boas Práticas Agropecuárias, bem como as Boas Práticas de Fabricação, visando a obtenção de um produto seguro e de qualidade.

REFERÊNCIAS

1. Carrijo KF, Praxedes CIS, Nobre FSD, Frasso BS, Duarte MT, Cunha FL. Condimentos e especiarias empregados no processamento de alimentos: considerações a respeito de seu controle físico-químico. PUBVET. 2012; 6(26): 1-27.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 716 de 01 de julho de 2022. Dispõe sobre os requisitos sanitários do café, cevada, chás, erva-mate, especiarias, temperos e molhos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo [Internet]. Julho de 2022 [Acesso em 06 Jun 2023]. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_716_2022_.pdf/9c7579a7-9e06-4f64-9d6c-c5a224a73edc
3. Maia NB, Bovi AO, Duarte FR, Soria LG, Almeida JAR. Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma. Bragantia [Internet]. 1995 [Acesso em 2023 Abr 06]; 54(1): 33-37. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0006-87051995000100004>
4. Kotwal GJ. Curcumin: A Versatile Nutraceutical and an Inhibitor of complement. In: Yashwant, P. Handbook of Nutraceuticals: Scale-Up, Processing and Automation. United States: Taylor & Francis, 2011. p 217-222.
5. Damanhour, ZA, Ahmad AA. Review on Therapeutic Potential of Piper nigrum L. (Black Pepper): The King of Spices. Medicinal & Aromatic Plants [Internet]. 2014 [acesso em 2023 Jun 15]; 3(3): 1-6. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access-pdfs/a-review-on-therapeutic-potential-of-piper-nigrum-l-black-pepper-the-king-of-spices-2167-0412.1000161.pdf> doi: 10.4172/2167-0412.1000161
6. Ramos BCN. Revisão da literatura do estudo microbiológico da especiaria pimenta do reino (piper nigrum). [Monografia]. São Luís: Universidade Federal do Maranhão; 2018.
7. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1986. p. 213-216.

8. Fogle, B, Granta R, Valcina O, Bērziņš A. Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. *Food Control*. [Internet]. 2018 [acesso em 2022 Out 10]; 83: 69-74. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.038>
9. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 724 de 01 de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo [Internet]. Julho de 2022 [Acesso em 29 Set 2023]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. ISBN 978-85-334-1718-2.
11. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. 2020; 51(32): 1-35.
12. Silveira JC. Atualização das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Procedimentos Operacionais Padrão (POP) em uma indústria de polpa de fruta [Monografia]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2016.
13. Santos MPR. Segurança do alimento: características do programa de alimentação escolar no município de Piraf – RJ [Dissertação]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2010.
14. Peixoto D, Weckwerh PH, Simionato EMRS. Avaliação da qualidade microbiológica de produtos de confeitaria comercializados na cidade de Ribeirão Preto/SP. *Alimento e Nutrição* [Internet]. 2009 [acesso em 2022 Set 29]; 20(4): 611-615. Disponível em: <https://docplayer.com.br/20912713-Avaliacao-da-qualidade-microbiologica-de-produtos-de-confeitaria-comercializados-na-cidade-de-ribeirao-preto-sp.html>
15. BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução normativa n° 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, [Internet] 2022. [acesso em 2023 Jun 14]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>
16. APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington, DC, 2001.
17. CAC - Code of hygienic practice for spices and dried aromatic plants (CAC/RCP42-1995) [Internet]. 1995 [Acesso em 03 Out 2022]. Disponível em: <http://www.greenfoodec.eu/documents/codeofhygienicpracticeforspicesanddriedaromaticplants.pdf>

18. Neto AC, Silva FV, Machado AP. Incidência de espécies fúngicas potencialmente toxigênicas em especiarias. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde* [Internet]. 2013 [acesso em 2023 Abr 06]; 17(1): 9-18. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/260/26031886001.pdf>
19. Walker JF, Oliveira TDS, Araújo JBD, Silva PPDA, Coelho AFS. Avaliação microbiológica de condimentos comercializados em feira livre. *Higiene Alimentar*. 2014; 38(230-231): 185-189.
20. Souza PMV. Análise microbiológica de especiarias comercializadas no município de Palmas – TO [Trabalho de Conclusão de Curso]. Palmas: Centro Universitário Luterano de Palmas; 2015.
21. Assis AF. Análise Microbiológica de Especiarias e Condimentos comercializados no Município de Cuiabá/MT [Monografia]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso; 2016.
22. Oliveira AP, Arruda GL, Pedro FGG, Oliveira JC, Hahn R, Takahara D. Contaminação fúngica em especiarias desidratadas comercializadas no Mercado do Porto de Cuiabá-MT. *Brazilian Journal of Food Research*. 2016; 7(1): 149-160.
23. Uchoa MLP, Gonsalves HRO, Silva KFNL, Souza GC. Qualidade Microbiológica de Condimentos Comercializados na Feira Livre da Cidade de Limoeiro do Norte – CE. *Anais VI JOIN / Brasil – Portugal* [Internet]. Campina Grande: Realize Editora; 2019 [acesso em 2023 Jun 06]. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/57882>
24. Lima AS, Baldan WG, Carminate B, Silva MBS, Oliveira MV. Qualidade microbiológica de pimenta preta produzida e comercializada em São Mateus, Espírito Santo, Brasil. *Enciclopédia Biosfera* [Internet]. 2019 [acesso em 2023 Jun 06]; 16(30): 470-482. Disponível em <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2019b/qualidade.pdf> doi: 10.18677/EnciBio_2019B46
25. Vieira JRR, Piccolo MP, Maradini Filho AM, Carneiro JCS, Carminate B, Silva MB. et al. Avaliação de grupos microbianos em pimenta-do-reino obtidas in natura e por secagem em terreiros [Internet]. *Realidades e perspectivas em Ciência dos Alimentos – Volume II*. Nova Xavantina, MT: Pantanal Editora; 2020 [acesso em 6 Jun 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.46420/9786588319277>
26. Veloso RR, Silva MKG, Guedes FGS, Silva TR, Lima GE, Shinohara NKS. Aspectos microbiológicos das especiarias comercializadas na Região Metropolitana do Recife/PE. *Conjecturas* [Internet]. 2022 [acesso em 2023 Jun 06]; 22(5): 397–410. Disponível em: <https://conjecturas.org/index.php/edicoes/article/view/967> doi: 10.53660/CONJ-967-M04

27. Silva JF, Melo BA, Leite DT, Cordeiro MFR, Pessoa EB, Barreto CF, et al. Análise microbiológica de condimentos comercializados na feira central de Campina Grande-PB. Rev ACSA. 2013; 9(2): 83-87.
28. Machado TMF, Piccolo MP, Santos YIC, Jacomelli KC, Silva DAO. Qualidade microbiológica de pimenta-do-reino obtida de produtores rurais familiares. Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos [Internet]. 2019 [acesso em 2023 Abr 06]; 4: 207-224. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.org/articles/210203267.pdf> doi: 10.37885/210203267
29. Praveen S, Das S, Begum A, Sultana N, Hoque MM, Ahmad I. Microbiological quality assessment of three selected spices in Bangladesh. IFRJ [Internet]. 2014 [Acesso em 2023 Jun 06]; 21(4): 1327-30. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(04\)%202014/9%20IFRJ%2021%20\(04\)%202014%20Parveen%20674.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(04)%202014/9%20IFRJ%2021%20(04)%202014%20Parveen%20674.pdf)
30. Teixeira-Loyola, ABA, Siqueira FC, Paiva LF, Schreiber AZ. Análise Microbiológica de especiarias comercializadas em Pouso Alegre, Minas Gerais. REAS, 2014; 6(1): 515-529.
31. Oliveira JO, Vilela LTO, Silva LHO, Nascimento TS, Magalhães FAC, Vivi VK. Análise microbiológica de especiarias desidratadas comercializadas em feiras livres de Cuiabá, Mato Grosso. Journal Health NPEPS [Internet]. 2017 [acesso em 2023 Jun 06]; 2(2): 365-379. Disponível em <https://periodicos.unemat.br/index.php/jhnpeps/article/view/2572>
32. Moreira PL, Lourenção TB, Pinto JP, Rall VL. Microbiological quality of spices marketed in the City of Botucatu, São Paulo, Brazil. Journal of Food Protection [Internet]. 2009 [acesso em 2023 Abr 06]; 72(2): 421-24. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Vera-Rall/publication/24261961_Microbiological_Quality_of_Spices_Marketed_in_the_City_of_Botucatu_Sao_Paulo_Brazil/links/54410ea60cf2a76a3cc70a6a/Microbiological-Quality-of-Spices-Marketed-in-the-City-of-Botucatu-Sao-Paulo-Brazil.pdf

Capítulo 02

DOI: 10.53934/IIISEMICRO-02

PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DE BOMBONS DE MORANGO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS POR EMPRESAS DO MUNICÍPIO DE PELOTAS/RS

Cristiane Brauer Zaicovski^{ID*}; Jonathan Moreira Botelho^{ID}; Marisa Ferreira Karow^{ID}; Helen Rodrigues Oliveira^{ID}; Vanessa Ribeiro Pestana Bauer^{ID};

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: crisbrauer@gmail.com

Resumo:

A elaboração de alimentos está associada com um bom emprego de boas práticas de fabricação e cumprimento da legislação vigente, principalmente no aspecto microbiológico, com o objetivo de ofertar alimentos seguros. A qualidade microbiológica reflete as condições estabelecidas durante o preparo dos alimentos, desde higienização da infraestrutura do local de produção, utensílios e equipamentos, assim como cuidado com os colaboradores e condições de distribuição e comercialização. O Município de Pelotas é pólo nacional relacionado a doces tradicionais, em que bombons de leite condensado com recheio de frutas, cobertos com chocolate são muito apreciados pelos consumidores, onde há empresas e empreendedores responsáveis por todas as etapas até chegar ao consumidor. O correto emprego de técnicas de higiene no preparo, armazenamento, distribuição e comercialização vão conferir qualidade e aceitabilidade pelo mercado consumidor, movimentando a economia da região. O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de oito amostras locais de bombons de leite condensado e morango com chocolate, de agroindústrias responsáveis pela elaboração e comercialização de seus produtos, no âmbito da Instrução Normativa ANVISA 161/2022. Em relação aos parâmetros Salmonella/25g, e Escherichia coli/g, todas as amostras estão de acordo com os limites impostos pela legislação. Já o parâmetro Estafilococos Coagulase Positiva/g, cinco amostras apresentaram qualidade intermediária e três amostras, qualidade insatisfatória para Bolores e leveduras/g, apresentando contagens superiores a 10^4 UFC.g⁻¹, o que indica contaminação da matéria-prima e/ou falhas no processamento do produto, higienização ineficiente de superfícies e utensílios empregados na linha de produção, assim como contaminação cruzada pelos manipuladores.

Palavras-chave: análises microbiológicas; confeitaria; legislação.

MICROBIOLOGICAL QUALITY PARAMETERS FOR STRAWBERRY CANDIES PRODUCED AND SOLD BY COMPANIES IN THE MUNICIPALITY OF PELOTAS/RS

Abstract:

The production of food is associated with the proper implementation of good manufacturing practices and compliance with current legislation, especially in terms of microbiology, aiming to offer safe food. Microbiological quality reflects the conditions established during food preparation, including the sanitation of production facilities, utensils, and equipment, as well as the care of employees and conditions for distribution and commercialization. The city of Pelotas is a national hub for traditional sweets, where condensed milk chocolates filled with fruits and covered with chocolate are highly appreciated by consumers. There are several companies and entrepreneurs responsible for all stages of production until reaching the consumer. The correct implementation of hygiene techniques in preparation, storage, distribution, and commercialization ensures quality and acceptability by the market, thus stimulating the region's economy. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of eight local samples of condensed milk and strawberry chocolates from agribusinesses responsible for the production and commercialization of their products, following the guidelines of ANVISA Norm 161/2022. In relation with the parameters, Salmonella/25g and Escherichia coli/g in all samples comply with the limits imposed by the legislation. On the other hand, concerning the parameter of Coagulase-Positive Staphylococci/g, five samples showed intermediate quality, and three samples showed unsatisfactory quality for molds and yeasts/g, with counts exceeding 10⁴ CFU.g⁻¹. This indicates the raw material contamination and/or processing failures, inefficient sanitization of surfaces and utensils used in the production line, as well as cross-contamination by handlers.

Key words: microbiological analysis; confectionery; legislation.

INTRODUÇÃO

A elaboração de produtos alimentícios está estritamente associada com um bom emprego de boas práticas de fabricação e cumprimento da legislação vigente, principalmente no aspecto microbiológico, com o objetivo de ofertar, ao mercado consumidor, alimentos seguros.

A qualidade higiênico-sanitária reflete as condições estabelecidas durante o preparo dos alimentos, desde limpeza e sanitização da infraestrutura do local de produção, assim como higiene de todos os utensílios e equipamentos utilizados, além do cuidado com os próprios colaboradores, personagens centrais do ato de elaboração de produtos derivados, de acordo com que preconiza a legislação vigente (BRASIL, 2002).

Vários autores relatam as condições físicas e higiênico-sanitárias de estabelecimentos produtores de alimentos, ocasionadas pela inexistência ou ineficiência do correto emprego das Boas Práticas de Fabricação com a presença de microrganismos acima do permitido pela legislação vigente, em diversos alimentos (CUNHA et al., 2000; OLIVEIRA e REBOUÇAS, 2008; SILVA e ABUD, 2016; SPRENGER et al., 2016; MARINHO et al., 2018).

Para a produção de um alimento seguro é necessário estabelecer normas, limites e padrões, exercendo tarefas de inspeção, controle, fiscalização e vigilância, de forma que os constituintes ou contaminantes que causam perigo à saúde estejam ausentes ou abaixo do limite de risco (FRANCO e LANDGRAF, 2008; VALEJO et al., 2003).

O Município de Pelotas é conhecido nacionalmente como Capital Nacional do Doce e há inúmeras empresas e pequenos empreendedores, que produzem e comercializam tradicionais produtos, os quais utilizam receitas de família. Sendo assim, o correto emprego de técnicas de higiene no preparo, armazenamento de matérias-primas e produtos, assim como distribuição dos mesmos vão conferir um produto de qualidade e aceito pelo mercado consumidor, movimentando a economia da região.

Um dos doces mais amplamente consumidos são os doces de fruta cobertos com chocolate, os quais são bombons de leite condensado recheado com fruta fresca, como por exemplo, morango ou uva, coberto de chocolate, segundo Imperatriz Doces Finos (2023), empresa associada e fundadora da Associação de Doceiras de Pelotas.

Quando se refere à qualidade higiênico-sanitária, principalmente os aspectos relativos à higiene, os parâmetros microbiológicos são amplamente empregados para verificar se os produtos comercializados estão em cumprimento ou não com as normas vigentes. Para isso, os empregos de protocolos microbiológicos podem fornecer respostas do panorama local da produção de alimentos considerados Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro, título concedido pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional, no ano de 2018 (IPHAN, 2018).

Santana, Vieira e Pinto (2015) sugerem que a adoção de BPF's deve ser adotada e devidamente fiscalizada pelos municípios, a fim de garantir a inocuidade e integridade dos produtos oferecidos à população.

Sendo assim, diante do contexto, o objetivo deste estudo é avaliar o perfil higiênico-sanitário de doces de frutas cobertos com chocolate comercializados Município de Pelotas/RS, no que se refere a análises indicativas de falhas de processamento e correto emprego de Boas Práticas de Fabricação durante o preparo deste tipo de produto e/ou problemas na distribuição e comercialização.

MATERIAL E MÉTODOS

As oito amostras de doces de frutas cobertos com chocolate, no caso, como objeto de estudo, bombons de morango, foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do Município de Pelotas/RS, os quais são responsáveis por todas as etapas, desde a aquisição de matéria-prima, passando pela elaboração dos bombons e sua comercialização direta ao consumidor.

Após a aquisição, os doces devidamente embalados foram transportados imediatamente até o laboratório, em caixas térmicas para manutenção da temperatura de comercialização das amostras, e armazenadas em local apropriado, até o momento da execução das análises. Sempre que havia planejamento de aquisição de novas amostras, todo material e soluções já estavam previamente preparados e esterilizados, assim como o espaço físico já agendado e estufas com as temperaturas ajustadas, para que não houvesse algum dano à qualidade das amostras.

Os tratamentos foram compostos por oito variáveis independentes e, como variáveis dependentes, os seguintes fatores, os quais são parâmetros microbiológicos indicados pela

Instrução Normativa 161/2022, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para o tipo de produto investigado: *Salmonella*/25g, *Estafilococos* Coagulase Positiva/g, *Escherichia coli*/g e Bolores e Leveduras/g (BRASIL, 2022).

A determinação de Bolores e Leveduras/g foi realizada mediante o uso do meio de cultura ágar batata dextrose e técnica de plaqueamento por superfície, com posterior incubação em estufa ajustada a 25°C, por cinco dias, e contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), nas placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias, de acordo com método descrito em Silva et al. (2010) e o resultado expresso em UFC.g⁻¹.

Já a determinação de *Estafilococos* Coagulase Positiva/g foi realizada com o emprego de meio de cultura ágar Baid-Parker adicionado de emulsão de gema de ovo com telurito, técnica de plaqueamento por superfície e incubação em estufa ajustada a 35°C, por 48 horas. Após este período, nas placas em que houve crescimento de UFC entre 20 e 200 colônias, três colônias típicas e três atípicas foram semeadas em tubos com caldo BHI e incubado a 35°C, por 24 horas e aplicado teste bioquímico de coagulase para confirmação de *Staphylococcus aureus*, em que nos tubos semeados, foi retirada uma alíquota e submetida à reação química com plasma de coelho, por seis horas, em banho-maria também ajustado a 35°C. Ao final deste período, as amostras coaguladas indicam a presença da bactéria patogênica *Staphylococcus aureus*, pois somente esta bactéria do gênero *Staphylococcus* coagula o plasma de coelho nas condições descritas acima, de acordo com método apresentado por Silva et al. (2010) e o resultado expresso em UFC.g⁻¹.

Já as verificações de ausência ou presença das bactérias *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, foram realizadas de acordo com Ribeiro et al. (2020), a partir dos resultados do ensaio de determinação do grupo coliformes totais e termotolerantes, via técnica de Número Mais Provável (NMP), segundo protocolo descrito em Silva et al. (2010), pelo emprego da técnica do número mais provável (NMP), pelo uso do caldo lauril sulfato triptose (LST) no teste presuntivo e caldo bile verde brilhante e caldo EC, nos testes confirmativos para coliformes totais e termotolerantes, respectivamente.

Para averiguação da ausência ou não de *Salmonella* spp., após a prova presuntiva, da técnica de NMP, ou seja, aqueles que apresentaram presença de gás, foi retirada uma alçada e estriada em placa de Petri esterilizadas contendo meio de cultura ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e, posteriormente, incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias típicas de *Salmonella* spp. são de coloração azul escuro ou negras com o centro precipitado azul.

A identificação de presença da bactéria *Escherichia coli* é realizada a partir dos tubos positivos do teste confirmativo para coliformes termotolerantes, da técnica de NMP realizada para identificação do grupo coliformes totais e termotolerantes citados acima, também segundo protocolo descrito por Ribeiro et al. (2020). Foi retirada uma alçada de cada tubo positivo e feita a semeadura em placa de Petri esterilizada contendo meio de cultura ágar Eosina Azul de Metileno (L-EMB), com incubação a 45°C, por 24 horas. As colônias típicas apresentam coloração com centro preto e brilho verde metálico, que indicam a presença do microrganismo, de forma qualitativa, ou seja, apenas indicando a presença ou ausência.

O delineamento experimental será inteiramente casualizado, com três repetições, para cada unidade experimental. Os dados foram expressos em médias aritméticas e o resultado comparado com a atual legislação que estabelece os padrões de qualidade microbiológica de alimentos, da ANVISA, a Instrução Normativa nº 161, publicada no ano de 2022 (BRASIL, 2022).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, entre todas as oito amostras avaliadas, de bombons de morango, constatou-se que somente um parâmetro microbiológico, de acordo com a Instrução Normativa ANVISA 161/2022, apresentou resultados acima do limite máximo indicado para Bolores e leveduras/g, em que três estabelecimentos responsáveis por toda a cadeia de produção, apresentaram concentração de $1,7 \times 10^4$, $1,3 \times 10^4$ e $8,3 \times 10^5$ UFC.g⁻¹, o qual o limite máximo é de 10^4 UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2022), como pode ser verificado no quadro abaixo:

Quadro 1. Qualidade microbiológica de bombons de morango comercializados no Município de Pelotas/RS, de acordo com a legislação vigente

Parâmetro	Amostra	Resultado	Limites IN 161/2022 – ANVISA			
			n	c	m	M
Salmonella/25g	A	Aus.	10	0	Aus.	-
	B	Aus.				
	C	Aus.				
	D	Aus.				
	E	Aus.				
	F	Aus.				
	G	Aus.				
	H	Aus.				
Estafilococos coagulase positiva/g UFC.g ⁻¹	A	$1,0 \times 10^1$	0	1	10^2	10^3
	B	$2,7 \times 10^1$				
	C	$1,5 \times 10^2$				
	D	$2,7 \times 10^2$				
	E	$2,3 \times 10^2$				
	F	$2,6 \times 10^2$				
	G	$5,1 \times 10^2$				
	H	$1,0 \times 10^1$				
Escherichia coli/g	A	Aus.	5	1	10	10^2
	B	Aus.				
	C	Aus.				
	D	Aus.				
	E	Aus.				
	F	Aus.				
	G	Aus.				
	H	Aus.				
Bolores e Leveduras/g UFC.g ⁻¹	A	$8,6 \times 10^3$	5	1	10^3	10^4
	B	$7,8 \times 10^3$				
	C	$8,5 \times 10^3$				
	D	$1,7 \times 10^4$				
	E	$1,3 \times 10^4$				
	F	$6,8 \times 10^3$				
	G	$8,4 \times 10^5$				
	H	$4,3 \times 10^3$				

Os grupos de microrganismos que, quando presentes em números elevados nos alimentos, podem causar a deterioração e/ou redução da vida de prateleira, fornecem informações gerais sobre as condições durante o processamento do alimento. As contagens de células viáveis baseiam-se no número de células microbianas que se desenvolvem em placas com meios de cultura nos quais foram inoculadas quantidades previamente conhecidas do alimento diluído e, posteriormente, incubadas sob determinadas condições ambientais. Portanto, só serão contadas células com capacidade de crescer nas condições previamente determinadas (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

A contagem de bolores e leveduras contribui para indicar práticas inadequadas durante o processamento, ou seja, falhas no processo ou ineficiência na aplicação correta de Boas Práticas de Fabricação. Além disso, uma alta contagem de bolores e leveduras pode indicar uma possível presença de micotoxinas, as quais representam potencial risco à saúde e ocasiona perdas econômicas significativas (SILVA et al., 2020).

Os fungos, quando presentes em produtos agrícolas podem causar deterioração em partes das plantas, grãos e sementes, perda do poder germinativo, descoloração, redução do valor nutritivo e alterações no odor, ao se desenvolverem durante a plantação e/ou armazenamento, quando encontram condições adequadas para a sua sobrevivência, como alta temperatura e umidade (ALSHANNAQ e YU, 2017). No caso das amostras investigadas, a concentração de bolores e leveduras pode ser advinda do morango utilizado na confecção do bombom, o que evidencia que há o risco da fruta não ter sido bem higienizada.

De acordo com Lima et al. (2020), a higienização correta é suficiente para reduzir a contaminação por microrganismos, o que inclui etapas de retirada e descarte das partes danificadas, lavagem com água potável para a remoção de substâncias minerais e orgânicas, tais como, terra, poeira, insetos e outras sujidades), sanitização com agentes saneantes e novo enxágüe com água potável (BRASIL, 2004).

Além disso, microrganismos aeróbios mesófilos, grupo coliforme e bolores e leveduras são geralmente encontrados em produtos *in natura* e minimamente processados, em concentrações que variam entre 10^3 a 10^9 UFC.g⁻¹, sendo responsáveis pela deterioração da qualidade físico-química e também como vetores de doenças transmitidas por alimentos, oferecendo risco à saúde dos consumidores (ALEXANDRE et al., 2011; PANG e HUNG, 2016). Notermans et al. (2004) e Sivapalasingam et al. (2004) relatam associação do morango com surtos de hepatite A e contaminação por Norovírus, *Cylospora cayatanensis* e *Staphylococcus aureus*, microrganismos patogênicos vinculados a intoxicação alimentar.

Em relação aos parâmetros de qualidade microbiológica Salmonella/25g, Escherichia coli/g apresentaram concentrações ou ausência de acordo com que preconiza a legislação vigente, sendo considerados produtos de qualidade satisfatória nesses quesitos isoladamente, o que evidencia que os insumos e produto final não tiveram contato direto ou indireto com matéria-prima de origem fecal, por exemplo, evidenciando que foram tomadas medidas preventivas para evitar contaminação cruzada.

Já em relação ao parâmetro microbiológico Estafilococos coagulase positiva/g, observou-se que, entre as amostras analisadas, três estabelecimentos (A, B e H) apresentaram contagens abaixo de 10^2 UFC.g⁻¹, apresentando respectivamente, $1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹, $2,7 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ e $1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹.

Os estabelecimentos C, D, E, F e G apresentaram qualidade microbiológica intermediária, pois apresentaram resultados entre o limite mínimo (10^2 UFC.g⁻¹) e limite máximo (10^3 UFC.g⁻¹), variando entre $1,5 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ e $5,1 \times 10^2$ UFC.g⁻¹. Isso significa que, em algum ponto da cadeia de produção, distribuição e comercialização houve contato do produto e contaminação cruzada, porém em um nível considerado tolerado pela legislação vigente.

Os principais reservatórios do patógeno *Staphylococcus aureus* são o homem e os animais, podendo ser encontrado em ambiente externo, em pregas cutâneas, axilas, vagina, intestino, pele humana, mucosa nasal, bucal e auricular, por exemplo, em que a cavidade nasal o seu foco habitacional nos humanos. Logo, os manipuladores de alimentos, portadores de *S. aureus* são eminentes fontes de contaminação alimentar (LAMBRECHTS et al., 2014; BERNARDO et al., 2005).

No caso específico deste tipo de doce, um produto que não passa por cocção, após a sua montagem e ter ação direta de manipuladores, durante a sua elaboração, pode ser contaminado por diferentes tipos de bactérias e fungos, inclusive patogênicos, tais como *Staphylococcus aureus* e enterobactérias e, além disso, a não necessidade de armazenamento refrigerado se revela um potencial fator que pode desencadear uma maior proliferação de microrganismos e, conseqüentemente, causar alguma doença de origem alimentar.

Silva, Santos e Viana (2020) comentam que, as mãos dos manipuladores de alimentos são fonte potencial de patógenos e que a falta de conhecimento a respeito de práticas de higiene pelos colaboradores é muito frequente, associada a uma infraestrutura precária ou inadequada para a elaboração de produtos alimentícios e falta de fiscalização aumentam as preocupações frente à segurança dos alimentos. A associação desses fatores com a ausência de Boas Práticas de Fabricação, assim como uma proteção efetiva do produto frente a poeira e insetos, eleva o risco de contaminação de microrganismos deteriorantes, assim como patogênicos (SOUZA et al., 2015).

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, concluímos que a produção de bombons, elaborados, distribuídos e comercializados no Município de Pelotas/RS ainda inspira atenção principalmente no que tange à qualidade das matérias-primas empregadas na produção dos bombons, assim como em relação à contaminação cruzada, por conta dos manipuladores de alimentos, que sem conhecimento, acabam trazendo aos produtos microrganismos patogênicos. O emprego de Boas Práticas de Fabricação rigorosamente e a perfeita higiene das frutas utilizadas minimiza potenciais focos de surtos alimentares.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPERGS – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RS pela concessão da bolsa de iniciação científica e à Pró-Reitoria de Pesquisa, Inovação e Pós-Graduação do Instituto Federal Sul-rio-grandense pelo apoio.

REFERÊNCIAS

- Alexandre EM, Pedro DM, Brandão TR, Silva CL. Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and water cress. *J Food Eng.* 2011;105(1):277-82.
- Alshannaq A, Yu JH. Occurrence, toxicity, and analysis of mayor mycotoxins in food. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14(632):1-20.
- Bernardo WL, Boriollo MF, Gonçalves RB, Höfling JF. *Staphylococcus aureus* ampicillin-resistant from the odontological clinic environment. *Rev Inst Med Trop S. Paulo.* 2005;47(1):19-24.
- Brasil. Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. *Diário Oficial da União.* 2022;126(1):235-8.
- Brasil. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Diário Oficial da União.* 2004;179(1):25-28.
- Brasil. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados Aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação de Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. *Diário Oficial da União.* 2002;206(1):126-130.
- Cunha VA, Bastos, MS Feitosa T, Oliveira ME, Muniz CR. Diagnóstico das condições higiênicas-sanitárias dos equipamentos utilizados em três fábricas de polpa de fruta congelada da região metropolitana de Fortaleza. *Bol CEPPA.* 2000;18(2):171-6.
- Franco BG, Landgraf M. *Microbiologia dos alimentos.* São Paulo: Atheneu; 2008. 182 p.
- Imperatriz Doces Finos [Internet]. Arquivos doces com cobertura de chocolate; [citado 20 abr 2023]. Disponível em: <https://www.imperatrizdocesfinos.com.br/produto/doces/doces-com-cobertura-de-chocolate/>.
- Iphan [Internet]. Brasília: Iphan; c2018. Tradições doceiras de Pelotas (RS) são reconhecidas como Patrimônio Imaterial do Brasil; [citado 22 abr 2023]. Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br/noticias/detalhes/4653/tradicao-doceira-de-pelotas-rs-e-reconhecida-como-patrimonio-imaterial-brasileiro>.
- Lambrechts AA, Human IS, Doughari JH, Lues JF. Bacterial contamination of the hands of food handlers as indicator of hand washing efficacy in some convenient food industries in South Africa. *Pak J Med Sci.* 2014;30(4):755-8.

Lima ML, Almeida RK, Fonseca, FS, Gonçalves CC. A química dos saneantes em tempos de COVID-19: você sabe como isso funciona. *Química Nova*. 2020;43(5):668-78.

Marinho SC, Mouta AR, Rabêlo HP; Silva GM, Furtado GC. Condições microbiológicas de polpas congeladas de açaí comercializadas em mercados públicos de São Luís – MA. *Health Connect*. 2018;2(1):44-59.

Notermans S, Znadvoort-Roelofsen JS, Barendsz AW, Beczner J. Risk profile for strawberries. *Food Prot Trends*. 2004;24(10):730-9.

Oliveira LL, Rebouças. TN. Perfil higiênico-sanitário das unidades de processamento da farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na região sudoeste da Bahia. *Alimet Nutr*. 2008;19(4):393-9.

Pang YH, Hung YC. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water and UV-ozonated water combination for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 on romaine and iceberg lettuce during spray washing process. *J Food Sci*. 2016;81(7):M1743-8.

Ribeiro AC, Brito AL, Agostinho DR, Oliveira MS, Pereira TS, Serafim AA, Alvarenga AC et al. Análise microbiológica de carne bovina moída comercializada em Governador Valadares/MG. *J Appl Pharm Sci*. 2020;7:1-9.

Santana FA, Vieira, MC, Pinto UM. Qualidade microbiológica de sanduíches de estabelecimentos com serviços tipo *delivery*. *Ver Inst Adolfo Lutz*. 2015;74(2):156-61.

Silva CC, Souza NF, Dias RJ, Costa MS, Marques IS, Medeiros Júnior FC. Verificação das condições físico-químicas e microbiológicas de bolos caseiros comercializados por ambulantes. *Res Soc Dev*. 2020;9(11):e68891110270.

Silva CE, Abud AK. Importância da avaliação periódica dos procedimentos operacionais padrão em uma indústria de polpa de frutas. *Hig Alimentar*. 2016;30(262):32-8.

Silva LE, Santos WS, Viana MG. Análise microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos. *Rev Epidemiologia Control Infeccao*. 2020;10(1):15-20.

Silva N, Junqueira VC, Silveira NF, Taniwaki, MH, Santos RF, Gomes, RA. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. São Paulo: Varela; 2010. 552 p.

Sivapalasingam S, Friedman CR, Cohen L, Tauxe RV. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness the United States, 1973 through 1997. *J Food Prot*. 2004;67(10):2342-53.

Souza GC, Santos CT, Andrade AA, Alves L. Comida de rua: avaliação das condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimentos. *Cienc Saude Coletiva*. 2015;20(8):2329-38.

Sprenger LK, Risolia LW, Hamdar SZ, Molento MB. Análise microbiológica de caldo de cana comercializados em Curitiba, Paraná. Arch Vet Sci. 2016;21(4)01-7.

Valejo FA, Andrés CR, Mantovan FB, Rister GP, Santos GD, Andrade FF. Vigilância sanitária: avaliação e controle de qualidade dos alimentos. Hig Alimentar. 2003;17(106):16-21.

Capítulo 03

DOI: 10.53934/IIISEMICRO-03

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA SALSICHA COMERCIALIZADA NA CIDADE DE CAXIAS, MA

Anna Rafaela Rodrigues dos Santos *; Maria Helena Sousa Lima ; Rodrigo Maciel Calvet 

*Anna Rafaela Rodrigues dos Santos (Corresponding author) –

Email: anna.rafs@ufpi.edu.br

Afiliação: Mestranda em Pós-Graduação em Zootecnia Tropical (UFPI)

Resumo: As doenças transmitidas por alimentos (DTA) podem ser subdivididas em duas grandes categorias: intoxicações alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas e infecções alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de micro-organismos patogênicos. Diversos microrganismos podem causar DTA, entre os mais relacionados, destacam-se *Salmonella* spp. coliformes fecais ou termotolerantes e *Staphylococcus aureus*. O seguinte trabalho visa analisar a qualidade microbiológica da salsicha comercializada em Caxias no Maranhão, verificando através das análises microbiológicas a presença de Salmonelas, Estafilococcus e Coliformes fecais e Termolorantes em sua composição. Foi realizado 5 (cinco) coletas em 4 (quatro) meses, em cinco bairros diferentes da cidade de Caxias-MA, onde foram utilizados comércios distintos para cada bairro, dependendo da localização do bairro. As análises microbiológicas realizadas foram: Coliformes fecais, e a 45°C, *Staphylococcus* e mesófilos. Para bactérias mesófilas variaram de 3,0 a 4,0 UFC/g, tendo uma média de 40% das amostras apresentando valores de 3,0 a 3,5 UFC/g e as demais amostras valores maiores que 4,0 UFC/g. A respectiva instrução não estabelece parâmetros para a contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos, coliformes fecais e termotolerantes. Porém, o número de coliformes acima de $1,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ é indicativo de deficiências de higiene na produção, sendo os coliformes considerados indicadores de contaminação do ambiente, ou da própria matéria-prima. Diante dos resultados acima dispostos, observa-se que nenhum dos pontos comerciais avaliados foi classificado como impróprio para o consumo humano.

Palavras-chave: bactérias deteriorantes, embutidos, Coliformes, *Staphylococcus* spp.

Abstract: Foodborne diseases (STD) can be subdivided into two broad categories: food poisoning caused by the ingestion of food containing preformed microbial toxins and food infections caused by the ingestion of food containing viable cells of pathogenic microorganisms. Several microorganisms can cause ATD, among the most related are *Salmonella* spp., fecal or thermotolerant coliforms and *Staphylococcus aureus*. The following work aims to analyze the microbiological quality of the sausage commercialized in Caxias, Maranhão, verifying through microbiological analysis the

presence of *Salmonella*, *Staphylococcus* and fecal and thermotolerant coliforms in its composition. It was performed 5 (five) collections in 4 (four) months, in five different neighborhoods of the city of Caxias-MA, where different stores were used for each neighborhood, depending on the location of the neighborhood. The microbiological analyses performed were: fecal coliforms, and at 45°C, *Staphylococcus* and mesophiles. The mesophilic bacteria ranged from 3.0 to 4.0 CFU/g, with an average of 40% of the samples presenting values of 3.0 to 3.5 CFU/g and the remaining samples with values higher than 4.0 CFU/g. The respective instruction does not establish parameters for the standard plate count of mesophilic microorganisms, fecal and thermotolerant coliforms. However, the number of coliforms above 1.0×10^4 CFU mL⁻¹ is indicative of hygiene deficiencies in production, and coliforms are considered indicators of contamination of the environment, or of the raw material itself. Given the results above, it is observed that none of the commercial points evaluated was classified as unfit for human consumption. **Keywords:** Spoilage bacteria, sausages, coliforms. *Staphylococcus* spp.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a alimentação tem sido motivo de preocupação nos diferentes países devido à crescente demanda de produtos industrializados, minimamente processados, refrigerados e prontos para o consumo, fato que tem contribuído para que o risco de doenças transmitidas por alimentos aumentasse (1,2), por isso é importante entender o papel e o potencial das cadeias de valor para melhorar a nutrição e a saúde. As avaliações de risco da segurança alimentar detectam o risco de diferentes perigos microbianos e químicos nesses alimentos (3). Como pode ser visto casos que a carne suína comercializada é de baixa qualidade e segurança que indica falta de apoio das autoridades aos consumidores para fazer boas escolhas, com isso é essencial revisar as estratégias e projetar políticas para melhorar a gestão da segurança alimentar também em pequenas empresas (4,5).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem alertado para a necessidade de se coibir a contaminação de alimentos por agentes biológicos com potencial de causar danos à saúde. No entanto, com a globalização, ficaram mais evidentes os problemas relativos à qualidade dos alimentos para consumo humano, devido à facilidade de distribuição de alimentos industrializados, possibilitando assim a rápida e extensa contaminação alimentar (6).

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), os embutidos são definidos como produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (7). A salsicha, devido aos procedimentos de fabricação, onde se utilizam as mais diversas partes do animal e ao seu amplo consumo pela população, o controle microbiológico torna-se um fator imprescindível para assegurar a qualidade do produto e, principalmente, a saúde do consumidor (8).

As salsichas são produtos cárneos emulsionados. Assim, é necessário adicionar um agente capaz de manter a emulsão estável e formar gel quando submetido ao calor. O amido é o aditivo mais utilizado, pois atua como substância ligadora, enchedora, emulsionadora e estabilizadora. A utilização do amido, além de colaborar para as

características sensoriais do produto, aumenta o rendimento no cozimento (9,10). Faz parte também da classe de produtos curados de massa fina que se caracteriza pelo seu elevado grau de divisão do seu processo de fabricação, onde ocorrem fatos de extrema atenção com profundos reflexos que interfere na qualidade final e na conservação do produto, nestes fatos salientamos a cura, a emulsão e o cozimento (11).

A industrialização é a transformação das carnes em produtos cárneos utilizados nas fábricas de salsicharias como matéria-prima na elaboração do produto. A carne com seu elevado valor nutricional e com sua grande quantidade de água disponível, fica susceptível para o ataque de microrganismos deterioradores. Com o emprego de aditivos, do calor, do frio e de Boas Práticas de Fabricação se produz produtos cárneos saudáveis e seguros para o ser humano por meio do desenvolvimento de Sistemas de Gestão e Controle de Qualidade e treinamentos dos colaboradores, criando, assim, um diferencial na área da indústria (13). O Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017 define que as BPF são condições e procedimentos higiênico-sanitários e operacionais sistematizados, aplicados em todo o fluxo de produção, com o objetivo de garantir a inocuidade, a identidade, a qualidade e a integridade dos produtos de origem animal (14).

Foi observado que houve um aumento de movimentos que buscam a conservação, reconhecimento e registro dos produtos locais, processados de forma artesanal e que envolvam as tradições, hábitos e costumes dos povos onde são produzidos (15). Porém deve-se levar em consideração que a comercialização dos produtos curados na forma fatiada, em embalagens a vácuo tradicionais ou tipo skin packaging, requer barreiras ao oxigênio e à luz ainda maiores. Tal fato é consequência do aumento da área superficial do produto exposta ao meio ambiente, resultante do processo de fatiamento, o que agrava os problemas de descoloração, ramificação e deterioração microbiológica. Dentre as principais reações de deterioração nos produtos cárneos curados, destacam-se a oxidação e a fotoxidção dos pigmentos cárneos, que são responsáveis pela cor do produto.

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) podem ser subdivididas em duas grandes categorias: intoxicações alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas e infecções alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de micro-organismos patogênicos (16). Diversos microrganismos podem causar DTA, entre os mais relacionados, destacam-se *Salmonella* spp. coliformes fecais ou termotolerantes e *Staphylococcus aureus* (17). O seguinte trabalho visa analisar a qualidade microbiológica da salsicha comercializada em Caxias no Maranhão, verificando através das análises microbiológicas a presença de Salmonelas, Estafilococcus e Coliformes fecais e Termololantes em sua composição.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foi realizado um levantamento dos locais que comercializam salsicha na cidade de Caxias no Maranhão em 6 pontos comerciais, selecionados os locais para as coletas, onde foram analisadas duas formas diferentes para as salsichas, tanto: A1 (BANDEIJA) E A2 (GRANEL) de marcas diferentes.

Posteriormente foi realizado 5 (cinco) coletas em 4 (quatro) meses, em cinco bairros diferentes da cidade de Caxias-MA, onde foram utilizados comércios distintos para cada bairro, dependendo da localização do bairro. Os materiais coletados encaminhados e preparados no Laboratório de microbiologia do IFMA Campus Caxias,

em tubos de ensaios contendo Caldo Lauril Triptose (LST) colocados na estufa a 36°C por 48 horas, onde ocorreram as análises através do caldo a presença ou não de bactérias Coliformes Fecais.

Em seguida para a avaliação de coliformes, o material foi exposto a uma temperatura de 45 °C por 24 horas, sendo transferidos para os tubos de ensaio contendo *Escherichia coli* (EC), para que o material selecionado permita a validação da presença ou não dessas bactérias.

Para a realização do teste de *Staphylococcus* spp as colônias foram analisadas de acordo com as características de crescimento em ágar base acrescido de 8% de sangue desfibrinado de ovino, incubados a 35 °C por 24 horas, produção de hemólise e pigmento. Após a incubação, procedeu-se a contagem do número de colônias que apresentavam características típicas como, cor negra brilhante, com zona de precipitação branca ao seu redor e circundada por um halo transparente. Os números de colônias contados foram multiplicados pelo fator 10 e, em seguida, pela recíproca da diluição correspondente a placa de contagem, obtendo-se assim o valor da contagem presuntiva de *Staphylococcus* spp, por grama de alimento examinado. As colônias suspeitas foram semeadas na superfície de ágar nutriente inclinado, seguido de incubação a 36°C por 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras comercializadas na bandeja apresentaram as maiores contagens, caracterizando uma provável contaminação durante as etapas de manipulação e armazenamento, afinal em relação a má utilização da temperatura durante o preparo e conservação dos alimentos está entre um dos fatores que acarreta cerca de 90% dos casos de DTA (19). Com isso, a relevância de haver treinamento com os colaboradores que irar melhorar a aplicação de procedimentos de higiene na manipulação de alimentos (20, 21).

Quadro 1- Resultado referente as análises microbiológicas de salsichas comercializadas em Caxias, MA

Pontos de coleta	Parâmetros Analisados							
	Coliformes 35° C NMP/g		Coliformes 45° NMP/g		<i>Staphylococcus</i> spp. UFC/g		Mesófilos UFC/g	
	Granel	Bandeja	Granel	Bandeja	Granel	Bandeja	Granel	Bandeja
P1	2,0	1,6	0	1,0	2,3	2,5	3,0	3,5
P2	0	0	0	0	3,0	3,0	0	3,5
P3	3,0	0	1,6	0	5	4,1	4,0	3,0
P4	0	3,0	0	2,4	0	0	3	4,0
P5	2,0	2,3	1,2	1,0	4,0	4,0	4,0	3,0
P6	1,9	2,2	1,4	1,6	4,3	4,0	4,0	4,0

Resultados transformados para logaritmo na base 10 (\log_{10}); NMP/g= número mais provável por grama; UFC/g = unidade formadora de colônia por grama.

Com relação à contagem de *Staphylococcus* spp, os valores das amostras tanto para granel quanto para bandeja variaram de 2,0 a 5,0 UFC/g. Para bactérias mesófilas

variaram de 3,0 a 4,0 UFC/g, tendo uma média de 40% das amostras apresentando valores de 3,0 a 3,5 UFC/g e as demais amostras valores maiores que 4,0 UFC/g.

A Instrução Normativa N° 161, de 01 de julho De 2022, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (21), estabelece a tolerância máxima permitida para *Estafilococos* coagulase positiva, *Salmonella*, *Clostridium Perfringens*, e *Escherichia coli*. Dados que discernem das análises realizadas nesse trabalho que foram realizados quando a Resolução RDC n° 12, de 02/01/2001 estava vigente (22).

As salsichas comercializadas a granel e na bandeja apresentaram enumeração de coliformes fecais que variam de 1,6 a 3,0 NMP/g e termotolerantes que variaram de 1,0 a 2,4 NMP/g (Quadro 1). A respectiva instrução não estabelece parâmetros para a contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos, coliformes fecais e termotolerantes. Porém, o número de coliformes acima de $1,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ é indicativo de deficiências de higiene na produção, sendo os coliformes considerados indicadores de contaminação do ambiente, ou da própria matéria-prima (23, 24). O grupo dos coliformes fecais é considerado o principal agente causador de contaminação associados à deterioração, causando fermentações anormais e estofamento precoce dos produtos, podendo favorecer a deterioração mais rápida do produto (25). Estes microrganismos podem ser destruídos pela temperatura de pasteurização, e em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanitização aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos (16).

A higiene dos alimentos são as condições e medidas necessárias para garantir sua segurança desde a produção até o consumo. Contudo, a garantia de qualidade de alimentos colocados para consumo no país é designada pela Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Com base nestes resultados podemos concluir que as amostras podem ser consideradas em condições higiênicas satisfatórias por apresentarem coliformes a 45° C dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados acima dispostos, observa-se que nenhum dos pontos comerciais avaliados foi classificado como impróprio para o consumo humano. Portanto, diante dos dados quantitativos acima descritos, observa-se que em sua maioria, das salsichas comercializadas na cidade de Caxias – MA, havendo a necessidade de mais análises microbiológicas para determinar aos padrões estabelecidos pela legislação brasileira vigente.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro disponibilizado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) para o desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. HOFFMANN, Sandra et al. Attribution of global foodborne disease to specific foods: Findings from a World Health Organization structured expert elicitation. **PloS one**, v. 12, n. 9, p. e0183641, 2017.

2. Ministério da Saúde (BR). Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 2016. Acesso em 24 de junho de 2023.
3. DANG-XUAN, Sinh et al. Food safety perceptions and practices among smallholder pork value chain actors in Hung Yen Province, Vietnam. **Journal of food protection**, v. 79, n. 9, p. 1490-1497, 2016.
4. WANG, Huashu; XIA, Tian; GUAN, Zhengfei. Market power and food safety in the China pork industry. **Agribusiness**, v. 35, n. 1, p. 97-113, 2019.
5. NGUYEN-VIET, Hung et al. Rapid integrated assessment of food safety and nutrition related to pork consumption of regular consumers and mothers with young children in Vietnam. **Global food security**, v. 20, p. 37-44, 2019.
6. BALBANI, Aracy Pereira Silveira; BUTUGAN, Ossamu. Contaminação biológica de alimentos. Revisão de Otorrinolaringologia da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo, SP: 2001.
7. BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n 0 10.468, de 18 de agosto de 2020. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 19 de agosto de 2020.
8. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – MAPA/SDA. Instrução Normativa Nº 4 de 31 de março de 2000.- Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha - Diário Oficial da União, Brasília, DF, p.6, de 05 de abril de 2000. Seção 1.
9. HENNESSEY, Mathew et al. Exploring the potential of using nudges to promote food hygiene in the pork value chain in Vietnam. **Preventive veterinary medicine**, v. 181, p. 105003, 2020.
10. Lira GM, Silva Neta ML, Souza JB, Barros ES. Teores de nitrito de sódio em produtos cárneos comercializados em Maceió-AL. Rev Inst Adolfo Lutz. 2003;62(3):165-70.
11. TERRA, N. Apontamentos de tecnologia de carnes. Editora Unisinos, São Leopoldo-RS, 2005.

12. MUNARI, Tamara Belletini. Condições higiênicas sanitárias na produção de embutidos cárneos em um frigorífico localizado na região de Criciúma SC. *Higiene alimentar*, p. 70-73, 2016.
13. BRASIL. Lei n 0 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei n 0 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei n 0 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 29 mar. 2017.*
14. VON DENTZ, Berenice Giehl Zanetti. A produção artesanal de comida tradicional como patrimônio imaterial: perspectivas e possibilidades. *Revista Iberoamericana de Viticultura, 44 Agroindustria y Ruralidad*, v. 4, n. 11, p. 92-115, 2017.
15. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2005.
16. SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Revista APS*, v. 9, n.1, p. 83-88, 2006.
17. DA SILVA, Ana Paula Maciel et al. Avaliação microbiológica da linguiça artesanal bubalina produzida na Ilha do Marajó, Pará, Brasil. *Scientia Plena*, v. 12, n. 6, 2016.
18. ALVES, L. C.; ANDRADE, L. P.; GUIMARÃES, K. A. S. Treinamento sobre higiene e controle de qualidade para manipuladores de alimentos de uma unidade de alimentação e nutrição. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 22, n. 166/167, p. 32-37, 2008.
19. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. *Diário Oficial da União*, 6 jul. 2022. Seção1, p.235-238.
20. BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 12/2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. *Diário Oficial da União*. Brasília, de 10 de janeiro de 2001.
21. MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a

- multirresistência bacteriana. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.42, n.6, p.465-470, 2005.
22. SILVA JÚNIOR, Eneo Alves da. Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação. In: **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 2005. p. 623-623.
23. ARAÚJO, Henrique Lentulo et al. Características físicas, químicas e microbiológicas de salsicha processada com farinha de bagaço de malte de cevada. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e22610312069-e22610312069, 2021.
24. SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F.A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos, Livraria Varela, São Paulo, 2007. 295p.

Capítulo 04

DOI: 10.53934/IIISEMICRO-04

ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE PERNIL DE BODE SALGADO E DEFUMADO

Larissa Mylena Mendes Dias *; Raimundo Bernadino Filho ; Karina Barbosa dos Santos 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: raimundobfh@gmail.com

RESUMO

A Região Nordeste do Brasil possui um vasto potencial para impulsionar o agronegócio de processamento de carnes caprinas, entretanto, o principal desafio dessa atividade reside na capacidade de oferecer ao consumidor produtos mais sofisticados, aproveitando as vantagens das novas tecnologias na área de alimentos. Neste estudo objetiva-se elaborar um pernil de bode salgado por meio de salga seca, submetido ao processo de defumação empregando o pó de Jatobá como meio de produção de fumaça. Foram realizadas análises microbiológicas, determinação do valor energético e composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos). Devido à atual e instável situação causada pela pandemia da COVID-19 no Brasil, a avaliação sensorial não será realizada, no intuito de preservar a segurança e saúde dos provadores. Os experimentos realizados mostram as análises microbiológicas dentro da normalidade e ausência de contaminação evidenciam a boa qualidade higiênico-sanitária durante o processamento. O teor de umidade apresentou uma média de 64% possivelmente apresentando uma maior influência na maciez da carne. A quantidade de lipídios encontrada foi de 1,9%, sendo assim a carne caprina se apresenta mais magra, com os menores índices de gordura. O valor da média de cinzas foi de 19,40% e se encontra dentro da normativa e a quantidade de proteína foi de 14,6%. Esses dados evidenciam o potencial da carne caprina para contribuir com o oferecimento de um alimento mais refinado e possivelmente aceito por velhos e novos apreciadores da carne caprina, tornando uma alternativa de lucro para os pequenos criadores destes animais.

Palavras-chave: bode; carne; defumação; jatobá; pernil

INTRODUÇÃO

Pesquisas e estudos vêm evidenciando a importância da caprinocultura no agronegócio no Nordeste brasileiro, gerando mais empregos e renda para o agricultor, porém a grande dificuldade dessa atividade está em oferecer ao consumidor produtos mais elaborados utilizando novas tecnologias na área de alimentos, em que a qualidade seja compatível com a exigência da população (1).

Nos estados do Nordeste, a caprinocultura está presente devido a sua fácil adaptação às diversas condições climáticas. Cerca de 90% dos rebanhos de caprinos estão localizados na região Nordeste, que abriga 92,5% da área semiárida do país (2). Com a expansão da produção da carne caprina, há necessidade de se produzir produtos para atender os consumidores, visto que há uma grande dificuldade de se encontrar no mercado produtos industrializados utilizando-se esta carne.

As vantagens, em termos nutricionais, da carne de caprino às demais consumidas no mercado, estão relacionadas aos baixos teores de gorduras e colesterol, à alta digestibilidade e aos elevados níveis de proteínas e ferro. Os caprinos possuem pouca gordura subcutânea, intermuscular e intramuscular, pois depositam menor proporção de gordura na carcaça e maior gordura visceral, mesmo quando comparada a carne de frango (3;4).

A produção da carne caprina no Nordeste, em geral, é realizada de duas maneiras: em meias carcaças e in natura, quando comercializadas em feiras livres e, em cortes (pernil, paleta, carré) resfriados ou congelados e embalados a vácuo, bandejas ou sacos plásticos, quando comercializados em rede de supermercados. Outra característica peculiar a ambos os casos, é que as carnes são negociadas com osso (5).

O potencial de comercialização de carne caprina e de seus derivados poderá ser desenvolvido na medida em que as modernas tecnologias de transformação possam ser inseridas no contexto produtivo, já que sua industrialização é pouco comum e, quando realizada, é de forma artesanal, em condições higiênico-sanitária precárias e sem uma adequada tecnologia.

O pernil de bode (*Capra aegagrus hircus*) é a parte mais delgada da perna traseira e é considerado um corte nobre, visto que possui uma maior maciez e suculência quando comparado a outros cortes. Independente da raça, o que faz a diferença no sabor, na textura e no cheiro da carne caprina, é a idade em que o animal é abatido, quanto mais novo, melhores serão as características sensoriais. Uma alternativa para o oferecimento de opções de comercialização da carne desses animais poderia ser a salga associada a defumação, uma vez que, conferiria características sensoriais mais refinadas.

O principal objetivo da técnica da defumação aplicada aos produtos cárneos é agregar valor através das alterações sensoriais características. São considerados produtos cárneos defumados aqueles que, após passarem por um processo de salga e/ou cura, e em alguns casos um pré-cozimento, possuem odor (cheiro), aparência e sabor característicos. Como consequência do emprego da técnica, existe um aumento da vida útil, que ocorre devido à incorporação de alguns componentes da fumaça, como o formaldeído e outros compostos fenólicos, que têm ação bacteriostática e que também formam uma película protetora, além de exercer ação física contra os agentes de contaminação. Neste contexto, considerando as novas tecnologias para produtos cárneos, a produção de um pernil salgado de carne de bode defumando com o pó da madeira Jatobá, pode ser uma alternativa viável para agregar valor a esta carne e aumentar a margem de lucro de

criadores de caprinos no sertão nordestino. Além de contribuir para o processamento de um novo alimento com características sensoriais possivelmente mais apreciáveis, o que pode facilitar o aumento do consumo desta carne em outras regiões, além do nordeste brasileiro. Nesta pesquisa objetivou-se a elaboração de um pernil de bode salgado e defumado utilizando o pó de serra Jatobá como meio de produção de fumaça.

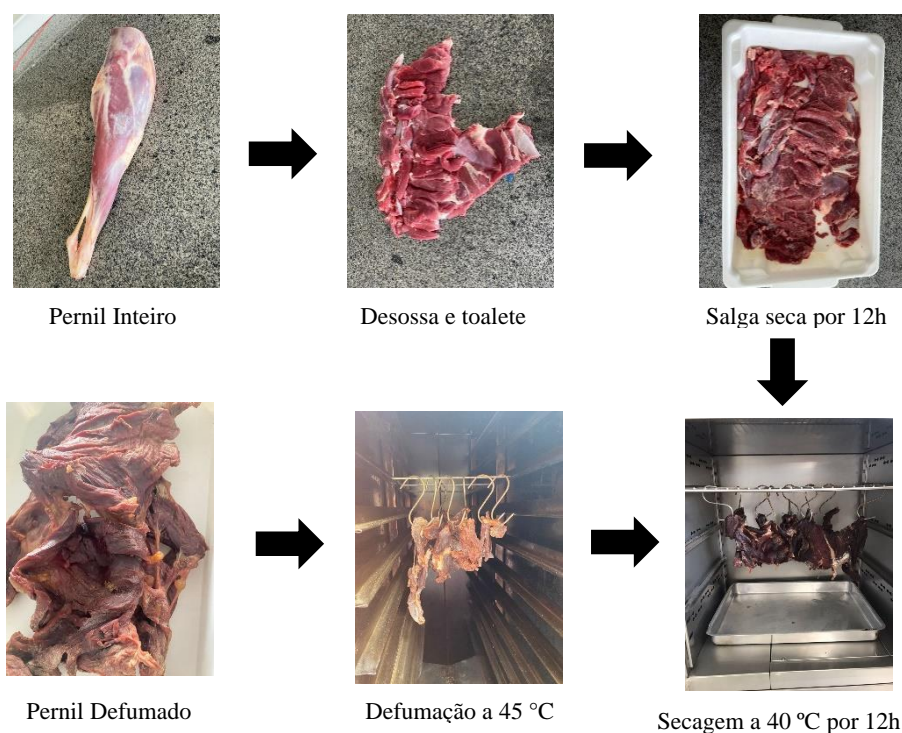
MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), Garanhuns, Pernambuco. A matéria-prima (pernil – corte de carne de bode) e insumos necessários para elaboração do pernil salgado foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Garanhuns.

Elaboração e processamento do pernil salgado

De início foi realizada a desossa e toailete do pernil para retirada do excesso de gordura e tecido conjuntivo, seguida da obtenção de uma “manta” que foi submetida ao processo de salga seca utilizando -se cloreto de sódio na proporção de 8% em relação ao peso da carne. Após 12 horas de salga as mantas foram parcialmente secas em estufa, por 12 horas a 40 °C. Depois desta etapa, as peças foram submetidas a defumação numa temperatura de aproximadamente 45 °C por 1 hora e 30 minutos, utilizando o pó de serra de Jatobá como meio de produção de fumaça. A elaboração do pernil foi realizada obedecendo à linha de processamento apresentada na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de elaboração de pernil de bode salgado e defumado



Avaliação microbiológica

Foram realizadas as análises microbiológicas, para os seguintes micro-organismos: *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp. e Coliformes a 45°C, propostas pela instrução normativa N° 92, de 18 de setembro de 2020, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (6). Foi adotada a metodologia proposta pela American Public Health Association (7).

Determinação da composição centesimal

Para determinar a composição centesimal do pernil foram determinados a umidade, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos. Todas as outras análises foram feitas em três repetições e o resultado expresso pela média dos valores obtidos.

A composição centesimal foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela Association of Official Analytical Chemists (8). O teor de umidade foi determinado por secagem em estufa a 105° C e o de cinzas em forno mufla a 550 °C. O teor de proteína total será mensurado, por meio do método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de 6,25 para conversão de nitrogênio total em proteína total. O conteúdo de lipídio total foi determinado pelo método de extração Soxhlet na presença de hexano. Os carboidratos foram calculados por diferença de acordo com a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (9).

4. Determinação do valor energético total

O valor energético total (VET), em kcal g⁻¹, foi calculado de acordo com a Equação 1: $VET = (C \times 4) + (P \times 4) + (L \times 9)$ (1)
Onde, C = carboidratos, P = proteínas, L = lipídios (10).

5. Análise estatística

Com os dados gerados nas análises físico-químicas foram calculados as médias e os desvios padrões

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Avaliação microbiológica do pernil de bode salgado e defumado

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das análises microbiológicas de pernil salgado e defumado. De acordo com os resultados, o pernil estava dentro dos padrões aceitáveis para consumo humano, estando de acordo com o que preconiza a resolução RDC n° 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (11).

Tabela 1 - Análise microbiológica do pernil de bode salgado e defumado

Análises	Pernil
<i>Salmonella sp.</i> / 25 g	Ausente
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva/g (UFC/g)	0
Coliformes a 45 °C/g (NMP/g)	0

De acordo com a Instrução Normativa Nº 92, de 18 de setembro de 2020 que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor (6). Em produtos cárneos maturados, dessecados, não deve ser detectada a presença de *Salmonella sp.* em 25 g, visto que se trata de uma bactéria potencialmente patogênica. Nesta pesquisa não se detectou a presença de *Salmonella sp.* nem de *Staphylococcus* coagulase positiva no produto elaborado.

No que se refere à pesquisa de coliformes a 45°C, os valores encontrados (Tabela 1) estão dentro da normalidade quando comparados com produtos cárneos maturados dessecados (máximo de 1×10^2 NMP/g) (6).

A ausência de contaminação pode ser atribuída ao fato de a amostra analisada ter sido submetida a um processo de salga seca e secagem, no qual o cloreto de sódio atua como agente conservante e bactericida. Outro fator importante foi o efeito da ação da fumaça durante o processo de defumação, visto que essa técnica além de desenvolver sabor, cor e aromas específicos no alimento, exerce efeito conservante. Os resultados encontrados nesta pesquisa evidenciam a boa qualidade higiênico-sanitária durante o processamento.

2. Determinação da composição centesimal

Os resultados encontrados para determinar a composição centesimal do pernil estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Composição centesimal do pernil de bode salgado e defumado

Análises g/100g	Amostra
Umidade	64,00 ± 1,41
Lipídeos	1,90 ± 1,38
Proteínas	14,6 ± 0,38
Cinzas	19,40 ± 1,12
Carboidratos	0,10
Valor energético (Kcal/100g)	75,90

O teor de umidade variou entre 62 e 65%, tendo uma média de 64% o que corresponde à variação nos teores de matéria seca de 36%, valor esses semelhantes aos encontrados por Dias (12) que destacou que a carne ovina apresenta umidade variando de 61,32 a 69,08%. De acordo com Madruga et al. (13) o teor de umidade em caprinos possivelmente apresenta uma maior influência na maciez da carne do que a gordura.

A quantidade de lipídios encontrada neste experimento foi de 1,9%, valor inferior ao encontrado por Sebsibe (14) que relatou valores da ordem de 2,5% na carne de cabritos, se compararmos as carnes (caprina, ovina, suína, bovina e de aves), veremos que a caprina é a que se apresenta mais magra, com os menores índices de gordura, estando em torno de 1,8 a 4,0%. Embora alguns autores relatam um aumento crescente dos teores de gordura com o aumento da idade de abate, esta carne é considerada como indicada para pessoas com dietas hipercolesterolêmicas (consumo de alimentos com baixos níveis de colesterol).

O valor da média de cinzas foi de 19,40% com desvio padrão de $\pm 1,38\%$. Resultado este muito elevado quando comparado a trabalhos feitos por Madruga et al., (15) que encontrou variações entre $0,95 \pm 0,16$ e $0,92 \pm 0,11$ respectivamente para caprinos castrados e inteiros. De acordo com Roça (2003) O conteúdo de cinzas ou resíduo mineral fixo, obtido após incineração da carne a 500-600°C, está em torno de 0,8 a 1,8%. Todavia estes valores podem variar em função de vários fatores, entre eles a composição da dieta. Na Instrução Normativa de nº 92, de setembro de 2020 que dispõe sobre a Identidade e os Requisitos de Qualidade do Charque, da Carne Salgada Curada Dessecada, do Miúdo Salgado Dessecado e do Miúdo Salgado Curado Dessecado, evidenciam que cinzas pode ser até no máximo de 25%.

As proteínas da carne são originárias principalmente do tecido muscular e conjuntivo, Segundo Lawrie (16), a proteína da carne caprina é similar a da carne bovina e esta possui todos os aminoácidos essenciais e com baixo valor calórico. No experimento foi encontrado 14,6%, valor um pouco abaixo das encontradas por Monte et al. (17), que evidenciou a quantidade de proteína bruta no músculo, varia de 18 a 22%, sendo que as proteínas miofibrilares estão presentes em maior quantidade, seguidas pelas proteínas sarcoplasmáticas.

Em diversos experimentos, citados por Krolow (18), as médias encontradas para conteúdo de proteínas são semelhantes às outras carnes, em torno de 18,0 a 23,0%. No seu trabalho sobre a qualidade do alimento x perspectiva de consumo das carnes caprinas e ovinas, ela observou que a idade de abate influencia o teor de proteínas, havendo uma clara tendência de acréscimo da quantidade de proteína na carne caprina com o avanço da idade. Somado a isso, quase todas as proteínas na carne são desnaturadas com tratamento de calor (a mioglobina desnatura a cerca de 60 °C), também de acordo com Silva (19) o sal extrai e solubiliza proteínas miofibrilares da carne, e estes processos contribuem para a emulsificação das gorduras e para aumentar a capacidade de retenção de água, reduzindo as perdas ao cozimento, contribuindo para melhorar a qualidade e a textura do produto (20).

Estimativas acuradas da disponibilidade da energia contida nos alimentos são necessárias para se formular dietas e avaliar os valores nutricionais e econômicos dos alimentos (21). De acordo com o Serviço Nacional de Saúde (22), os valores de energia média aconselhados para adultos saudáveis variam entre as 1800 e as 2500 Kcal, dependendo do estilo de vida de cada pessoa, principalmente do gasto calórico em atividade física. Na tabela 2 é possível encontrar o valor energético (Kcal/100g), que foi de 75,9 Kcal, sendo considerado um valor energético abaixo ao considerar outros tipos de carne na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2011)

CONCLUSÃO

O mercado da carne caprina apresenta boas perspectivas de crescimento, impulsionado pelo aumento da demanda por carne de qualidade. Os resultados dos

experimentos demonstraram que as análises microbiológicas estão dentro dos padrões normais e não evidenciaram contaminação, o que atesta a boa qualidade higiênico-sanitária durante o processo de produção. A média de teor de umidade foi de 64%, possivelmente exercendo maior influência na maciez da carne. Além disso, a carne caprina é considerada magra, com baixos índices de gordura, uma vez que a quantidade de lipídios encontrada foi de apenas 1,9%. A média de cinzas, que ficou em 19,40% está em conformidade com as normas estabelecidas. Quanto à quantidade de proteína, a carne apresentou uma taxa de 14,6%. Esses dados evidenciam o potencial da carne caprina para oferecer um produto mais refinado e apreciado tanto por antigos entusiastas quanto por novos adeptos, tornando-se uma alternativa lucrativa para os pequenos criadores desses animais.

REFERÊNCIAS

1. Almeida, Rudlei Silva. Processamento de hambúrguer de carne caprina adicionados com diferentes níveis de farinha de aveia / Rudlei Silva Almeida - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2011.
2. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da pecuária. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 26 de maio de 2021
3. EMBRAPA, Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprino e Ovino [recurso eletrônico] –Produtos de origem caprina e ovina: mercado e potencialidades na região do Semiárido brasileiro- n. 3(Jul. 2018) – Dados eletrônicos. Sobral, CE: Embrapa Caprino e Ovino, 2018.
4. Madruga, Marta Suely; Haauss, Wandrick; Edviges Marcos De Souza Mendes e Evaneuza Alves De Brito. Carne caprina e Ovina - Processamento e Fabricação de Produtos Derivados. Tecnologia & Ciên. João Pessoa, v. 1, n. 2, p. 61-67, dez. 2007.
5. Silva, R. R. O Agronegócio brasileiro da carne caprina e ovina – Salvador, 2002.
6. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 92 de 18 de setembro de 2020. Dispõe sobre a Identidade e os Requisitos de Qualidade do Charque, da Carne Salgada Curada Dessecada, do Miúdo Salgado Dessecado e do Miúdo Salgado Curado Dessecado. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 22 de setembro de 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/>>. Acesso em: 14 de Agosto de 2022.
7. APHA - American Public Health Association. Compendium of methods of the microbiological examination of foods. 4th. Edition. Washington D.C., 2001.
8. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 18ª ed. 3ª rev.194p. Washington, 2010.
9. Brasil. Ministério da Agricultura. 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. Brasília, DF, 10 de setembro de 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 27 de maio de 2021.

10. Butte, N.F; Caballero, B. Energy needs: Assessment and Requirements. In: Modern Nutrition in Health and Disease, Maurice Shils et al. (eds.), 10ed. Philadelphia, PA. (USA): Lippincott Williams & Wilkins, 2069p. 2006.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC, nº 12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 02 de janeiro 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 27 de maio de 2021.
12. Dias, R. P. Aspectos tecnológicos para o processamento de carnes de caprinos e ovinos do nordeste do Brasil. In: 1º Congresso Nordestino de Produção Animal, Fortaleza-CE, Anais..., Fortaleza-CE, p.165-168, 1998
13. Madruga, M. S; Galvão, M. S; Costa, R. G, et al. Perfil aromático e qualidade química da carne de caprinos Saanen alimentados com diferentes níveis de concentrado. Revista Brasileira de Zootecnia, São Paulo, v.37, n.5, p.936-943, 2008.
14. Sebsibe, A. Sheep and Goat Meat Characteristics And Quality. In: Sheep and Goat Production Handbook for Ethiopia. Edited by ALEMUYAMI and R.C. MERKEL 2008. Acessado em: < <http://www.esgpip.org/handbook>> Acesso em 14 agosto 2022
15. Madruga, M. S; Narain, N; Duarte, T. F, et al. Características químicas e sensoriais de cortes comerciais de caprinos SRD x mestiços de Bôer. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.25, n.4, p.713- 719, 2005.
16. Lawrie, R. A. Ciência da carne. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005. 384 p.
17. Monte, A. L. De S.; Gonsalves, H. R. De O.; Villarroel, A. B. S.; Damaceno, M. N.; Cavalcante, A. B. D. Qualidade da carne de caprinos e ovinos: uma revisão. ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido, v.8, n.3, p11-17, julho, 2012
18. Krolow, A. C. R. Qualidade do alimento x perspectiva de consumo das carnes caprina e ovina. Conferência anual da sociedade paulista de medicina veterinária, 2004
19. Silva, J. A. Tópicos da tecnologia de alimentos. São Paulo: Varela, 2000.
20. Girth-Diamba, C.; Lunden, K.; Thomsen, H.; Unger, L.; Trostuup, L.; Bom Fost, M.; Sorensen, L. B.; Kielsgaard, M. Cru e Cozinhado: as alterações na estrutura das proteínas modificam a cor da carne cozinhada. The Associativo of Danish Biologists, FaDB 2007
21. Costa, M. A. L.; Valadares Filho, S. De C.; Valadares, R. F. D.; Paulino, M. F.; Cecon, P. R.; Paulino, P. V. R.; Chizzotti, M. L.; Paixão, M. L. Validação das Equações do NRC (2001) para Predição do Valor Energético de Alimentos nas Condições Brasileiras. R. Bras. Zootec., v.34, n.1, p.280-287, 2005
22. SNS. Serviço Nacional de Saúde. Guias da Saúde, Alimentação Saudável. 2022. Acessado em: <<https://www.sns24.gov.pt/guia/alimentacao-saudavel>> Acesso em 14 agosto 2022

Capítulo 05

DOI: 10.53934/IISEMICRO-05

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA DOS BEBEDOUROS DAS ESCOLAS DA REDE MUNICIPAL DE DUAS CIDADES NO INTERIOR DO CEARÁ

Carlos Wandeson de Lima *; John Kelvyn de Oliveira ; Mariana de Lima Teixeira ; Thainá Anúciação Ferreira Mateus ; Milena de Oliveira Campos ; Francisco Jorge Noqueira de Moura ; Germana Conrado de Souza 

*Carlos Wandeson de Lima – Email: carloswandersondelima@gmail.com

Resumo: A água é um importante veículo de transmissão de doenças especialmente as intestinais. Essas doenças geralmente são transmitidas por meio da ingestão da água ou consumo de alimentos contaminados. A pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da água de bebedouros nas escolas da rede municipal das cidades de Limoeiro do Norte (L) e Russas (R) no interior do Ceará, através da determinação de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*. Na avaliação microbiológica, utilizou-se a técnica de fermentação de tubos múltiplos permitindo identificar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*, de acordo com auxílio da tabela de Hoskins. Foram selecionadas 12 escolas em cada município localizadas na zona urbana de ambas as cidades, codificadas em L e R respectivamente, no período de agosto à novembro de 2022. A água de 4 (quatro) escolas da cidade L apresentaram resultados positivos para coliformes a 35°C, entre uma delas também apresentou coliformes a 45°C e confirmação de *Escherichia coli*. Na cidade R, 4 (quatro) das escolas apresentaram coliformes a 35°C, dessas uma também obteve resultado positivo para coliformes a 45°C. Os resultados revelaram nas escolas L.F, L.J, L.K e L.L e R.F, R.G, R.H e R.L do municípios L e R respectivamente, não estão de acordo com os limites microbiológicos especificados na Portaria de consolidação nº 5, de 2017, anexo XX. Conclui-se ser necessário um acompanhamento para manutenção da higiene e controle microbiológico dos reservatórios de água desses locais.

Palavras-chave: coliformes; contaminação; *Escherichia coli*.

Abstract: Water is an important vehicle for transmitting diseases, especially intestinal ones. These diseases are usually transmitted through the ingestion of water or consumption of contaminated food. The research aimed to evaluate the microbiological quality of water from drinking fountains in municipal schools in the cities of Limoeiro do Norte (L) and Russas (R) in the interior of Ceará, through the determination of coliforms at 35°C, coliforms at 45°C, and the presence of *Escherichia coli*. In the microbiological evaluation, the multiple tube fermentation technique was used to determine the Most

Probable Number (MPN) of coliforms at 35°C, coliforms at 45°C, and the presence of *Escherichia coli*, with the aid of the Hoskins table. Twelve schools were selected in each municipality, located in the urban areas of both cities, coded as L and R respectively, from August to November 2022. In 4 (four) schools in L, the water showed positive results for coliforms at 35°C, with one of them also showing coliforms at 45°C and confirmation of *Escherichia coli*. In city R, 4 (four) schools had coliforms at 35°C, with one of them also testing positive for coliforms at 45°C. The results revealed that schools L.F, L.J, L.K, and L.L in municipality L, and R.F, R.G, R.H, and R.L in municipality R did not comply with the microbiological limits specified in Consolidation Ordinance No. 5 of 2017, Annex XX. It is concluded that monitoring is necessary to maintain hygiene and microbiological control of the water reservoirs in these locations.

Keywords: coliforms; contamination; *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

A água é um bem essencial a todos, sem ela não há vida. De acordo com o Ministério da Saúde, água para consumo humano é definida como água potável destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente da sua origem (1).

A água é um importante veículo de transmissão de doenças especialmente as intestinais. Essas doenças geralmente são transmitidas por meio da ingestão da água ou consumo de alimentos contaminados. Várias doenças de veiculação hídrica são ocasionadas por bactérias, protozoários, vírus, fungos e helmintos. As doenças provocadas por bactérias mais frequentes são a febre tifoide, febre paratifoide, cólera, as disenterias bacilares (2).

No final do século XIX e início do século XX, a qualidade da água passou a ser encarada como uma questão de saúde pública devido à compreensão da relação água contaminada e doença (3).

A finalidade do exame microbiológico da água é fornecer informações sobre sua potabilidade, isso é, ausência de risco de ingestão de microrganismos causadores de doenças, geralmente provenientes da contaminação pelas fezes humanas e outros animais de sangue quente. Os microrganismos que estão presentes nas águas naturais são inofensivos à saúde humana. Mas a contaminação por esgoto sanitário estão presentes microrganismos que podem prejudicar à saúde humana (4).

A monitoração das condições sanitárias de águas para consumo é realizada através de análises das bactérias do grupo coliforme, que atuam principalmente como indicadores de poluição fecal, pois ocorrem na flora intestinal do homem e de animais de sangue quente (5).

Os coliformes são bactérias gram-negativas, não esporuladas, na forma de bastonetes que fermentam a lactose com formação de gás. Esta definição abrange um número de espécies de enterobactérias incluídas nos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* (6).

A espécie *Escherichia coli* pertencente ao gênero *Escherichia*, membro da família *Enterobacteriaceae*, são predominante entre as diversas bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não esporulados, oxidase negativa, móveis por flagelos

peritríquios ou não-móveis, capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de ácido e gases, também são produtores de indol a partir do triptofano, e apresenta atividade das enzimas β -galactosidase e β -glucoronidase (7).

Durante as atividades diárias na escola, todo aluno deve ter fácil acesso à água potável de qualidade e em quantidade suficiente para suprir suas necessidades, porém muitas vezes não é o que de fato acontece, o que os torna susceptíveis às doenças de veiculação hídrica.

Os bebedouros são usados para tornar mais fácil o acesso das pessoas a água potável, principalmente nas escolas pelos estudantes, estes podem ser fonte potencial de contaminação direta através da água ou indireta do contato com o aparelho já que são utilizados por diferentes pessoas (8).

Foi utilizado como parâmetro a Portaria de consolidação nº 5, de 2017, anexo XX do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A água para consumo humano deve ser isenta de *Escherichia coli* ou coliformes termotolerantes em 100 mL.

Diante dessa necessidade, a pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da água de bebedouros nas escolas da rede municipal das cidades de Limoeiro do Norte – CE e Russas - CE, através da determinação de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada nos experimentos seguiu o recomendado pela American Public Health Association (5). Para a avaliação microbiológica, foi utilizada a técnica de fermentação de tubos múltiplos que permite identificar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*, de acordo com auxílio da tabela de Hoskins.

Foram selecionadas 12 escolas em cada município localizadas na zona urbana de ambas as cidades, Limoeiro do Norte e Russas codificadas em L e R respectivamente, no período de agosto à novembro de 2022. As torneiras dos bebedouros foram higienizadas com álcool a 70%, deixando a água escorrer livremente por média de 2 minutos. Esse procedimento foi realizado a fim de garantir que não ocorresse contaminação microbiológica externa. Após cada coleta, as amostras de água foram acondicionadas em caixas isotérmicas (temperatura em torno de 2 a 8°C), cujo tempo de coleta e a realização do exame não excedeu 24 horas (9). Vale ressaltar que foi coletada apenas uma amostra de cada escola, pois são escolas de pequeno porte e possuem apenas um local para o consumo de água.

Todas as amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do IFCE *campus* Limoeiro do Norte, para análises microbiológicas.

Preparo das amostras

Todas as amostras coletadas foram homogeneizadas por inversão do recipiente por vinte vezes. A coleta de alíquotas da água dos bebedouros foi realizada após homogeneização e assepsia da tampa com álcool a 70%. Todo o procedimento foi

efetuado em ambiente asséptico com auxílio de bico de Bunsen e Cabine de Segurança Biológica.

Determinação de coliformes a 35°C

Para o teste presuntivo distribuiu-se 10 ml de água em três tubos de Caldo Lactosado Duplo (CLD), 1 ml de água em três tubos de Caldo Lactosado Simples (CLS) e 0,1 ml de água em três tubos de Caldo Lactosado Simples (CLS). Os tubos de CLD e CLS foram incubados em estufa a 35°C/24-48 horas e observou se houve crescimento com produção de gás;

Na determinação de coliformes a 35°C, tomaram-se todos os tubos de CLD e CLS com produção de gás e transferiu-se uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Bile Brilhante (BVB). Incubou-se a 35°C/24-48 horas e observou se houve crescimento com produção de gás. Anotou-se o número de tubos de BVB com gás, confirmativo da presença de coliformes totais e foi determinado o Número Mais Provável (NMP)/100mL em uma tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas.

Determinação de coliformes a 45°C

Para determinação de coliformes a 45°C utilizou-se os tubos de BVB com produção de gás e transferiu-se uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo *E. coli* (EC). Foi feita a incubação em banho-maria a 45°C/24 horas e observou se houve crescimento com produção de gás. Anotou-se o número de tubos de EC com gás, confirmativo da presença de coliformes a 45°C e determinou-se o NMP/100 mL em uma tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas;

Pesquisa de *Escherichia coli*

De cada tubo de EC com produção de gás, estriou-se uma alçada da cultura em placas de Agar Eosina Azul de Metileno (EMB). As placas foram incubadas a 35°C/24 horas e observou se houve crescimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico). Havendo colônias típicas, foram selecionadas uma colônia e para a realização das provas bioquímicas para confirmação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises que foram obtidos nas análises microbiológicas da cidade L e R são apresentados no Quadro 1 e Quadro 2 respectivamente, onde consta os valores do Número Mais Provável (NMP/100mL) de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* para cada município.

Quadro 1- Número Mais Provável de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* na água dos bebedouros das escolas do município L, 2022.

Escolas	Coliformes a 35°C (NMP/100mL)	Coliformes a 45°C (NMP/100mL)	<i>Escherichia coli</i> (P/A)
L.A	<3	<3	Ausência

L.B	<3	<3	Ausência
L.C	<3	<3	Ausência
L.D	<3	<3	Ausência
L.E	<3	<3	Ausência
L.F	>1100	<3	Ausência
L.G	<3	<3	Ausência
L.H	<3	<3	Ausência
L.I	<3	<3	Ausência
L.J	9,2	<3	Ausência
L.K	28	4	Presença
L.L	93	<3	Ausência

Fonte: Elaborada pelos autores.

Pode-se constatar no Quadro 1 que a água de 4 (quatro) escolas apresentaram resultados positivos para coliformes a 35°C. A presença destes microrganismos numa amostra de água para consumo é suficiente para ser imprópria para o consumo, sem a necessidade de que se obtenha resultado positivo na pesquisa de coliformes a 45°C, conforme estabelece a Portaria de consolidação nº 5, de 2017, anexo XX do Ministério da Saúde. A água da escola K, além de coliformes a 35°C, apresentou coliformes a 45°C e confirmação de *Escherichia coli*. Vale ressaltar que as águas oferecidas nas escolas eram provenientes do sistema de abastecimento público municipal.

Na Quadro 2, encontram-se os resultados das análises microbiológicas de água de bebedouros de escolas do município R.

Quadro 2- Número Mais Provável de *coliformes* a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* na água dos bebedouros das escolas do município R, 2022.

Escolas	Coliformes a 35°C (NMP/100mL)	Coliformes a 45°C (NMP/100mL)	<i>Escherichia coli</i> (P/A)
R.A	<3	<3	Ausência
R.B	<3	<3	Ausência
R.C	<3	<3	Ausência
R.D	<3	<3	Ausência
R.E	<3	<3	Ausência
R.F	210	<3	Ausência
R.G	240	<3	Ausência
R.H	460	4	Ausência
R.I	<3	<3	Ausência
R.J	<3	<3	Ausência
R.K	<3	<3	Ausência
R.L	210	<3	Ausência

Fonte: Elaborada pelos autores.

Constatou-se no Quadro 2 que a água de 4 (quatro) escolas apresentaram *coliformes* a 35°C. Estes microrganismos numa amostra de água para consumo já a torna imprópria, mesmo sem a necessidade do resultado positivo para coliformes a 45°C, segundo a

Portaria de consolidação nº 5, de 2017, anexo XX do Ministério da Saúde. A água da escola H, apresentou *coliformes* a 35°C e a 45°C, porém não apresentou *Escherichia coli*.

Alguns estudos evidenciaram que a contaminação da água pode acontecer no suceder da captação de água do sistema público, além disso, a ocorrência de contaminação pode associar-se à má condição higiênica nas tubulações e no reservatório e também à ineficiente troca periódica de filtros nas escolas. A ausência de manutenção pode favorecer condições adequadas para o desenvolvimento e sobrevivência de alguns patógenos microbianos, esse fato requer a capacitação dos gestores para adoção de medidas de higiene nos bebedouros, filtros e reservatórios (10).

Sabe-se que entre as infecções entéricas, 25% podem ser atribuídas a três agentes bacterianos e seus diferentes sorotipos, sendo a *E.coli* um exemplo desses agentes. A presença desta enterobactéria na água deve ser avaliada, já que ela é um indicador de contaminação fecal sugerindo condições sanitárias insuficientes. Outro aspecto a ser considerado é a patogenicidade para o homem e para animais (11). Algumas linhagens patogênicas podem causar diarreia, febre, cólica, dentre outras (12).

Em um trabalho desenvolvido por Viana et al. (13), ao analisar amostras de água de bebedouros de escolas públicas foi verificado o aumento de coliformes totais de uma coleta para outra. Os resultados da 1ª coleta mostraram que 14,3% das amostras das escolas apresentaram a presença de coliformes totais. Já na 2ª coleta, o resultado aumentou para 21,4%, isso revela existe a necessidade de maior frequência de inspeções sobre a qualidade da água.

Este resultado está de acordo com o obtido por Carvalho et al. (14) que avaliou a qualidade microbiológica e físico-química da água disponível em todos os bebedouros e a água da caldeira localizada em um campus universitário de Ipatinga, MG.

Estudo semelhante realizada por Neto et al (15) identificaram, ao avaliar a água de escolas públicas do Recife (PE), que 37% das amostras apresentaram-se impróprias de acordo com os padrões de potabilidade.

Num estudo realizado por Rocha et al. (16) em 36 escolas do município de Teixeira de Freitas (Bahia), 9 apresentaram-se em desacordo com as normas admitidas, sendo que de 80 amostras coletadas, 2 resultaram em positividade para coliformes a 35°C, 5 para coliformes a 45°C e 3 apresentaram a presença dos dois grupos (coliformes a 35°C e a 45°C).

Resultados semelhantes também foram observados por Oliveira e Terra (17) em águas consumidas em todos os bebedouros, estudados na Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, apresentaram reação presuntiva positiva. Das quatro amostras analisadas, três amostras deram positivas, portanto, estavam em desacordo com a legislação vigente.

A água é normalmente habitada por vários tipos de microrganismos de vida livre, que dela extraem elementos indispensáveis a sua subsistência. Ocasionalmente, são introduzidos organismos parasitários ou patogênicos que utilizam a água como veículo. Em virtude da grande dificuldade de identificação de microrganismos patogênicos presentes na água, identificam-se preferencialmente as bactérias do grupo “coliforme”, que, por serem habitantes normais do intestino humano sua presença nas águas indica a presença de material fecal, sendo inadequada para consumo sem tratamento (18).

De acordo com França (19), a presença destas bactérias está ligada ao tratamento inapropriado ou inabilidade de manter a desinfecção da água tratada.

CONCLUSÃO

Os resultados revelaram que as amostras coletadas nas escolas F1, J1, K1 e L1 e F2, G2, H2 e L2 do municípios L e R respectivamente, não estão de acordo com os limites microbiológicos especificados na Portaria de consolidação nº 5, de 2017, anexo XX. Assim, é necessário um acompanhamento para manutenção da higiene e controle microbiológico dos reservatórios de água desses locais, além da adoção de providências de caráter preventivo e corretivo, tais como; tratamento da água, limpezas periódicas e manutenção dos reservatórios, filtros e bebedouros.

REFERÊNCIAS

- (1) BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Anexo XX - Do controle e da vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de Potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- (2) SOARES, J.B. MAIA, A.C.F. Água: Microbiologia e Tratamento. Fortaleza: EUFC, 1999.
- (3) FREITAS, M. B.; FREITAS, C. M. A vigilância da qualidade da água para consumo humano: desafios e perspectivas para o Sistema Único de Saúde. Ciênc. Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 993-1004, out./dez. 2005.
- (4) FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Manual prático de análise de água. Fundação Nacional de Saúde. 4ª. ed. Brasília, 2013.
- (5) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16.ed. New York: American Public Health Association, 1985
- (6) SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos. Campinas: ITAL, 1995.
- (7) LEITE, A. M. O.; FRANCO, R. M. Coliformes totais e Escherichia coli em coxas de frango comercializados no Rio de Janeiro. Rev. Bras. Ciênc. Vet., v. 13, n. 2, p. 80-83, maio/ago. 2006.
- (8) ARAÚJO, T. M.; BARAÚNA, A. C.; MENESES, C. A. R.. Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica (CONNEPI), 4., 2009, Belém (PA). Identificação de Escherichia coli em água de bebedouros e nos próprios aparelhos de quatro escolas públicas de Boa Vista – Roraima – Brasil. Anais...

- (9) AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. Standard methods for examination of water and wastewater. 18.th. Washington : American Public Health Association. 1992. p. 9-13; 9-26.
- (10) SILVA, M. T. M.; SILVA, L. M. F.; FARIAS, M. D. P.; SILVA, J. E. F.; OLIVEIRA, J. S. Qualidade Microbiológica da Água dos Bebedouros do IFCE-Campus Sobral: Coliformes Totais e Fecais. In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. Belém,PA. 2009.
- (11) FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, cap. 4, p. 33-82, 2006.
- (12) MICHELINA, A. de F.; BRONHAROA, T. M.; DARÉB, F.; PONSANOC, E. H. G. Qualidade microbiológica de águas de sistemas de abastecimento público da região de Araçatuba, SP. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 20, n. 147, p. 90-95, dez. 2006.
- (13) VIANA, et. al. Qualidade bacteriológica de amostras de água em escolas públicas do município de Tangará da Serra, Mato Grosso. Disponível em: <https://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/5124>. Acesso: 20 de novembro de 2022.
- (14) CARVALHO, D. R. et al. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da água de um campus universitário de Ipatinga – MG. NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição, Ipatinga, v. 3, n. 5, p. 417-427, ago./dez. 2009.
- (15) NETO, A. F. et al. Avaliação da qualidade da água potável de escolas públicas do Recife, PE. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v.20, n.139, 2006.
- (16) ROCHA, E. S. et al.; Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). Revista Baiana de Saúde Pública, v.34, n.3, p.694-705 jul./set. 2010.
- (17) OLIVEIRA, A. C. S.; TERRA, A. P. S. Avaliação microbiológica das águas dos bebedouros do Campus I da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação a presença de coliformes totais e fecais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro, v.37, n.3, p.285-86, 2004.
- (18) FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE - FUNASA. Manual de Saneamento. 3. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006.
- (19) FRANÇA, D. L. Controle de qualidade microbiológico da água filtrada disponível nos bebedouros da UNIRV - Universidade de Rio Verde. 2016. Monografia – Curso de Farmácia, Universidade de Rio Verde (UniRV), 2016. <https://www.unirv.edu.br/conteudos/fckfiles/files/CONTROLE%20DE%20QUALIDA>



DE%20MICROBIOL%20C3%93GICO%20DA%20%20C3%81GUA%20FILTRADA%20
DISPON%20C3%8DVEL%20NOS%20BEBEDOUROS%20DA%20UniRV%20-
UNIVERSIDADE%20DE%20RIO%20VERDE.pdf. Acesso: 27 de novembro de 2022.

Resumo 01

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE AMENDOIM VERDE COZIDO PROVENIENTES DE MUNICÍPIOS SERGIPANOS

Jordana Nunes de Oliveira¹; Evelyn Horanyi Silva Vasvary²; Elma Regina S. Andrade Wartha³; Jane de Jesus da Silveira Moreira⁴;

1Estudante do Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN – UFS.

2Estudante do Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN – UFS.

3Docente do Depto de Nutrição - Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN – UFS.

4Docente do Depto de Química - Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN – UFS.

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.), oleaginosa de grande importância econômica e nutricional, é largamente aproveitado na alimentação humana para elaboração de amendoim torrado, farinhas, pastas, dentre outras preparações. Considerado patrimônio imaterial de Sergipe, um dos maiores produtores de amendoim da região Nordeste, possui uma forma tradicional e cultural de processamento do amendoim verde, através do cozimento em água e sal. Contudo, a manipulação é uma das principais formas de contaminação dos alimentos, associada à transmissão de doenças oriundas da proliferação de fungos e/ou bactérias, ou por substâncias tóxicas. O presente trabalho teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica do amendoim verde cozido oriundo de 14 municípios Sergipanos distintos. Para isso, foram realizadas análises microbiológicas do amendoim verde cozido (14 amostras) presente em 14 municípios de Sergipe (Aracaju, Porto da Folha, Malhador, Itabaiana, Estância, São Cristóvão, Itaporanga D'ajuda, N. Sra das Dores, Tobias Barreto, N. Sra do Socorro, Pirambu, Siriri, N. Sra. Da Glória e Muribeca), quanto a contagem de mesófilos, coliformes termotolerantes, *salmonella* sp., bolores e leveduras. Os resultados obtidos indicaram ausência de *Salmonella* em 25 g de amendoim, e coliformes termotolerantes (< 3 NMP/g) para todas as amostras analisadas, conforme preconiza legislação. Quanto aos valores de bolores e leveduras encontrados no amendoim verde cozido, apenas as amostras de dois municípios (Porto da Folha e Estância) atenderiam aos limites estabelecidos pelo órgão legislador. Embora a legislação brasileira não estabeleça padrão para a contagem de bactérias mesófilas, nosso estudo detectou a presença destes microrganismos em 100,0 % das amostras analisadas. Os achados evidenciam a presença de inconformidade em todas as amostras coletadas de acordo com a legislação vigente. Os resultados podem estar relacionados a fatores intrínsecos como umidade ou pH do alimento; ou fatores extrínsecos como tempo e temperatura de armazenamento, processamento inadequado ou contaminação da matéria-prima. Assim, torna-se necessário a adoção de ações educativas sobre boas práticas de manipulação de alimentos, além de fiscalizações rotineiras nos pontos de comercialização do amendoim cozido.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L.; Contaminação; Qualidade microbiológica.

Capítulo 06

DOI: 10.53934/IIISEMICRO-06

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE DOCES FINOS PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

Denise Oliveira Pacheco *; Jéssica Silveira Vitória ; Thalia Duarte
Vasconcelos da Silva ; Camila Borges de Cantos ;
Márcia Aroucha Gularte ; Eliezer Avila Gandra 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: denisepacheco.qa@gmail.com

Resumo: Dentre as doenças transmitidas por alimentos, aquelas causadas por *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, Estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* vem provocando inúmeros transtornos à população, inclusive envolvendo doces e sobremesas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul, Brasil. Para a realização desta pesquisa, 5 doces finos foram coletados em 5 estabelecimentos diferentes localizados no Rio Grande do Sul, e analisados quanto a presença de *Salmonella* spp, e quantificação de Estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* presuntivo. Não foi observado incidência de contaminação por *Salmonella* spp e *E. coli* nas amostras analisadas. Para *Bacillus cereus* foram obtidas contagens em dois estabelecimentos, porém abaixo do limite máximo permitido. Já as contagens de Estafilococos coagulase positiva, em todos os estabelecimentos avaliados, foram superiores ao limite máximo preconizado pela legislação brasileira. Como conclusão, em virtude das contagens de Estafilococos coaguase positiva fica evidente a necessidade de capacitação em Boas Práticas de Fabricação para todos os estabelecimentos, buscando garantir a qualidade microbiológica dos doces produzidos e a segurança dos consumidores destes produtos.

Palavras-chave: Boas Práticas de Fabricação; Microrganismos; Sobremesa; Patogênicos

Abstract: Among foodborne diseases, those caused by *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, Coagulase positive *Staphylococcus* and *Bacillus cereus* have been causing numerous inconveniences to the population, including sweets and desserts. This study aimed to evaluate the microbiological quality of fine sweets produced and marketed in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil. To carry out this research, 5 sweets were collected from 5 different establishments located in the southern region of Rio Grande do Sul, and analyzed for the presence of *Salmonella* spp, and quantification of Coagulase positive *Staphylococcus*, *Escherichia coli* and presumptive *Bacillus cereus*. There was no incidence of contamination by *Salmonella* spp and *E. coli* in the analyzed samples. For *Bacillus cereus*, counts were obtained in establishments B and C, but below the maximum limit allowed. The counts of Coagulase positive *Staphylococcus*, in all the evaluated establishments, were higher than the maximum limit recommended by Brazilian

legislation. In conclusion, due to the Coagulase positive *Staphylococcus* counts, the need for training in Good Manufacturing Practices is evident for all establishments, seeking to guarantee the microbiological quality of the sweets produced and the safety of consumers of these products.

Keywords: Good Manufacturing Practices; Microorganisms; Dessert; Pathogenic

INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Alimentos (ABIA), o mercado de doces global terá uma Taxa de Crescimento Anual Composto (CAGR) de 3,99% no período de 2022 a 2027, uma vez que, nos últimos anos, houve um significativo aumento das compras de alimentos por meio da Internet, seja por entrega no formato *delivery* ou pela de retirada no local (1). Além disso, conforme o levantamento intitulado de Consumo Equilibrado, publicado no site Minuto Ligado, o mercado de doces no Brasil, o qual inclui *bombonieres*, confeitarias e fábricas, chega a faturar 12 bilhões de reais a cada ano (1,2).

Este fato reflete diretamente no mercado, estatísticas apontam que 18% dos brasileiros consomem doces pelo menos cinco vezes por semana. E no período de pandemia, o consumo de sobremesas cresceu durante o confinamento. Uma pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz, em parceria com a Universidade Federal de Minas Gerais e a Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), abordou que essa tendência foi ainda maior na faixa etária dos 18 aos 29 anos, onde 63% dos entrevistados indicaram ingerir doces mais de duas vezes por semana (3).

Em contrapartida, além de alimentos de qualidade sensorial, os consumidores prezam cada vez mais por alimentos seguros do ponto de vista higiênico-sanitário. De acordo com Ribas e Ribeiro (4), a qualidade a ser perseguida pela indústria de alimentos vai muito além das características organolépticas do produto, pois visa como requisito básico preservar a saúde dos consumidores através do oferecimento de alimentos inócuos. Para garantir a qualidade, é fundamental que nas indústrias, o ambiente de produção seja o mais adequado possível para que não ocorram contaminações por meio físico, químico ou biológico. Então, devem ser planejadas e implantadas medidas preventivas e corretivas, a fim de evitar prejuízos aos consumidores, à imagem do produto ou do estabelecimento onde foi produzido o alimento.

Neste sentido, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe de legislações que norteiam a produção de alimentos seguros, sendo elas a Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997 (5) que aprova o Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos, e a RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002 (6) onde se encontram os Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) e uma lista de verificação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) na qual são avaliadas as condições higiênico-sanitárias de empresas produtoras de alimentos.

Existem oito POPs que os estabelecimentos produtores de alimentos devem seguir, no mínimo, quanto à higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios; controle da potabilidade da água; higiene e saúde dos manipuladores; manejo de resíduos; manutenção preventiva e calibração de equipamentos; controle integrado de

vetores e pragas urbanas; seleção das matérias-primas, ingredientes e embalagens; e programa de recolhimento de alimentos (6).

Além da manutenção das BPFs, a Resolução ANVISA RDC n° 724 de 1° de julho de 2022 (7), complementada pela Instrução Normativa n° 161 de 1° de julho de 2022 (8), estabelecem os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e determina os critérios para conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano. No caso dos doces finos, avaliados neste estudo, a legislação exige a ausência de *Salmonella* spp em 25 g, índice máximos de 10^2 UFC.g⁻¹ para *Escherichia coli* e de 5×10^2 UFC.g⁻¹ para Estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* presuntivo.

As doenças de origem alimentar causadas por *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, Estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* têm provocado, com elevada frequência, transtornos à população (9). Estes microrganismos podem ser encontrados em doces em virtude da contaminação cruzada causada pela manipulação intensa, e também, em função das características das matérias primas utilizadas que podem se constituir em meios para o desenvolvimento microbiano (4).

Salmonella spp. é um microrganismo causador de infecção alimentar que tem origem entérica e, em função de sua capacidade de disseminação no meio ambiente, pode ser isolado de diferentes fontes (como carnes, pescados, verduras e ovos). Pode, ainda, ser veiculado pelo próprio homem, neste caso na condição de portador assintomático e é, em todo o mundo, um dos microrganismos mais frequentemente envolvido em surtos de doenças de origem alimentar (9,10).

A intoxicação alimentar provocada por Estafilococos coagulase positiva se dá em virtude da ingestão de alimentos contendo enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante a sua multiplicação. Níveis de enterotoxina que variam entre 0,01 e 0,4 g por grama de alimento já são suficientes para provocar intoxicações (9,10).

O patógeno *Bacillus cereus* é capaz de formar vários tipos de toxinas, incluindo as enterotoxinas e, dentre as enterotoxinas envolvidas em intoxicações alimentares, as de maior risco são aquelas associadas a graves problemas hepáticos. Produtos farináceos, alguns grãos e produtos lácteos são os alimentos normalmente relacionados a este microrganismo (9,10).

As cepas patogênicas de *E. coli* são divididas de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos da patogenicidade em vários grupos que podem variar em seus períodos de incubação e duração da enfermidade. Esses grupos foram divididos no seguinte formato: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou *E. coli* produtora da toxina de Shiga (STEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC) (9,10).

Diante do exposto e com base na relevância das Boas Práticas de Fabricação para a fabricação de alimentos seguros, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do trabalho foram coletadas amostras de 5 tipos de doces classificados como “finos” em 5 estabelecimentos diferentes localizados no Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram acondicionadas em embalagens fornecidas pelos estabelecimentos, nas condições usualmente empregadas para este tipo de doce, e foram mantidas em refrigeração (4 a 5°C) até o momento das análises. As determinações microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

As análises foram realizadas seguindo os procedimentos propostos pela *American Public Health Association* (APHA) (11). As amostras foram submetidas a diluições seriadas, em solução salina 0,85%, até a diluição 10^{-3} , exceto para a análise de *Salmonella spp.*

A enumeração de *Escherichia coli* foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva foi realizada em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com incubação a 35°C por 48 horas. A confirmação de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* – EC, com incubação a 45,5°C por 48 horas. A confirmação de *Escherichia coli* foi realizada a partir da semeadura dos tubos positivos de EC em placas com meio de cultura *Eosin Methylene Blue Agar* (EMB), incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias com morfologia característica foram identificadas como *E. coli* através dos testes de produção de indol, reações de vermelho de metila e Voges-Proskauer, e utilização de citrato. O resultado foi expresso em NMP.g⁻¹

Para a enumeração de Estafilococos coagulase positiva foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em Ágar Baird-Parker. Em seguida, as placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas. Posteriormente, as colônias foram enumeradas e, no mínimo, cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípicas foram selecionadas para realização do teste de produção de coagulase livre. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹.

Para análise de quantificação de *Bacillus cereus* presuntivo foi inoculado 0,1ml de cada diluição em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP). As mesmas foram incubadas invertidas por 24 horas a 30 °C. Em seguida, a contagem de colônias presuntivas características foi realizada. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹.

Para o isolamento de *Salmonella spp.* foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 horas, e enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 horas e Caldo Tetracionato, a 37°C por 24 horas. Em seguida foi feita semeadura em placas com ágar Desoxicolato-lisina-xilose (XLD) e Bismuto Sulfito (BS) sendo ambos incubados por 24 horas a 37 °C. Colônias com morfologia típica de *Salmonella spp.* foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease, a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentaram reações bioquímicas características foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar. O resultado foi expresso em ausência ou presença de *Salmonella spp* em 25 g.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para as avaliações microbiológicas dos doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul/ RS, estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Avaliações microbiológicas dos doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul/ RS

Doce/ Estabelecimento	<i>Escherichia coli</i> (NMP.g ⁻¹)	Estafilocos coagulase positiva (UFC.g ⁻¹)	<i>Bacillus cereus</i> presuntivo (UFC.g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> sp em 25 g
Panelinha de coco/ Estab A	<3,0	1,6 x 10 ³	<10	Ausência
Panelinha de coco/ Estab B	<3,0	10 ⁴	3 x 10 ²	Ausência
Quindim/ Estab C	<3,0	10 ⁴	10 ²	Ausência
Trouxinha de nozes/ Estab D	<3,0	10 ³	<10	Ausência
Amanteigado/ Estab E	<3,0	10 ³	<10	Ausência

NMP: Número Mais Provável; UFC: Unidade Formadora de Colônia; Estab: Estabelecimento.

Não foi observado incidência de *E. coli* e *Salmonella* spp nas amostras avaliadas, de acordo com o exigido pela legislação brasileira (8). Outros trabalhos também avaliaram estes patógenos e obtiveram resultados semelhantes.

Eberhardt, Comiran, Gonzales e Fontoura (12) avaliaram sobremesas servidas em um hospital da cidade de Porto Alegre e não obtiveram contagens de *E. coli*. Bem como César et. al. (13), que avaliaram doces comercializados na cidade de Pelotas e obtiveram contagens abaixo do limite de detecção para todas as amostras avaliadas.

Em seu estudo, Granada et. al. (14) também avaliaram a incidência de *Salmonella* spp em doces quindim comercializados na cidade de Pelotas e obtiveram ausência do referido patógeno nas amostras avaliadas. Resultado semelhante ao obtido por Eberhardt, Comiran, Gonzales e Fontoura (12) ao avaliarem as sobremesas servidas em um hospital.

Com relação à avaliação de *Bacillus cereus* presuntivo, embora o presente estudo tenha obtido contagens para esta bactéria nos estabelecimentos B e C, os resultados encontrados foram enquadrados abaixo do limite máximo exigido pela legislação, de 5x10² UFC.g⁻¹, gerando um resultado em acordo a legislação brasileira. Resultado semelhante foi encontrado por Granada et. al. (14) que, ao avaliarem doces do tipo quindim, obtiveram resultados <100 UFC.g⁻¹ para *Bacillus cereus* em todas as amostras analisadas. Já no estudo conduzido por Fazzionni, Gelinski e Roza-Gomes (15), ao avaliarem produtos de confeitaria de um município do Oeste de Santa Catarina, os autores obtiveram altas contagens para *Bacillus cereus* em três, dos seis estabelecimentos avaliados. Dentre os produtos com maiores contagens estavam o sonho e a torta de requeijão, chegando a obter concentrações de 10⁵ UFC.g⁻¹.

Com relação às contagens de Estafilococos coagulase positiva, todas as amostras avaliadas no presente estudo apresentaram resultados acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira, que é de 5x10² UFC.g⁻¹.

Resultados semelhantes foram obtidos por Anselmo, Werle e Hoffmann (16) ao avaliarem a qualidade microbiológica de 102 refeições escolares. Os autores obtiveram contaminações elevadas por Estafilococos coagulase positiva em 4 amostras, sendo que, todas as cepas foram testadas quanto a sensibilidade a antimicrobianos e apresentaram resistência a penicilina. Indicando que a merenda escolar pode oferecer risco à saúde das crianças, assim como os doces avaliados no presente trabalho.

Com resultados diferentes, no estudo realizado por César et. al. (13) os autores não obtiveram contagens superiores a 10² UFC.g⁻¹ para esta bactéria ao avaliarem sobremesas

de um restaurante da cidade de Pelotas, RS. Estando estas amostras de acordo com o exigido pela legislação brasileira.

Os resultados microbiológicos encontrados neste estudo contrariam o exposto por Nicolau et. al. (17), pois mesmo com a alta concentração de açúcar dos doces, o que exerce pressão osmótica e dificulta o crescimento das bactérias, foi obtido carga microbiana insatisfatória, no caso de *Estafilococos coagulase positiva*.

No mesmo trabalho realizado por Nicolau et. al. (17) foram avaliadas tortas doces comercializadas em 105 bancas nas 23 feiras especiais da cidade de Goiânia, e também o impacto da capacitação dos feirantes em Boas Práticas de Fabricação (BPF) na qualidade destes produtos. Os autores concluíram que com o treinamento dos feirantes houve uma melhora na qualidade microbiológica dos produtos, reforçando a necessidade de capacitação dos manipuladores e o impacto desta ferramenta no produto final.

Considerando que as principais fontes de contaminação por *Estafilococos coagulase positiva* são a pele e as vias aéreas superiores de humanos, a contaminação dos doces pode ter ocorrido devido a falhas relacionadas a procedimentos não adequados de Boas Práticas de Fabricação, como por exemplo, manipular os doces sem lavar as mão ou tossir, espirrar e falar sobre os produtos ou matérias primas (10).

Os resultados obtidos demonstram a necessidade de maior capacitação em Boas Práticas de Fabricação para todos os estabelecimentos pesquisados. Falhas nestes requisitos podem gerar contaminações de origem física, química e/ou biológica, além de causar doenças de origem alimentar aos consumidores. Em contrapartida, com a aplicação de treinamentos aos manipuladores de alimentos é possível melhorar as condições higiênico-sanitárias durante a produção dos doces e garantir a segurança dos produtos fabricados (5, 6, 17).

CONCLUSÕES

Não foi verificada a presença de *Salmonella* spp e contagem de *Eschericia coli* nas amostras avaliadas e, embora tenha havido contagens de *Bacillus cereus* em duas amostras analisadas, estas estavam abaixo do limite máximo permitido pela ANVISA.

No entanto, com base nos resultados obtidos para as contagens de *Estafilococos coagulase positiva* em todas as amostras analisadas, é possível concluir que há necessidade de maiores investimentos na capacitação dos manipuladores de alimentos quanto à manutenção das Boas Práticas de Fabricação em todos os estabelecimentos pesquisados, uma vez que estes resultados ficaram acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

1. ABIA. Mercado de confeitaria: tendências e dicas de atuação neste ano de 2023 [internet]. 2023 [acesso em 2023 jul 05]. Disponível em: <https://www.abia.org.br/noticias/mercado-de-confeitaria-tendencias-e-dicas-de-atuacao-neste-ano-de-2023>.
2. Mayer L. O mercado de doces no Brasil [internet]. 2021 [acesso 2023 jul 05]. Disponível em: <https://minutoligado.com.br/saiba-mais-sobre-o-mercado-de-doces-no-brasil/>.

3. Botelho F. Consumo de doces aumenta na pandemia [internet]. 2020 [acesso 2023 jul 05]. Disponível em: <https://portalcbbc Campinas.com.br/2020/08/consumo-de-acucar-aumenta-com-a-pandemia>
4. RIBAS A Z B, RIBEIRO L F. Implementação de boas práticas de fabricação em agroindústrias familiares no Paraná. GETEC. 2021;10(26):104-109.
5. Brasil. Portaria 326 n°326, de 30 de julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União. 30 jul 1997.
6. Brasil. Resolução RDC n° 275 de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da União. 21 out 2002.
7. Brasil. Resolução RDC n° 724 de 1° de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Diário Oficial da União. 1 jul 2022.
8. Brasil. Instrução Normativa n° 161 de 1° de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da União. 1 jul 2022.
9. Boletim Epidemiológico. Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019 [internet] 2020. [acesso em 2023 jul 5]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/informe-sobre-surtos-notificados-de-doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos-2013-brasil-2016-2019.pdf/view>
10. Forsythe S. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
11. Downes F P, Ito H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), P. 676, 2001.
12. Eberhardt D, Comiran AS, Gonzales ACS, Fontoura ID. Avaliação de análise microbiológica de sobremesas servidas a pacientes internados em hospital da cidade de Porto Alegre/RS. Nutr. Bra. 2017;16(4):204-208.
13. César, JG, Peres, AM, Neves CP, Mello JF, Moreira AN, Rodrigues KL. Ocorrência de *Staphylococcus* spp., coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em carnes e sobremesas comercializados em restaurantes [internet] 2014. [acesso em 2023 jul 5]. Disponível em: http://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2014/CS_02023.pdf
14. Granada GG, Mendonça CRB, Camila P, Rosa F, Silva E, Silva WP, Koetz PR, Zambiasi RC. Perfil higiênico-sanitário de quindins comercializados em Pelotas/RS. Alim. Nutr. 2003;14(1): 57-61.
15. Fazzioni FDB, Gelinski, J.M.L, Roza-Gomes M.F. Avaliação Microbiológica de produtos de confeitaria e risco à saúde do consumidor. Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr. 2013;24(2):159-164.
16. Anselmo DB, Werle, CH, Hoffmann FL. Ocorrência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes a antimicrobianos e parasitos Entamoeba coli e Ascaris lumbricoides em merendas escolares. Rev. Inst. Ad. Lutz. 2015;74(4):399-409.

17. Nicolau ES, Soares NR, Barros JC, Silva BSM, Silva MAP, Cavalcanti S. Avaliação microbiológica de tortas doces comercializadas em feiras especiais da cidade de Goiânia-GO. Sem: Cien Agr. 2014;35(1):303-316.

Capítulo 07

DOI: 10.53934/IISEMICRO-07

A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DAS BACTÉRIAS PERTENCENTES À FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE NA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS: REVISÃO DE LITERATURA

Ana Keyla Sousa de Araújo* ; Keiciele da Silva Oliveira ; Milena Amorim Chaves de Araújo 

* E-mail: anakeylavet@ufpi.edu.br

Resumo: Uma maneira de determinar a qualidade dos alimentos é por meio do controle de qualidade analítico. Fazer apenas o controle de qualidade do produto não fornece garantia de qualidade necessária, por isso a importância de promover educação sobre manipulação adequada de alimentos aos manipuladores fazendo-os entender como os microrganismos potencialmente veiculadores de doenças de origem alimentar atuam no hospedeiro humano e o que se deveria fazer para oferecer alimentos seguros, do ponto de vista microbiológico. Este trabalho tem como objetivo relatar e revisar os principais aspectos das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, com foco nos gêneros *Escherichia*, *Salmonella* e *Cronobacter*, e a sua importância na microbiologia de alimentos. Foi realizada uma revisão de literatura de livros e artigos científicos utilizando plataformas como Pubmed, Google Acadêmico, e outras ferramentas buscando pelas palavras-chave: Enterobacteriaceae, *Salmonella*, *Escherichia*, *Cronobacter*, segurança alimentar, microbiologia, e microbiologia de alimentos, compreendendo dos anos 1960 até o presente atual (2023). A qualidade de um alimento pode ser determinada pelo controle da qualidade analítica, utilizando-se, principalmente, microrganismos indicadores como parâmetros, sendo que a qualidade microbiológica tem como objetivo fornecer alimentos seguros, do ponto de vista higiênico-sanitário. Uma das maneiras de se conseguirem alimentos seguros é o investimento e a disseminação de novas técnicas de manipulação, protocolos e questões de segurança alimentar para a indústria, formuladores de políticas, pesquisadores e consumidores. Esses esforços permitirão a prevenção de doenças veiculadas por alimentos.

Palavras-chave: *Salmonella*; *Escherichia coli*; *Cronobacter*; Coliformes; Microbiologia de Alimentos

Abstract: One way to determine food quality is through analytical quality control. Just doing quality control of the final product does not provide the necessary quality assurance., which is why it is important to promote education about proper food handling to food handlers, making them understand how microorganisms potentially capable of transmitting foodborne diseases act in the human host and what should be done to offer safe food from a microbiological point of view. This work aims to report and review the main aspects of bacteria belonging to the Enterobacteriaceae family, focusing on the genera *Escherichia*, *Salmonella* and *Cronobacter*, and their importance in food microbiology. A literature review of books and scientific articles was conducted using platforms such as Pubmed, Google

Scholar, and other tools searching for the keywords: Enterobacteriaceae, *Salmonella*, *Escherichia*, *Cronobacter*, food security, microbiology, and food microbiology, between the years of 1960 to the current present (2023). The quality of a food can be determined by analytical quality control, using mainly indicator microorganisms as parameters, and the microbiological quality aims to provide safe food from a hygienic-sanitary point of view. One of the ways to achieve safe food is the investment and dissemination of new handling techniques, protocols and food safety issues for industry, policy makers, researchers, and consumers. These efforts will allow for the prevention of foodborne illnesses.

Keywords: *Salmonella*; *Escherichia coli*; *Cronobacter*; Coliforms; Food Microbiology.

INTRODUÇÃO

Uma maneira de determinar a qualidade dos alimentos é por meio do controle de qualidade analítico. Essa técnica foca a abordagem em métodos de inspeção durante a produção de alimentos até a realização de testes físico-químicos, químicos e microbiológicos no produto (1). Esse critério pode ser implementado em conjunto por agências governamentais e pessoal da indústria para verificar se o produto está em conformidade com as leis e regulamentos nacionais e com as necessidades comerciais da indústria (2).

O controle de qualidade apenas do produto não fornece a garantia de qualidade necessária. Isso se deve, entre outros motivos, à dificuldade de analisar um número suficiente de amostras para obter informações sobre lotes de produtos e aos longos prazos para obtenção dessas informações, pois envolvem tempo, alto custo e exigem pessoal qualificado (2).

Intervenções na educação sobre manipulação adequada de alimentos podem ajudar a maximizar a segurança dos manipuladores de alimentos, ampliar seus horizontes educacionais e fornecer às pessoas alimentos seguros do ponto de vista microbiológico (3).

Uma maneira de educar os manipuladores é fazê-los entender como os microrganismos potencialmente veiculadores de doenças de origem alimentar atuam no hospedeiro humano e o que se deveria fazer para oferecer alimentos seguros, do ponto de vista microbiológico. Vários patógenos compartilham mecanismos comuns de interação com seus hospedeiros, embora cada espécie tenha desenvolvido uma estratégia única que permite explorar células eucarióticas (4).

Patógenos bem adaptados têm a habilidade de subverter, circunverter e/ou evadir células humanas normais. Subverter significa, na patogenicidade bacteriana, enganar, desorganizar, corromper o sistema imune, por exemplo; a habilidade de circunverter estaria ligada ao conceito de criar mecanismos que contornam a ação microbiana, em um dado momento, e evadir significa fugir, escapar de uma situação não adequada ao microrganismo (2).

Este trabalho tem como objetivo relatar e revisar os principais aspectos das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, com foco nos gêneros *Escherichia*, *Salmonella* e *Cronobacter*, e a sua importância na microbiologia de alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho utilizou como metodologia ativa pesquisas em livros e artigos científicos utilizando plataformas como Pubmed, Google Acadêmico, e outras ferramentas buscando pelas palavras-chave: Enterobacteriaceae, *Salmonella*, *Escherichia*, *Cronobacter*, segurança alimentar, microbiologia e microbiologia de alimentos, compreendendo dos anos 1960 até o presente atual (2023).

BACTÉRIAS PATOGÊNICAS DE ORIGEM ALIMENTAR

As infecções alimentares representam ainda hoje um sério problema de sanidade pública pela sua elevada frequência, mortalidade e pelo grande número de microrganismos que podem estar envolvidos em um simples evento epidêmico. Diversos patógenos alimentares são conhecidos por causarem doenças, estando vinculados a alimentos e água, e entre esses sabe-se que as bactérias constituem um grande grupo de microrganismos causadores de doenças. A transmissão de muitos patógenos aos seres humanos ocorre pela má conservação dos alimentos, manipulação inadequada e consumo de alimentos crus, entre outros (5).

Os organismos causadores de doenças transmitidas por alimentos são normalmente divididos em dois grupos: infecciosos e intoxicantes. O primeiro grupo compreende os microrganismos que se multiplicam no trato intestinal humano, enquanto o segundo é formado por aqueles que produzem toxinas, tanto nos alimentos quanto durante sua passagem pelo trato intestinal (6).

Coliformes

Coliformes não é especificamente um único microrganismo e sim um grupo de microrganismo definido como: coliformes totais e coliformes termotolerantes (fecais). Ambos são formados por bactérias da família Enterobacteriaceae, Gram-negativas, em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos, caracterizadas pela presença da enzima β -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás em meios contendo sais biliares ou outros agentes tenso-ativos com propriedades inibidoras semelhantes. As bactérias mais frequentemente isoladas como coliformes totais são: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia coli* (quase sempre a bactéria isolada como coliforme fecal é *E. coli*, porém há relatos que algumas cepas de *Klebsiella* também podem pertencer a este grupo).

A presença das bactérias deste grupo nos alimentos fornece evidência indireta sobre a qualidade da matéria prima, condições de processamento, condições do armazenamento e transporte ao qual este alimento foi submetido. Portanto, são análises que evidenciam indiretamente condições higiênicas e higiênico-sanitárias (7).

E. coli patogênicas

E. coli são bactérias da família Enterobacteriaceae, Gram-negativas, em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadoras de endósporos, fermentadoras de lactose produzindo ácido e gás. A via de transmissão de *E. coli* diarréiogênica é fecal-oral por meio de água e alimentos contaminados. Comumente isoladas de fezes, na maioria das vezes *E. coli* são comensais, não causando doença em seus hospedeiros. Entretanto, em pessoas debilitadas, imunocomprometidas ou com a barreira gastrointestinal alterada, cepas de *E.*

coli não patogênicas presentes no intestino podem causar infecção (8). Desta forma, para confirmação de diarreia por *E. coli*, é necessária a identificação de cepas de *E. coli* diarreio gênicas (8,9).

As cepas patogênicas de *E. coli* são divididas, de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos de patogenicidade, em vários grupos que podem variar em seus períodos de incubação e duração da enfermidade. Os seis grupos reconhecidos como patogênicos são os seguintes: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), e *E. coli* enteroagregativa (EAggEC) (6).

ETEC são caracterizadas por colonizarem a superfície da mucosa do intestino delgado, principalmente o íleo, e por produzirem enterotoxinas termoestáveis (ST) e termolábeis (LT) que alteram as funções dos enterócitos, aumentando a secreção e reduzindo a absorção de líquidos, sem induzirem alterações morfológicas significativas no intestino (8,10). Causa diarreia aquosa, com aparência similar à água de arroz, e produz febres baixas (6).

As infecções por ETEC são espécie-específicas principalmente em função da presença de receptores específicos para adesinas em células intestinais de uma ou de um número limitado de espécies, não sendo, portanto, consideradas como zoonóticas, em contraste com as infecções por EHEC e STEC (10).

EPEC coloniza principalmente o intestino delgado e sua principal característica é causar uma lesão denominada de *attaching and effacing* - A/E. A lesão A/E é caracterizada por uma adesão íntima da bactéria ao epitélio intestinal, com destruição das microvilosidades intestinais, alterações no citoesqueleto, com formação de estruturas semelhantes a pedestais e acúmulo de actina polimerizada logo abaixo da ligação da bactéria à célula (8,11). *E. coli* capazes de causar esse tipo de lesão são também denominadas AEEC (*attaching and effacing Escherichia coli*). Causa vômitos, febre e diarreia aquosa contendo muco, mas não sangue (6).

E. coli enterohemorrágica (EHEC) e *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), também conhecida como *E. coli* verotoxigênica (VTEC), em função do efeito citotóxico em células Vero, se referem a cepas de *E. coli* que produzem pelo menos uma das toxinas Shiga (Stx1 ou Stx2) (12). Outro fator de virulência importante para a caracterização de EHEC é a presença da ilha de patogenicidade LEE (*locus of enterocyte effacement*), com genes responsáveis pela formação de A/E, como em EPEC. Causa diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (HUS) e púrpura trombótica trombocitopênica (6).

E. coli enteroagregativa (EAggEC) causa diarreia aquosa persistente, sobretudo em crianças, durando mais de 14 dias. A EAggEC alinha-se em fileiras paralelas, tanto em tecidos celulares quanto em lâminas. Essa agregação foi descrita como “empilhamento de tijolos”. Elas produzem uma toxina termossensível, relacionada antigenicamente à hemolisina, mas que não é hemolítica, e uma toxina termoestável codificada por um plasmídeo (EAST1) sem qualquer relação com a enterotoxina termoestável da ETEC. Imagina-se que a EAggEC fique aderida à mucosa intestinal e produza as enterotoxinas e citotoxinas, as quais resultam em diarreia secretória e em danos à mucosa. Essa bactéria tem sido associada a má nutrição e retardo de crescimento, na ausência de diarreia (6).

Ainda segundo Forsythe (6), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), causa febre e diarreias profundas contendo muco e sangue. O microrganismo coloniza o colo e contém um plasmídeo

de 120 a 140 mD responsável pela invasividade, o qual carrega todos os genes necessários para a virulência.

***Salmonella* spp.**

Salmonella é um gênero da família Enterobacteriaceae. São bactérias Gram-negativas, em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadoras de endósporos; fermentam glicose, produzindo ácido e gás, porém são incapazes de metabolizar lactose e sacarose. A maioria das espécies é móvel, com flagelos peritríquios (*S. Gallinarum* e *S. Pullorum* não são móveis). Como não formam endósporos, são relativamente termossensíveis, podendo ser destruídas a 60 °C, em 15 a 20 minutos (6).

Esse gênero geralmente causa ataques que envolvem um grande número de pessoas, sendo uma das principais causas de doença de origem alimentar, tendo alta frequência em todo mundo, estando associada a prejuízos econômicos, dificuldades comerciais e queda na produção (13).

A infecção por *Salmonella* em humanos apresenta-se de três formas distintas, variando de acordo com o sorovar envolvido, sendo o sorovar adaptado *S. Typhi*, o *S. Paratyphi* e os sorovares não adaptados, responsáveis pela febre tifoide, febre entérica e gastroenterite, respectivamente (14).

Segundo Gonzales-Escobedo (15), a febre tifoide é a enfermidade mais prevalente em locais onde são precárias as condições de saneamento básico. Esta enfermidade está associada à ingestão de alimentos e água contaminada por excrementos de origem humana portadores clínicos ou assintomáticos da doença (16). A doença é caracterizada pela manifestação de sepse, acarretando sinais clínicos diversos, tais como náuseas, vômito, febre, diarreia, cefaleia, constipação e óbito (6,15).

Shinohara *et al.* (17) mencionam que a febre entérica apresenta sintomatologia semelhante à da febre tifoide, porém, possui caráter mais brando. A infecção nestes casos ocorre em decorrência do consumo de água e alguns alimentos contaminados como o leite, ovos, mariscos e vegetais.

A gastroenterite ocorre após a ingestão de sorovares não adaptados, sendo o *S. Enteritidis* o mais frequente, entretanto, outros sorovares, como o *Typhimurium*, *Derby*, *Panama*, *Schwarzengrund*, *Infantis*, *Agona*, já foram relatados. (14,18).

Esta enfermidade é caracterizada pela ocorrência de curso rápido, com manifestação dos primeiros sintomas entre 12 e 36 horas após a ingestão do alimento contaminado, sendo, diarreia, dor abdominal e náuseas os sintomas mais frequentes dessa afecção (6).

Cronobacter sakazakii

Cronobacter sakazakii (conhecido anteriormente como *Enterobacter sakazakii*) faz parte da família Enterobacteriaceae. São bactérias Gram-negativas, em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadoras de endósporos e móveis com flagelos peritríquios.

Esses organismos foram originalmente referidos como *Enterobacter cloacae* de pigmentação amarela até que foram reclassificados em 1980 como uma nova espécie, *Enterobacter sakazakii* (19). Estudos de hibridização DNA-DNA indicaram que eles eram 53-54% relacionados a dois gêneros distintos: *Enterobacter* e *Citrobacter*. No entanto, como as novas espécies eram fenotípicas e genotipicamente mais próximas de *E. cloacae* do que de *Citrobacter freundii*, elas foram posteriormente incluídas no gênero *Enterobacter*.

Originalmente, 15 biogrupos foram descritos (19) com um 16º grupo adicionado mais recentemente (20). Após um estudo polifásico de uma extensa coleção de cepas de *E. sakazakii*, Iversen *et al.* (21,22) propuseram uma nova classificação de *E. sakazakii* com a criação de um novo gênero, *Cronobacter*. A proposta deste gênero foi baseada em impressão digital detalhada de polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado f (f-AFLP), ribotipagem, caracterização de sequências de genes 16S rRNA de tamanho completo, hibridização DNA-DNA e perfis fenotípicos. O gênero consiste em seis genomoespécies; *C. sakazakii*, *Cronobacter malonaticus*, *Cronobacter turicensis*, *Cronobacter muytjensii*, *Cronobacter genomospecies 1* e *Cronobacter dublinensis* que contém três subespécies: *dublinensis*, *lactaridi* e *lausannensis*.

O reservatório primário de *Cronobacter* spp. ainda não foi elucidado, porém supõe-se que o material vegetal pode ser uma fonte importante. *Cronobacter* spp. podem ser isolado de uma ampla variedade de alimentos, incluindo leite, queijo, alimentos secos, carnes, água, vegetais, arroz, pão, chá, ervas, especiarias e fórmula infantil em pó (PIF) (23,24,25,26,27,28,29,30). Estudos de vigilância detectaram *Cronobacter* spp. em residências, instalações pecuárias, fábricas de alimentos e instalações de produção PIF (31,32,33). Clinicamente, *Cronobacter* spp. foram isolados do líquido cefalorraquidiano, medula óssea, sangue, nos tratos respiratório e testicular, urina, esfregaços de ouvido e olhos e feridas cutâneas (26,34,35).

Cronobacter spp. são considerados patógenos oportunistas emergentes e foram identificados como agentes etiológicos de bacteremia, enterocolite necrotizante e meningite neonatal (30,35,36,37,38,39,40). A PIF contaminada está epidemiologicamente ligada a casos de infecções por *Cronobacter* em lactentes (37,41,42,43,44), sendo que Urmenyi e Frankin (45) registraram o primeiro isolamento de *Cronobacter* spp. de um caso de meningite neonatal. Desde então, foram relatadas taxas de casos fatais de até 80% (42).

Cronobacter spp. são um gênero classificado recentemente e ainda há muito trabalho a ser concluído para entender melhor esse grupo único de organismos. Detecção confiável e identificação precisa são fundamentais em relação a alimentos e ambientes clínicos. Embora os métodos moleculares de detecção sejam geralmente mais rápidos em comparação com os métodos microbiológicos convencionais baseados em fenótipos, a necessidade de equipamentos especializados e treinamento de operadores impede alguns setores de implementar esses protocolos. No entanto, no ambiente clínico, protocolos diagnósticos rápidos são essenciais. Embora esforços tenham sido feitos para atualizar bancos de dados para sistemas de detecção comercialmente disponíveis, melhorias na identificação e diferenciação de *Cronobacter* spp. poderiam ser feitas (46).

CONCLUSÕES

A qualidade microbiológica tem o objetivo de fornecer alimentos seguros, do ponto de vista higiênico-sanitário. É fundamental que os sistemas de segurança de alimentos sejam baseados na avaliação científica de risco para identificar soluções apropriadas de controle e gerenciamento. Tais sistemas só podem ser eficazes quando sustentados por dados gerados por meio do uso dos métodos microbiológicos mais atualizados e sensíveis. Por esta razão, muita ênfase deve ser colocada na comunicação e disseminação de novas tecnologias, protocolos e questões de segurança alimentar para a indústria, formuladores de políticas, pesquisadores e consumidores.

REFERÊNCIAS

1. Martins WF. Tecnologia e microbiologia sob a perspectiva da segurança dos alimentos. 1 ed. Guarujá, SP: Científica Digital; 2022.
2. De Sousa, CP. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. Rev. APS. 2006;9:83–8.
3. Levinger B. School feeding, school reform, and food security: connecting the dots. Food Nutr Bull. 2005;26:170–8.
4. Finlay BB, Falkow S. Commons themes in microbial pathogenicity revisited. Microbiol Mol Biol Rev. 1997;61:139–69.
5. De Andrade RB, Gemelli T, Dall Onder LP, Cristina K, de Brito T, Barboza AAL, et. al. Métodos de diagnóstico para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. Arq Inst Biol. 2010;77:741–50.
6. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013.
7. Guerra AF. NMP/g ou mL de coliformes a 35 e 45°C. Valença; 2015.
8. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol. 1998;11:142–201.
9. Gyles CL, Fairbrother JM. *Escherichia coli*. In: Gyles CA, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO. (Eds). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 4 ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
10. Nagy B, Fekete PZ. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. Int J Med Microbiol. 2005;295:443–54.
11. Mainil JG, Daube G. Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods: who's who?. J Appl Microbiol. 2005;98:1332–44.
12. Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. J Anim Sci. 2007;85:45–62.
13. Barros VRM. *Salmonella* spp: sua transmissão através dos alimentos. Hig Aliment. 2002;16:15–9.

14. Paim SD. Perfil de excreção de *Salmonella* em suínos ao abate e presença de carcaças positivas no pré-resfriamento [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2016.
15. Gonzales-Escobedo G, Marshall JM, Gunn JS. Chronic and acute infection of the gallbladder by *Salmonella* Typhi: understanding the carrier state. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9:9–14.
16. Crawford RW, Rosales-Reyes R, Ramírez-Aguilar M de L, Chapa-Azuela O, Alpuche-Aranda C, Gunn JS. Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. gallbladder colonization and carriage. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:4353-8.
17. Shinohara NKS, de Barros VB, Jimenez SMC, Machado E de CL, Dutra RAF, Filho JL de L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciêna Saúde Colet.* 2008;13:1669–74.
18. Capalonga R, Ramos RC, Both JM, Soeiro ML, Longaray SM, Haas S, et al. *Salmonella* serotypes, resistance patterns and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8:811–7.
19. Farmer JJIII, Hickmann AM, Brenner DJ. *Enterobacter sakazakii*: a new species of “*Enterobacteriaceae*” isolated from clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol.* 1980;30:569–84.
20. Iversen C, Waddington M, Farmer JJ, Forsythe SJ. The biochemical differentiation of *Enterobacter sakazakii* genotypes. *BMC Microbiol.* 2006;6:94.
21. Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerck I, Marugg J, et al. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter genomospecies* 1. *BMC Evol Biol.* 2007;7:64.
22. Iversen C, Mullane N, McCardell B, Tall BD, Lehner A, Fanning S, et al. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008;58:1442–7.
23. Farber JM. *Enterobacter sakazakii* - new foods for thought?. *Lancet.* 2004;363:5–6.

24. Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett Appl Microbiol.* 2004;38:378–82.
25. Edelson-Mammel SG, Porteous MK, Buchanan RL. Survival of *Enterobacter sakazakii* in a dehydrated powdered infant formula. *J Food Prot.* 2005;68:1900–2.
26. Gurtler JB, Kornacki JL, Beuchat LR. *Enterobacter sakazakii*: a coliform of increased concern to infant health. *Int J Food Microbiol.* 2005;104:1–34.
27. Beauchamp CJ, Simao-Beauvoir AM, Beaulieu C, Chalifour FP. Confirmation of *E. coli* among other thermotolerant coliform bacteria in paper mill effluents, wood chips screening rejects and paper sludges. *Water Res.* 2006;40:2452–62.
28. Estuningsih S, Kress C, Hassan AA, Akineden O, Schneider E, Usleber E. *Enterobacteriaceae* in dehydrated powdered infant formula manufactured in Indonesia and Malaysia. *J Food Prot.* 2006;69:3013–7.
29. Friedemann M. *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *Int J Food Microbiol.* 2007;16:1–10.
30. Mullane NR, Iversen C, Healy B, Walsh C, Whyte P, Wall PG, et al. *Enterobacter sakazakii* an emerging bacterial pathogen with implications for infant health. *Minerva Pediatr.* 2007;59:137–48.
31. Arts M. *Enterobacter sakazakii* in factories and households. *Lancet.* 2004;364:414.
32. Kandhai MC, Reij MW, Gorris LGM, Guillaume-Gentil O, van Schothorst M. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet.* 2004;363:39–40.
33. Kilonzo-Nthenge A, Chen FC, Godwin SL. Occurrence of *Listeria* and *Enterobacteriaceae* in domestic refrigerators. *J Food Prot.* 2008;71:608–12.
34. Adamson DH, Rodgers JR. *Enterobacter sakazakii* meningitis with sepsis. *Clin Microbiol Newsl.* 1981;3:19–20.
35. Gallagher PG, Ball WS. Cerebral infarctions due to CNS infection with *Enterobacter sakazakii*. *Pediatr Radiol.* 1991;21:135–6.
36. Arseni A, Malamou-Ladas E, Koutsia C, Xanthou M, Trika E. Outbreak of colonization of neonates with *Enterobacter sakazakii*. *J Hosp Infect.* 1987;9:143–150.

37. Biering G, Karlsson S, Clark NC, Jónsdóttir KE, Lúdvígsson P, Steingrímsson O. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J Clin Microbiol.* 1989;27:2054–6.
38. Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. *Acta Pdiatr.* 2001;90:356–8.
39. Caubilla-Barron J, Hurrell E, Townsend S, Cheetham P, Loc-Carrillo C, Fayet O, et al. Genotypic and phenotypic analysis of *Enterobacter sakazakii* strains from an outbreak resulting in fatalities in a neonatal intensive care unit in France. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3979–85.
40. Giovannini M, Verduci E, Ghisleni D, Salvatici E, Riva E, Agostoni C. *Enterobacter sakazakii*: an emerging problem in paediatric nutrition. *J Int Med Res.* 2008;36:394–9.
41. Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1989;10:398–401.
42. Lai KK. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. Case reports and a review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 2001;80(2):113–22.
43. van Acker J, de Smet F, Muyldermans G, Bougateg A, Naessens A, Lauwers S. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol.* 2001;39:293–97.
44. Weir E. Powdered infant formula and fatal infection with *Enterobacter sakazakii*. *Can Med Assoc J.* 2002;166:1570.
45. Urmenyi AM, Franklin AW. Neonatal death from pigmented coliform infection. *Lancet.* 1961;1:313–15.
46. Healy B, Cooney S, O'Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, et al. *Cronobacter (Enterobacter sakazakii)*: an opportunistic foodborne pathogen. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7:339–50.

Resumo 02

PESQUISA DE *SALMONELLA* SPP. EM FRANGO CRU COMERCIALIZADO NAS CIDADES DE NACALA E NAMPULA, MOÇAMBIQUE.

Brígida Solange Macaza^{1,2}; Janete de Fátima Benjamim Júlio Muissicoja¹; Laura de Carlos Amisse¹; Isidro Adriano Mazuze¹

¹ Centro de Estudos Interdisciplinares Lúrio – Universidade Lúrio

² Faculdade de Ciências de Saúde – Universidade Lúrio.

Introdução: A carne de frango é um produto fundamental na dieta alimentar de praticamente todos os países e por tal motivo ocorre um constante crescimento da produção mundial de frango. A carga microbiana de carcaças de frangos são representados por uma microbiota proveniente, principalmente, das aves vivas e/ou incorporadas em qualquer uma das fases no processo de abate. A *Salmonella* spp. causa infecção alimentar no Homem e pode ser encontrado em vários tipos de alimentos de origem animal, como ovos, carnes de aves e seus derivados. **Objetivo:** avaliar a qualidade do frango cru congelado comercializado nas cidades de Nampula e Nacala pela pesquisa *Salmonella* spp. **Métodos:** trata-se de um estudo laboratorial, de abordagem quantitativa. Foram coletadas 74 amostras de frango cru congelado em 6 pontos de venda de frango à grosso nas cidade de Nampula e Nacala, Moçambique, no período de Janeiro a Junho de 2023. As amostras de frango cru (carcaças, assas, patas, pele, simbiquira e cabeças) foram analisadas com base nos procedimentos da norma ISO 6579-1:2017 e os resultados foram classificados como Ausente ou Presente em 25 gramas da amostra, de acordo com a Norma Moçambicana NM440:2013. O programa Excel, foi utilizado para calcular as frequências relativas e absolutas no tratamento de dados. **Resultados:** das 74 amostras analisadas, 10,81% (n=8) foram classificadas como Presente e 89,19% (n=66) classificadas como Ausente na pesquisa de *Salmonella* spp. As partes de frango cru analisadas que apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. foram as carcaças, patas, pele e simbiquira. **Conclusão:** embora os resultados tenham indicado uma taxa de contaminação por *Salmonella* spp. de apenas 10,81% no frango comercializado, é fundamental manter a vigilância contínua sobre a carne para prevenir o consumo de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, especialmente a *Salmonella* spp. Essa medida é essencial para proteger a saúde da população.

Palavras-chaves: Análise microbiológica; Frango cru; *Salmonella* spp.; Nampula.

Capítulo 08

DOI: 10.53934/IISEMICRO-08

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO DO RIZOMA DE *ZINGIBER OFFICINALE* COMO CONSERVANTE NATURAL EM LINGUIÇA FRESCAL

Lady Daiani Xavier da Silva[□]*; Ellen Godinho Pinto[□]; Wiaslan Figueredo Martins[□]

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: ellen.godinho@ifgoiano.edu.br

Resumo: As contaminações microbiológicas constituem um grande problema para a indústria alimentícia, pois provocam perdas do produto, além de transmitir doenças de origem alimentar. Frente a esse cenário a indústria do ramo alimentício emprega vários processos tecnológicos como esterilização, irradiação, secagem, adição de aditivos entre outros, com o intuito de controlar esse tipo de contaminação. Em contrapartida, atualmente vem se tornando comum que os indivíduos prefiram consumir alimentos com conservação natural, ou seja, alimentos submetidos a tratamentos menos agressivos, sem o uso de aditivos sintéticos. Diante dessa realidade, óleos essenciais extraídos de plantas condimentares tem se mostrado bastante promissor, tendo em vista que se apresentam como fonte natural de substâncias antimicrobiana. Diante desse contexto, objetivou-se, com o desenvolvimento desse trabalho, avaliar a ação antimicrobiana do óleo essencial de *zingiber officinale roscoe* em amostras de linguiça frescal inoculada com as bactérias patogênicas *escherichia coli*, *staphylococcus aureus* e *salmonella typhimurium*) por 24, 48 e 72 horas de contato (óleo x bactéria) utilizando uma concentração de 20 µL do óleo essencial. Sendo que o mesmo se mostrou como uma fonte promissora eficiente de agente antimicrobiano natural a ser utilizado em produtos cárneos na concentração avaliada para as bactérias patogênicas com exceção da *salmonella*.

Palavras-chaves: Óleo essencial, linguiça frescal, bactérias patogênicas

Abstract: Microbiological contaminations are a major problem for the food industry because they cause product losses, in addition to transmitting foodborne diseases. Faced with this scenario, the food industry employs various technological processes such as sterilization, irradiation, drying, addition of additives, among others, in order to control this type of contamination. On the other hand, nowadays it is becoming common for people to prefer to consume naturally preserved food, that is, food that has undergone less aggressive treatments, without the use of synthetic additives. Given this reality, essential oils extracted from condiment plants have shown great promise, considering that they are a natural source of antimicrobial substances. In this context, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial action of the essential oil of *Zingiber officinale roscoe* in samples of fresh sausage artificially inoculated with the pathogenic bacteria (*escherichia coli*, *staphylococcus aureus* and *salmonella typhimurium*) for 24, 48 and 72 hours of contact (oil x bacteria) using

a concentration of 20 μ L of essential oil. It was shown as a promising source of efficient natural antimicrobial agent to be used in meat products in the concentration evaluated for pathogenic bacteria.

Key-words: essential oil, fresh sausage, pathogenic bacteria

INTRODUÇÃO

O número de surtos de doenças transmitidas por alimentos cresce a cada ano e verifica-se que os alimentos mais frequentemente associados aos surtos são de origem animal. As enfermidades transmitidas por alimentos são causadas pelo consumo de produtos contaminados por patógenos toxigênicos. Essas enfermidades são consideradas como um dos problemas de saúde pública mais difundido no mundo contemporâneo e afetam até 30% da população do mundo industrializado (1).

A demanda do mercado consumidor está cada vez mais voltada para alimentos considerados “naturais”, livres de conservantes sintéticos. Com o objetivo de reduzir os riscos tanto para a saúde quanto para a econômica, a busca por novos compostos com atividades biológicas, como os óleos essenciais, surge como uma alternativa promissora, como evidenciado em várias publicações científicas. No entanto, é importante conhecer a composição e determinadas propriedades físico-químicas desses óleos para possibilitar uma aplicação mais adequada (2). As bactérias são um grupo significativo de micro-organismos que podem causar doenças quando presentes em alimentos e água. Entre eles, destaca-se *staphylococcus aureus*, conhecido por sua capacidade de provocar uma variedade de sintomas clínicos. Estima-se que cerca de 25% da população humana seja portadora permanente desse micro-organismo. Uma vez estabelecido em seu hospedeiro, o *S. aureus* pode afetar diversos sistemas do corpo, incluindo pele, pulmões, coração, sistema nervoso central, ossos e articulações, corrente sanguínea e trato gastrointestinal.

A resistência cada vez maior de micro-organismos aos produtos químicos e drogas convencionais levou os cientistas a pesquisarem novas fontes de antimicrobianos com atividades de amplo espectro. Os óleos essenciais contêm uma vasta série de metabólitos secundários que podem inibir ou retardar o crescimento de bactérias, leveduras e bolores, cujos componentes têm uma variedade de alvos de ação, particularmente sobre a membrana e o citoplasma microbiano, e em certas situações alteram completamente a morfologia das células podendo ser uma alternativa ao uso de pesticidas sintéticos e como conservantes de alimentos (3).

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis geralmente odoríferas e líquidas, apresentando odor agradável e marcante. São encontrados nos órgãos das plantas, nos aparelhos secretores (4). “De uma maneira geral constituem uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos, álcoois e aromáticos, encontrados em todo tecido vivo de plantas, no geral concentrados na casca, nas flores, nas folhas, nos rizomas e nas sementes” (5).

Zingiberaceae é a maior família da ordem zingiberales com 53 gêneros e mais de 1200 espécies e possui um alto nível de compostos de interesse medicinal. Uma das características marcantes da família zingiberaceae é a ocorrência de caule do tipo rizoma, isto é, tipo de caule subterrâneo que se desenvolve horizontalmente no solo, com propriedades aromáticas, sendo amplamente utilizado em muitos países Asiáticos. Esta família tem recebido muita atenção, uma vez que diversas espécies produzem muitos

compostos bioativos que são úteis em alimentos tais como ervas e especiarias; aromatizantes e temperos; e nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (6).

Muitos estudos têm demonstrado que os compostos bioativos dos gengibres podem ser um excelente antimicrobiano contra diversos patógenos, especialmente para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (7; 6; 8). Por isso, este trabalho objetivou-se a avaliar a ação antibacteriana natural do óleo do rizoma do *zofficinale roscoe* na linguiça frescal frente às bactérias patogênicas *escherichia coli*, *s. aureus* e *salmonella typhimurium*.

MATERIAL E MÉTODOS

A extração do óleo essencial de *zingiber officinale R.* (gengibre) foi realizada na Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), sendo preparado de acordo com a metodologia de arraste direto pelo vapor d'água, utilizando um equipamento tipo Clevenger, em balão de vidro com 2 litros de capacidade, sendo adicionados 1 litro de água destilada e 200 g de rizoma de gengibre adquirido no comércio local. Após extração, o óleo foi colocado em recipiente de vidro âmbar e acondicionado na geladeira até seu uso nas análises.

Foram investigadas bactérias patogênicas das espécies *e. coli*, *s. aureus* e *salmonella typhimurium*. As cepas dessas bactérias foram disponibilizadas pelo laboratório da Universidade Católica Dom Bosco-UCDB-MS previamente inoculadas e mantidas em caldo Mueller-Hinton até uso nas análises.

Para a análise da ação antibacteriana do óleo essencial de gengibre, foi utilizado o teste de difusão em disco aceito pelo FDA (Food and Drug Administration) e estabelecido como padrão pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (9). Em placas de Petri contendo o meio de cultura ágar Mueller-Hinton, foi inoculado 100 µL da suspensão de cada bactéria, padronizadas na escala 0,5 de Mc Farland (a escala 0,5 de Mc Farland corresponde a aproximadamente 15 milhões de células de bactérias por mL).

Logo em seguida foram depositados discos de papel de filtro com 6 mm de diâmetro embebidos com 20 µL do óleo essencial de gengibre. Após as placas serem semeadas foram incubadas a 37 °C por 48 horas com observação depois de decorrido esse período para verificar a formação de um halo de inibição. O tamanho do halo de inibição serviu como referência para indicar a menor ou maior suscetibilidade das bactérias frente ao óleo essencial de gengibre.

Para avaliar a ação antibacteriana do óleo no alimento foram preparados lotes de linguiças frescal a partir de uma receita básica de linguiça (10), sendo o preparo e a manipulação realizada assepticamente no laboratório de Tecnologia de Alimentos na Universidade Estadual de Mato Grosso (UNEMAT), com uma concentração de óleo fixa (20 µL). Foram produzidos dois Lotes: um com o (óleo versus bactéria) e um apenas com a presença de óleo, utilizado como referência. As amostras foram separadas em pequenas porções e embaladas em sacos plásticos separadamente. Posteriormente foram armazenadas sob refrigeração a 7 °C.

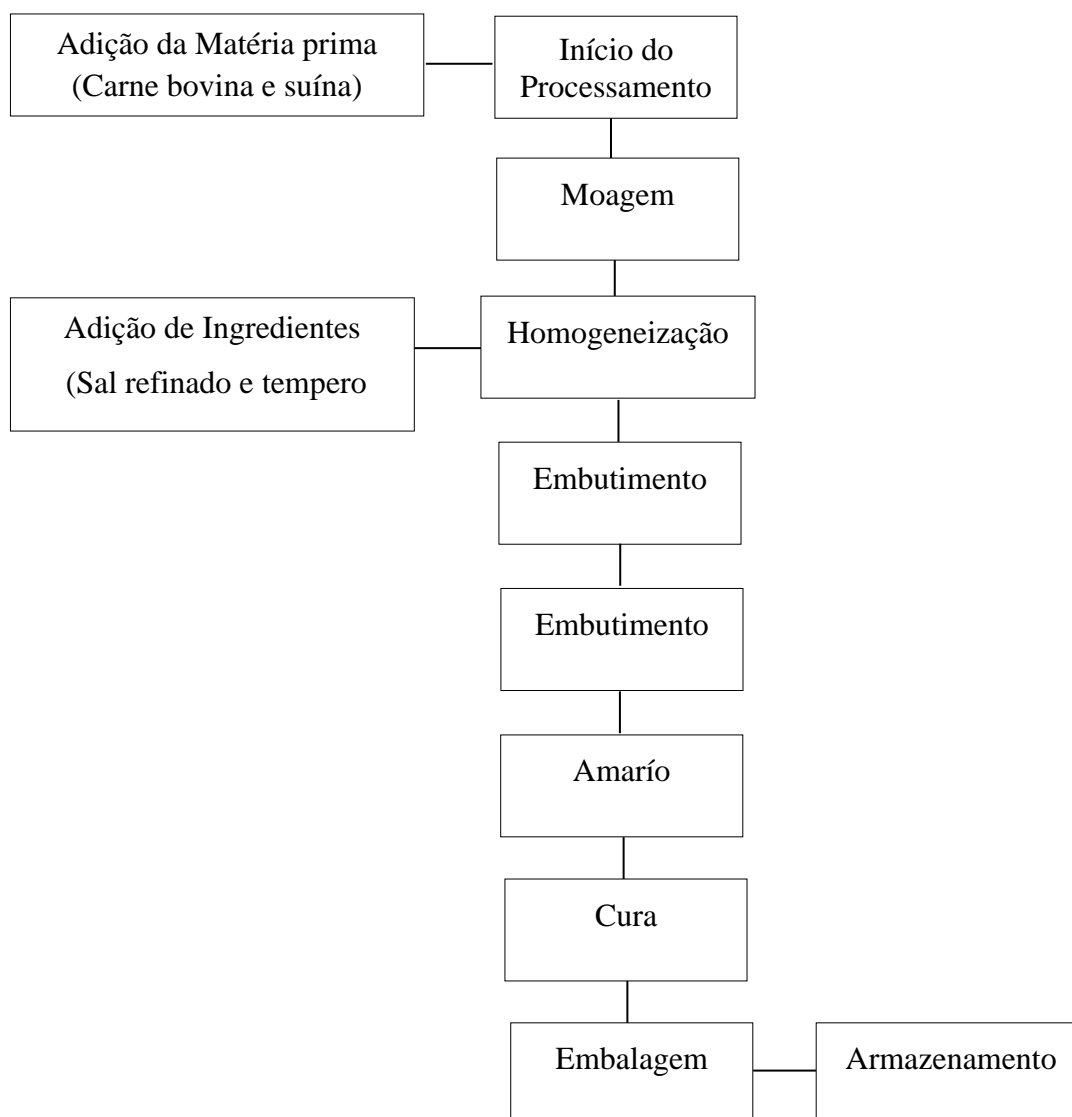
Na fabricação das linguiças a matéria-prima utilizada foi carne bovina e carne suína adquirida no comércio local da cidade de Barra do Bugres-MT. A matéria-prima foi submetida à moagem, a massa cárnea resultante foi adicionada dos seguintes condimentos para obtenção de 700 g de carne: sal refinado, tempero baiano, sendo em seguida homogeneizada manualmente. Logo após foi feita a divisão da massa ainda não embutida, em dois lotes: lote 1 contendo (óleo versus bactéria) e lote 2 contendo apenas o óleo (controle).

Depois de realizada essa etapa a massa cárnea foi deixada em repouso por 10 minutos sob refrigeração. Concluído este período foi dado início ao embutimento da massa cárnea, em gomos de 25 g, em tripas suínas higienizadas com ácido acético. As linguiças foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas para refrigeração até seu uso nas análises.

A Figura 1 mostra o fluxograma geral de elaboração da linguiça frescal respectivamente nas etapas que se seguiram. As análises foram realizadas no período de 0, 24 48 e 72 horas, sendo o experimento executado em três repetições totalizando o número de 30 amostras de linguiça frescal fabricadas e analisadas.

Para avaliação da ação antimicrobiana do óleo essencial na linguiça frescal frente às bactérias *E. coli* e *S. aureus* foram realizadas análises através do método de plaqueamento em superfície de acordo com a metodologia descrita no *Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods*, editado pela *American Association* (11).

Figura 1. Fluxograma de preparo da linguiça frescal



Fonte: Elaborado pelos autores

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o Programa de Estatística Sisvar versão 5.3.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Para as bactérias testadas (*e. coli*, *s. aureus* e *salmonella typhimurium*), somente para *e. coli* e *s. aureus* foram realizados ensaios para o teste da ação antimicrobiana do óleo na linguiça frescal. Na 1ª etapa de avaliação antibacteriana do óleo essencial frente às bactérias testadas, o óleo não apresentou ação antibacteriana sobre a bactéria *salmonella typhimurium* na concentração utilizada (20 µL), evidenciando dessa forma uma maior resistência dessa

bactéria sobre a quantidade de óleo essencial empregado, o que justifica ineficácia do óleo frente a essa bactéria.

Na Tabela 1 se encontram os resultados obtidos no presente trabalho indicando que o óleo essencial de gengibre apresentou ação antibacteriana frente à bactéria *e. coli*, tendo em vista que foi observada uma tendência na diminuição da população de *e. coli* entre o período de 24 e 48 horas, sendo possível dessa forma observar uma diferença estatística significativa entre os dois tempos.

A partir dos dados apresentados, também foi possível comparar os resultados obtidos para as duas bactérias em avaliação (*e. coli* e *s. aureus*), observando melhor eficácia do óleo essencial frente à bactéria *escherichia coli*, tendo em vista que a população de *s. aureus* se manteve inalterada não apresentando diferença estatística significativa entre as variáveis temporais estudadas.

Tabela 1. Valores da média de cinco repetições e respectiva significância do número de células obtidas após o cultivo em linguiça frescal adicionada de óleo de gengibre.

Números Expressos em células 10 ²				
Bactéria	0 hora	24 horas	48 horas	72 horas
<i>E. coli</i> (NMP/g)	31,00 (± 8,87) ^c	11,00 (± 0,01) ^b	3,00 (± 5,86) ^a	4,60 (± 0,01) ^a
<i>S. aureus</i> (UFC)	17,72 (± 6,75) ^a	14,42 (± 1,21) ^a	14,20 (± 4,90) ^a	12,47 (± 4,68) ^a

*Média seguida pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Pesquisa semelhante foi realizada por Busatta et al. (5), em seus estudos sobre a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *origanum majorana* (orégano) frente a *e. coli* em linguiça toscana obtiveram resultados que mostraram que a adição do óleo essencial de manjerona exerceu efeito bacteriostático nas concentrações abaixo da concentração mínima inibitória (CMI) (0,069-2,3 mg/mL) e efeitos bactericidas, quando aplicadas em concentrações elevadas.

A atividade antimicrobiana de óleos essenciais de orégano, tomilho, manjerição, manjerona, capim cidreira, gengibre e cravo, também foi investigada contra linhagens Gram-positivas (*staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*escherichia coli* e *salmonella enteritidis*) por (12). Os valores CMI 90% foram testados contra bactérias inoculadas experimentalmente em carne moída irradiada e contra microbiota natural (mesófilas e bactérias psicrotróficas) encontrada no alimento. E concluiu que nos ensaios de variação temporal realizado frente à bactéria *salmonella enteritidis*, o óleo essencial de orégano foi capaz de reduzir as contagens a não detectável em três dos quatros modelos de variação temporais estudados.

Neisrin et al. (13) também relataram que o óleo essencial de gengibre apresentou ação frente a patógenos alimentares, onde o mesmo demonstrou ações inibitórias contra a *s. aureus*, nas concentrações de 100 µL e 25 µL, entretanto essas concentrações foram superiores às concentrações inibitórias obtidas no presente estudo, contra o mesmo patógeno.

Os óleos essenciais de canela, tomilho e orégano também foram estudados em relação a sua atividade antimicrobiana frente a diferentes linhagens de *salmonella*. Obteve-se valores

favoráveis para os óleos essenciais de tomilho e orégano, destacando sua eficácia para a bactéria em estudo (14).

CONCLUSÃO

Os efeitos do óleo essencial de *zingiber officinale* na ação antibacteriana em linguiça frescal variaram entre as bactérias testadas. No entanto, um decréscimo significativo na população de *escherichia coli* foi observado, indicando resultados promissores como agente antimicrobiano contra essa bactéria em produto cárneo.

REFERENCIAS

1. Marques PRC, Trindade RVR. Panorama epidemiológico dos surtos de doenças transmitidas por alimentos entre 2000 e 2021 no Brasil. Revista Multidisciplinar Saúde, 2022, 3:1-10.
2. Ribeiro JD. Estudo Analítico e Avaliação da Atividade antibacteriana do óleo Essencial da Espécie *Pimenta dióica lindl.* Tese em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
3. Santos CHS, Piccoli RH, Tebaldi VMR. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. Rev Inst Adolfo Lutz. 2017, 76:1-8.
4. Moraes LAS. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Horticultura Brasileira. 2009, 27: 4050-4063.
5. Busatta C. Caracterização Química e Atividade Antimicrobiana In Vitro e Em Alimentos dos Extratos de Orégano e Manjerona. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, 2006.
6. Soares AA. et al. Antimicrobial activity of species *Zingiber officinale* Roscoe and *Alpinia purpurata* (Vieill .) K . Schum (Zingiberaceae)–Review. Semina: Ciências Agrárias, 2018, 39: 1849-1862.
7. Jardim MFA, Furlan LCO, Carvalho IS, Barbosa LN, Otutumi LN. Atividade antibacteriana e antioxidante dos extratos aquosos das folhas e dos rizomas de *zingiber officinale* roscoe cultivadas no horto medicinal da unipar Braz. J. of Develop., 2019, 5:18292-18309.
8. Gupta SK, Sharma A. Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe - A review. Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2014, 9:124-129.
9. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Marcos EL, Telma M, Kaneko SO, Nishikawa, BRF. Métodos para Avaliação da atividade Antimicrobiana e Determinação da

Concentração Mínima Inibitória (CMI) de Plantas Medicinais. *Revista Brasileira de Farmacologia*. 2008, 18:301-307.

10. Roça R. O. Embutidos. Universidade Estadual Paulista- UNESP, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2000.
11. Morton RD. Aerobic Plate Count. In: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* 4th ed. Washington, D.C.: APHA; 2001, 3:63-67.
12. Barbosa LN, Machado BF, Probst VL, Junior AF. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares em carne e hambúrguer bovino. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010, 41:38-54.
13. Nesrin S, Özkinali S, Gür M, Güney K, Özkan OE, Khalifa MM. Determination of antimicrobial activity and chemical composition of pimento e ginger essential oil. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2017, 51:230-233.
14. Santurio DF. Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de Condimentos Sobre *Escherichia coli* Isoladas de Suínos, Aves e Bovinos. 2011. Dissertação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Resumo 03

RENDIMENTO DE CULTURA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS E LEVEDURAS DE KOMBUCHA PRODUZIDAS A PARTIR DE SUBSTRATO ALTERNATIVO

Fernanda dos Santos Ferreira¹; Rayssa Neves Alves²; Mariana Moysés Delorme³; Thais Matsue Uekane⁴; Adriene Ribeiro Lima⁴.

¹Estudante do Curso de Nutrição/Universidade Federal Fluminense - UFF.

²Estudante do Curso de Farmácia/Universidade Federal Fluminense - UFF.

³Doutoranda do PPG-CAPS/Faculdade de Farmácia - UFF

⁴Docente/pesquisador do Departamento de Bromatologia/Faculdade de Farmácia - UFF.

Introdução: A kombucha é uma bebida milenar conhecida por seu sabor e aroma singulares. Ao longo do tempo, ganhou popularidade devido aos inúmeros benefícios que foram relatados na literatura e segue crescendo no mercado global de bebidas. Por definição, é uma bebida elaborada a partir de chá adoçado da planta *Camellia sinensis*, fermentada por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, conhecida como SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeast*). A presença dos microrganismos na produção da bebida está diretamente relacionada à sua composição final, uma vez que eles promovem transformações enzimáticas que variam de acordo com o tipo de inóculo e substrato utilizados. Além disso, a produção de matriz celulósica pelos microrganismos também desempenha um papel quantitativo importante no rendimento do SCOBY. **Objetivo:** Investigar o rendimento da matriz celulósica que comporta a cultura simbiótica de bactérias e leveduras de kombucha, produzida a partir de um subproduto do processamento do café (cáscara) como substrato alternativo a *C. sinensis*, além da determinação de sólidos solúveis totais (°Brix). **Métodos:** Foram elaborados dois tipos de bebidas, sendo uma a partir de 1% de chá verde (KV), que serviu como um controle de kombucha tradicional, e a outra 1% de cáscara (KC) da espécie *Coffea arabica* L. Ambas bebidas foram adicionadas de sacarose (5% m/v), SCOBY (5% m/v) e fermentado anterior (10% v/v) e submetidas a dez dias de fermentação à temperatura controlada de 25±2°C. **Resultados:** No décimo dia, verificou-se que os novos SCOBYs obtidos a partir de KV e KC apresentaram massas de 26,71±1,88g e 27,00g±2,69g, respectivamente. Desse modo, observou-se que o rendimento foi próximo ao dobro do SCOBY mãe (15g), demonstrando que a cultura apresentou um desempenho satisfatório no novo substrato analisado. Já em relação aos sólidos solúveis, KV e KC apresentaram teores de sólidos solúveis de 4,63 ± 0,38 e 4,40 ± 0,26 °Brix, respectivamente. Ambas as bebidas apresentaram redução nesse parâmetro nos três primeiros dias, seguida de estabilização a partir do sexto dia, sugerindo maior consumo de fontes de açúcares pelos microrganismos do SCOBY nos primeiros dias de fermentação. **Conclusão:** Esses resultados evidenciam que o substrato alternativo investigado proporcionou condições adequadas para o crescimento das bactérias e leveduras presentes no SCOBY inicial, resultando em um aumento significativo na massa dos novos SCOBYs produzidos e expressiva atividade metabólica. Agradecimentos: Capes, CNPq e Faperj pelo apoio financeiro.

Palavras-chave: SCOBY; celulose bacteriana; bebida fermentada.

Resumo 4

INFUSÃO DE CÁSCARA DE CAFÉ FERMENTADA COM CULTURA DE KOMBUCHA: AVALIAÇÃO DA ACIDEZ E ESTIMATIVA DO TEOR ALCOÓLICO

Rayssa Neves Alves¹; Fernanda dos Santos Ferreira²; Mariana Moysés Delorme³; Thais Matsue Uekane⁴; Adriene Ribeiro Lima⁴

¹Estudante do Curso de Farmácia/Universidade Federal Fluminense - UFF.

²Estudante do Curso de Nutrição /Universidade Federal Fluminense - UFF.

³Doutoranda do PPG-CAPS/Faculdade de Farmácia - UFF

⁴Docente/pesquisadora do Departamento de Bromatologia/Faculdade de Farmácia - UFF.

Introdução: A conscientização sobre hábitos alimentares tem levado a um aumento na procura por alimentos considerados mais saudáveis e funcionais. Neste contexto, a kombucha vem se destacando, por ser um produto com diversos benefícios à saúde relatados em literatura. Kombucha é uma bebida fermentada, feita a partir de chá adoçado fermentado por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, conhecida como SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeast*). Segundo o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da kombucha, é obrigatório o uso de *Camellia sinensis* associada ou não a outros substratos para produção dessa bebida. **Objetivo:** Utilizar um subproduto do processamento de café arábica (cáscara) como proposta de um novo substrato alternativo na elaboração de kombucha e realizar a avaliação físico-química. **Métodos:** Foram elaboradas duas bebidas, sendo uma a partir de 1% de chá verde (*C. sinensis*) (KV), que serviu como um controle de kombucha tradicional, e uma utilizando 1% de cáscara (KC) da espécie *Coffea arábica* L. Ambas bebidas foram adicionadas de sacarose (5% m/v), SCOBY (5% m/v) e fermentado anterior (10% v/v) e submetidas a dez dias de fermentação à temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram realizadas análises de pH, acidez titulável em ácido acético e estimativa do teor alcoólico. **Resultados:** No décimo dia de fermentação, KC apresentou um pH de $2,51 \pm 0,01$, enquanto KV obteve um valor de $2,67 \pm 0,02$. Quanto à acidez em ácido acético, a KC registrou uma taxa de $1,52 \pm 0,01\%$ m/v, significativamente inferior aos $1,96 \pm 0,03\%$ m/v encontrados na KV. Em relação ao teor alcoólico, KC e KV exibiram teores de $0,30 \pm 0,16\%$ e $0,29 \pm 0,30\%$, respectivamente. Ambas as bebidas estão em conformidade com os padrões estabelecidos para pH (2,5 a 4,2) e teor alcoólico (até 0,5%), conforme o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para kombucha não alcoólica. **Conclusão:** A utilização da cáscara como um substrato alternativo a *C. sinensis* na produção de kombucha demonstrou ser uma opção viável. Sendo assim, a cáscara se revela um subproduto promissor e sustentável para a elaboração de bebidas fermentadas. Agradecimentos: Capes, CNPq e Faperj pelo apoio financeiro.

Palavras-chave: bebida fermentada; cultura simbiótica; substrato alternativo

Capítulo 09

DOI: 10.53934/IISEMICRO-09

UTILIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DECAFÉ ARÁBICA NA ELABORAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS: UMA REVISÃO

Mariana Moysés Delorme *; Fernanda dos Santos Ferreira ;
Rayssa Neves Alves ;
Thais Matsue Uekane ; Adriene Ribeiro Lima 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: marianadelorme@id.uff.br

Resumo:

O café é um produto agrícola de importância econômica mundial, sendo o Brasil o maior produtor e exportador do mundo. *Coffea arabica* L. (arábica) é a espécie mais comercializada. Durante o processamento dos frutos de café para obtenção dos grãos, são gerados subprodutos em grandes volumes. As etapas de processamento podem ser realizadas pelas vias úmida, semiseca ou seca e, mais de 50% do fruto não é aproveitado para a produção do café comercializado. Os subprodutos representam uma importante fonte de compostos bioativos, além de possuírem uma quantidade significativa de açúcares fermentescíveis, o que os tornam potenciais substratos para microrganismos fermentadores. O mercado dispõe de consumidores que buscam cada vez mais alimentos que sejam considerados funcionais, saudáveis e naturais. Neste contexto, estudos relacionados a novos substratos que possam contribuir para a elaboração de produtos fermentados tornam-se extremamente relevantes, sendo a utilização de subprodutos do processamento do café uma abordagem promissora na área de pesquisa e inovação em alimentos. Objetivou-se com o presente trabalho elaborar uma revisão de literatura acerca do tema, baseada em buscas eletrônicas por meio de consulta em bases de dados como PubMed, SciELO e Science Direct. Concluiu-se que a utilização dos subprodutos na indústria alimentícia é promissora e representa importante papel para o setor de produtos fermentados. A utilização de subprodutos do processamento de café arábica já foi descrita na elaboração de alguns produtos fermentados como pão, iogurte e kombucha. Ainda são necessários estudos acerca da segurança, possíveis utilizações e aspectos regulatórios para que seja viável a comercialização deste subproduto como novo ingrediente alimentar.

Palavras-chave: cáscara de café; iogurte; kombucha.

Abstract

Coffee is an agricultural product of global economic importance, with Brazil being the largest producer and exporter in the world. *Coffea arabica* L. (arabica) is the most widely traded species. During the processing of coffee fruits to obtain the beans, by-products are generated in large volumes. The processing steps can be carried out by wet, semi-dry or dry ways, and over 50% of the fruit is not used to produce commercialized coffee. By-products are an excellent source of bioactive compounds, in addition to having a significant number of fermentable sugars, which makes them potential substrates for fermenting microorganisms. Currently, consumers are increasingly looking for foods that are considered functional, healthy and natural. In this context, studies on new substrates that can contribute to the development of fermented products becomes extremely relevant, with the use of coffee by-products being a promising approach in the area of research and innovation in food. The objective of this work was to elaborate a literature review on the subject, based on electronic searches through databases such as /PubMed, SciELO and Science Direct. It was concluded that the use of by-products in the food industry is promising and represents an important role for the fermented products sector. The use of arabica coffee by-products has already been described in the preparation of some fermented products such as bread, yogurt and kombucha. Studies are still needed on safety, possible uses, and regulatory aspects to make commercialization as a new food ingredient is viable.

Keywords: cascara; yogurt; kombucha.

INTRODUÇÃO

A planta de café pertence ao gênero *Coffea*, sendo *Coffea arabica* a espécie mais cultivada e comercializada no mundo (1). O café é um produto agrícola produzido e exportado amplamente no Brasil, representando grande importância econômica, sendo este o maior país produtor e exportador de café a nível mundial (2). O processamento do fruto do café para obtenção dos grãos é um procedimento complexo que resulta na geração de diferentes subprodutos, sendo preocupante o fato de que mais de 50% deste fruto não é aproveitado na produção do grão de café comercializado (3).

Conforme representado na Figura 1, os frutos do café são constituídos pela pele/casca (exocarpo), polpa/mucilagem (mesocarpo), pergaminho (endocarpo) e grão (endosperma)(4).

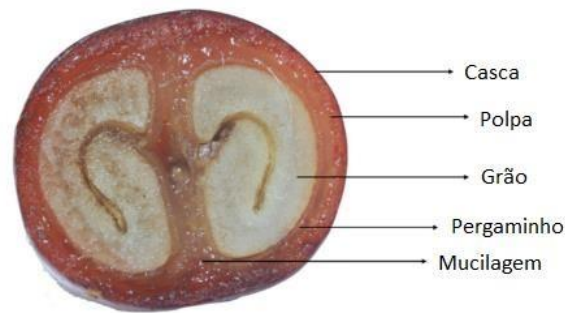


Figura 1 - Corte transversal do fruto do café *Coffea arabica* (4).

Estes subprodutos podem ser usados na geração de energia em caldeiras para secadores mecânicos, além de serem empregados como fertilizantes e como fonte de matéria-prima para a indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética (4). Os subprodutos do café têm sido propostos como potencial fonte sustentável de compostos bioativos, além de macro e micronutrientes. Constituem uma fonte de fitoquímicos como cafeína, ácido clorogênico, procianidina e outros compostos polifenólicos, além de apresentarem alto teor de fibras, compostos antioxidantes e carboidratos fermentescíveis (5-6).

Os subprodutos oriundos da produção de café destacam-se como possíveis substratos a serem utilizados na elaboração de produtos fermentados, uma vez que eles possuem compostos bioativos e açúcares fermentescíveis, o que possivelmente os tornam substratos apropriados para o cultivo de microrganismos fermentadores.

Os consumidores buscam cada vez mais alimentos que sejam considerados funcionais, saudáveis e naturais (7), com destaque para o setor de bebidas fermentadas, que está em plena expansão (8). Sendo assim, o aproveitamento destes subprodutos na indústria alimentícia representa potencial econômico bastante promissor.

Esse trabalho objetivou realizar um levantamento bibliográfico acerca da utilização dos subprodutos do processamento do café como ingredientes na elaboração de produtos fermentados, visando fornecer informações atualizadas que possam estimular o desenvolvimento de novas tecnologias e aplicações, contribuindo para uma gestão mais sustentável e eficiente na indústria alimentícia.

MÉTODO

O presente trabalho consiste em uma revisão narrativa, que aborda a utilização dos subprodutos do café na elaboração de produtos fermentados. Foram utilizados diferentes termos de busca, como "subprodutos do café", "cáscara de café", "produtos fermentados e subprodutos do café", "iogurte e subprodutos do café", "kombucha e subprodutos do café", "coffee by-products", "fermented products and coffee by-products", "yogurt and coffee by-products", e "kombucha and coffee by-products" para direcionar a pesquisa e garantir a abrangência dos resultados.

Foram realizadas buscas eletrônicas na literatura, por meio de consulta em bases de dados como PubMed, SciELO e Science Direct. Foram selecionados estudos realizados no período de 2012 a 2022, nas línguas inglesa e portuguesa.

Foram excluídos do estudo os artigos que não atingiram o escopo do trabalho. Um quantitativo de 19.857 artigos que abrangeram os termos de busca foi encontrado, sendo estes: 172 (PubMed), 68 (SciELO) e 19.617 (Science Direct). Em seguida, foram avaliados os títulos dos artigos para refinamento da busca e direcionamento ao escopo do trabalho, em que foram selecionados 3 artigos que atendiam aos critérios de seleção.

REVISÃO DE LITERATURA

Segurança e potencial uso de novos ingredientes alimentícios

Conforme estabelecido pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), uma das principais prioridades é a redução do desperdício de alimentos, com o objetivo de otimizar os benefícios para o meio ambiente, a sociedade e a economia. Nesse contexto, é fundamental assegurar a segurança dos alimentos provenientes dos subprodutos do café, os quais têm potencial para serem utilizados como novos ingredientes destinados ao consumo em larga escala pela população em geral. Para garantir a segurança de alimentos é necessário realizar análises abrangentes e minuciosas com o intuito de identificar e avaliar a presença de compostos potencialmente prejudiciais, que possam estar presentes nesses subprodutos. Essa análise de compostos é essencial para garantir a qualidade dos alimentos e proteger a saúde dos consumidores (9).

Subprodutos do processamento de café

Após a colheita dos frutos de café maduros, estes podem passar por três formas de processamento distintas, sendo elas: via seca, via úmida e via semiúmida ou semisseca. No processo por via seca, os grãos de café são secos íntegros e só após a secagem seguem para a etapa de descascamento. A casca, a polpa, a mucilagem, o pergaminho e partes da película prateada são removidos durante o descasque (6). No processo semiúmido ou semisseco, os frutos de café maduros são submetidos à remoção mecânica da casca enquanto estão em contato com água e por meio de equipamentos de desintegração. Os grãos descascados, mas ainda contendo o mesocarpo são submetidos à secagem. Além destas etapas, na via úmida ocorrerá, a remoção do mesocarpo (mucilagem), que se dará mecanicamente com o auxílio de um despulpador ou por fermentação controlada empregando a biota natural (10).

Os grãos de café ao serem submetidos às vias de processamento, são colhidos espalhados uniformemente e secos por 2 a 4 semanas ao sol até que a umidade fique abaixo de 12%. Em seguida, os grãos são mecanicamente removidos das cascas secas. As cascas restantes são compostas de pele, polpa, pergaminho, mucilagem e parte da casca, sendo chamadas também de cáscara, conforme a Figura 2 (9-10).

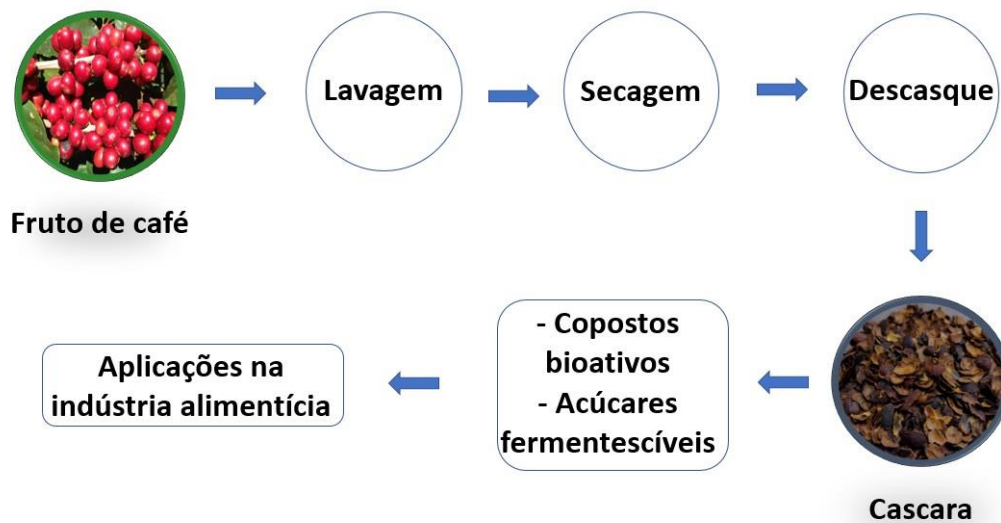


Figura 2. Obtenção de cáscara de café por processamento via seca. Fonte: arquivo pessoal.

Estes subprodutos são frequentemente utilizados na geração de energia em caldeiras para secadores mecânicos e como fertilizantes e, além disso, vêm sendo avaliados como possíveis fontes de matéria-prima para a indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética (10).

Produtos fermentados

A fermentação de alimentos pode ocorrer de duas formas, sendo elas: aeróbica ou anaeróbica. Durante a fermentação, os microrganismos quebram os carboidratos fermentescíveis em produtos finais, como ácidos orgânicos, dióxido de carbono e álcool, bem como metabólitos antimicrobianos, como bacteriocinas, que contribuem com o aumento da segurança do alimento (11).

Antigamente, a fermentação era utilizada visando a preservação de alimentos, aumento da vida útil e melhora no sabor. No entanto, os alimentos fermentados tornaram-se uma parte importante da dieta em muitas culturas e, ao longo do tempo, a fermentação tem sido associada a diversos benefícios para a saúde. Os potenciais benefícios para a saúde proporcionados pelos alimentos fermentados incluem redução no risco de hipertensão, diabetes, obesidade, colesterol alto, diarreia, trombose, dentre outros. Os compostos bioativos formados durante o processo de fermentação estão relacionados a estes benefícios. Por conta disso, o processo de fermentação e os produtos fermentados

resultantes têm recentemente recebido atenção por parte do mercado consumidor e despertado interesse científico (12).

Uma grande variedade de alimentos pode ser fermentada, sendo eles de origem animal ou vegetal. Por exemplo, alimentos e bebidas fermentados de origem animal incluem os produtos lácteos, como leites fermentados e iogurte, de origem vegetal

incluem as bebidas vegetais como a kombucha e pães (13).

Aproveitamento dos subprodutos do processamento de café na elaboração de produtos fermentados

Os subprodutos do processamento de café constituem uma fonte de fitoquímicos como cafeína, ácidos clorogênicos, procianidina e outros compostos polifenólicos, além de apresentarem alto teor de fibras, compostos antioxidantes e carboidratos fermentescíveis (6). Sendo assim, o aproveitamento destes subprodutos na indústria alimentícia representa potencial econômico bastante promissor, além de constituir uma alternativa sustentável. Já foi descrita a utilização de subprodutos do café na elaboração de pães sem glúten, na elaboração de bebida fermentada denominada kombucha cáscara e no produto lácteo iogurte (15-16-10).

A utilização de subprodutos da indústria cafeeira como ingredientes funcionais representa uma abordagem promissora na área de pesquisa e inovação em alimentos.

Os subprodutos do café vêm sendo utilizados de diferentes formas na área de alimentos, conforme pode ser evidenciado na Tabela 1:

Tabela 1: Utilizações potenciais dos subprodutos do café na indústria alimentícia.

Subproduto	Utilização	Avaliação	Fonte
Cáscara	Pães sem glúten	Propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais	15
Cáscara	Kombucha	pH, teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e análise sensorial	16
Cáscara	Iogurtes	pH, acidez titulável, textura e sinérese, além da análise sensorial e teste de avaliação nutricional.	10

A kombucha é uma bebida fermentada originada na Ásia e elaborada a partir de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, chamada de SCOBY (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) (17-18). Esta bebida vem ganhando popularidade em todo o mundo e tem se destacado pelos relatados benefícios à saúde (19). Tradicionalmente, é obtida pela fermentação do chá de *Camellia sinensis*, no entanto, outros substratos adicionados ao chá de *C. sinensis* também já foram relatados na produção de kombucha, como por exemplo a cáscara de café (19-20-21).

Uma nova utilização dos subprodutos do processamento de café foi descrita por Muzaifa e colaboradores (2021), que pode agregar valor à cáscara, por meio da utilização de bactérias e leveduras ou 'SCOBY' que permite o processo de fermentação. Como resultado, foi elaborada uma bebida funcional com efeito benéfico à saúde, chamada de

kombucha cáscara. A faixa de pH ficou compreendida entre 2,63-3,10, teor de compostos fenólicos totais (CFT) entre 64,00-105,20 mg GAE/ml e atividade antioxidante (AA) entre 25,78-51,69%. Ambos os fatores, período de fermentação e concentração da cultura microbiana mostraram ter um efeito significativo em sua qualidade. No entanto, ao longo da fermentação houve uma diminuição nos valores de pH, CFT e AA. Aos 12 dias de fermentação com 5% de adição de starter foi relatado o melhor resultado do teste sensorial. Os autores recomendam que novas pesquisas se concentrem na análise de compostos bioativos e voláteis contidos na kombucha cáscara. Além disso, seu potencial comercial deve ser avaliado, bem como comparado com bebidas comerciais (20).

Os leites fermentados mais comumente produzidos são iogurte, creme fermentado, leitelho e kefir, sendo o iogurte o produto mais amplamente consumido, e geralmente definido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como “um produto lácteo fermentado a partir do cultivo das bactérias *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii. bulgaricus* (21).

Iriondo-Dehond e colaboradores propuseram o desenvolvimento de iogurtes funcionais sem adição de açúcares, utilizando cáscara de café e inulina como ingredientes. As amostras de iogurte foram submetidas a análises de pH, acidez titulável, textura e sinérese, além da análise sensorial e teste de avaliação nutricional, visando avaliar os efeitos no controle do apetite e na tolerância gastrointestinal dos consumidores. Em conclusão ao trabalho, foi elaborada uma nova formulação de iogurte contendo extrato aquoso de cáscara de café (10 mg/mL) e 3% de inulina, foi bem tolerada e aceita sensorialmente pelos consumidores, além de conter a alegação nutricional “fonte de fibra alimentar”. Dessa forma, este estudo preliminar ressalta a importância de adotar uma abordagem multidisciplinar no desenvolvimento de alimentos funcionais (10).

A cáscara de café também tem sido utilizada na elaboração de pães sem glúten, incorporando fibra dietética isolada de cáscara de café (ICCDF) como ingrediente alimentar, que é obtida por meio de extração aquosa. O trabalho de Bobková e colaboradores (2022) teve como objetivo avaliar as propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais desses pães. Foi descrito um teor significativamente maior ($p < 0,05$) de fibra alimentar e proteína no pão com ICCDF comparado ao pão controle. Além disso, a adição de ICCDF permitiu aumentar o rendimento da massa, menor firmeza e maior elasticidade do miolo, características estas que são desejáveis em pães. As alegações nutricionais “fonte de proteína” e “alto teor de fibras alimentares” foram atribuídas a estas novas formulações. Concluiu-se que o uso do ICCDF representa uma nova oportunidade para o desenvolvimento de produtos, como a elaboração de um pão sem glúten, com melhorias nas propriedades nutricionais e físico-químicas, além de um perfil sensorial satisfatório. Sendo assim, a validação do ICCDF como um ingrediente de

valor agregado pode desempenhar um papel importante no aumento da sustentabilidade e diversificação de produtos oriundos do setor cafeeiro (14).

Aspectos Regulatórios

A infusão de cáscara de café tornou-se uma bebida popular comercializada por diferentes empresas. Esta bebida, conhecida como “*Cascara tea*”, vem sendo consumida ao redor do mundo e tem sido estudada como substrato alternativo na elaboração de bebidas fermentadas como a kombucha (16-19).

A cáscara de café é um alimento oficialmente autorizado para consumo nos Estados Unidos da América, e tornou-se um ingrediente popular na indústria de bebidas americana. Na Europa, é considerado um novo alimento, devendo seguir o Regulamento (UE) 2015/2283 para obter a autorização da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) antes de poder ser utilizado em alimentos no mercado europeu. O documento lançado pela EFSA aborda evidências sobre o potencial funcional (propriedades antioxidantes e antidiabéticas) e segurança (experimentos para detecção e quantificação de pesticidas, micotoxinas, acrilamida e avaliação de toxicidade aguda) da cáscara de café como ingrediente alimentar para sua autorização (5). Na União Europeia, o catálogo de novos alimentos regulamenta, portanto, o uso de infusão de cascas secas de *Coffea* spp. (infusão de cereja de café). No entanto, outros subprodutos do café não são mencionados no catálogo de novos alimentos da UE (22).

Visando atender uma solicitação da Comissão Europeia, o Painel de Nutrição, Novos Alimentos e Alergênicos Alimentares (NDA) da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) elaborou um documento de parecer sobre casca de café seca (cáscara) de *Coffea arabica* L. como um novo alimento, de acordo com o Regulamento (UE) 2015/2283. O Painel considera que não há preocupações de segurança quanto à estabilidade, caso sejam respeitados os limites de especificação propostos durante todo o seu prazo de validade. Levando em consideração a natureza da matéria, o histórico de uso como alimento e os usos e níveis de uso propostos, o Painel considera que não são necessários estudos toxicológicos. Além disso, o risco de reações alérgicas é considerado baixo. Dessa forma, o Painel conclui que a casca seca do fruto de *Coffea arabica* L., é segura nas condições propostas de uso (22).

A iniciativa europeia representa um marco importante no que se diz respeito à difusão da comercialização dos subprodutos do processamento de café como novos ingredientes alimentares, e, além disso, destaca-se a utilização promissora destes subprodutos na elaboração de produtos fermentados.

CONCLUSÕES

A população mundial moderna demonstra cada vez mais consciência ecológica, atribuindo grande importância à redução de subprodutos agroindustriais e valorizando o aproveitamento integral dos alimentos. Dessa forma, a incorporação dos subprodutos do processamento do café na cadeia de valor, evitando seu descarte, apresenta um futuro promissor, desde que esses produtos não representem riscos à segurança da saúde dos consumidores e sejam devidamente integrados na cadeia produtiva.

O aproveitamento dos subprodutos do café é essencial não apenas para a cadeia de produção cafeeira, mas também para o desenvolvimento socioeconômico das regiões produtoras. Ao agregar valor à planta do café, esse aproveitamento contribui significativamente para o aumento da prosperidade social e econômica nessas áreas.

Além disso, os subprodutos do café possuem um potencial atrativo para o mercado consumidor, especialmente quando utilizados na produção de produtos fermentados e com valor agregado, como análogos de kombucha, iogurtes e pães. Essas aplicações inovadoras têm o poder de atrair consumidores e impulsionar a economia.

No entanto, é importante ressaltar que ainda são necessários estudos aprofundados sobre a segurança dos subprodutos do café como ingrediente em diversos alimentos, além de investigar suas possíveis utilizações e considerar os aspectos regulatórios. Essa investigação é fundamental para viabilizar a comercialização desses subprodutos como novos ingredientes alimentares, assegurando sua segurança e conformidade com as normas regulatórias.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo Edital ARC-2019- Auxílio ao Pesquisador Recém-contratado processo número E-26/010.002453/2019 e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. ABIC (Associação Brasileira Da Indústria Do Café). Estatísticas. Disponível em: <http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2018/>. Acesso em: 20 mar. 2023.
2. MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-e-o-maior-produtor-mundial-e-o-segundo-maior-consumidor-de-cafe>. Acesso em: 25/05/2023.
3. Muzaifa, M., & Rahmi, F. Utilization of coffee by-products as profitable foods-a mini review. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* **2021** (Vol. 672, No. 1, p. 012077). [Link]
4. Iriondo-DeHond, A., Garcia, N. A., Fernandez-Gomez, B., Guisantes-Batan, E., Escobar, F. V., Blanch, G. P., ... & del Castillo, M. D. Validation of coffee by-products as novel food ingredients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2019**, 51, 194-204. v. 51, p. 194-204. [Link]
5. Iriondo-DeHond, A., Iriondo-DeHond, M., & Del Castillo, M. D. Applications of compounds from coffee processing by-products. *Biomolecules* **2020**, v. 10, n. 9, p. 1219. [Link]
6. Esquivel, Patricia, Victor M. Jimenez. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food research international* **2012**, v. 46, n. 2, p. 488-495. [Link]
7. Kapp, J. M., & Sumner, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of epidemiology* **2019**, 30, 66-70. [Link]
8. CONAKOM – Conferência Nacional de Produtores de Kombucha, 2023. Disponível em: <https://conakom.com.br/?fbclid=PAAaz72CULizjSMtAcfZsknj3lVYbW0OvSpgV1Z-0hdVCyGWHUqzD2oB1PI> Acesso em: 28/06/2023.
9. Iriondo-DeHond, A., Iriondo-DeHond, M., & Del Castillo, M. D. Applications of compounds from coffee processing by-products. *Biomolecules* **2020**, v. 10, n. 9, p. 1219. [Link]
10. Iriondo-DeHond, M., Iriondo-DeHond, A., Herrera, T., Fernández-Fernández, A. M., Sorzano, C. O. S., Miguel, E., & Del Castillo, M. D. Sensory acceptance, appetite control and gastrointestinal tolerance of yogurts containing coffee-cascara extract and inulin. *Nutrients* **2020**, 12(3), 627. [Link]
11. Nout, M. J. R. Food technologies: Fermentation A2 – Motarjemi, Yasmine *Encyclopedia of food safety*, **2014** (pp. 168–177). Waltham: Academic Press. [Link]

12. Şanlıer, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition* **2019**, 59(3), 506-527. [[Link](#)]
13. Tamang, J. P., Cotter, P. D., Endo, A., Han, N. S., Kort, R., Liu, S. Q., ... & Hutkins, R. Fermented foods in a global age: East meets West. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2020**, 19(1), 184-217. [[Link](#)]
14. Bobková, A., Poláková, K., Demianová, A., Belej, L., Bobko, M., Jurčaga, L., ... & Castillo, M. D. D. Comparative analysis of selected chemical parameters of *Coffea arabica*, from cascara to silverskin. *Foods* **2022**, v. 11, n. 8, p. 1082. [[Link](#)]
15. Muzaifa, M., & Rahmi, F. Utilization of coffee by-products as profitable foods—a mini review. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* **2021**, (Vol. 672, No. 1, p. 012077). IOP Publishing. [[Link](#)]
16. Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety* **2014**, 13(4), 538-550. [[Link](#)]
17. Kapp, J. M., & Sumner, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of epidemiology* **2019**, 30, 66-70. [[Link](#)]
18. de Miranda, J. F., Ruiz, L. F., Silva, C. B., Uekane, T. M., Silva, K. A., Gonzalez, A. G. M., ... & Lima, A. R. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal of Food Science* **2022**, 87(2), 503-527. [[Link](#)]
19. Nurhayati, N., Yuwanti, S., & Urbahillah, A. Karakteristik fisikokimia dan sensori kombucha Cascara (kulit kopi ranum). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **2020**, 31(1), 38-49. [[Link](#)]
20. Muzaifa, M., Andini, R., Sulaiman, M. I., Abubakar, Y., & Rahmi, F. Novel utilization of coffee processing by-products: kombucha cascara originated from ‘Gayo-Arabica’. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* **2021**, (Vol. 644, No. 1, p. 012048). [[Link](#)]
21. Savaiano, D. A., & Hutkins, R. W. Yogurt, cultured fermented milk, and health: A systematic review. *Nutrition reviews* **2021**, 79(5), 599-614. [[Link](#)]
22. European Union. *Coffea* sp. Disponível em: <https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-03/novel-food_consult-status_coffee-grounds.pdf>. Acesso em: 21/06/2023.

Capítulo 10

DOI: 10.53934/IISEMICRO-10

MATRIZES VEGETAIS: UMA ALTERNATIVA PARA CARREAR MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Nataly de Almeida Costa *; Maria José do Amaral e Paiva ; Daniele de Almeida Paula ; Jean Victor dos Santos Emiliano ; Vanessa Caroline de Oliveira ; Nicole Marina Almeida Maia ; Érica Nascif Rufino Vieira 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: natalyalmeida20@gmail.com

Resumo: Os alimentos probióticos disponíveis no mercado são em sua maioria de base láctea. Entretanto, devido ao público com intolerância a lactose, alergia a proteína do leite ou adeptas do vegetarianismo, novas matrizes estão sendo investigadas para carrear microrganismos probióticos. Particularmente, as matrizes à base de vegetais são substratos elegíveis para hospedar e distribuir populações microbianas devido à sua riqueza em nutrientes, fibras, vitaminas, minerais e fitoquímicos bioativos dietéticos. A viabilidade de microrganismos probióticos é influenciado pelo alimento transportador e seus componentes funcionais que, enquanto tamponam o probiótico através do trato gastrointestinal, contribuem para uma implantação eficiente de células bacterianas e regulam as características probióticas. Os dados disponíveis indicam que as propriedades intrínsecas de promoção da saúde de diversas matrizes vegetais podem ser exploradas e melhoradas com sucesso, desenvolvendo uma associação efetiva com probióticos, cuja atividade benéfica pode, por sua vez, ser melhorada e modulada por componentes do carreador vegetal. Com isso, a presente revisão evidencia o importante papel que a matriz vegetal representa para carrear microrganismo probióticos possibilitando o desenvolvimento de diferentes produtos vegetais funcionais.

Palavras-chave: alimento funcional; composição; frutas; saudabilidade

Abstract: The probiotic foods available on the market are mostly dairy-based. However, due to the public with lactose intolerance, allergies to milk protein or vegetarianism supporters, new matrices are being investigated to carry probiotic microorganisms. Particularly, vegetable-based matrices are eligible substrates to host and distribute microbials due to their richness in nutrients, fibers, vitamins, minerals and dietary bioactive phytochemicals. The viability of probiotic microorganisms is influenced by the food transporter and its surviving components which, while buffering the probiotic through the gastrointestinal tract, create for efficient implantation of bacterial cells and regulate probiotic traits. Available data show that the intrinsic health-promoting properties of various plant matrices can be successfully explored and improved by developing an effective association with probiotics, whose rewarded activity can, in turn, be enhanced and modulated by plant carrier components. Thus, the present review highlights the important role that the plant matrix plays in carrying probiotic microorganisms, allowing the development of different healthy plant products.

Keywords: functional food; composition; fruits; healthiness

INTRODUÇÃO

A preferência por produtos mais saudáveis e práticos ocasionou uma crescente demanda dos consumidores por alimentos capazes de proporcionar benefícios à saúde, prontos para o consumo e com características sensoriais agradáveis. Essa demanda impulsionou o desenvolvimento de novos produtos com apelo funcional que podem contribuir com a saúde e com o bem-estar do consumidor.

Os alimentos funcionais, além de proporcionarem a nutrição básica, possuem componentes bioativos, como por exemplo, a fibra alimentar e compostos com capacidade antioxidante. Um dos grandes segmentos destes alimentos funcionais compreende aqueles que contêm probióticos, prebióticos e simbióticos. Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (1). Esses microrganismos são empregados devido ao seu papel contra a invasão de patógenos intestinais, manutenção do equilíbrio e composição da microbiota intestinal. Já os prebióticos são ingredientes alimentares, não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro ao estimular o crescimento e/ou atividade de bactérias no cólon (2). A associação de prebióticos e probióticos origina o produto simbiótico.

As características que a matriz alimentar na qual os microrganismos probióticos serão adicionados, assim como, as etapas de processamento e as condições de armazenamento afetam a sua suscetibilidade a condições gastrointestinais como acidez, presença de bile e enzimas, bem como a sua funcionalidade no corpo (3).

Os alimentos probióticos mais encontrados são os de base láctea que carregam com sucesso estirpes específicas de bactérias probióticas em iogurtes, queijos, sobremesas e sorvetes (4,5). O mercado de sobremesas prontas para o consumo tem apresentado um crescimento significativo nos últimos anos, principalmente de sobremesas que apresentam formulações contendo bactérias benéficas à saúde. Além disso, na última década, houve um aumento na demanda por produtos não lácteos devido ao crescente número de veganos, intolerantes à lactose e alérgicos à caseína (6).

No entanto, devido ao crescente vegetarianismo, intolerância à lactose e alergia a proteínas do leite, novas matrizes de alimentos têm sido estudadas para a adição de microrganismos probióticos, e dentre elas, as matrizes vegetais apresentam características favoráveis ao seu desenvolvimento. Os vegetais como as frutas, tubérculos e suas combinações, oferecem amplas possibilidades para o desenvolvimento de alimentos funcionais, pois apresentam nutrientes que são facilmente assimilados por bactérias probióticas.

Dentre as diferentes opções, a matriz vegetal tem apresentado resultados satisfatórios para veicular microrganismos probióticos (7, 8, 9). Os produtos de origem vegetal apresentam características favoráveis ao desenvolvimento de produtos probióticos, podendo, portanto, ser considerados como uma nova possibilidade de aplicação dessas bactérias (10). Algumas características dos vegetais como a presença de minerais, vitaminas, fibras alimentares e antioxidantes em sua composição torna-os alternativas promissoras para adição desses microrganismos (11).

Dessa forma, a presente revisão bibliográfica teve como objetivo evidenciar a importância dos alimentos funcionais, as principais características da matriz vegetal para veicular esses microrganismos probióticos, os principais desafios encontrados e as alternativas necessárias para manter a estabilidade e sobrevivência dos probióticos.

ALIMENTOS FUNCIONAIS

O termo alimento funcional foi introduzido em 1980 no Japão, sendo o primeiro país a declarar um processo específico de aprovação regulatória para alimentos funcionais, conhecido como “Foods for Specified Health Use” (FOSHU) (12). Uma das definições mais aceitas por sua completude descreve o alimento funcional como sendo aquele capaz de produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e benéficos à saúde, além da nutrição básica devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica e fazer parte de uma dieta regular (13).

Um alimento funcional consiste em compostos biologicamente e fisiologicamente ativos, que fornecem benefícios à saúde além das capacidades nutricionais básicas (14). Esses alimentos fazem parte da dieta e são reconhecidos por fornecerem benefícios à saúde do consumidor diminuindo os riscos de doenças. Destacam-se por contribuir com a reestruturação e com a manutenção da microbiota intestinal auxiliando no funcionamento e desenvolvimento de uma fisiologia corporal adequada (15). A crescente procura por produtos funcionais iniciou-se devido ao aumento da sua ingestão em todo o mundo devido a conscientização dos consumidores em relação à dieta e saúde. Esses alimentos vão além da nutrição básica, pois oferecem benefícios ao organismo e podem reduzir o risco de certas doenças (16, 17).

O alimento funcional pode ser composto por um macronutriente detentor de efeitos fisiológicos específicos, um micronutriente essencial, consumido acima da sua recomendação diária, ou um componente que, apesar de algum valor nutritivo, não é essencial (por exemplo, alguns oligossacarídeos), ou até mesmo de nenhum valor nutritivo (por exemplo, microrganismos vivos) (18).

Desta forma, a conscientização por parte dos consumidores de que os produtos alimentícios contribuem diretamente com a saúde, impulsionou o desenvolvimento da indústria de alimentos. Assim, o mercado vem apresentando uma gama crescente de alimentos que, além de satisfazer o consumidor e fornecer os nutrientes necessários para o organismo, possuem a capacidade de reduzir o risco do desenvolvimento de doenças e melhorar o bem-estar físico e mental. Diante dessas novas demandas, inovar e reformular os produtos com o objetivo de melhorar a sua funcionalidade fisiológica torna-se uma prioridade.

PROBIÓTICOS EM MATRIZES VEGETAIS

De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations e World Health Organization (19), os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Dentre as várias funções dos alimentos com adição de probióticos, destacam-se a capacidade de prevenir infecções intestinais, diminuir o nível de colesterol, melhorar o

sistema imunológico, auxiliar no metabolismo da lactose, contribuir com a absorção de cálcio e vitaminas, e neutralizar os efeitos de microrganismos patogênicos (20).

Os probióticos têm sido utilizados pela indústria há décadas (1) e dentre os microrganismos probióticos adicionados aos alimentos, os mais comuns comercialmente disponíveis, pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Para adição em alimentos, no grupo de bactérias lácticas encontra-se várias cepas potencialmente probióticas e estirpes comprovadamente benéficas dentre elas *Lactobacillus acidophilus* LA-14, *Lactobacillus casei* Lc-11 e *Bifidobacterium lactis* BL-04 (10).

Os microrganismos para serem incorporados aos alimentos e proporcionar benefícios ao organismo, devem manter sua viabilidade durante a passagem pelo trato gastrointestinal humano e alcançar o cólon (21). A sobrevivência desses microrganismos pode ser afetada pela exposição a condições tecnológicas como temperatura elevadas durante o tratamento térmico, condições de armazenamento, condições do trato gastrointestinal como baixo pH do estômago, secreções biliares e suco pancreático excretados na região duodenal (22), além da baixa tolerância a características intrínsecas dos alimentos, como acidez, concentração de sólidos e concentração de oxigênio (23).

Portanto, os gêneros de bactérias lácticas utilizados para adição em vegetais como *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. e *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* e *Enterococcus*, para promover benefícios à saúde humana devem conter no produto final o mínimo de células probióticas entre 10^6 e 10^7 UFC/mL ou g de produto, porém em quantidades menores os microrganismos probióticos podem conferir benefícios à saúde do hospedeiro, desde que comprovado cientificamente (19). Sendo assim, é necessário que as culturas probióticas sobrevivam ao trato gastrointestinal chegando até o cólon, onde irão colonizar o epitélio intestinal (24, 25).

Devido à busca dos consumidores por uma alimentação equilibrada nota-se um aumento na procura por alimentos com a capacidade de proporcionar benefícios metabólicos, fisiológicos e de saúde. Tradicionalmente, os alimentos probióticos comercializados são lácteos. Porém, outras matrizes vêm sendo avaliadas como alternativa para veicular microrganismos probióticos e, assim, atender aos consumidores intolerantes à lactose, alérgicos as proteínas do leite ou com hábitos alimentares como o veganismo (26, 27). Assim, o desenvolvimento de produtos não lácteos com adição de microrganismos probióticos está se expandindo e, dentre os estudos realizados, a matriz vegetal demonstrou resultados satisfatórios.

Segundo Martins et al. (10), os produtos de origem vegetal apresentam características favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos probióticos e, assim, podem ser considerados como uma nova possibilidade para o emprego dessas bactérias. Eles são uma alternativa promissora devido à presença de fibras, minerais e compostos bioativos como as vitaminas, antioxidantes, carotenoides, flavonoides e outros componentes, as frutas e hortaliças promovem benefícios à saúde humana, prevenindo várias doenças, como diabetes, cardiopatias, demência, declínio cognitivo, obesidade, acidente vascular cerebral e alguns tipos de câncer (28).

Além disso, a estrutura do tecido vegetal favorece a alocação e sobrevivência dos microrganismos probióticos devido ao entrelaçamento das células, espaços intercelulares, poros e capilares. Essas características do tecido vegetal o tornam local apropriado para a adesão de células dos microrganismos pois representam uma proteção contra fatores externos como temperatura, acidez, motilidade intestinal e agitação (10). As

microestruturas facilitam a sobrevivência dos microrganismos probióticos pois, eles conseguem aderir à epiderme por pequenos agregados de material amorfo ou simplesmente formar aglomerados na superfície cujo revestimento por ceras epicuticulares facilitam a alocação e adesão destes microrganismos (29).

Entretanto, a viabilidade e estabilidade das culturas probióticas quando adicionadas a matrizes vegetais depende de algumas características da matriz como pH, presença de compostos antimicrobianos e composição nutricional, de fatores ambientais, como nível de oxigênio e temperatura, assim como das etapas de processamento do alimento e suas condições de armazenamento (26, 30).

Estudos recentes sobre a utilização de matrizes vegetais para veiculação de microrganismos probióticos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Estudos recentes sobre a utilização de vegetais como matrizes de microrganismos probióticos.

Matriz Alimentar	Produto alimentício	Microrganismo utilizado	Referência
Laranja	Suco	<i>L. paracasei</i>	(31)
Tubérculos (batata)	Purê	<i>Lactobacillus brevis</i>	(32)
Cenoura e Goiaba	Revestimento comestível em minimamente processado	<i>L. acidophilus</i> <i>L. plantarum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>	(33)
Maçã	Fruta desidratada	<i>L. plantarum</i>	(34)
Soja	Bebida simbiótica	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bb-12</i>)	(35)
Abacaxi, banana, goiaba, maçã, mamão e manga	Salada de frutas	<i>L. acidophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	(36)
Abóbora	Bebida	<i>Lactobacillus mali</i>	(37)
Inhame, manga Ubá,	Sobremesa	<i>L. plantarum</i>	(26)
Maçã	Fatias desidratadas	<i>L. casei</i>	(38)
Juçara e maracujá	Balas	<i>Bacillus coagulans</i> GBI-30 6086	(39)
Manga	Snacks	<i>L. plantarum</i> CIDCA 83114	(40)

ALTERNATIVAS PARA MANTER A VIABILIDADE DOS PROBIÓTICOS

No desenvolvimento de alimentos probióticos, etapas como a formulação, o processamento e o armazenamento dos produtos são fatores que influenciam diretamente na sobrevivência e estabilidade dos microrganismos probióticos. Dessa forma, algumas alternativas são necessárias para proteger as células contra fatores de estresse externos, mantendo a viabilidade das culturas tem sido cada vez mais estudadas, como a adição de prebióticos e a técnica de microencapsulação.

A *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP) define prebiótico como “um substrato que é usado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem benefícios à saúde” (41) devido a alterações desejáveis na composição e na atividade da microbiota gastrointestinal (42). Além disso, o valor nutricional e a possibilidade de melhorar as características sensoriais como sabor e textura dos produtos, tornam vantajosa a sua adição na elaboração dos alimentos (43).

Os produtos que contêm prebióticos compreendem grande parte dos alimentos funcionais e entre os estudos mais recentes encontram-se sobremesas lácteas (43, 44), requeijão cremoso (45), bebidas à base de soro (46), sucos de frutas (47), chocolates (48), pães (49) e produtos cárneos (50). Para a incorporação de prebióticos em produtos alimentícios, estes devem permanecer estáveis durante as etapas de processamento, principalmente quando submetidos a elevadas temperaturas e baixo pH, a fim de diminuir possíveis alterações nas propriedades sensoriais do produto e atingir o cólon de forma intacta (51).

Um dos grandes segmentos de produtos funcionais no mercado compreende aqueles que contêm probióticos, prebióticos e simbióticos. O termo simbiótico refere-se ao efeito sinérgico entre os ingredientes prebióticos e os microrganismos probióticos (52, 53) proporcionando mais benefícios para a saúde do consumidor (54). A interação entre eles contribui para a adaptação do probiótico, aumentando a sua sobrevivência durante a passagem no trato gastrointestinal, e conseqüentemente, favorecendo sua funcionalidade no organismo (54, 55, 56).

Dentre os diversos prebióticos, na indústria de alimentos, os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina são amplamente utilizados (45) e estão naturalmente presentes em uma grande diversidade de plantas na forma de carboidratos de armazenamento, sendo obtidos industrialmente a partir de chicória e alcachofra de Jerusalém (49).

Os frutooligossacarídeos (FOS) são considerados como “adoçantes funcionais” devido a capacidade de proporcionar benefícios à saúde (57). Apesar dos FOS não serem absorvidos no intestino delgado humano, eles contribuem com o organismo, pois promovem a multiplicação de bactérias benéficas, reduzem os microrganismos patogênicos e regulam os níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos (58).

A inulina consiste em um polissacarídeo linear não digerível que atua como fibra, uma vez que o sistema digestivo humano não consegue realizar a quebra desse polissacarídeo, dessa forma, atinge o intestino grosso onde pode ser fermentado pela microbiota presente. Além de atuar como prebiótico no organismo humano, frutanos do tipo inulina podem ser empregados como modificadores de textura e substitutos de gordura (44). De acordo com essas propriedades, estudos foram desenvolvidos utilizando inulina em alimentos como sorvetes (59) e pães (60).

A técnica de microencapsulação consiste em uma estratégia amplamente conhecida por melhorar a proteção física e a estabilidade dos probióticos nos alimentos. Além disso, a indústria de alimentos utiliza a microencapsulação como uma opção capaz de estabilizar os compostos sensíveis adicionados durante as etapas de processamento, sendo uma forma de agregar valor aos seus produtos e se diferenciar no mercado (61).

Diferentes técnicas são abordadas para a microencapsulação de probióticos e podem ser classificadas em três categorias principais: extrusão, emulsão e desidratação (62). Além da técnica utilizada, o tipo de material de parede empregado também influencia na viabilidade do microrganismo probiótico. A grande maioria dos materiais de parede são carboidratos, proteínas ou polissacarídeos de baixo peso molecular (63).

CONCLUSÃO

Com isso, verifica-se que a matriz vegetal representa uma alternativa importante para o desenvolvimento de alimentos funcionais probióticos, sendo um veículo eficiente para entrega desses microrganismos e, assim, diversificar a oferta de produtos com propriedades funcionais no mercado. Além disso, possibilita novas opções de alimentos probióticos capazes de satisfazer o mercado consumidor preocupados com a saúde, atender àqueles que não consomem produtos de base láctea, promover bem estar físico e mental quando consumido regularmente e em quantidades adequadas.

REFERÊNCIAS

1. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2014.
2. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017; 14: 491-502.
3. Terpou A, Papadaki A, Bosnea L, Kanellaki M, Kopsahelis N. Novel frozen yogurt production fortified with sea buckthorn berries and probiotics. *LWT-Food Science and Technology*. 2019; 105:242-249.
4. da Cruz Rodrigues VC, Duque ALRF, de Carvalho Fino L, Simabuco FM, Sartoratto A, Cabral L, Noronha MF, Sivieri K, Antunes AEC. Modulation of the intestinal microbiota and the metabolites produced by the administration of ice cream and a dietary supplement containing the same probiotics. *British Journal of Nutrition*. 2020; 124:57-68.
5. Turkmen N, Akal C, Özer B. Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*. 2019; 53:62-75.

6. Bocker R, Silva EK. Innovative technologies for manufacturing plant-based non-dairy alternative milk and their impact on nutritional, sensory and safety aspects. *Future Foods*.2022;5.
7. Battistini C, Gullón B, Ichimura ES, Gomes AMP, Ribeiro EP, Kunigk L, Moreira JUV, Jurkiewicz C. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018; 49:303-309.
8. Koh WY, Uthumporn U, Rosma A, Irfan AR, Park YH. Optimization of a fermented pumpkin-based beverage to improve *Lactobacillus mali* survival and α -glucosidase inhibitory activity: A response surface methodology approach. *Food Science and Human Wellness*. 2018; 7:57-70.
9. Costa NA, de Almeida Paula D, Brêda JD, Vieira ÉNR, Martins EMF, Ramos AM. A symbiotic dessert composed of yam (*Dioscorea* sp.) and Ubá mango pulp (*Mangifera indica* L.). *LWT-Food Science and Technology*. 2020;133.
10. Martins EMF, Ramos AM, Vanzela ESL, Stringheta PC, de Oliveira Pinto CL, Martins JM. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*. 2013; 51:764-770.
11. Pakbin B, Razavi SH, Mahmoudi R, Gajarbeygi P. Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and health sciences*.2014.
12. Perricone M, Corbo MR, Sinigaglia M, Speranza B, Bevilacqua A. Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices. *Journal of Functional Foods*.2014;10:421-426.
13. Di Bartolomeo F, Startek JB, Van Den Ende, W. Prebiotics to fight diseases: Reality or fiction? *Phytotherapy Research*.2013;27:1457-1473.
14. Ramakrishna R, Sarkar D, Shetty K. Functional bioactives from barley for human health benefits. *Functional foods and biotechnology: sources of functional foods and ingredients*.2019:61-85.
15. Oliveira JL, Almeida C, Bomfim NS. A importância do uso de probióticos na saúde humana. *Unoesc & Ciência-ACBS*.2017;8:7-12.
16. Aboufazli F, Shori AB, Baba AS. Effects of the replacement of cow milk with vegetable milk on probiotics and nutritional profile of fermented ice cream. *LWT-Food Science and Technology*.2016;70:261–270.
17. Santos DI, Saraiva JMA, Vicente AA, Moldão-Martins M. Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and

- nutrients. In Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds.2019:23-54.
18. Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*.2000;71:1660-1664.
 19. FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations, (FAO)/World Health Organization (WHO). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 2001.
 20. Panghal A, Janghu S, Virkar K, Gat Y, Kumar V, Chhikara N. Potencial non-dairy probiotic products-A healthy approach. *Food Bioscience*.2018;21:80-89.
 21. Koh WY, Uthumporn U, Rosma A, Irfan AR, Park Y H. Optimization of a fermented pumpkin-based beverage to improve *Lactobacillus mali* survival and α -glucosidase inhibitory activity: A response surface methodology approach. *Food Science and Human Wellness*.2018;7:57-70.
 22. Terpou A, Papadaki IK, Lappa V, Kachrimanidou LA, Bosnea N, KOPSAHELIS. Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*.2019;11:1591.
 23. Bisson G, Marino M, Poletti D, Innocente N, Maifreni M. Turbidimetric definition of growth limits in probiotic *Lactobacillus strains* from the perspective of an adaptation strategy. *Journal of Dairy Science*.2021;104:12236–12248.
 24. Montanari SR.; Leite Júnior, BRC, Martins ML, Ramos AM, Binoti ML, Campos RCAB, Campos, ANR, Martins, EMF. *In vitro* gastrointestinal digestion of a peanut, soybean, guava and beet beverage supplemented with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Bioscience*.2020;36:100623.
 25. Roobab U, Batool Z, Manzoor MF, Shabbir MA, Khan MR, Aadil RM. Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics. *Current Opinion in Food Science*.2020;32:17–28.
 26. Costa NA, Paula DA, Brêda JD, Vieira ÉNR., Martins EMF, Ramos AM. A symbiotic dessert composed of yam (*Dioscorea* sp.) and Ubá mango pulp (*Mangifera indica* L.). *LWT-Food Science and Technology*.2020;133:110074.
 27. Pimentel TC, Costa WKA, Barão CE, Rosset M, Magnani M. Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. *Food Research International*.2021;140:110033.

28. De Leon A, Jahns L, Casperson SL. Barriers and facilitators to following the dietary guidelines for vegetable intake: Follow-up of an intervention to increase vegetable intake. *Food Quality and Preference*.2020;83:103903.
29. Perpetuini G, Prete R, Garcia-Gonzalez N, Alam MK, Corsetti A. Table Olives More than a Fermented Food. *Foods*.2020;9:1–16.
30. Lillo-Pérez S, Guerra-Valle M, Orellana-Palma P, Petzold G. Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers. *LWT - Food Science and Technology*.2021;151:112106.
31. Pimentel TC, Madrona GS, Garcia S, Prudencio SH. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. *LWT-Food Science Technology*.2015;63:415-422.
32. Mosso AL, Jimenez ME, Vignolo G, Leblanc JG, Samman NC. Increasing the folate content of tuber-based foods using potentially probiotic lactic acid bacteria. *Food Research International*.2018;109:168-174.
33. Rodríguez-Verástegui LL, Martínez-Hernández GB, Castillejo N, Gómez PA, Artés F, Artés-Hernández, F. Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetables smoothies during storage. *Food and Bioprocess Technology*.2016;9:137–146.
34. Emser K, Barbosa J, Teixeira P, Morais AMMB. *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. *Journal of Functional Foods*.2017;38:519-528.
35. Battistini C, Gullónb B, Ichimuraa ES, Gomes AMP, Ribeiro EP, Kunigka L, Moreira JUV, Jurkiewicz C. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*.2018;49:303-309.
36. Martins EMF, Ramos AM, Martins ML, Leite Júnior BRC. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. *Food Science and Technology*.2016;36:540-548.
37. Koh WY, Uthumporn U, Rosma A, Irfan AR, Park YH. Optimization of a fermented pumpkin-based beverage to improve *Lactobacillus mali* survival and α -glucosidase inhibitory activity: A response surface methodology approach. *Food Science and Human Wellness*.2018;7:57-70.
38. Valerio F, Volpe MG, Santagata G, Boscaino F, Barbarisi C, Di Biase M, Bavaro AR, Lonigro SL, Lavermicocca P. The viability of probiotic *Lactobacillus*

- paracasei* IMPC2. 1 coating on apple slices during dehydration and simulated gastro-intestinal digestion. *Food Bioscience*.2020;34:100533.
39. Miranda JS, Costa BV, de Oliveira IV, de Lima DCN, Martins EMF, Júnior BRDCL, Benevenuto WCAN, Queiroz IC, Silva RR, Martins ML. Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. *Lwt*.2020;126:109275.
40. La Cava E, Gerbino E, Sgroppo S, Gomez-Zavaglia A. Baked mango slices coated with *Lactiplantibacillus plantarum* immobilized in pectic extracts. *Applied Food Research*.2022;2:100236.
41. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology*.2017;14:491-502.
42. Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, Wolvers D, Watzl B, Szajewska H, Stahl B. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*.2010;104:1-63.
43. Morais EC, Lima GC, Morais AR, Bolini HMA. Prebiotic and diet/light chocolate dairy dessert: Chemical composition, sensory profiling and relationship with consumer expectation. *LWT- Food Science and Technology*.2015;62:424-430.
44. Furlán LTR, Campderrós ME. The combined effects of Stevia and sucralose as sugar substitute and inulin as fat mimetic on the physicochemical properties of sugar-free reduced-fat dairy dessert. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.2017;10:16-23.
45. Speranza B, Campaniello D, Monacis N, Bevilacqua A, Sinigaglia M, Corbo MR. Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. *Food Microbiology*.2018;72:16-22.
46. Guimarães JT, Silva EK, Costa ALR, Cunha RL, Freitas MQ, Meireles MAA, Cruz AG. Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. *Food Hydrocolloids*.2018;77:787-795.
47. Valero-Cases E, Frutos MJ. Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. *LWT- Food Science and Technology*.2017;81:136-143.




48. Konar N, Palabiyik I, Toker OS, Polat DG, Kelleci E, Pirouzian HR, Akcicekc A, Sagdic O. Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. *Journal of Functional Foods*.2018;43:206-213.
49. Sirbu A, Arghire C. Functional bread: Effect of inulin-type products addition on dough rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*.2017;75:220-227.
50. Han M, Bertram HC. Designing healthier comminuted meat products: Effect of dietary fibers on water distribution and texture of a fat-reduced meat model system. *Meat Science*.2017;133:159-165.
51. Charalampopoulos D, Rastall RA. Prebiotics in foods. *Current Opinion in Biotechnology*.2012;23:187-191.
52. Cencic A, Chingwaru W. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutrients*.2010;2:611-625.
53. Krumbeck JA, Maldonado-Gomez MX, Remer-Tait AE, Hutkins RW. Prebiotics and synbiotics: Dietary strategies for improving gut health. *Current Opinion in Gastroenterology*.2016;32:110-119.
54. Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA. Prebiotics as functional foods: a review. *Journal of Functional Foods*.2013;5:1542-1553.
55. Mookiah S, Sieo CC, Ramasamy K, Abdullah N, Ho YW. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.2014;94:341-348.
56. Miremadi F, Sherkat F, Stojanovska L. Hypocholesterolaemic effect and antihypertensive properties of probiotics and prebiotics: A review. *Journal of Functional Foods*.2016;25:497-510.
57. Jitonnoma J, Ketudat-Cairns JR, Hannongbua S. QM/MM modeling of the hydrolysis and transfructosylation reactions of fructosyltransferase from *Aspergillus japonicus*, an enzyme that produces prebiotic fructooligosaccharide. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*.2017;79:175-184.
58. Kaprasob R, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N, Somboonpanyakul P. B vitamins and prebiotic fructooligosaccharides of cashew apple fermented with probiotic strains *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium longum*. *Process Biochemistry*.2017;70:9-19.

59. Balthazar CF, Silva HLA, Esmerino EA, Rocha RS, Moraes J, et al. The addition of inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream. Food Chemistry.2018;246:464-472.
60. Sirbu A, Arghire C. Functional bread: Effect of inulin-type products addition on dough rheology and bread quality. Journal of Cereal Science.2017;75:220-227.
61. Da Silva TM, De Deus C, Fonseca BS, Lopes EJ, Cichoski AJ, et al. The effect of enzymatic crosslinking on the viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus*) encapsulated by complex coacervation. Food Research International.2019;125:108577.
62. Cassani L, Gomez-Zavaglia A, Simal-Gandara J. Technological strategies ensuring the safe arrival of beneficial microorganisms to the gut: From food processing and storage to their passage through the gastrointestinal tract. Food Research International.2020;129:108852.
63. Vanden Braber NL, Vergara LID, Rossi YE, Aminahuel CA, Mauri AN, et al. Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions. LWT - Food Science and Technology.2020;118:108844.

Capítulo 11

DOI: 10.53934/IIISEMICRO-11

COMPOSTOS FENÓLICOS, BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA BIOMASSA MICELIAL DO FUNGO *L. theobromae* MMPI

Marcelo Luis Kuhn Marchioro *; Gabrielli Aline Pietro Bom Candeia ; Mário Antônio Alves da Cunha 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: marchioro82@gmail.com

Resumo: Biomassas fúngicas são fontes de proteína, lipídios, fibras e carboidratos, além de serem ricas em micro e macronutrientes, compostos fenólicos e substâncias com potencial antioxidante. A produção de biomassa micelial e β -D-glucana extracelular (lasiodiplodana) pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI foi estudada como uma plataforma biotecnológica integrada. O presente trabalho buscou avaliar o potencial antioxidante *in vitro* e o teor de compostos fenólicos presentes nas biomassas miceliais do ascomiceto *L. theobromae* MMPI produzidas em meios de cultura a base de sacarose comercial e melaço de soja. As biomassas miceliais foram caracterizadas quanto ao teor de fenólicos totais, habilidade antioxidante e compostos bioativos por CLAE-PAD. Os extratos obtidos das biomassas embora contendo baixos conteúdos de fenólicos totais apresentam considerável potencial antioxidante contra os radicais ABTS, DPPH, hidroxila e poder redutor dos íons férrico e molibdênio VI. Ácido gálico e catequina foram os compostos majoritários entre os biocompostos identificados nos extratos. Ácido cinâmico foi identificado em ambos os extratos e ácido *p*-cumárico no extrato de biomassa produzida em meio com melaço de soja.

Palavras-chave: ascomiceto; bioprocesso; bioprospecção; proteína

Abstract: Fungal biomasses are sources of protein, lipids, fibers, and carbohydrates and are rich in micro and macronutrients, phenolic compounds, and substances with antioxidant potential. Mycelial biomass and extracellular β -D-glucan (lasiodiplodan) production by the fungus *Lasiodiplodia theobromae* MMPI was studied as an integrated biotechnological platform. The present work aimed to evaluate the *in vitro* antioxidant potential and the content of phenolic compounds in the mycelial biomass of the ascomycete *L. theobromae* MMPI cultured in media based on commercial sucrose and soybean molasses. The total phenolic content, antioxidant capacity, and bioactive compounds were characterized in the mycelial biomasses. The extracts obtained from the biomasses, although containing low total phenolics content, presented considerable antioxidant potential against ABTS, DPPH, and hydroxyl radicals, as well as ions reducing powers Ferric and molybdenum VI. Gallic acid and catechin were the major compounds identified in the extracts. Cinnamic acid was identified in both extracts and *p*-coumaric acid in the biomass extract produced in the medium with soybean molasses.

Keywords: ascomycete; bioprocess; bioprospecting; single-cell-protein

INTRODUÇÃO

Recentemente, com as discussões intensificadas sobre o impacto climático e a escassez de recursos para produção de proteína animal, alguns pesquisadores têm mudado o foco de interesse, voltando-se para a obtenção de novas alternativas com relação a produção de proteínas (1). Há uma demanda crescente por fontes alternativas e sustentáveis de proteínas, como vegetais, insetos e microrganismos, que possam atender às necessidades nutricionais e sensoriais dos consumidores (2).

Embora microrganismos sejam utilizados há séculos pelo homem na produção de alimentos e rações para animais, a tecnologia e a produção em larga escala de proteínas microbianas (Single-Cell Protein – SCP) como alimento foi desenvolvida nos últimos 100 anos, particularmente após a Primeira Guerra mundial. Considerando a grande variedade de microrganismos existentes, estudos visando a condição ideal para a produção de proteína microbiana têm sido conduzidos (3). Estudos reportados na literatura científica mostram a produção de biomassa proteica (SCP, proteína de célula única) a partir de fungos filamentosos, empregando tanto processos de fermentação submersa como fermentação semissólida e cultivo em superfície. Desses sistemas de fermentação, o sistema submerso pode levar a maiores rendimentos (4,5).

Diferentes substratos podem ser utilizados como fontes de carbono na produção de proteína microbiana, incluindo resíduos e subprodutos agroindustriais disponíveis em grandes quantidades. Além disso, o processo de produção de proteína microbiana pode ser projetado como um sistema fechado altamente independente de mudanças sazonais, possibilitando o uso eficiente de nutrientes sem escoamento para o ambiente circundante, e o sistema não requer herbicidas ou pesticidas (6).

Neste contexto, biomassas (SCP) do fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI obtidas em cultivos submersos com meios a base de sacarose comercial e melaço de soja foram caracterizadas quanto ao conteúdo de fenólicos totais, potencial antioxidante e compostos bioativos por CLAE-PDA.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração dos compostos bioativos: Extratos hidroalcoólicos foram obtidos com solução etanólica 80% (v/v). As extrações foram realizadas em frascos Erlenmeyer de 250 mL, empregando a proporção de 1 g de biomassa liofilizada para 10 mL de solução hidroalcoólica, tempo de extração de 1 hora e temperatura de 60 °C em banho ultrassom. Os extratos das biomassas foram filtrados em papel de filtro e empregados nas análises de fenólicos totais, compostos bioativos e atividade antioxidante (7).

Conteúdo fenólicos totais: Os compostos fenólicos totais nos extratos etanólicos foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Ravents (8). Um volume de 0,5 mL de extrato etanólico foi transferido para tubos de ensaio contendo 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu (1:10, v/v) e após

5 minutos de repouso foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio 4% (v/v). Em seguida, os tubos foram mantidos em repouso durante 2 horas, ao abrigo da luz, e realizada leitura em espectrofotômetro a 740 nm. Para o branco substitui-se a amostra por 0,5 mL de água. Os resultados foram calculados com base em uma curva de calibração utilizando ácido gálico nas concentrações de 2,5, 5,0, 10,0, 25,0, 40,0, 70,0, 85,0, 100,0 e 125,0 ppm como padrão de referência. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico equivalente.g⁻¹.

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH: Em um tubo de ensaio, foram adicionadas as seguintes substâncias: 0,5 mL do extrato de biomassa, 3 mL de etanol e 0,3 mL de solução radical DPPH em etanol (0,5 mmol L⁻¹). A mistura foi mantida ao abrigo da luz à temperatura ambiente durante 45 min. Em seguida, a absorbância da mistura foi medida em um espectrofotômetro a 517 nm. A amostra controle foi preparada com 3,5 mL de etanol: água (80:20 v/v) e 300 µL da solução DPPH (0,5 mmol L⁻¹). A capacidade de eliminação do radical DPPH foi medida por correlação com curva de calibração usando Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como padrão. Os resultados foram expressos em µmol de equivalentes Trolox por grama (9).

Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS: O radical ABTS foi obtido a partir da reação de 5 mL de ABTS (7 mmol L⁻¹) com 88 µL de solução de persulfato de potássio (140 mmol L⁻¹), na ausência de luz por 16 horas. A solução do radical ABTS foi diluída em etanol até absorbância de 0,700 a 734 nm. Em um tubo de ensaio, foram adicionados 30 µL de amostra devidamente diluída e 3 mL de solução contendo o radical ABTS. A absorbância foi medida em um espectrofotômetro, a 734 nm após 6 min de reação, e o etanol foi usado como controle em branco. A quantificação foi realizada usando a curva padrão de Trolox e os resultados foram expressos em mmol equivalentes de Trolox por grama (10).

Avaliação da atividade antioxidante pelo método FRAP: O poder redutor do íon férrico foi avaliado segundo Benzie e Strain (11). O reagente FRAP foi obtido a partir de uma mistura de 25 mL de tampão acetato (0,3 mol L⁻¹), 2,5 mL de solução TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina) (10 mmol L⁻¹) e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mmol L⁻¹). Em um tubo de ensaio, foram adicionados 90 µL do extrato de biomassa (200 mg L⁻¹) e 2,7 mL de reagente FRAP. A mistura foi mantida em banho-maria a 37 °C por 30 min e, em seguida, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro a 595 nm e o FRAP foi usado como controle em branco. O poder redutor do Fe (III) a Fe (II) foi expressa em mmol FeSO₄ por grama.

Sequestro do radical hidroxila: O potencial de sequestro de OH• foi avaliado com base no protocolo descrito por Liu *et al.* (12). Inicialmente foi obtida uma mistura reacional (2 mL) contendo 0,5 mL de FeSO₄ (1,5 mmol L⁻¹), 0,35 mL de H₂O₂ (6 mmol L⁻¹), 0,15 mL de salicilado de sódio (20 mmol L⁻¹) e 1 mL da amostra em diferentes concentrações (0,10, 0,18 e 0,26 mg mL⁻¹). Como controle positivo foi utilizado ácido ascórbico. Após repouso por 1 hora a 37 °C as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 562 nm. As análises foram realizadas em triplicata e o percentual de sequestro do radical hidroxila foi determinado, segundo equação:

$$\% \text{ de Remoção de OH} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs.da amostra} - \text{abs.do branco}}{\text{Absorbância do controle}} \right) \right] \times 100 \quad (1)$$

Capacidade antioxidante total (CAT): A capacidade antioxidante total foi avaliada utilizando o método de redução do complexo fosfomolibidênio descrito por Sun *et al.* (13). Foi preparado reagente fosfomolibidênio utilizando ácido sulfúrico 0,6 mol L⁻¹, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônio 4 mM. Em tubos de ensaio foram adicionados 3 mL do reagente fosfomolibidênio com 0,3 mL de amostra devidamente diluída. Após os tubos foram incubados por 90 min em banho maria a 95 °C. os tubos foram resfriados e realizadas leituras espectrofotométricas a 695 nm. Curva utilizando ácido ascórbico foi construída para quantificar a capacidade antioxidante total.

Análise de compostos bioativos por CLAE-PDA: A análise foi realizada usando um sistema 920 LC (Varian Inc., Walnut Creek, CA, EUA). O software Galaxie foi utilizado para controlar o amostrador automático, configurações de gradiente e aquisição de dados. Uma coluna C18 RP (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) (Eclipse Plus, Agilent Technologies, Wilmington, DE, EUA) foi empregue na análise, e mantida a 30 °C. Foram injetados volumes de 10 µL de extratos na concentração de 80 g L⁻¹. A fase móvel foi constituída por uma mistura gradiente de solvente A (solução aquosa de ácido acético a 2%) e solvente B (acetonitrila 40% acidificado com solução aquosa de ácido acético a 2%), com uma vazão de 1 mL.min⁻¹. O gradiente foi iniciado com 5% de solvente B e ajustado para 20% a 2 min; 25% de B aos 15 min; 85% de B aos 25 minutos mantidos por 5 minutos; 20% de B aos 33 min; 5% de B aos 36 min com 8 min de uma etapa de condicionamento. Na análise cromatográfica foram utilizados 16 padrões cromatográficos (ácido gálico, ácido clorogênico, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido salicílico, ácido cinâmico, catequina, epicatequina, rutina, isoquercitina, astragalina, miricetina, quercetina e canferol) de compostos fenólicos com o objetivo de identificar os principais compostos presentes nos extratos. Os compostos fenólicos foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção com o de padrões cromatográficos autênticos e quantificados pela integração dos respectivos picos cromatográficos. Os comprimentos de onda utilizados na detecção dos compostos 280 nm para os ácidos gálico e vanílico, bem como para catequina e epicatequina; 300 nm para os ácidos *p*-cumárico e salicílico; 320 nm para os ácidos cafeico, cinâmico, clorogênico e ferúlico e 360 nm para astragalina, isoquercitina, quercetina, canferol, miricetina e rutina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fenólicos totais e perfil de compostos fenólicos por CLAE-PDA: A presença de compostos fenólicos foi detectada nas biomassas de *L. theobromae* MMPI produzidas nos meios com melaço de soja (MMS) e sacarose comercial (MSAC). Ambas as biomassas apresentaram quantidades similares de fenólicos totais, expressos em ácido gálico equivalente por grama de biomassa seca (GAE.g⁻¹) e, determinados pelo método Folin-Ciocalteu. As concentrações de fenólicos totais encontradas são relativamente pequenas, principalmente quando comparadas a extratos vegetais, os quais são comumente ricos em compostos fenólicos (14). As quantidades de compostos fenólicos encontradas no

presente trabalho foram 4,22 mg GAE.g⁻¹ (biomassa MMS) e 4,14 mg GAE.g⁻¹ (biomassa MSAC). Quantidades superiores foram reportadas em biomassa de *Pleurotus ostreatus* PBS281009 (35,4 mg GAE.g⁻¹ de biomassa) e *P. ostreatus* PSI101109 (98,6 mg GAE.g⁻¹ de biomassa) cultivados em meio a base de glicose (15). Importante destacar que valores bastante diferentes de conteúdo de fenólicos em extratos de micélios fúngicos são relatados na literatura científica. Por exemplo, Valu *et al.*, (16) encontraram conteúdos entre 11,1 e 23,1 mg GAE.g⁻¹ de extrato seco do corpo de frutificação do basidiomiceto *Hericium erinaceus* (cogumelo juba-de-leão).

Em relação ao conteúdo de flavonóides totais quantidades de 3,4 mg QE (quercetina equivalente).g⁻¹ e 3,69 mg QE.g⁻¹ foram encontradas nas biomassas produzidas nos meios MMS e MSAC, respectivamente. Tais resultados são consistentes com os reportados por Valu *et al.* (16), os quais verificaram valores de 3,26 mg QE.g⁻¹ no cogumelo juba-de-leão. Concentrações de flavonóides entre 0,011 e 1,04 mg QE.g⁻¹ foram reportadas por González-Palma *et al.* (17) em extratos de *Pleurotus ostreatus*.

O cromatograma CLAE-PAD descrito na Figura 1 e Tabela 1 revelou a presença de alguns biocompostos nos extratos das biomassas miceliais. No extrato obtido em meio de melão de soja (Figura 1^a) foi possível identificar os ácidos fenólicos: ácido gálico (152,2 µg g⁻¹), ácido cumárico (91,8 µg g⁻¹) e ácido cinâmico (12,8 µg g⁻¹) e o flavonóide catequina (533,9 µg g⁻¹). Os ácidos gálico (263,8 µg g⁻¹) e cinâmico (34,1 µg g⁻¹) também foram encontrados na biomassa micelial produzida em meio a base de sacarose (Figura 1B) bem como o flavonóide catequina (323,8 µg g⁻¹). O ácido cumárico, por outro lado não foi encontrado na biomassa produzida em meio a base de sacarose. Catequina e ácido gálico foram os compostos majoritários entre os biocompostos identificados nos extratos de biomassa de *L. theobromae* MMPI. FIjałkowska *et al.* (18) também verificaram a presença de catequina (58,37 mg / 100 g de extrato) e ácido gálico (0,09 mg / 100 g de extrato) em extratos de micélio do fungo medicinal *Fomitopsis officinalis*.

Estudos demonstram que as catequinas possuem muitos benefícios, como efeitos antioxidante, anticarcinogênico, antiapoptótico, anti-inflamatório, contribui para redução de reações inflamatórias e danos celulares, bem como peroxidação lipídica (19). O ácido gálico (3,4,5-trihydroxybenzoic acid (CAS No.149-91-7)) tem sido reportado como um composto promotor da saúde, incluindo propriedades antioxidantes, anticarcinogênicas, cardioprotetora, anti-inflamatórias e antibacterianas, demonstrando efeitos gastroprotetores e neuroprotetores, podendo inibir a oxidação e rancificação de óleos e gorduras (20,21).

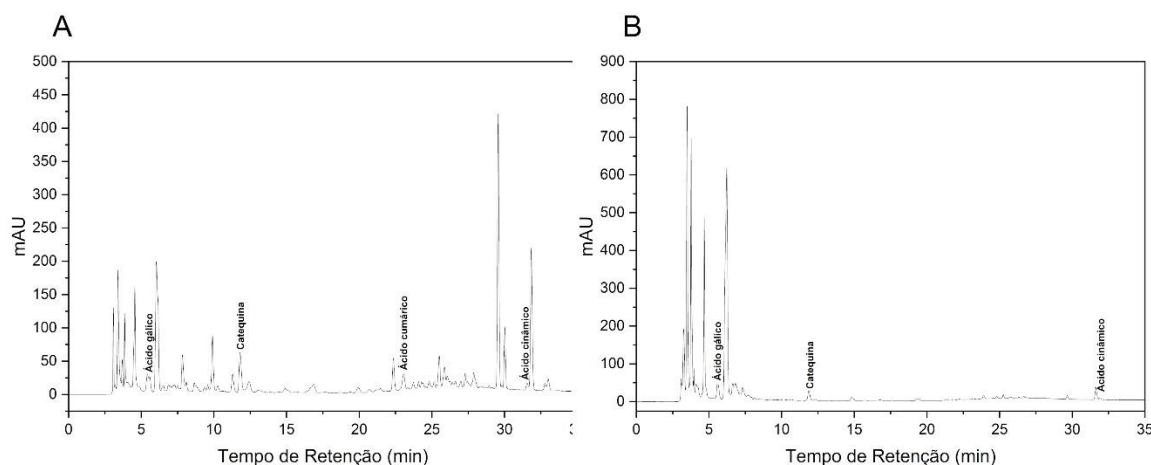


Figura 1 - Cromatogramas CLAE-PAD do extrato das biomassas obtidas nos meios A) MMS e B) MSAC e compostos identificados.

Fonte: Autoria própria (2023).

Tabela 1 - Parâmetros cromatográficos dos compostos fenólicos detectados por CLAE-PAD

Composto fenólico	Tempo de retenção (min)	Comprimento de onda (nm)	R ²	Concentração (µg g ⁻¹)	
				MMS	MSAC
Ácido gálico	5,81	271	0,9984	152,3	263,8
Catequina	12,18	278	0,9991	533,9	323,8
Ácido <i>p</i> -cumárico	23,23	308	0,9987	91,8	n.d
Ácido cinâmico	31,91	276	0,9914	12,2	34,1

n.d: não identificado.

Fonte: Autoria própria (2023).

Potencial antioxidante dos extratos das biomassas de *L. Theobromae* MMPI: Embora os extratos obtidos das biomassas produzidas nos meios MMS e MSAC tenham apresentado concentrações relativamente baixas de compostos fenólicos totais, apreciável capacidade antioxidante foi verificada por ensaios que avaliaram o potencial de captura dos radicais ABTS, DPPH e OH e capacidade de redução do íon férrico e redução do íon molibdênio VI com formação de complexo fosfomolibdênio (CAT).

Todos os extratos miceliais apresentaram efetiva capacidade eliminação dos radicais livres ABTS, DPPH e OH, além de habilidade de redução do íon férrico e do molibdênio VI (Tabela 2).

Os extratos miceliais produzidos em meio MMS (713,9 mM de trolox equivalente (TEq).g⁻¹ de biomassa) e meio MSAC (741,89 mM TEq.g⁻¹) mostraram elevado potencial de eliminação do radical cátion ABTS, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre os extratos MMS e MSAC. Em relação ao potencial de eliminação do radical OH e poder redutor do íon férrico o meio de cultivo também não promoveu a produção de micélios com habilidades antioxidantes diferentes. Por outro, a biomassa micelial oriunda do meio formulado com sacarose (187,95 mmol TEq.g⁻¹) demonstrou habilidade de eliminação do radical DPPH um pouco superior à observada no extrato da biomassa obtida em meio com melão de soja (180,72 mmol TEq.g⁻¹).

A atividade antioxidante total de extratos miceliais pode mostrar variações em relação aos diferentes extratos, processos de extração, meios de cultivo, tempo de fermentação e tipo de cepa (22). Nesse sentido, em relação a atividade antiradicalar contra

o radical ABTS, valores entre 25,4 $\mu\text{mol TEq.mg}^{-1}$ de extrato e 89 $\mu\text{mol TEq.mg}^{-1}$ de extrato foram encontrados em extratos de biomassa micelial de linhagens de *Cladosporium cladosporioides* por (23). Estes autores também reportaram atividades entre 23,5 $\mu\text{mol TEq.mg}^{-1}$ de extrato e 43,4 $\mu\text{mol TEq.mg}^{-1}$ de extrato nos extratos de micélios de *Fusarium* sp. e *Cladosporium cladosporioides* (P.f), respectivamente, contra o radical DPPH. Além disso, o respectivo trabalho mostra variações de concentrações de compostos fenólicos e atividade antiradicalar contra ABTS, DPPH e radical galvinoxil (2,6-Di-terc-butil- α -(3,5-di-terc-butil-4-oxo-2,5-ciclohexadieno-1-ilideno)-*p*-toliloxi), entre os extratos de micélios e os caldos de cultivos.

A atividade antioxidante total avaliada pela capacidade de redução do íon molibdênio VI e formação do complexo fosfomolibdênio foi bem superior no extrato obtido do micélio produzido em meio MMS (147,72 mmol de ácido ascórbico equivalente.g⁻¹ de biomassa) em relação ao micélio do meio MSAC (84,81 mmol de ácido ascórbico equivalente.g⁻¹ de biomassa). Um maior conteúdo de compostos lipofílicos, possivelmente, pode estar presente no extrato de biomassa produzida no meio MMS, visto que tal biomassa apresenta conteúdos de gordura (Tabela 2) bastante superior ao da biomassa produzida em meio MSAC. Tal condição pode justificar está maior atividade de redução do íon molibdênio VI. O método do complexo fosfomolibdênio é capaz de avaliar o potencial antioxidante de compostos tanto hidrofílicos quanto lipofílicos.

O comportamento de eliminação do radical OH (MMS: 84,56 % e MSAC: 92,1%) bem como o poder redutor do íon férrico (MMS: 244,74 mmol de sulfato ferroso equivalente.g⁻¹ e MSAC: 230,81 mmol de sulfato ferroso equivalente.g⁻¹) foram similares entre os extratos. Outro ponto a ser observado é que a capacidade de eliminação do radical hidroxila foi bastante elevada considerando uma eliminação de 100% de tal radical pelo padrão ácido ascórbico. Da mesma forma foi observado considerável potencial redutor do íon FRAP (MMS: 244,74 mmol de FeSO₄ equivalente.g⁻¹ e MSAC: 230,81 mmol de FeSO₄ equivalente.g⁻¹). Atividades de 165,5 e 113,9 mmol de FeSO₄ equivalente.g⁻¹ foram reportadas em extratos metanólicos de primórdio fresco de *Pleorotus ostreatus* e em extrato aquoso do corpo de frutificação do fungo, respectivamente (17).

Tabela 2 - Potencial antioxidante dos extratos obtidos das biomassas de *L. theobromae* MMPI

Ensaio antioxidante	Resultados	
	MMS	MSAC
ABTS [#]	713,90 ^a	741,89 ^a
DPPH [#]	180,72 ^b	187,95 ^a
●OH ^{##}	84,56 ^a	92,10 ^a
FRAP ^{###}	244,74 ^a	230,81 ^a
CAT ^{####}	147,72 ^a	84,81 ^b

MMS: extrato da biomassa produzida em meio de melão de soja; MSAC: extrato da biomassa produzida em meio de sacarose; Valores seguidos de mesma letra nas linhas não diferem significativamente ao nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$); Resultados expressos em: [#] mmol de trolox equivalente / g de biomassa, ^{##} Percentual de redução do radical hidroxila em extratos diluídos 10 vezes, ^{###} mmol de sulfato ferroso equivalente / g de biomassa, ^{####} mmol de ácido ascórbico equivalente / g de biomassa.

Fonte: Autoria própria (2023).

CONCLUSÕES

As biomassas miceliais do fungo *L. theobromae* MMPI cultivadas nos meios a base de sacarose comercial e melão de soja não apresentaram elevados conteúdos de fenólicos totais. Por outro lado, os extratos etanólicos obtidos destas biomassas apresentam considerável potencial antioxidante contra os radicais ABTS, DPPH, hidroxila e poder redutor dos íons férrico e molibdênio VI. Ácido gálico e catequina foram os compostos majoritários entre os biocompostos identificados nos extratos. Os resultados sugerem que a SCP do fungo *L. theobromae* MMPI é rica em compostos bioativos e tem elevado potencial antioxidante, o que a pode tornar um ingrediente atrativo para alimentos e rações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), a Fundação Araucária (Convênio 282/2022 - NAPI SUDOESTE 3793-1 13539-9).

REFERÊNCIAS

1. Aschemann-Witzel J, Peschel AO. Consumer perception of plant-based proteins: The value of source transparency for alternative protein ingredients. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2020 Feb 13];96:20–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X19301055>
2. Fasolin LH, Pereira RN, Pinheiro AC, Martins JT, Andrade CCP, Ramos OL, et al. Emergent food proteins – Towards sustainability, health and innovation. *Food Res Int* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2020 Feb 14];125:108586. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919304648>
3. Reihani SFS, Khosravi-Darani K. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: A review. *Electron J Biotechnol* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2020 Feb 13];37:34–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345818300484>
4. Hashempour-Baltork F, Khosravi-Darani K, Hosseini H, Farshi P, Reihani SFS. Mycoproteins as safe meat substitutes. *J Clean Prod* [Internet]. 2020 Apr 20 [cited 2020 Feb 13];253:119958. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652620300056>
5. Suman G, Nupur M, Anuradha S, Pradeep B. Single Cell Protein Production: A Review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* [Internet]. 2015 [cited 2020 Feb 18];4(9):251–62. Available from: <http://www.ijcmas.com>
6. Sillman J, Nygren L, Kahiluoto H, Ruuskanen V, Tamminen A, Bajamundi C, et al. Bacterial protein for food and feed generated via renewable energy and direct air capture of CO₂: Can it reduce land and water use? *Glob Food Sec* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2020 Feb 13];22:25–32. Available from:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221191241830141X>
7. Stoffel F, Santana W de O, Gregolon JGN, Kist TBL, Fontana RC, Camassola M. Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2020 Feb 13];58:102227. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856419306836>
 8. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: *Journal of Food, Agriculture and Environment* [Internet]. Academic Press; 1999 [cited 2020 Feb 20]. p. 152–78. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>
 9. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 1995 Jan 1 [cited 2020 Feb 20];28(1):25–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>
 10. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 1999 May 1 [cited 2020 Feb 20];26(9–10):1231–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584998003153?via%3Dihub>
 11. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the frap assay. *Anal Biochem* [Internet]. 1996 Jul 15 [cited 2020 Feb 20];239(1):70–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269796902924>
 12. Liu W, Wang H, Pang X, Yao W, Gao X. Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2010 May 1 [cited 2020 Feb 20];46(4):451–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813010000565?via%3Dihub>
 13. Sun L, Zhang J, Lu X, Zhang L, Zhang Y. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol*. 2011 Oct 1;49(10):2689–96.
 14. Iurckevicz G, Dahmer D, Santos VAQ, Vetvicka V, Barbosa-Dekker AM, Dekker RFH, et al. Encapsulated microparticles of (1→6)-β-D-Glucan containing extract of *Baccharis dracunculifolia*: production and characterization. *Molecules* [Internet]. 2019 Jun 3 [cited 2022 Feb 20];24(11):2099. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2099/htm>

15. Vamanu E. Antioxidant properties of mushroom mycelia obtained by batch cultivation and tocopherol content affected by extraction procedures. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
16. Valu MV, Soare LC, Sutan NA, Ducu C, Moga S, Hritcu L, et al. Optimization of ultrasonic extraction to obtain erinacine a and polyphenols with antioxidant activity from the fungal biomass of *Hericium erinaceus*. *Foods* [Internet]. 2020 Dec 18 [cited 2022 Feb 20];9(12):1889. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/12/1889/htm>
17. González-Palma I, Escalona-Buendía HB, Ponce-Alquicira E, Téllez-Téllez M, Gupta VK, Díaz-Godínez G, et al. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. *Front Microbiol.* 2016 Jul 12;7(JUL):1099.
18. Fijałkowska A, Muszyńska B, Sułkowska-Ziaja K, Kała K, Pawlik A, Stefaniuk D, et al. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases. *Sci Reports* 2020 101 [Internet]. 2020 Nov 18 [cited 2022 Feb 22];10(1):1–12. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-76899-1>
19. Zhao Y, Fang C, Jin C, Bao Z, Yang G, Jin Y. Catechin from green tea had the potential to decrease the chlorpyrifos induced oxidative stress in larval zebrafish (*Danio rerio*). *Pestic Biochem Physiol.* 2021 Dec 28;105028.
20. Xu HJ, Zhang QY, Wang LH, Zhang CR, Li Y, Zhang YG. Growth performance, digestibility, blood metabolites, ruminal fermentation, and bacterial communities in response to the inclusion of gallic acid in the starter feed of preweaning dairy calves. *J Dairy Sci* [Internet]. 2022 Jan [cited 2022 Feb 22];0(0). Available from: <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030222000212/fulltext>
21. Kahkeshani N, Farzaei F, Fotouhi M, Alavi SS, Bahramsoltani R, Naseri R, et al. Pharmacological effects of gallic acid in health and disease: A mechanistic review. *Iran J Basic Med Sci* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Feb 22];22(3):225–37. Available from: https://ijbms.mums.ac.ir/article_12251.html
22. Hameed A, Hussain SA, Yang J, Ijaz MU, Liu Q, Suleria HAR, et al. Antioxidants potential of the filamentous fungi (*Mucor circinelloides*). *Nutr* 2017, Vol 9, Page 1101 [Internet]. 2017 Oct 7 [cited 2022 Feb 22];9(10):1101. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/9/10/1101/htm>
23. Couttolenc A, Medina ME, Trigos Á, Espinoza C. Antioxidant capacity of fungi associated with corals and sponges of the reef system of Veracruz, Mexico. *Electron J Biotechnol.* 2022 Jan 1;55:40–6.

Capítulo 12

DOI: 10.53934/IISEMICRO-12

PROBIÓTICOS E PÓS-BIÓTICOS NA SAÚDE MENTAL: A RELAÇÃO INTESTINO - CÉREBRO

Maria José do Amaral e Paiva *; Caroline Woelffel Silva ; Thaís da Silva Araújo ; Danúbia Joanes Rosa Guerra ; Nataly de Almeida Costa ; Vanessa Caroline de Oliveira ; Érica Nascif Rufino Vieira 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: maria.j.amaral@ufv.br

Resumo: O aumento da procura por mais qualidade de vida levou consumidores a buscarem produtos contendo microrganismos probióticos. Essas bactérias benéficas atuam na modulação intestinal, combatendo a disbiose, prevenindo infecções e reduzindo o risco de doenças crônicas degenerativas. Além disso, o consumo de probióticos pode contribuir para melhora da saúde mental, sendo de conhecimento científico a correlação existente entre intestino e cérebro. O eixo intestino-cérebro é uma via de sinalização bidirecional complexa que conecta o trato gastrointestinal ao sistema nervoso central e permite a comunicação entre os dois sistemas. Os probióticos podem influenciar essa comunicação através da regulação de neurotransmissores, modulação da resposta imunológica e produção de metabólitos de cadeia curta que afetam a função cerebral, reduzindo os sintomas de transtornos como a ansiedade e a depressão, melhorando o humor e o bem-estar mental. Há desafios para que as células permaneçam viáveis, mas estudos evidenciam os benefícios também por células não viáveis, por fragmentos de células e por metabólitos das bactérias probióticas, os pós-bióticos. Ácidos graxos de cadeia curta estão entre os metabólitos mais estudados. A administração de probióticos em pacientes com transtorno depressivo maior resultou na diminuição da relação quinurenina/triptofano e aumento na relação 3-hidroxiquinurenina/quinurenina. Houve aumento da relação triptofano/isoleucina em indivíduos que consumiram probióticos, proporcionando aumento do bem estar. A modulação da microbiota intestinal com probióticos e pós-bióticos possui capacidade de interferir benéficamente nos parâmetros relacionados com a saúde mental, como ansiedade, depressão e estresse.

Palavras-chave: paraprobióticos; triptofano; metabólitos; células probióticas

Abstract: The increased demand for quality of life has led consumers to look for products containing probiotic microorganisms. These beneficial bacteria act in intestinal modulation, fighting dysbiosis and preventing infections and reducing the risk of chronic degenerative diseases. In addition, the consumption of probiotics can contribute to the improvement of mental health, as the correlation between the intestine and the brain is already scientifically known. The gut-brain axis is a complex, bidirectional signaling pathway that connects the gastrointestinal tract to the central nervous system and allows communication between the two systems. Probiotics can influence this communication by regulating neurotransmitters, modulating the immune response, and producing short-chain metabolites that affect brain

function, reducing symptoms of disorders such as anxiety and depression and improving mood and mental well-being. There are challenges for the cells to remain viable, but studies show the benefits also for non-viable cells, for cell fragments, and for metabolites of probiotic bacteria, the post-biotics. Short-chain fatty acids are among the most studied metabolites. Administration of probiotics in patients with major depressive disorder resulted in a decrease in the kynurenine/tryptophan ratio and an increase in the 3-hydroxykynurenine/kynurenine ratio. There was an increase in the tryptophan/isoleucine ratio in individuals who consumed probiotics, providing an increase in well-being. The modulation of the intestinal microbiota with probiotics and post-biotics can beneficially interfere with parameters related to mental health, such as anxiety, depression, and stress.

Keywords: paraprobiotics; tryptophan; metabolites; probiotic cells

INTRODUÇÃO

Probióticos são microrganismos não patogênicos, geralmente bactérias ou leveduras, passíveis de serem consumidos, que quando administrados regularmente e em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do consumidor (1). Esses microrganismos são capazes de colonizar o trato gastrointestinal, onde interagem com a microbiota local e exercem efeitos benéficos (2) como a melhora da saúde digestiva, o fortalecimento do sistema imunológico, a modulação da resposta inflamatória e até mesmo ao bem-estar mental (3).

No que tange ao sistema imunológico, estudos têm demonstrado que certas cepas probióticas podem modular a resposta imune reforçando-a e estimulando-a ao promover a produção de citocinas anti-inflamatórias e aprimorando a função das células imunológicas (4). Esses microrganismos benéficos interagem com as células intestinais, estimulando a produção de substâncias que fortalecem as barreiras mucosas e impedem a invasão de patógenos (5). Além disso, os probióticos têm a capacidade de modular a resposta inflamatória, ajudando a reduzir a inflamação sistêmica. Tais efeitos podem contribuir com uma melhor resposta imunológica e com a redução do risco de infecções e doenças inflamatórias (6).

Toda essa interação no âmbito intestinal é capaz de melhorar a saúde digestiva, pois o consumo regular de alimentos ou suplementos probióticos pode ajudar a restabelecer o equilíbrio da microbiota intestinal, promovendo uma composição bacteriana saudável (7). Isso pode levar a benefícios, como a redução da incidência e duração de diarreias infecciosas (8), alívio nos sintomas do intestino irritável (9) e prevenção na obesidade (10). Os probióticos têm demonstrado propriedades antimicrobianas, inibindo o crescimento de patógenos intestinais, e podem fortalecer a barreira intestinal, melhorando a integridade da mucosa. Esses efeitos combinados contribuem para a saúde do trato digestivo, promovendo um ambiente favorável à absorção de nutrientes e ao funcionamento adequado do sistema gastrointestinal.

Além disso, também é válido citar sobre a melhora na saúde mental que o consumo de probióticos pode proporcionar. Já é de conhecimento científico a correlação existente entre intestino e cérebro. Devido a isso, o consumo de probióticos tem sido relacionado à melhora da saúde mental. Pesquisas sugerem que a microbiota intestinal desempenha um papel crucial na comunicação entre o intestino e o cérebro, conhecido como eixo intestino-cérebro. Os probióticos podem influenciar essa comunicação através da regulação de

neurotransmissores, modulação da resposta imunológica e produção de metabólitos de cadeia curta que afetam a função cerebral (11). Estudos clínicos têm demonstrado que certas cepas probióticas podem reduzir os sintomas de transtornos como a ansiedade e a depressão, melhorando o humor e o bem-estar mental (12).

Por outro lado, os pós-bióticos são os produtos metabólicos ou componentes celulares dos probióticos que podem exercer efeitos benéficos no hospedeiro. Eles são derivados dos processos de metabolismo dos probióticos e podem incluir ácidos orgânicos, enzimas, peptídeos, polissacarídeos, proteínas e outros metabólitos. Esses pós-bióticos podem desempenhar um papel importante na modulação da microbiota intestinal, na regulação do sistema imunológico e na promoção de processos fisiológicos saudáveis (13,14). Os pós-bióticos podem ser produzidos por meio de diferentes processos, como a fermentação de alimentos, permitindo a obtenção de extratos ricos em pós-bióticos que podem ser utilizados como ingredientes funcionais em produtos alimentícios (15).

Dessa forma, neste capítulo objetivou-se descrever brevemente sobre probióticos e pós-bióticos, a relação do eixo intestino-cérebro e apresentar estudos disponíveis na literatura que relacionaram o seu potencial efeito benéfico correlacionado à integração existente entre saúde mental e saúde do intestino.

PROBIÓTICOS E PÓS-BIÓTICOS

Os cuidados com a saúde têm levado um número cada vez maior de consumidores a procurar pelos alimentos com propriedades funcionais. Esses alimentos promovem vários benefícios à saúde, além de reduzir o risco de doenças crônicas (16). Alimentos que apresentam propriedades funcionais são descritos como “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (17).

Entre os alimentos funcionais estão aqueles adicionados de probióticos, os que possuem atividade prebióticas e também os simbióticos. Os microrganismos probióticos já possuem base estabelecida por diversas pesquisas e são microrganismos vivos, que quando são ingeridos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (18).

Essas bactérias benéficas atuam na modulação intestinal, combatendo a disbiose e prevenindo infecções. Além disso, contribuem para metabolização de lactose, estimulam a melhoria do sistema imunológico, atuam na biodisponibilização de alguns nutrientes, inibem o crescimento de microrganismos patogênicos e reduzem o risco de doenças crônicas degenerativas (19).

A crescente procura por mais qualidade de vida levou pesquisadores e a indústria a desenvolver diversos produtos contendo microrganismos probióticos. Os processos de industrialização de alimentos com essas bactérias trazem alguns benefícios como o aumento da biodisponibilização de nutrientes presentes nesses alimentos, agregação de valor ao produto final, podem melhorar sabor e textura e aumentar a vida útil do produto por sua ação na conservação, estabilidade e segurança microbiana (20).

A maioria dos produtos probióticos disponíveis no mercado são de base láctea, mas tem crescido a procura por esses alimentos sem os alérgenos lácteos para atender consumidores com alguma intolerância, alergias ou com essa opção alimentar. Sendo que já

está consolidado por várias pesquisas que os vegetais são potenciais carreadores das cepas probióticas (21–23).

Os gêneros *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* spp e *Streptococcus* são os mais conhecidos e utilizados para adição em alimentos, por proporcionarem inúmeros benefícios ao hospedeiro. Entre os benefícios estão o equilíbrio da microbiota intestinal, ação competitiva contra microrganismos patogênicos, redução da biossíntese de colesterol, inibição de enzimas metabolizadas por bactérias intestinais responsáveis por transformar pré-carcinógenos em carcinógenos ativos. Além disso, essas cepas atuam na prevenção e tratamento de doenças do trato gastrointestinal como doença de Crohn e colite ulcerativa e também auxiliam no controle da ansiedade e depressão (24–26).

Apesar de todos os benefícios já comprovados, é desafiador fazer com que a quantidade mínima pré-determinada de 10^6 UFC/g ou mL seja entregue viável no tecido epitelial do cólon, devido às condições adversas (27). Os microrganismos enfrentam algumas barreiras durante as etapas de processamento e armazenamento, dentre elas, as características da matriz alimentar, variações de pH, peróxido de hidrogênio, presença de oxigênio, ação bactericida de aditivos como conservantes, corantes ou substâncias responsáveis por aromatizar os alimentos, além de variações de temperatura (28).

As adversidades enfrentadas durante a passagem pelo sistema gastrointestinal também comprometem a viabilidade, já que o processo de digestão envolve a ação de enzimas, redução de pH a condições de elevada acidez, ação dos sais biliares e das soluções pancreáticas e até mesmo o excesso de muco pode dificultar a adesão ao cólon (29).

Com a finalidade de aumentar a taxa de sobrevivência das bactérias probióticas durante a passagem pelo sistema gastrointestinal, ingredientes prebióticos podem ser adicionados para proteger os microrganismos contra as condições adversas, melhorar o valor nutricional e aspectos sensoriais do produto final (30). De acordo com a International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) prebiótico é definido como “um substrato que é usado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem benefícios à saúde” (31). A inulina e os frutooligosacarídeos estão entre os prebióticos mais utilizados para serem adicionados aos alimentos (21).

Muitos cuidados eram tomados para que as células permanecessem viáveis pela prerrogativa existente de que as células precisavam estar viáveis para promoverem benefícios à saúde. Entretanto, é crescente o número de pesquisas que apontam os benefícios de promoção à saúde também por células não viáveis, por fragmentos de células e por metabólitos das bactérias probióticas, estes também são importantes para manutenção do “microbioma” intestinal (28,32).

Assim, esses compostos podem representar uma solução para o desafio de entregar a quantidade recomendada de bactérias no local de interesse do organismo e também podem ser resposta aos questionamentos sobre a segurança e eficácia da administração das cepas probióticas em pacientes imunocomprometidos e neonatos, por isso é crescente o interesse pelas células inviáveis ou metabólitos desses microrganismos (33).

Diante disso, diferentes termos relacionados aos probióticos foram criados para designar essas formas não viáveis ou metabólitos desses microrganismos. Como o termo pós-bióticos, incluindo os paraprobióticos, que são caracterizados por células microbianas não viáveis, inativadas ou frações dessas células; esse termo proposto foi em 2011 após confirmação de que mesmo sem apresentar viabilidade, essas células ou suas frações ajudam a promover a saúde (34) e incluem também os produtos e subprodutos resultantes do

metabolismo dos probióticos. Pós-bióticos, portanto, são definidos pela Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos como “uma preparação de microrganismos inanimados e/ou seus componentes que confere um benefício à saúde do hospedeiro” (28,35).

Os pós-bióticos são compostos que apresentam baixo peso molecular e são produzidos durante o desenrolar das atividades metabólicas dos microrganismos a partir da fermentação dos nutrientes orgânicos da matriz alimentar, ou podem estar disponíveis após ocorrer a lise das células. Os ácidos graxos de cadeia curta estão dentre os metabólitos mais estudados, assim como as células fragmentadas, os polissacarídeos externos à membrana celular, ácido teicóico que pode ser composto por glicerol-fosfato ou ribitol- fosfato, proteínas funcionais, vitaminas e muopeptídeos derivados de peptidoglicano (28,36).

Para a inativação das bactérias probióticas já foram realizados ensaios aplicando calor, reagentes químicos, raios ultravioleta, gama e efeito ultrassônico, porém alguns desses métodos podem comprometer o mecanismo de imunomodulação dos metabólitos. Assim, a forma mais comumente utilizada é o tratamento térmico (34,37).

A utilização dos pós-bióticos aumenta a eficiência da entrega dos produtos e subprodutos probióticos de interesse, sem passar pela dificuldade de manter alta contagem de células viáveis, facilitando a aplicação pela indústria tanto para processamento, armazenamento e transporte. Além disso, podem ser administrados com mais segurança em doentes graves, crianças e bebês prematuros (38,39).

Devido ao fato de que a microflora intestinal é diferente entre as populações e até entre os indivíduos ou ainda sofrer alterações ao longo do tempo, a dimensão dos metabólitos gerados pelos microrganismos ou os procedimentos de intervenção utilizando os mesmos também pode diferir (34,35).

Sharma et al. (40) isolaram cepas de bactérias probióticas de diferentes fontes e analisaram o efeito de seus metabólitos presentes em sobrenadante sem a presença de células, dissolvidos em diferentes solventes, sobre as células cancerígenas Caco-2 e HT-29. O estudo mostrou que os metabólitos de *Lactobacillus rhamnosus* MD 14 apresentaram características eficazes antígenotóxicas e citotóxicas contra o câncer de cólon.

Células não viáveis de *Lactobacillus gasseri* CP2305 adicionadas em bebida de leite em pó desnatado, com xarope de milho foram oferecidas a adultos saudáveis com periodicidade alta e baixa de evacuação. Os resultados mostraram aumento significativo no número de evacuações com redução dos produtos putrefativos no grupo que consumiu os pós-bióticos em relação ao grupo da bebida placebo. Não houve diferença significativa para os ácidos graxos de cadeia curta e outros ácidos orgânicos. Em relação à composição da microbiota intestinal houve aumento significativo de *Bifidobacterium* e redução de *Clostridium cluster* IV no grupo que consumiu células não viáveis em relação ao grupo placebo. Exames mostraram aumento da ação do nervo autônomo e redução dos batimentos cardíacos no grupo que ingeriu as células não viáveis, em relação ao grupo controle (41).

RELAÇÃO INTESTINO-CÉREBRO

A microbiota humana é um microecossistema dinâmico que contempla os microrganismos específicos de cada hospedeiro, incluindo bactérias, vírus, fungos e demais espécies. Neste ecossistema, as bactérias correspondem a 99% da composição total, sendo quatro espécies predominantes: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinomycetes

(42,44). Estes microrganismos podem impactar de forma direta na saúde humana ao secretar substâncias biologicamente ativas como vitaminas, aminoácidos essenciais ou toxinas e demais metabólitos prejudiciais. Outro modo de atuação do microbioma, ocorre de forma indireta na modulação dos processos metabólicos e do sistema imunológico, sendo atualmente associada a doenças inflamatórias e neurodegenerativas (43).

No entanto, sabe-se que aspectos humanos individuais interferem no perfil da microbiota intestinal, como estilo de vida, estresse, qualidade do sono, consumo de álcool e drogas, além do nível de atividade física e tipo de alimentação (45). Neste sentido, a idade também se torna um fator de risco importante, visto que pessoas idosas possuem alterações fisiológicas na microbiota intestinal, caracterizada pelo aumento nas populações de Firmicutes e Bacteroidetes, bem como a redução de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (25). Além disso, o envelhecimento está associado com aumento de bactérias pró-inflamatórias, como enterobactérias, estreptococos e estafilococos, que estão relacionadas a produção de interleucina-6 (IL-6), TNF- α e ativação de fatores de transcrição, como NF- κ B, o que predispõe os idosos a doenças correlacionadas a neuroinflamação e neurodegeneração (44).

Neste sentido, a disbiose é uma condição de desequilíbrio da microbiota intestinal caracterizada pelo aumento das bactérias patogênicas associadas a infecções e inflamações, com uma redução das espécies benéficas. Estas alterações implicam no aumento da permeabilidade intestinal e comprometimento da barreira hematoencefálica, que têm sido observadas como a gênese do diabetes tipo II, obesidade, doenças cardiovasculares e distúrbios neuropsiquiátricos, como depressão, transtornos do espectro do autismo e doenças neurodegenerativas como Parkinson (DP) e Alzheimer (AD) (43–46).

As alterações na microbiota intestinal, principalmente relacionadas à disbiose possuem uma forte relação com as doenças neurológicas. Portanto, as pesquisas têm dado destaque ao eixo intestino-cérebro, bem como às suas relações com a prevenção de doenças neurológicas e manutenção da saúde mental. Inclusive, Varesi et al. (46), através de uma revisão, descrevem as diferentes e possíveis rotas de comunicação do eixo:

- Por meio de ramos de entrada e saída do nervo vago;
- Pela geração de metabólitos e peptídeos bioativos, como os ácidos graxos de cadeia curta;
- Modulação de neurotransmissores pela microbiota intestinal;
- Através da imunidade, onde os receptores toll-like (TLRs) e peptidoglicanos (PGNs) medeiam a resposta imune contra microrganismos, atuando como sensores de componentes microbianos gerando uma ativação imune local, que pode, através de diferentes vias, levar a uma ativação imune em diferentes órgãos, incluindo o cérebro;
- Em casos de estresse ocorre aumento da secreção de cortisol, que pode afetar a motilidade intestinal, a integridade e a produção de muco, levando a alterações na composição da microbiota intestinal. Essa alteração, por sua vez, pode afetar o Sistema Nervoso Central (SNC) por meio da modulação dos hormônios do estresse.

Um dos mecanismos relacionados ao Alzheimer, está associado a secreção de metabólitos nocivos e da produção de moléculas neuroativas, como serotonina, ácido γ -aminobutírico (GABA), acetilcolina, triptofano e catecolaminas. Os compostos produzidos no intestino podem induzir o aumento da permeabilidade da barreira intestinal, levando ao transporte de metabólitos nocivos através do eixo intestino-cérebro para o cérebro. Essas

observações reforçam a importância da microbiota intestinal nas patologias relacionadas ao cérebro e sua contribuição como uma ferramenta para o diagnóstico de doenças (45).

O eixo intestino-cérebro é uma via de sinalização bidirecional, complexa que conecta o trato gastrointestinal (TGI) ao sistema nervoso central (SNC) e permite a comunicação entre os dois sistemas. Através deste eixo, o cérebro passa a controlar o movimento do intestino, a secreção intestinal, funções sensoriais, e os sinais do intestino também podem afetar a função cerebral. Os metabólitos derivados da microbiota modulam funções do sistema nervoso e influenciam cascatas sinalizadoras em distúrbios neurodegenerativos relacionados à idade (47). Portanto, o papel principal do eixo é monitorar as funções intestinais e vincular, através de mediadores imunológicos e neuroendócrinos, os centros emocionais e cognitivos do cérebro com mecanismos intestinais periféricos (46). Nesta comunicação ocorre interferência de ambas as partes, se tornando de extrema importância para a manutenção da homeostase intestinal, bem como na etiologia de várias disfunções, distúrbios metabólicos e mentais (48).

BENEFÍCIOS DOS PROBIÓTICOS E PÓS-BIÓTICOS NA SAÚDE MENTAL

Nos últimos anos, um campo emergente de pesquisa revelou uma ligação entre a saúde mental e a microbiota intestinal (49). Os estudos apontam que as vias fisiopatológicas envolvidas na saúde mental, nos distúrbios cognitivos e do neurodesenvolvimento são influenciadas por distúrbios no equilíbrio da microbiota intestinal, sendo esta uma relação complexa e bidirecional.

A Tabela 1 reúne as características de estudos randomizados, duplo-cego, que tentaram relacionar distúrbios neurológicos e a ingestão de probióticos, já que estes são microrganismos vivos que, ao serem administrados em quantidades adequadas, podem conferir benefícios à saúde do hospedeiro, realizando a modulação da microbiota intestinal.

No estudo de Sato et al.(50), a intervenção com cápsulas probióticas com *Pediococcus acidilactici*, *Lactiplantibacillus plantarum*, e *L. plantarum*, demonstraram que a mistura probiótica reduziu os sintomas abdominais induzidos pelo estresse, principalmente a diarreia, o que resultou na melhora na qualidade de vida dos indivíduos. Além disso, foi observada uma diminuição da redução na IL-6 pró-inflamatória, e um aumento na IL-10 anti-inflamatória, em comparação com aqueles observados no início do estudo. No entanto, não foram detectadas diferenças entre os grupos em comparação com o placebo.

No grupo probiótico houve diminuição na relação quinurenina/triptofano, o que ocorre pela ausência da expressão da enzima quinurenina 3-hidroxilase em astrócitos (células da neuroglia), que direciona à quineurina (QUIN) para a formação de ácido quinurênico (QUINA) (49). O QUINA produzido pelos astrócitos é captado pelas células da micróglia, resultando no ácido quinolínico (AQ). A formação do AQ no cérebro ocorre principalmente nas células da micróglia e inibição da transmissão sináptica; o AQ pode levar à morte de células neuronais e degeneração neuronal.

Os efeitos de probióticos no metabolismo de quinurenina foram observados em dois estudos da Tabela 1 com participantes com transtorno depressivo maior (TDM), onde os grupos que receberam os probiótico apresentaram tanto diminuição da relação quinurenina/triptofano (49), quanto aumento na relação 3-hidroxiquinurenina/quinurenina (51). A relação triptofano/isoleucina foi observada no estudo de Kazemi (49), com aumento desta nos indivíduos que consumiram probióticos. O triptofano é um aminoácido essencial,

que atua como potencial protetor da saúde física e mental. Além disso, notam-se seus efeitos positivos através da microbiota do intestino em muitos processos fisiológicos por ser um precursor da serotonina, neurotransmissor que está relacionado aos distúrbios afetivos. A isoleucina também é um aminoácido essencial, absorvida no intestino delgado e auxilia no metabolismo energético. Em combinação, estes aminoácidos podem estar relacionados à redução da fadiga e do estresse.

Tabela 1 - Diferentes estudos sobre a relação entre distúrbios neurológicos e a ingestão de probióticos

Autores	Dimensão da amostra (controle/intervenção)	Duração	Gênero	Método de avaliação	Idade (anos)	Intervenção (tipo e dosagem)	Tipo de bactérias	Doença	Resultados
Sato, 2022 (50)	30/30	4 semanas	F/M	Escala Izumo (QOL), Escala de Bristol, SF-8 e WPAI-GH	47,4± 11,5, 46,3± 8,0	Ingestão de 1 cápsula de probióticos 1x10 ⁹ (KABP-021, KABP-022, e KABP-023) ou placebo por dia	<i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , e <i>L. plantarum</i>	SII com exposição habitual ao estresse	A intervenção com probióticos reduziu os problemas relacionados com a diarreia, melhorou as pontuações dos componentes mentais, caracteres emocionais e de saúde mental. Houve uma correlação entre a melhoria das pontuações de diarreia e o aumento da abundância de <i>Faecalibacterium</i> , produtora de ácido butírico, no intestino do grupo dos probióticos.
Tran, 2019 (52)	A:14; B:13 ; C:11; D:15; E:15.	28 dias	F/M	BAI, QCA-R, PANAS, NMR, PSWQ.	20,59 ± 2,65	A:16–20 espécies, 40b–50b UFC. B: 10–15 espécies, 40b–50b UFC. C: controle. D: 16–20 espécies, 10b–20b UFC. E: 10–15 espécies, 10b–20b UFC.	-	Ansiedade	A: controle da ansiedade e diminuição da preocupação. B: redução na ansiedade de pânico, aumento significativo na regulação do humor. C: sem chances no grupo controle. D: diminuição da ansiedade neurofisiológica. E: diminuição do afeto negativo
Kazemi, 2019 (49)	Probiótico: 28; Prebiótico: 27; Placebo: 26.	8 semanas	F/M	BDI	36,5 ± 8,03	Probiótico: sachês de 5g com $\geq 10 \times 10^9$ UFC. Prebiótico: galactooligossacarídeo.	Probiótico: <i>L. helveticus</i> R0052 and <i>B. longum</i> R0175.	TDM	Redução do escore BDI no grupo probiótico em relação aos demais. A relação quinurenina/triptofano diminuiu no grupo probiótico, enquanto a relação triptofano/isoleucina aumentou nesse mesmo grupo, ambos em relação ao placebo.

Lew, 2019 (53)	Probiótico: 52; Placebo:51	12 semanas	F/M	EPS-10 DASS-42	31,7 ± 11,1	Ingestão de 2 g de probiótico na dosagem fixa de 2 × 10 ¹⁰ UFC/sachê/dia ou placebo Probiótico: <i>L. plantarum</i> P8	<i>L. plantarum</i> P8	Estresse	Redução do estresse e ansiedade, bem como de citocinas pró-inflamatórias como IFN-γ e TNF-α. Melhora a memória e traços cognitivos.
Rudzki, 2019 (51)	30/30	8 semanas	F/M	HAM-D, SCL-90, EPS-10, ATP, RFFT, Stroop, TT, CVLT	38,90 ± 12 39,13 ± 9,96	Ingestão do probiótico LP299v com IRSR por 8 semanas	<i>L. Plantarum</i> 299v (LP299v)	TDM em tratamento com IRSR	Houve uma melhora nas funções cognitivas, diminuição significativa na concentração de quinurenina e aumento significativo na relação 3-hidroxiquinurenina/quinurenina no grupo LP299v em comparação com o grupo placebo.
Majeed, 2018 (54)	40	90 dias	F/M	HAM-D, MADRS, CES-D, IBS-QOL, CGI-I, CGI-S, RMBPC, GI-DQ, mESS	43,88 ± 9,85, 40,36 ± 10,28	Ingestão de cápsula de 600 mg com MTCC 5856 na dose diária de 2 × 10 ⁹ UFC (2 bilhões de esporos)	<i>B. coagulans</i> MTCC 5856	Depressão e SII	Melhora dos sintomas da depressão, SII e dos níveis séricos de mieloperoxidase em comparação com o grupo placebo.

Legenda: APT: Teste de Atenção e Percepção; BAI: Inventário de ansiedade de Beck; BDI: Inventário de Depressão de Beck; CES-D: Escala de Depressão; CGI-I: Escala de Avaliação de Impressão Clínica Global de Melhoria; CGI-S: Escala de Avaliação de Gravidade de Impressão Clínica Global; CVLT: Teste de Aprendizagem Verbal da Califórnia; EPS-10: Escala de Estresse Percebido; GI-DQ: Questionário de Desconforto Gastrointestinal; HAM-D: Escala de Classificação de Depressão de Hamilton; IBS-QOL: Questionário de Qualidade de Vida da Síndrome do Intestino Irritável; IRSR: inibidores seletivos da recaptção da serotonina; MADRS: Escala de Avaliação de Depressão de Montgomery–Asberg; MESS: Escala de Sonolência de Epworth Modificada; NMR: Negative mood regulation; PANAS: Escala de Afetos Positivos e Afetos Negativos; PSWQ: Penn state worry questionnaire; QCA-R: Questionário de controle de ansiedade revisado; RFFT: Teste de Fluência Figural de Ruff; RMBPC: Demência - Lista de Verificação de Problemas de Memória e Comportamento Revisada; SCL-90: Lista de Verificação de Sintomas; SF-8: Short Form-8; SII: Síndrome do Intestino Irritável; TDM: transtorno depressivo maior; TT: Teste de Trilhas; WPAI-GH: Work Productivity and Activity Impairment Questionnaire: General Health.

Em uma revisão, Harding e Bishop (55), afirmam que a suplementação de probióticos para a saúde mental ainda possui evidências limitadas, pois fatores como tipo de produto e dosagem ainda não estão bem estabelecidos. Além disso, estudos atuais apontam que intervenções no estilo de vida, voltados para uma dieta de perfil mediterrâneo, prática de atividade física e controle do estresse podem ser amplamente eficazes.

CONCLUSÃO

Foi descrito brevemente probióticos e pós-bióticos, a relação do eixo intestino-cérebro e apresentado estudos disponíveis na literatura que relacionaram os seus efeitos benéficos com o eixo. Os estudos apontaram que a modulação da microbiota intestinal com probióticos e pós-bióticos possuem capacidade de interferir benéficamente nos parâmetros relacionados com a saúde mental, como ansiedade, depressão e estresse. Entretanto, mais estudos são necessários para confirmar a ação destes no eixo intestino-cérebro, tanto para indivíduos saudáveis quanto para indivíduos com transtornos mentais.

REFERÊNCIAS

1. Jäger R, Mohr AE, Carpenter KC, Kerksick CM, Purpura M, Moussa A, et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Probiotics. *J Int Soc Sports Nutr.* 2019 Jan 15;16(1).
2. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J Nutr.* 1995 Jun;125(6):1401–12.
3. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim H-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol.* 2006 Jun;100(6):1171–85.
4. Ashraf R, Shah NP. Immune System Stimulation by Probiotic Microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014 Jan 5;54(7):938–56.
5. La Fata G, Weber P, Mohajeri MH. Probiotics and the Gut Immune System: Indirect Regulation. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2018 Mar 31;10(1):11–21.
6. Llewellyn A, Foey A. Probiotic Modulation of Innate Cell Pathogen Sensing and Signaling Events. *Nutrients.* 2017 Oct 23;9(10):1156.
7. Dahiya D, Nigam PS. The Gut Microbiota Influenced by the Intake of Probiotics and Functional Foods with Prebiotics Can Sustain Wellness and Alleviate Certain Ailments like Gut-Inflammation and Colon-Cancer. *Microorganisms.* 2022 Mar 20;10(3):665.
8. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio G V, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Nov 10;10(November).
9. Benjak Horvat I, Gobin I, Kresović A, Hauser G. How can probiotic improve irritable bowel syndrome symptoms? *World J Gastrointest Surg.* 2021 Sep 27;13(9):923–40.
10. da Silva ST, dos Santos CA, Bressan J. Intestinal microbiota; relevance to obesity and modulation by prebiotics and probiotics. *Nutr Hosp.* 2013;28(4):1039–48.

11. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015;28(2):203–9.
12. Wallace CJK, Milev R. The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. *Ann Gen Psychiatry*. 2017 Dec 20;16(1):14.
13. Vinderola G, Sanders ME, Salminen S. The Concept of Postbiotics. *Foods*. 2022 Apr 8;11(8):1077.
14. Saad SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Rev Bras Ciências Farm*. 2006 Mar;42(1):1–16.
15. Ozma MA, Abbasi A, Akrami S, Lahouty M, Shahbazi N, Ganbarov K, et al. Postbiotics as the key mediators of the gut microbiota-host interactions. *Infez Med*. 2022 Jun 6;30(2).
16. Reque PM, Brandelli A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends Food Sci Technol*. 2021 Aug; 114:1–10.
17. Brasil: Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. 2019.
18. FAO/WHO. Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 2001.
19. Panghal A, Janghu S, Virkar K, Gat Y, Kumar V, Chhikara N. Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach. *Food Biosci*. 2018 Feb; 21:80–9.
20. Pimentel TC, Gomes de Oliveira LI, de Lourdes Chaves Macedo E, Costa GN, Dias DR, Schwan RF, et al. Understanding the potential of fruits, flowers, and ethnic beverages as valuable sources of techno-functional and probiotics strains: Current scenario and main challenges. *Trends Food Sci Technol*. 2021 Aug; 114:25–59.
21. Costa N de A, Paula D de A, Brêda JD, Vieira ÉNR, Martins EMF, Ramos AM. A symbiotic dessert composed of yam (*Dioscorea* sp.) and Ubá mango pulp (*Mangifera indica* L.). *LWT*. 2020 Nov; 133:110074.
22. de Oliveira PM, Leite Júnior BR de C, Martins EMF, Martins ML, Vieira ÉNR, de Barros FAR, et al. Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli. *J Food Sci Technol*. 2021 Jan 15;58(1):98–109.
23. Paula DA, Costa NA, Martins EMF, Oliveira EB, Vieira ÉNR, Dias MMS, et al. Viability of *Lactiplantibacillus plantarum* in mixed carrot and acerola juice: Comparing unencapsulated cells × encapsulated cells. *J Food Process Preserv*. 2021 Sep 19;45(9).
24. Bedani R, Rossi EA, Isay Saad SM. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiol*. 2013 Jun;34(2):382–9.

25. Lai C-T, Chen C-Y, She S-C, Chen W-J, Kuo TBJ, Lin H-C, et al. Production of *Lactobacillus brevis* ProGA28 attenuates stress-related sleep disturbance and modulates the autonomic nervous system and the motor response in anxiety/depression behavioral tests in Wistar–Kyoto rats. *Life Sci.* 2022 Jan; 288:120165.
26. Mao L, Pan Q, Yuan F, Gao Y. Formation of soy protein isolate-carrageenan complex coacervates for improved viability of *Bifidobacterium longum* during pasteurization and in vitro digestion. *Food Chem.* 2019 Mar; 276:307–14.
27. Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J Nutr Biochem.* 2009 Oct;20(10):743–52.
28. Thorakkattu P, Khanashyam AC, Shah K, Babu KS, Mundanat AS, Deliephan A, et al. Postbiotics: Current Trends in Food and Pharmaceutical Industry. *Foods.* 2022 Oct 5;11(19):3094.
29. Terpou A, Papadaki A, Lappa I, Kachrimanidou V, Bosnea L, Kopsahelis N. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients.* 2019 Jul 13;11(7):1591.
30. Santos DC dos, Oliveira Filho JG de, Santana ACA, Freitas BSM de, Silva FG, Takeuchi KP, et al. Optimization of soymilk fermentation with kefir and the addition of inulin: Physicochemical, sensory and technological characteristics. *LWT.* 2019 May; 104:30–7.
31. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017 Aug 14;14(8):491–502.
32. Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, Mata-Haro V, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B, et al. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol.* 2018 May; 75:105–14.
33. Bourebaba Y, Marycz K, Mularczyk M, Bourebaba L. Postbiotics as potential new therapeutic agents for metabolic disorders management. *Biomed Pharmacother.* 2022 Sep; 153:113138.
34. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* 2011 Aug 16;6(3):261–74.
35. Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley EMM, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021 Sep 4;18(9):649–67.
36. Wegh, Geerlings, Knol, Roeselers, Belzer. Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep

- 20;20(19):4673.
37. Deshpande G, Athalye-Jape G, Patole S. Para-probiotics for Preterm Neonates—The Next Frontier. *Nutrients*. 2018 Jul 5;10(7):871.
 38. Umu ÖCO, Rudi K, Diep DB. Modulation of the gut microbiota by prebiotic fibres and bacteriocins. *Microb Ecol Health Dis*. 2017 Jan 1;28(1):1348886.
 39. Kataria J, Li N, Wynn JL, Neu J. Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial? *Nutr Rev*. 2009 Sep;67(9):546–50.
 40. Sharma M, Chandel D, Shukla G. Antigenotoxicity and Cytotoxic Potentials of Metabiotics Extracted from Isolated Probiotic, *Lactobacillus rhamnosus* MD 14 on Caco-2 and HT-29 Human Colon Cancer Cells. *Nutr Cancer*. 2020 Jan 2;72(1):110–9.
 41. Sugawara T, Sawada D, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, et al. Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function. *Microb Ecol Heal Dis*. 2016 Mar 14;27.
 42. Hugon P, Dufour J, Colson P, Fournier P, Sallah K, Raoult D. Review A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(10):1211–9.
 43. Pearce SC, Coia HG, Karl JP, Pantoja-feliciano IG, Zachos NC, Racicot K. Intestinal in vitro and ex vivo Models to Study Host-Microbiome Interactions and Acute Stressors. *Front Physiol*. 2018;9(November).
 44. Askarova S, Umbayev B, Masoud A, Kaiyrylykzy A. The Links Between the Gut Microbiome, Aging, Modern Lifestyle and Alzheimer’s Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(March):1–12.
 45. Krishaa L, Kheng T, Ng S, Ning H, Ching J. Gut-brain axis through the lens of gut microbiota and their relationships with Alzheimer’s disease pathology: Review and recommendations. *Mech Ageing Dev*. 2023;211(February):111787.
 46. Varesi A, Campagnoli LIM, Fahmideh F, Pierella E, Romeo M, Ricevuti G, et al. The Interplay between Gut Microbiota and Parkinson’s Disease: Implications on Diagnosis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 14;23(20):12289.
 47. Bravo JA, Forsythe P, Chew M V, Escaravage E, Savignac HM. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(38):16050–5.
 48. Nichols E, Szeoke CEI, Vollset SE, Abbasi N, Abd-Allah F, Abdela J, et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer’s disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(1):88–106.
 49. Kazemi A, Noorbala AA, Azam K, Eskandari MH, Djafarian K. Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive

- disorder: A randomized clinical trial. *Clin Nutr.* 2019;28(2):522–8.
50. Sato T, Honda S, Tominaga Y, Miyakoshi Y, Ueda T, Sawashita J. A probiotic blend improves defecation, mental health, and productivity in healthy Japanese volunteers under stressful situations. *Heliyon.* 2022 Sep;8(9):e10614.
 51. Rudzki L, Ostrowska L, Pawlak D, Małus A, Pawlak K, Waszkiewicz N, et al. Probiotic *Lactobacillus Plantarum* 299v decreases kynurenine concentration and improves cognitive functions in patients with major depression: A double-blind, randomized, placebo controlled study. *Psychoneuroendocrinology.* 2019 Feb; 100:213–22.
 52. Tran N, Zhebrak M, Yacoub C, Pelletier J, Hawley D. The gut-brain relationship: Investigating the effect of multispecies probiotics on anxiety in a randomized placebo-controlled trial of healthy young adults. *J Affect Disord.* 2019;252(June):271–7.
 53. Lew L, Hor Y, Asmaa N, Yusoff A, Choi S, Yusoff MSB, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* P8 alleviated stress and anxiety while enhancing memory and cognition in stressed adults: A randomised , double-blind , placebo-controlled study. *Clin Nutr.* 2019;38(5):2053–64.
 54. Majeed M, Nagabhushanam K, Arumugam S, Ali F. *Bacillus coagulans* MTCC 5856 for the management of major depression with irritable bowel syndrome: a randomised, double- blind, placebo controlled, multi-centre, pilot clinical study. *Food Nutr.* 2018;1(June):1–15.
 55. Harding SL, Bishop J. The Journal for Nurse Practitioners The Gut Microbiome, Mental Health, and Cognitive and Neurodevelopmental Disorders: A Scoping Review. *TJNP J Nurse Pract.* 2022;18(7):719–25.

Capítulo 13

DOI: 10.53934/IISEMICRO-13

A IMPORTÂNCIA DAS BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE ALIMENTOS NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS CAUSADORES DE DOENÇAS: REVISÃO DE LITERATURA

Jéssica Débora de Souza Davi *; Amanda Henrique da Costa Bento ; Lídia Rejane da Silva Macedo 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: jessicadebora1@hotmail.com

Resumo: Nos dias atuais, devido a mudança do estilo de vida das pessoas, a busca por alimentação fora de casa tem aumentado. Com isso, se faz necessário que os restaurantes adotem práticas que tornem essas refeições seguras para os clientes. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo descrever e analisar as produções científicas sobre a atual situação dos restaurantes em relação às Boas Práticas de Manipulação (BPM). O estudo foi realizado por meio de revisão bibliográfica de artigos dos últimos 5 anos, utilizando as bases de dados LILACS, PUBMED e SCIELO. Foram selecionados 10 artigos que preencheram todos os critérios de inclusão. Como observado, os restaurantes têm adotado nos últimos anos às BPM, contribuindo para o controle dos microrganismos causadores de doenças, porém é necessário aprimorar ainda mais os aspectos higiênicos. Sendo assim, é importante que os estabelecimentos produtores de refeições possam assegurar uma higiene sanitária apropriada e treinamento em BPM para os manipuladores de alimentos, com o intuito de prevenir o surgimento de doenças, oferecendo alimentos seguros para os consumidores.

Palavras-chave: boas práticas; higiene; segurança alimentar; serviços de alimentação

Abstract: Nowadays, due to the change in people's lifestyle, the search for food away from home has increased. Thus, it is necessary for restaurants to adopt practices that make these meals safe for customers. Therefore, this work aims to describe and analyze the scientific productions on the current situation of restaurants in relation to Good Handling Practices (GMP). The study was carried out through a bibliographic review of articles from the last 5 years, using LILACS, PUBMED and SCIELO databases. Ten articles that met all inclusion criteria were selected. As noted, restaurants have adopted BPM in recent years, guaranteed to control disease-causing microorganisms, but it is necessary to improve even more the hygienic aspects. Therefore, it is important that food producing establishments can ensure proper sanitary hygiene and GMP training for food handlers, in order to prevent diseases, and provide safe food for consumers.

Keywords: good habits; hygiene; food security; food services

INTRODUÇÃO

Com a mudança no estilo de vida das pessoas, a frequência do consumo de refeições fora de casa aumentou nos últimos anos, conseqüentemente, elevou-se a demanda dos restaurantes e lanchonetes. O estabelecimento por sua vez necessita garantir ao seu cliente a execução das Boas Práticas de Manipulação (BPM) desde a produção da matéria-prima até o seu consumo, seguindo todas as legislações e normas técnicas aplicadas aos serviços de alimentação (1).

No Brasil, houve nos últimos anos um aumento do número de restaurantes, sendo que em 2021, o setor de alimentação coletiva forneceu cerca de 35,5 milhões de refeições/dia, movimentando uma cifra de 19,3 bilhões de reais por ano. Este contexto revela ainda mais a importância dos meios de controle por parte dos estabelecimentos, a fim de possibilitar a oferta de alimentos seguros, que não causem Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (2).

Segundo a RDC 216/04 (3), entende-se como agentes contaminantes “substâncias ou agentes de origem biológica, química ou física, estranhos ao alimento, que sejam considerados nocivos à saúde humana ou que comprometam a sua integridade”.

De acordo com dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), entre os anos de 2012 a 2021 foram notificados um total 6.347 surtos de DTA's, o que representa uma média anual de cerca de 705 casos, para o número de doentes há uma média de quase 12 mil pessoas e cerca de aproximadamente 10 óbitos (4).

As práticas inadequadas de higiene e a manipulação de alimentos por pessoas inabilitadas estão entre as principais causas para a ocorrência das DTAs. A manipulação inadequada dos alimentos pode estar relacionada a 97% dos casos de doenças transmitidas por alimentos associadas a restaurantes. Com isso, têm-se que os cuidados higiênicos no processo de produção e a capacitação dos manipuladores de alimentos são fatores cruciais para a prevenção da ocorrência de DTA's (5).

Conseqüente, os estabelecimentos que mantêm seus manipuladores capacitados e treinados oferecem menos risco de contaminação de alimentos, pois quando se tem manipuladores conscientes sobre as BPM, essa conscientização refletirá na qualidade e segurança das refeições. Treinar, capacitar e orientar os manipuladores de alimentos sobre os cuidados na aquisição, armazenamento, manipulação, higiene e exposição à venda é de grande valor e de suma importância para o estabelecimento do ramo alimentício, além de propiciar uma maior qualidade dos serviços prestados aos clientes dos restaurantes.

Diante da importância do tema para a saúde coletiva, este trabalho propõe verificar na literatura a situação atual dos restaurantes em relação às Boas Práticas de Manipulação de Alimentos (BPM) e sua importância para o controle de microrganismos causadores de doenças.

MATERIAL E MÉTODOS

Atualmente, com os avanços tecnológicos, fomentado também pela quantidade de novos estudos científicos que surgem a cada dia, a pesquisa bibliográfica tem se tornado uma nova ferramenta nas chamadas bases de dados. Por meio da busca de estudos já elaborados, a revisão bibliográfica tem objetivo de impulsionar o aprendizado, amadurecendo os conhecimentos pré-existentes levando em consideração suas dimensões, avanços e novas descobertas nas diferentes áreas do conhecimento (6).

O estudo foi realizado por meio de buscas online de produções científicas nacionais e internacionais a respeito das Boas Práticas de Manipulação (BPM) em restaurantes, nas bases de dados: SCIELO - Scientific Electronic, LILACS - Library Online, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde e PubMed: MEDLINE® Retrieval on the World Wide Web Fact Sheet, no período de fevereiro a abril de 2023, tendo como questão norteadora se às boas práticas garantem a proteção dos alimentos e conseqüentemente dos consumidores em relação aos microrganismos causadores de doença.

Para isso, foram utilizados como critérios de inclusão artigos publicados no período de 2017 a 2022, completos, nos idiomas português, espanhol e inglês. Foram excluídos do estudo dissertações, teses, monografias, revisões, bem como artigos científicos repetidos, tendo como base de busca as seguintes palavras-chave: restaurantes, boas práticas e higiene de alimentos. Foi realizada a leitura dos resumos dos artigos onde foram excluídos aqueles que não atendiam ao objetivo do estudo. Após avaliação, foram excluídas 3.557 publicações, e identificados 10 artigos que preencheram todos os critérios (Figura 1).

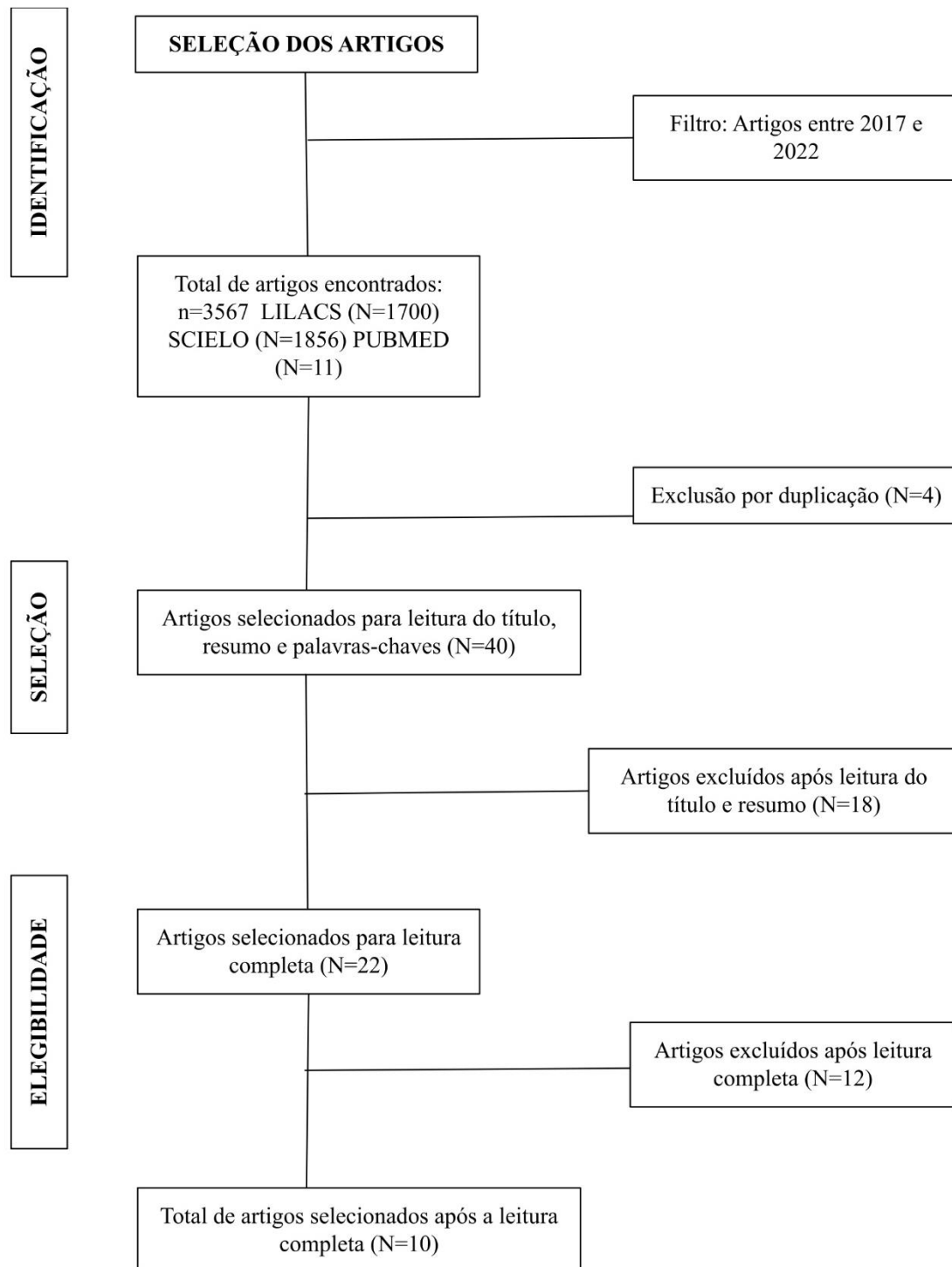


Figura 1: Fluxograma da coleta e seleção dos artigos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a leitura dos resumos, foram selecionados 18 artigos para leitura na íntegra. Depois de serem analisados, 10 artigos foram selecionados de acordo com os critérios deste estudo. Os demais foram excluídos devido não estarem dentro dos critérios de inclusão.

No Quadro 1 podemos observar os artigos estudados, sintetizados entre seus títulos, autores, ano de publicação e objetivos, com o intuito de trazer uma maior clareza em relação às informações citadas. Pode-se também verificar a distribuição dos estudos de acordo com o ano de publicação, com maior ocorrência no ano de 2021 (30%), seguido de 2017 (30%), 2020 (20%), 2019 e 2018 (10% cada ano).

Quadro 1 - Autores, bases de dados, objetivos e principais conclusões dos artigos selecionados.

Autores	Título	Ano	Objetivos
Araújo ACM et. al.	Adequação das Boas Práticas de Manipulação de alimentos durante a pandemia da covid-19 em restaurantes comerciais.	2021	Verificar, por meio de relatos, como os empreendedores se ajustaram às condições impostas para a reabertura dos serviços oferecidos em restaurantes comerciais durante a pandemia da Covid-19.
Araújo CL.	Avaliação dos procedimentos de limpeza e desinfecção das superfícies de uma unidade centralizada de produção.	2021	Avaliar por meio de análise microbiológica os procedimentos de limpeza e desinfecção das superfícies de uma Unidade Centralizada de Produção de fórmulas nutricionais customizadas.
Lachno AS, Oliveira MS, Klaic PMA, Hermanns G.	Boas Práticas de Manipulação em serviços de alimentação no município de Santa Rosa-RS.	2021	Verificar a adoção e adequação das BPM em serviços de alimentação no município de Santa Rosa, no noroeste do estado do Rio Grande do Sul, utilizando-se o <i>check-list</i> proposto pela Portaria 78/2009 da SES/RS.
Santos JAR et. al.	Mapeamento dos processos de Boas Práticas na Manipulação de alimentos com ênfase na redução de custos, qualidade e segurança alimentar em um restaurante de Foz do Iguaçu/PR.	2020	Apresentar o mapeamento dos processos de Boas Práticas na Manipulação de alimentos com ênfase na redução de custos, aliados à qualidade e segurança alimentar.
Soares RT, Nishida W.	Boas Práticas de Fabricação em Unidades de Alimentação e Nutrição comerciais com modalidade de distribuição autosserviço.	2020	Analisar a implantação das Boas Práticas de Fabricação em UAN comerciais de autosserviço da região Central do município de boas práticas em unidades de alimentação comerciais São José, Santa Catarina, comparando as unidades que possuem nutricionista e as que não possuem.
Belphman C, Szczerpa BS.	Adequação do manual de boas práticas e dos procedimentos	2019	Analisar a adequação destes documentos em serviços de

	operacionais padronizados em serviços de alimentação de Ponta Grossa, Paraná.		alimentação.
Giuliani CS et. al.	Avaliação e treinamento sobre as Boas Práticas de Fabricação em restaurantes self-service no município de Santa Maria - RS.	2018	Avaliar as condições higiênico-sanitárias, em três restaurantes tipo self-service no município de Santa Maria - RS e realizar um treinamento sobre Boas Práticas de Fabricação para manipuladores de alimentos.
Dias RMF, Santos ICB.	Aplicação das boas práticas em restaurantes e lanchonetes localizados em instituições de ensino superior de Salvador, BA.	2017	Diagnosticar os procedimentos de boas práticas executados por manipuladores de alimentos em restaurantes e lanchonetes localizados na área interna de uma IES em Salvador, Bahia.
Silva RNA, Santos APL, Soares LS.	Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores em restaurantes comerciais e institucionais da cidade de Salvador, BA.	2017	Realizar a avaliação microbiológica das mãos de manipuladores em restaurantes comerciais e institucionais da cidade de Salvador/BA, através de pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>coliformes termotolerantes</i> .
Medeiros MGGA, Carvalho LR, Franco RM.	Percepção sobre a higiene dos manipuladores de alimentos e perfil microbiológico em restaurante universitário.	2017	Analisar a percepção dos manipuladores de alimentos em relação às práticas de higiene no local de trabalho e a correlacionar com os resultados das análises bacteriológicas e das observações sistematizadas, em um Restaurante Universitário no Rio de Janeiro.

Por meio da análise dos artigos selecionados, foi possível verificar que os trabalhos são de diversos periódicos científicos. Foi possível observar que quando aplicadas de forma correta pelos colaboradores, às Boas Práticas de Manipulação são bastante eficazes no combate a contaminação dos alimentos. De modo geral, verifica-se que nos últimos anos os restaurantes necessitam ainda mais de instruções relacionadas às boas práticas. Isso também ressalta a importância de profissionais especializados nesses locais, tais como técnicos e tecnólogos de alimentos, engenheiros de alimentos, nutricionistas, entre outros profissionais responsáveis por avaliar se as práticas de higiene estão sendo executadas corretamente nos estabelecimentos.

Santos et. al. (7), em um estudo observacional em um restaurante de Foz de Iguaçu-PR, observaram o comportamento dos colaboradores durante a manipulação dos alimentos. Diversas vezes foi visto a utilização de objetos pessoais em cima de bancadas, assim como na área de produção, como por exemplo o celular, considerado uma fonte de alto risco de contaminação. Além disso, ressaltaram a possibilidade de que os manipuladores de alimentos podem ser uma possível fonte de contaminação, por meio

das mãos mal higienizadas. Tais atitudes podem levar a contaminação dos alimentos por alguns microrganismos que colocam em risco a segurança alimentar, como por exemplo, o *Staphylococcus aureus*, *Encherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, que podem ser transferidos para os alimentos.

Em um estudo de caso, Araújo (8) mostrou por meio de análise microbiológica que superfícies de uma área de produção de alimentos encontravam em condições higiênicas insatisfatórias, no qual verificou-se a presença de microrganismos, dentre eles, fungos. A higiene inadequada e falta de conservação de equipamentos favorecem o acúmulo de matéria orgânica e conseqüentemente o crescimento microbiano. Realizar treinamentos em boas práticas para os colaboradores torna-se um método preventivo, responsável por impedir tais situações indesejadas (9).

Uma pesquisa realizada com restaurantes comerciais e institucionais da cidade de Salvador-BA para a avaliação microbiológica das mãos de manipuladores, verificou-se que as amostras obtidas no ramo institucional apresentaram maior percentual de contaminação (73,4%) por *S. aureus* que os comerciais (33,3%). Tal análise revela a deficiência na higienização das mãos que pode acarretar também na contaminação dos alimentos produzidos (10).

Resultados semelhantes aos de Medeiros, Carvalho e Franco (11) que, em uma pesquisa bacteriológica nas mãos e equipamentos de proteção individual de manipuladores em um restaurante do Rio de Janeiro, obtiveram 61,36% de resultados positivos para coliformes, *Staphylococcus* coagulase positiva e bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas. Em relação aos utensílios, 25% dos resultados foram positivos para as bactérias pesquisadas, demonstrando que o serviço possui falhas, com riscos à saúde do consumidor.

Avaliando as condições higiênico-sanitárias, em três restaurantes tipo *self-service* no município de Santa Maria-RS, Giuliani et. al. (12) constataram que dentre os os itens Edificação, instalações, equipamentos e utensílios; Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; Controle integrado de pragas; Abastecimento de água; Manejo de resíduos; Manipuladores; Matérias-primas, ingredientes e embalagens e Preparação do alimento, o que obteve maior índice de inadequação foi “Manipuladores”, apresentando classificações entre péssimo e ruim, não estando conforme a legislação.

Um estudo transversal de caráter descritivo e exploratório, em que foram levantadas as conformidades e não conformidades, em relação às BPM de alimentos realizado por Lachno et. al. (13) em serviços de alimentação no município de Santa Rosa-RS, após aplicação de *check-list*, evidenciou que apenas 56,8% dos itens analisados se mostraram em conformidade com a legislação. A não conformidade de acordo com as normas estabelecidas na legislação contribui para uma baixa qualidade higiênico-sanitária dos alimentos produzidos, o que sugere que os estabelecimentos invistam em treinamentos e medidas para a correção dessas falhas.

Tais achados demonstram a importância da implantação das boas práticas em restaurantes para o controle higiênico-sanitário, e conseqüentemente a segurança dos alimentos. Para Belphman e Szczerepa (14), a adequação do Manual de Boas Práticas (MBP) e os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) em serviços de

alimentação, são importantes para garantir as condições higiênico-sanitárias de preparo do alimento.

Para Dias e Santos (15), o treinamento em Boas Práticas de Manipulação é o ponto de partida para proprietários e manipuladores de alimentos, de estabelecimentos produtores de alimentos com o propósito de preservar a saúde do consumidor e a manutenção do estabelecimento no mercado. Além disso, ações higiênicas relacionadas à manipulação e distribuição de alimentos, devem ser reforçadas para prevenir e controlar a propagação de microrganismos causadores de doenças, evidenciando que BPM devem ser inseridas no cotidiano de quem prepara refeições.

Outro ponto importante a ser evidenciado é a importância de profissionais que fiscalizem o cumprimento das normas sanitárias nesses estabelecimentos. Um estudo realizado em restaurantes comerciais da região central de São José, Santa Catarina-SC, mostrou que de sete restaurantes pesquisados, apenas dois contavam com a presença de profissionais responsáveis por essa fiscalização, sendo que o percentual de adequação das duas unidades referentes a legislação após a aplicação de *check-list* foi de 90% e 96,6%, estando dentro das normas, diferentemente daqueles locais que não apresentavam profissionais (16).

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados encontrados, é evidente a importância da aplicação das Boas Práticas de Manipulação (BPM) em restaurantes, usando métodos adequados de higienização, além do treinamento de colaboradores com o objetivo de garantir a qualidade das refeições para os consumidores, evitando assim a propagação de doenças decorrentes de alimentos contaminados por microrganismos. Além disso, se faz importante a utilização de meios que garantam a qualidade dos alimentos que estão sendo servidos, com o auxílio da supervisão de profissionais, tais como técnicos, tecnólogos e engenheiros de alimentos e nutricionistas, que irão verificar o cumprimento das normas sanitárias vigentes.

Pode-se concluir que um treinamento em boas práticas para produção deverá ser ponto de partida para proprietários e manipuladores de alimentos, tendo em vista que os mesmos são responsáveis por higienizar corretamente os insumos que serão base para o preparo das refeições. Sendo assim, a realização periódica de treinamentos em BPM para os colaboradores é de suma importância para evitar a contaminação cruzada e propagação de microrganismos causadores de doenças, e assim preservar a saúde do consumidor e a manutenção do estabelecimento no mercado.

REFERÊNCIAS

1. Dias RMF, Santos ICB. Aplicação das boas práticas em restaurantes e lanchonetes localizados em instituições de ensino superior de Salvador, BA. Hig Alimet. 2017;31(270/271):40-44.
2. Aberc. História e mercado [Internet]. 2021 [acesso em 2023 Abr 26]. Disponível em: <https://www.aberc.com.br/historia-e-mercado/>.

3. Brasil. RDC 216, de 15 de Setembro de 2004. Estabelece procedimentos de boas práticas para serviço de alimentação, garantindo as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 setembro de 2004.
4. Ministério da Saúde (BR). Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil: informe 2022 [Internet]. 2022. [acesso em 2023 Maio 03]. Disponível em: <https://shre.ink/Q9Be>.
5. Aguiar OB, Kraemer FB. Educação formal, informal e não-formal na qualificação profissional dos trabalhadores de alimentação coletiva. *Nutrire*. 2010;35(3):87-96.
6. Brito APG, Oliveira GS, Silva AS. A importância da pesquisa bibliográfica no desenvolvimento de pesquisas qualitativas na área de educação. *Cad da Funcamp*. 2021;20(44):1-15.
7. Santos JAR, Ordoñez AM, Souza IF, Arcanjo FM, Nascimento CRB. Mapeamento dos processos de Boas Práticas na Manipulação de alimentos com ênfase na redução de custos, qualidade e segurança alimentar em um restaurante de Foz do Iguaçu/PR. *Demetra: Ali, Nutri & Saúd*. 2020;1(10):1-13.
8. Araújo CL. Avaliação dos procedimentos de limpeza e desinfecção das superfícies de uma unidade centralizada de produção. *Reva Bras de Agrotec*. 2021;11(2):493-497.
9. Santos AO, Sampaio ANCE, Martins OA, Pinto JPAN, Pereira JG. Avaliação da contaminação de equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores de um serviço de nutrição e dietética. *Arch of Vet Sci*. 2020;25(3):74-84.
10. Silva RNA, Santos APL, Soares LS. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores em restaurantes comerciais e institucionais da cidade de Salvador, BA / Microbiological evaluation of the hands of manipulators in commercial and institutional restaurants in the city of Salvador, BA. *Hig Aliment*. 2017;31(270/271):103-108.
11. Medeiros MGGA, Carvalho LR, Franco RM. Percepção sobre a higiene dos manipuladores de alimentos e perfil microbiológico em restaurante universitário. *Ciênc Saúde Colet*. 2017;22(2):383-392.
12. Giuliani CSG, Alves AF, Cirolini A, Daniel AP, Rosa VP. Avaliação e treinamento sobre as Boas Práticas de Fabricação em restaurantes self-service no município de Santa Maria - RS. In: *Anais do Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*; São Paulo. Brasil. Campinas : Galoá; 2018;10(1):1-5.

13. Belphman C, Szczerepa SB. Adequação do manual de boas práticas e dos procedimentos operacionais padronizados em serviços de alimentação de Ponta Grossa, Paraná. *Vig San em Deb.* 2019;7(2):69-74.
14. Lachno AS, Oliveira MS, Klaic PMA, Hermanns G. Boas Práticas de Manipulação em serviços de alimentação no município de Santa Rosa-RS. *Rev de Cien e Inov.* 2021;7(1):1-19.
15. Araújo ACM, Soares MM, Gomes LL, Adami AAV. Adequação das Boas Práticas de Manipulação de alimentos durante a pandemia da covid-19 em restaurantes comerciais. *Enc Biosf.* 2021;18(37):17-31.
16. Soares RT, Nishida W. Boas práticas de fabricação em Unidades de Alimentação e Nutrição comerciais com modalidade de distribuição autosserviço. *J Health Sci Inst.* 2020;38(1):58-63

Capítulo 14

DOI: 10.53934/IISEMICRO-14

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE FILMES BICAMADA À BASE DE AMIDO DE BATATA-DOCE COM ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*THYMUS VULGARIS*) ENCAPSULADO EM NANOFIBRAS DE ZEÍNA PARA A APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Jéssica Silveira Vitoria *; Denise Oliveira Pacheco ; Laura Martins da Fonseca ; Tatiane Kuka Valente Gandra ; Elessandra da Rosa Zavareze ; Eliezer Avila Gandra 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: jessicasilveiravitoria@gmail.com

Resumo: O controle microbiano é uma preocupação constante na indústria de alimentos. A utilização de conservantes naturais para alimentos, bem como de embalagens bioativas capazes de inibir e/ou inativarem o crescimento bacteriano vem ganhando atenção. Nesse cenário, no presente trabalho objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana de filmes bicamada à base de amido de batata-doce com óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) (OET) encapsulado em nanofibras de zeína contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O filme foi produzido pela técnica de *casting* e as nanofibras de zeína com óleo essencial encapsulado por meio da técnica de *electrospinning*. A avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de microatmosfera. Os resultados indicaram atividade antimicrobiana na concentração de 65% (p/v) do OET contra as bactérias testadas. Houve redução de 97% e 90% para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Deste modo foi possível concluir que o filme bicamada antimicrobiano apresenta potencial para uma possível aplicação como embalagem ativa para alimentos.

Palavras-chave: compostos bioativos; *Escherichia coli*; microatmosfera; *Staphylococcus aureus*

Abstract: Microbial control is a constant concern in the food industry. Using natural food preservatives and bioactive packaging capable of inhibiting and/or inactivating bacterial growth has been receiving increasing attention. In this scenario, this work aimed to evaluate the antimicrobial activity of bilayer films based on potato starch with thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) (TEO) encapsulated in zein nanofibers against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The film was produced using the casting technique and the zein nanofibers with essential oil encapsulated using the electrospinning technique. In vitro evaluation of the antimicrobial activity was determined by the micro-atmosphere method. The results indicated antimicrobial activity at the concentration of 65% (w/v) of TEO against the tested bacteria. There was a 97% and 90% reduction for *S. aureus* and *E. coli*, respectively. Therefore, it can be concluded

that the antimicrobial bilayer film has the potential for a possible application as active food packaging.

Keywords: bioactive compounds; *Escherichia coli*; micro-atmosphere; *Staphylococcus aureus*

INTRODUÇÃO

Segundo o Ministério da Saúde (1), Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) são aquelas causadas pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados. Existem mais de 250 tipos de DTHA no mundo, podendo ser causadas por bactérias e suas toxinas, vírus, micotoxinas, parasitas intestinais oportunistas ou substâncias químicas. É considerado surto de DTHA quando duas ou mais pessoas apresentam doença ou sinais e sintomas semelhantes após ingerirem alimentos e/ou água da mesma origem, normalmente em um mesmo local. Entre os anos de 2012 e 2021 foram notificados no Brasil um total de 6.347 surtos de DTHA, a maioria das ocorrências (37,7%) foi causada em residências e os principais agentes etiológicos foram *Escherichia coli* (29,6%) e *Staphylococcus aureus* (12,9%) (2).

Escherichia coli é uma bactéria anaeróbica facultativa pertencente à família Enterobacteriaceae, um bacilo Gram-negativo, presente na microbiota intestinal de vertebrados (3). Suas cepas podem causar patologias extraintestinais (por exemplo, infecções do trato urinário, diversas infecções intra-abdominais, pulmonares, cutâneas e de tecidos moles, meningite neonatal e bacteremia) e patologias intestinais (várias formas de diarreia, incluindo síndrome hemolítica e urêmica) (4).

As cepas patogênicas de *E. coli* são classificadas em patótipos (também conhecidos como patovares) (5), e são identificadas por meio de siglas. Esses patótipos foram baseados por vários critérios, como órgão-alvo, o hospedeiro infectado, a associação com um órgão e hospedeiro, a associação com os órgãos-alvo, a presença de genes específicos e a patologia causada pelas cepas. Dentre os patótipos que se destacam por causarem infecção intestinal em humanos, tem-se a *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou *E. coli* produtora da toxina de Shiga (STEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC) (6).

O surgimento de cepas altamente virulentas, capazes de sobreviver em ambientes hostis, incluindo água, solo e plantas (7, 8), causando surtos em larga escala é uma grande preocupação. Ao longo da cadeia alimentar a contaminação cruzada de produtos alimentícios é um fator de risco à segurança alimentar, atribuído a surtos em grandes centros de processamento e distribuição de alimentos (9). Devido as suas características *E. coli* é utilizada como modelo de bactéria Gram-negativa para avaliar a ação de substâncias antimicrobianas.

Staphylococcus aureus também se destaca por ser um patógeno de grande relevância, Gram-positivo, anaeróbico facultativo de origem alimentar, capaz de sobreviver a uma ampla variação de fatores extrínsecos como temperatura (entre 7 °C e 48,5 °C), pH (entre 4,2 e 9,3) e concentrações de NaCl (entre 0 e 15%) (10, 11). É capaz de produzir enterotoxinas que são liberadas durante sua multiplicação no alimento ocasionando diarreia intensa e vômito algumas horas após a ingestão (12). Dentre as

enterotoxinas produzidas, as enterotoxinas estafilocócicas (EEs) clássicas (A, B, C, D e E) são responsáveis por 95% dos surtos (13, 14, 15).

Além disso, por ser uma bactéria formadora de biofilmes, *S. aureus* é capaz de permanecer em superfícies e utensílios, o que ocasiona interações intercelulares com a troca de material genético que resultam em bactérias com menor suscetibilidade aos antimicrobianos existentes (16). Devido a essas características, a intoxicação alimentar estafilocócica está entre as formas comuns de surtos de intoxicação alimentar bacteriana (17). No ano de 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou *S. aureus* como um patógeno de alta prioridade (18). Assim como *E. coli* é utilizada como modelo de bactéria Gram-negativa, *S. aureus* é amplamente utilizado como modelo de bactéria Gram-positiva para avaliar a ação de substâncias antimicrobianas.

Tendo em vista possíveis ameaças de origem alimentar, associadas às implicações sociais e econômicas, surge a demanda por assegurar o fornecimento de alimentos mais seguros por meio do desenvolvimento de novos agentes conservantes não tóxicos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Com isso, é crescente o interesse pelo uso de conservantes alimentícios naturais, já que aditivos químicos sintéticos, comumente utilizados para o controle de patógenos na indústria de alimentos, oferecem preocupações relacionadas à saúde por parte do consumidor (19, 20).

Estudos têm sido realizados com o intuito de investigar agentes antimicrobianos naturais que podem inibir o crescimento, a adesão e a formação de biofilme por microrganismos patogênicos como *S. aureus* e *E. coli* (21). Neste contexto, com o objetivo de substituir os conservantes sintéticos, os óleos essenciais (OEs), líquidos oleosos voláteis obtidos de diferentes partes de plantas, começaram a ser considerados alternativas de agentes antimicrobianos naturais. Esses óleos podem ser utilizados para inibir a deterioração, prolongar o prazo de validade sob a percepção de "estratégia orgânica ou verde", representando uma nova barreira para garantir a diminuição de patógenos de uma matriz alimentar (20, 22). Incluído na lista de *Generally Recognized as Safe* (GRAS) para uso como aditivo alimentar pela *United States Food and Drug Administration* (23), o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) é um exemplo de conservante natural que se destaca por sua atividade antimicrobiana e antioxidante (24).

Apesar da alta eficiência dos OEs como antimicrobiano em testes *in vitro*, quando aplicado diretamente na matriz de alimentos o mesmo efeito só é alcançado com maior concentração de EOs (25), o que pode levar a possíveis impactos negativos nas propriedades sensoriais do alimento (22). Esse problema pode ser solucionado por meio de abordagens que tornem a liberação e o contato do OE com a matriz alimentícia gradual ou até mesmo indireto. Técnicas como a nanoencapsulação de OEs e/ou a incorporação destes em filmes biodegradáveis e revestimentos tem como objetivo proteger o alimento contra a contaminação microbiana, mantendo ativa por um longo período de tempo altas concentrações da substância na superfície do alimento (26).

Além disso, atualmente os materiais que têm sido convencionalmente aplicados em embalagens de alimentos contêm papel, plástico, cerâmica, entre outros, que têm impactos ecológicos significativos na poluição ambiental (27). Embalagens biodegradáveis com propriedades antibacterianas para a aplicação em alimentos com excelentes desempenhos e funções tornaram-se uma nova demanda de pesquisa (28). Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* um filme biodegradável à base de amido de batata-doce adicionado de óleo essencial de tomilho

(*Thymus vulgaris*) encapsulado em nanofibras de zeína com potencial antimicrobiano contra a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a produção dos filmes biodegradáveis utilizou-se amido de batata-doce amarela “Amélia” (*Ipomoea batatas L.*) e glicerol (Labsynth, CAS 56-81-5). A suspensão do filme foi preparada com 4% de amido utilizando água destilada e glicerol como plastificante na relação de 0,30 ($\text{g}_{\text{plastificante}}/\text{g}_{\text{amido}}$), por meio da técnica de *casting* proposta por Fonseca et al. (29), a suspensão foi aquecida sob agitação até atingir 90 °C e permaneceu por 30 min sob agitação para completa gelatinização do amido. Em seguida a suspensão foi resfriada a 50 °C, 25 g foram despejados em placas de acrílico (Ø 8,5 cm), e foram secos a 35 °C em estufa com circulação forçada de ar por 16 h.

Para a produção das soluções poliméricas formadoras de nanofibras de zeína com óleo essencial foi utilizado o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris L.*), obtido comercialmente da empresa Ferquima (CAS 800-46-3), Indústria e Comércio de Óleos Essenciais, acondicionado em frasco âmbar, lacrados, com volume de total de 100 mL contendo majoritariamente os seguintes compostos fenólicos: timol (50%), p-cimeno (30%), gamma-terpineno (6%), linalol (5%), carvacrol (5%), alfa-pinene (2%). A Zeína comercial foi obtida da empresa Sigma-Aldrich, Brasil (97% pureza, CAS 9010-66-6) e álcool etílico (99,9% pureza, CAS 64-17-5) para produção das membranas de nanofibras.

Para a produção de nanofibras foi utilizado 30% de zeína (p/v). Inicialmente, a zeína foi dissolvida em solução aquosa de etanol a 70% (v/v, em água ultrapura) sob agitação por 30 minutos a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Foi utilizada a concentração de 65% de óleo essencial de tomilho (v/p, óleo essencial de tomilho/zeína). O óleo essencial foi adicionado às soluções poliméricas e agitado durante 15 min no escuro a 25 ± 2 °C (30).

As membranas de nanofibras foram produzidas por meio da técnica de *electrospinning* de acordo com metodologia adaptada de Böhmer-Maas et al. (30). Após o preparo a solução polimérica foi injetada em uma seringa plástica de 10 mL, acoplada diretamente em uma agulha metálica de aço inoxidável de 0,8 mm de diâmetro. A solução foi bombeada por uma bomba de infusão de seringa (KD Scientific, Modelo 100, Holliston, Inglaterra). Foi posicionado um alvo coletor a uma distância de 20 cm da ponta da agulha, coletando-se 10 mL da solução e tendo como substrato de coleta das membranas de nanofibras os filmes biodegradáveis produzidos. O campo elétrico foi aplicado por uma fonte de alta tensão (5 – 50 kV, Modelo FA+30kV, Brasil).

A avaliação *in vitro* do efeito antimicrobiano do filme de amido, do filme de amido com nanofibras de zeína e do filme de amido com nanofibras de zeína e óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) encapsulado, foi realizada pelos ensaios de microatmosfera. Foram testados os efeitos antimicrobianos do filme bicamada sobre as cepas padrão das espécies de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832) adquiridas da Fundação André Tosello. A escolha destas espécies se deu pelo fato

de possibilitar o teste do composto contra modelos de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*).

Os microrganismos utilizados no experimento foram mantidos em *ultrafreezer* sob congelamento em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e glicerol (propano-1,2,3-triol) na proporção 3:1 (v:v). Para realizar a reativação, uma alçada dessas bactérias foi transferida para caldo Soja Tripticaseína (TSB) e incubada em estufa durante 24 h a 37 °C. Após, uma alçada desse crescimento foi estriada em placas de Petri com meios seletivos, sendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) para *Escherichia coli* e ágar Baird-Parker para *Staphylococcus aureus*, e incubada por 24 h a 37 °C, para o isolamento das colônias. Após este período, com uma alçada, foi extraída uma colônia e ressuspensa em solução salina (NaCl) 0,85%, a qual foi padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

A atividade antimicrobiana em microatmosfera foi avaliada pela técnica proposta por Ghabraie et al. (31) com pequenas modificações, discos de celulose foram substituídos pelos filmes bicamada. Alíquotas de 0,1 mL de suspensões celulares dos microrganismos foram inoculados na superfície de placas com ágar Müller -Hilton (MH) (15 mL/ camada de 6 mm). Na tampa de cada placa de Petri foram posicionados discos com 47 mm de diâmetro do filme de amido com nanofibras de zeína e óleo essencial de tomilho. Posteriormente, as placas foram imediatamente fechadas de modo invertido (tampa para baixo), e incubadas a 37 °C por 24 h. A ação antimicrobiana foi expressa pelo percentual de redução na contagem celular (UFC) dos tratamentos comparados com um controle, apenas o inóculo sem nenhum dos filmes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é possível observar o percentual de inibição do OET contra bactérias Gram-positiva e Gram-negativa. Por meio da técnica de microatmosfera, ao utilizar o filme com o OET encapsulado em nanofibras de zeína, houve redução de 97% na concentração de *S. aureus* e de 90% na de *E. coli*, o que não foi possível observar quando utilizado apenas o filme de amido ou o filme de amido com nanofibras zeína.

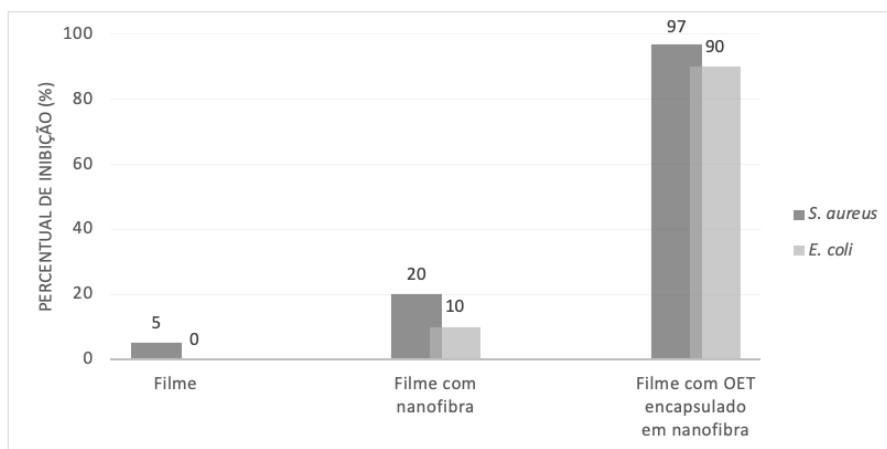


Figura 1 – Atividade antimicrobiana expressa através do percentual de inibição em microatmosfera do filme de amido, do filme de amido com nanofibras de zeína e do filme de amido com OET encapsulado em nanofibras de zeína, contra *S. aureus* e *E. coli*. Resultados expressos como média (n = 3).

Utilizando o filme de amido com nanofibras de zeína, sem o OET, não se obteve redução significativa das bactérias estudadas. Alcançando apenas um percentual de inibição de 20% contra *S. aureus* e 10% contra *E. coli*. Segundo Sato et al. (32) os principais compostos do OET, timol e carvacrol, se destacam por ser responsáveis por exercer atividade antimicrobiana por meio de mecanismos, como danos à membrana celular de bactérias, aumento da permeabilidade celular, alteração dos ácidos graxos da membrana e efeito nas proteínas da membrana. O OET ao ser encapsulado, dando origem a nanoestruturas, permite que a zeína forneça proteção e transporte. Este material de parede serve como barreira à umidade para os materiais ativos encapsulados, melhorando sua estabilidade e reduzindo sua taxa de degradação (33, 34).

A análise da atividade antibacteriana de OEs em microatmosfera, diferente de outras análises, não promove contato direto do OE com a bactéria ou com o meio de cultura. Assim, a ação antibacteriana ocorre em função dos compostos voláteis presentes no óleo, que em fase de vapor entram em contato com a bactéria (35). Permite-se assim que o OE tenha sua ação sem a necessidade de se difundir ou se dispersar em meios de cultura (água ou caldo) de base aquosa, visto que sua capacidade de dispersão/difusão pode ser afetada, pois se tratam de compostos hidrofóbicos (31).

Dannenberget al. (36) utilizaram a técnica de microatmosfera para analisar a ação do OE de pimenta-rosa incorporado em filmes de acetato de celulose e verificaram reduções significativas no crescimento de *S. aureus* e *E. coli*. Resultados semelhantes foram encontrados ao testar o efeito do OE de canela e mostarda contra *B. cereus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* e *Pectobacterium carotovorum*, onde houve 100% de redução do crescimento bacteriano (37). Chen et al. (38) obtiveram $93,4 \pm 1$ e 100% de redução nas contagens de *S. aureus* e *E. coli* respectivamente, aplicando 1 g de filme de sulfato de celulose contendo OE de mostarda em microatmosfera.

Frutas armazenadas em embalagens contendo nanofibras como encapsulante do OET foram beneficiadas com a volatilização desse composto ao apresentarem redução significativa na contagem total de bactérias, fungos e leveduras durante 15 dias de armazenamento a 4 °C (39). A aplicação de agentes antimicrobianos naturais na estrutura de filmes é um dos métodos inovadores na concepção de embalagens ativas (40). Embalagens primárias, que estão em contato direto com os alimentos, têm papel crítico como a primeira barreira contra a contaminação por microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes (41).

A incorporação de nanocarreadores carregados com antimicrobianos na estrutura de embalagens, permite que os mesmos sejam liberados, de forma prolongada e constante, no espaço livre da embalagem e, em seguida, entrem em contato com o alimento (42, 43). Além disso, polímeros comuns usados para a produção de embalagens são polímeros à base de petróleo. Apesar de suas vantagens, existem alguns problemas em seu uso no setor de alimentos, como sua natureza química e imposição de questões ambientais (41). Recentemente, o uso de materiais à base de biopolímeros para a produção de embalagens ativas tem aumentado, por serem provenientes de recursos renováveis, comestíveis, ecologicamente corretos e flexíveis de produzir (44).

Dessa forma, a baixa capacidade dos sistemas de embalagem convencionais em atender adequadamente a esses requisitos resultou no desenvolvimento de embalagens

ativas na indústria alimentícia (45). As embalagens ativas são capazes de controlar a atmosfera em que o alimento está inserido e controlar o crescimento de microrganismos, resultando no aumento da vida útil e a na segurança dos alimentos (40).

Neste cenário, é possível prospectar o potencial de aplicação industrial do OE por meio da sua capacidade de volatilização, como componente ativo de embalagens (46, 47), evitando-se assim interferências indesejáveis nas características sensoriais dos alimentos, já que não necessitam de uma aplicação direta do OE com os ingredientes (48).

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados sugerem que o filme bicamada desenvolvido com óleo essencial de tomilho encapsulado é um material com potencial antibacteriano para aplicações em embalagens de alimentos, pois inibiu bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Nanoestruturas, como as nanofibras, ao serem utilizadas combinadas com as matrizes de biopolímeros, dão origem a estruturas mais complexas. Essa combinação de um sistema de encapsulação com revestimentos biodegradáveis permite que os revestimentos sejam utilizados como sistemas de transporte para a liberação controlada ou sustentada de substâncias ativas no alimento para promover sua conservação.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) [Internet]. Secretaria de Vigilância em Saúde; 2023 [acesso em 16 Jun de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>
2. Ministério da Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022 [Internet]. Secretaria de Vigilância em Saúde; 2023 [acesso em 16 Jun de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2022/view>
3. Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010;8:207–217.
4. Denamur E, Clermont O, Bonacorsi S, Gordon D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021;19:37–54.
5. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010;8:26–38.
6. Martinez MB, Trabulsi LR. Enterobacteriaceae. In: Trabulsi LR, Alterthum F, editores. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu; 2008;271-9.

7. Chandran A, Mazumder A. Pathogenic potential, genetic diversity, and population structure of *Escherichia coli* strains isolated from a forest-dominated watershed (Comox Lake) in British Columbia, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015;8:1788-1798.
8. Nagy A, Mowery J, Bauchan GR, Wang L, Nichols-Russell L, Nou X. Role of extracellular structures of *Escherichia coli* O157:H7 in initial attachment to biotic and abiotic surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015;81:4720-4727.
9. Aijuka M, Buys EM. Persistence of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* in the agricultural and food production environment: Implications for food safety and public health. *Food Microbiol.* 2019;82:363-370.
10. Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus*. In: Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker. 1989;463-523.
11. Loir YL, Baron F, Gautir M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2003;2(1):63-76.
12. Gustafson JE, Muthaiyan A, Dupre JM, Ricke SC. *Staphylococcus aureus* and understanding the factors that impact enterotoxin production in foods: A review. *Food Control.* 2015;1-14.
13. Peles F, Wagner M, Varga L, Hein I, Rieck P, Gutser K, Keresztúri P, Kardos G, Turcsányi I, Béri B, Szabó A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *Int. J. Food Microbiol.* 2007;118(2):186-193.
14. Chiang YC, Liao WW, Fan CM, Pai WY, Chiou CS, Tsen HY. PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. *Int. J. Food Microbiol.* 2008;121:66-73.
15. Castro A, Santos C, Meireles H, Silva J, Teixeira, P. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *J. Infect. Public Health.* 2016;9:153–160.
16. Liu H, Li S, Meng L, Dong L, Zhao S, Lan X, Wang J, Zheng N. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in northern China. *J Dairy Sci.* 2017;100(11):8796-8803.
17. Dayan GH, Mohamed N, Scully IL, Cooper D, Begier E, Eiden J, Jansen KU, Gurtman A, Anderson AS. *Staphylococcus aureus*: the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. *Expert Rev Vaccines.* 2016;15(11):1373-1392.
18. WHO Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 [acesso em 20 Jun 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.

19. Alves-Silva JM, Santos SMD, Pintado ME, Pérez-Álvarez JA, Fernández-López J, Viuda-Martos M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. *Food Control*. 2013;32:371–378.
20. Falleh H, Jemaa MB, Saada M, Ksouri R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*. 2020;330:127268.
21. Unlu A, Sar T, Seker G, Erman AG, Kalpar E, Akbas MYI. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* strains and their control by selected phytochemicals. *Int J Dairy Technol*. 2018;70:1–10.
22. Khorshidian N, Yousefi M, Khanniri E, Mortazavian AM. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2018;45:62–72.
23. FDA Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations Title 21. Substances generally recognized as safe. [Internet] 2002 [acesso em 2 Jul 2023] Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=182>
24. Escobar A, Pérez M, Romanelli G, Blustein G. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arab. J. Chem*. 2020;13:9243–9269.
25. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *Int. J. Food Microbiol*. 2004;94(3):223–253.
26. Fajardo P, Martins JT, Fuciños C, Pas-Trana L, Teixeira JA, Vicente AA. Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *J Food Eng*. 2010;101:349-356.
27. Nešić A, Cabrera-Barjas G, Dimitrijević-Branković S, Davidović S, Radovanović N, Delattre C. Prospect of Polysaccharide-Based Materials as Advanced Food Packaging. *Molecules*. 2019;25(1):135.
28. Weligama Thuppahige VT, Karim M A. A comprehensive review on the properties and functionalities of biodegradable and semibiodegradable food packaging materials. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022;21:689-718.
29. Fonseca LM, Radünz M, Hackbart HCD, Silva FT, Camargo TM, Bruni GP, Monks JLF, Zavareze ER, Dias ARG. Electrospun potato starch nanofibers for thyme essential oil encapsulation: antioxidante activity and thermal resistance. *J. Sci. Food Agric*. 2020;100:4263-4271.

30. Böhmer-Maas BW, Fonseca LM, Otero DM, Zavareze ER, Zambiazzi RC. Photocatalytic zein-TiO₂ nanofibers as ethylene absorbers for storage of cherry tomatoes. *Food Packag. Shelf Life*. 2020;24.
31. Ghabraie M, Vu KD, Tata L, Salmieri S, Lacroix M. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat, *LWT - Food Sci. Technol*. 2016;66:332-339.
32. Sato K, Krist S, Buchbauer G. Antimicrobial effect of vapours of geraniol,(R)-(-)-linalool, terpineol, γ -terpinene and 1, 8-cineole on airborne microbes using an airwasher. *Flavour Fragr. J*. 2007;22(5):435-437.
33. Patel AR, Velikov KP. Zein as a source of functional colloidal nano- and microstructures. *Curr Opin Colloid Interface*. 2014;19:450-458.
34. Rehman A, Jafari SM, Aadil RM, Assad pour E, Randhawa MA, Mahmood S. Development of active food packaging via incorporation of biopolymeric nanocarriers containing essential oils. *Trends Food Sci*. 2020;101:106–121 .
35. Goñi P, López P, Sánchez C, Gómez-Lus R, Becerril R, Nerín C. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chem*. 2009;116(4):982–989.
36. Dannenberg GS, Funck GD, Cruzen CES, Marques JL, Silva WP, Fiorentini AM. Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: potential for application as active packaging for sliced cheese. *LWT - Food Sci. Technol*. 2017;81:314–318.
37. Clemente I, Aznar M, Silva F, Nerín C. Antimicrobial properties and mode of action of mustard and cinnamon essential oils and their combination against foodborne bacteria. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2016;36:26-33.
38. Chen G, Liu B. Cellulose sulfate based film with slow-release antimicrobial properties prepared by incorporation of mustard essential oil and β - cyclodextrin. *Food Hydrocoll*. 2016;55:100-107.
39. Ansarifar E, Moradinezhad F. Preservation of Strawberry Fruit Quality via the Use of Active Packaging with Encapsulated Thyme Essential Oil in Zein Nanofiber Film. *Int. J. Food Sci. Technol*. 2021;56(9):4239-247.
40. Bahrami A, Delshadi R, Assadpour E, Jafari SM, Williams L. Antimicrobial-loaded nanocarriers for food packaging applications. *Adv Colloid Interface Sci*. 2020;278:102140.
41. Robertson GL. *Food packaging: principles and practice*. CRC press; 2005.

42. Limbo S, Khaneghah AM. Active packaging of foods and its combination with electron beam processing. *Electron Beam Pasteurization and Complementary Food Processing Technologies*. Elsevier. 2015;195–217.
43. Tas BA, Sehit E, Tas CE, Unal S, Cebeci FC, Menciloglu YZ, et al. Carvacrol loaded halloysite coatings for antimicrobial food packaging applications. *Food Packag Shelf Life* 2019;20:100300.
44. Khaneghah AM, Hashemi SMB, Limbo S. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: an overview of approaches and interactions. *Food Bioprod Process* 2018;111:1–19.
45. Duncan TV. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *J Colloid Interface Sci*. 2011;363:1–24.
46. Donsì F, Annunziata M, Sessa M, Ferrari G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Sci. Technol*. 2011;44:1908–14.
47. Pabast M, Shariatifar N, Beikzadeh S, Jahed G. Effects of chitosan coatings incorporating with free or nanoencapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*. 2018;91:185–92.
48. Dannenberg GS, Funck GD, Mattei FJ, Silva WP, Fiorentini AM. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol*. 2016;36:120–127.

Capítulo 15

DOI: 10.53934/IISEMICRO-15

EFEITOS ANTIMICROBIANOS DE EXTRATOS NATURAIS PARA CONSERVAÇÃO DE FRUTAS E HORTALIÇAS: REVISÃO DE LITERATURA

Vanessa Caroline de Oliveira *; Mirielle Teixeira Lourenço ; Danúbia Joanes Rosa Guerra ; Fernando Antonio de Souza Eufrazio Filho ; Thaís da Silva Araujo ; Fabrícia Queiroz Mendes ; Érica Nascif Rufino Vieira 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: vanessa.c.oliveira@ufv.br

Resumo: Frutas e hortaliças estão sujeitas a contaminação e oxidação. Para diminuir essa problemática da conservação de alimentos, utiliza-se conservantes sintéticos e outras tecnologias não convencionais são aplicadas em alimentos afim de aumentar a qualidade e diminuir a deterioração. A tendência dos consumidores, que buscam uma alimentação mais saudável está direcionando a indústria a utilizar produtos naturais com atividades antimicrobianas e antioxidantes. O objetivo deste trabalho é apresentar uma visão geral sobre a diversidade de compostos antimicrobianos naturais de origem vegetal, suas fontes e aplicações no controle de microrganismos indesejáveis em alimentos. Os bioprotetores, como os extratos naturais, são corretos ecologicamente, garantem a segurança alimentar e da saúde pública, podendo ser extraídos de várias fontes vegetais como frutas, folhas, resíduos, sementes e outros para aplicação em embalagens e revestimentos biodegradáveis. Pesquisadores observaram efeito inibitório desses extratos contra os fungos *Botrytis cinerea*, *Alternaria sp*, *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp*. Os efeitos antibacterianos foram observados para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *L. monocytogenes*. O potencial antioxidante dos extratos naturais se deve a sua composição química, podendo ser atribuídas as moléculas de curcumina, carvacrol, cânfora, borneol, α -pineno e outros. Dessa maneira, os extratos naturais tem se mostrado um ingrediente interessante, devido a sua origem natural e propriedades fitoquímicas, permitindo a obtenção de compostos ativos que podem prolongar a vida útil de frutas e vegetais frescos. Essas novas opções de embalagens e revestimentos vem ganhando o interesse dos pesquisadores devido a suas propriedades que fornecem qualidade e segurança alimentar nas matrizes alimentares que são adicionadas.

Palavras-chave: bioprotetores; efeito antifúngico; capacidade antioxidante; matriz vegetal;

Abstract: Fruits and vegetables are subject to contamination and transmission. To reduce this problem of food preservation, synthetic preservatives are used and other unconventional technologies are applied to food in order to increase quality and reduce concern. The trend of consumers, who seek a healthier diet, is directing the industry to use natural products with antimicrobial and antioxidant activities. The objective of this

work is to present an overview of the diversity of natural antimicrobial compounds of plant origin, their sources and applications in the control of microorganisms in food. Bioprotectors, such as natural extracts, are ecologically correct, guarantee food safety and public health, and can be extracted from various plant sources such as fruits, leaves, residues, seeds and others for application in biodegradable packaging and coatings. Researchers observed the inhibitory effect of these extracts against the fungi *Botrytis cinerea*, *Alternaria* sp, *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. Antibacterial effects have been observed for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *L. monocytogenes*. The antioxidant potential of natural extracts is due to their chemical composition, which can be attributed to curcumin, carvacrol, camphor, borneol, α -pinene and others. In this way, natural extracts have proven to be an interesting ingredient, due to their natural origin and phytochemical properties, allowing the administration of active compounds that can extend the shelf life of fresh fruits and vegetables. These new options for packaging and coatings have been gaining interest from researchers due to their properties that provide quality and food safety in the food matrices that are added.

Keywords: antifungal effect; antioxidant capacity; bioprotectors; vegetable matrix;

INTRODUÇÃO

A doenças transmitidas por alimentos e a deterioração continuam sendo a principal questão para a estabilidade mundial e o desenvolvimento social. Conservantes preparados de maneira sintética ou antimicrobianos são aplicados na indústria de maneira geral para garantir a segurança alimentar, mas vários efeitos adversos são causados pelo uso prolongados e em grande escala, tendo impacto na saúde pública (1). Outras tecnologias não convencionais para conservação são aplicadas em alimentos afim de aumentar a qualidade e diminuir a deterioração. Pesquisas também tem direcionado para a descoberta de agente antimicrobianos naturais, corretos ecologicamente garantindo a segurança alimentar e a saúde pública.

As plantas produzem uma variedade de metabólitos secundários que possuem ação biocida contra patógenos pós-colheita. Esses metabólitos estão associados ao sistema de defesa da planta e podem desempenhar um papel como inibidores antimicrobianos (2). Os ingredientes naturais como extratos de plantas também contêm altas concentrações de componentes fenólicos que possuem fortes atividades antioxidantes e antimicrobianas (3).

O uso de revestimentos e embalagens com compostos antimicrobianos é uma das técnicas para prolongar a vida útil de frutas e vegetais e reduzir o risco de contaminação por patógenos (4). Filmes, revestimentos e embalagens formados pela incorporação de extratos de plantas em polímeros geralmente resultam em propriedades físico-químicas, mecânicas, de barreira, antioxidantes e antimicrobianas modificadas em comparação com filmes feitos de componentes individuais e têm sido usados para uma ampla variedade de produtos de origem vegetal (3).

O objetivo deste trabalho é apresentar uma visão geral sobre a diversidade de compostos antimicrobianos naturais de origem vegetal, suas fontes e aplicações no controle de microrganismos indesejáveis em alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em formato de artigo de revisão de literatura. As fontes de dados utilizados foram ResearchGate, Scielo, Google Acadêmico, Capes Periódicos e Science Direct no período de 2010-2023. Os descritores utilizados foram: “extratos vegetais”, “microrganismos patogênicos”, “capacidade antifúngica”, “capacidade antimicrobiana”, “capacidade antibacteriana”, “capacidade antioxidante”, “matriz vegetal” e a pesquisa foi realizada com os termos em português e em inglês. A ordem de descrição do trabalho foi sobre a conservação de frutas e hortaliças, mecanismos de ação dos extratos naturais antimicrobianos em matrizes vegetais, e a aplicação de extratos naturais em embalagens e em revestimentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conservação de frutas e hortaliças

Os vegetais e frutas são produtos frescos, portanto, requer uma atenção na segurança microbiológica, já que podem ser contaminados por bactérias/fungos durante o cultivo, a colheita e processamento pós-colheita. Dessa forma, os métodos de saneamento e conservação devem ser adotados de forma cuidadosa pelas indústrias alimentícia (5).

Dessa forma, os métodos de processamento não convencionais representados na Figura 1 oferecem uma abordagem promissora para prolongar a vida útil dos alimentos reduzindo a carga microbiana deteriorante, e preservando as características sensoriais e nutricionais do mesmo. Essas tecnologias são projetadas com o objetivo de manter o sabor, textura e aparência natural dos alimentos, gerando produtos de alta qualidade. Além disso esses métodos têm potencial de economizar energia, tornando uma opção sustentável e eficiente para o processamento de alimentos (6).

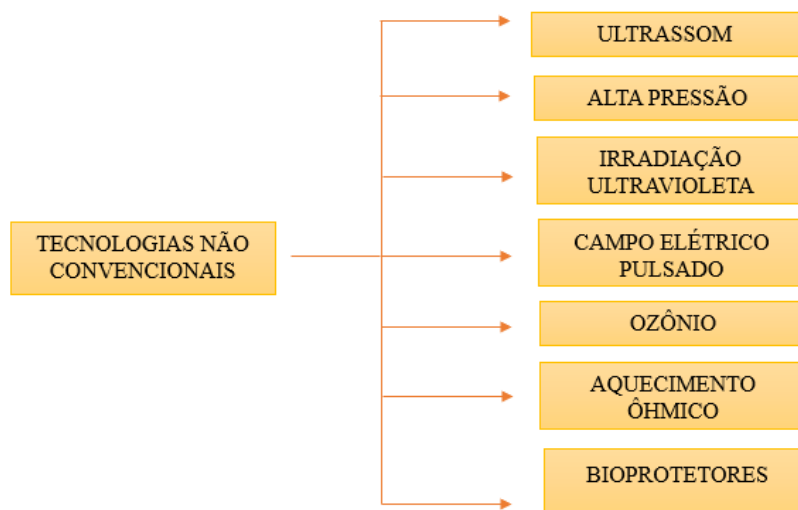


Figura 1. Tecnologias não convencionais utilizadas na conservação de frutas e vegetais.

A lavagem convencional com água (com ou sem sanitizantes químicos) em frutas e vegetais é uma prática utilizada para remoção de microrganismos. No entanto, esses tratamentos podem causar alterações adversas nos vegetais, como perda de cor, sabores ou até mesmo nutrientes importantes, dessa forma a lavagem com técnicas emergentes

podem ser aplicadas (5,7). O estudo realizado por Alenyourege et. al (8) avaliou remoção de bactérias em repolho chinês minimamente processado, comparando a eficácia da lavagem utilizando a tecnologia ultrassom com o método convencional, os resultados revelaram que o método de lavagem por ultrassom resultou em uma redução significativa de bactérias em comparação com a lavagem convencional, dessa maneira apresentou uma opção viável para essa etapa de produção.

Outra técnica muito explorada é o método por alta pressão. O processamento de alta pressão é uma técnica que submete os alimentos a pressão de 100Mpa ou superiores, sendo eficiente em uma variedade de alimentos, independente da forma, tamanho ou composição. Em relação as frutas e vegetais, eles são colocados em cestas e a água é utilizada como meio de transmissão de pressão. É de suma importância ressaltar que os mesmos não serão danificados pela pressão, retornando à sua forma original após o processo, pois a pressão é uniformemente distribuída durante todo o procedimento. Dessa maneira esse processamento permite a desativação dos microrganismos deteriorante sem comprometer as características sensoriais e nutricionais dos alimentos (9,10).

Recentemente, um estudo explorou a combinação do processamento de irradiação ultravioleta com campo elétrico pulsado para inativar microrganismos presentes em suco de maçã fresco, mantendo a qualidade sensorial e nutricional do produto. Os resultados demonstraram uma inativação microbiana satisfatória, além de melhorias na qualidade em comparação com a pasteurização por calor (11).

Neste contexto, os consumidores buscam por alimentos que sejam de qualidade e seguros, com menos etapas de produção, maior prazo de validade e livres de microrganismos, visto isso a tecnologia de ozônio apresenta potencial promissor de aplicações na indústria alimentícia, visto que esse processamento tem um poder de desinfecção e atividade antimicrobiana devido suas propriedades oxidantes (12,13). Ademais, novos estudos avaliam o aquecimento ôhmico aplicados em frutas e vegetais, tendo como vantagem preservar os nutrientes e componentes dos alimentos, ao mesmo tempo em que garantindo a segurança microbiana (14).

Os bioprotetores, como por exemplo, os extratos naturais, são métodos inovadores para preservação e qualidade de frutas e vegetais frescos, apresentando propriedades antioxidantes e antimicrobianas (15).

Mecanismos de ação dos extratos naturais antimicrobianos em matrizes vegetais

O uso de antimicrobianos naturais, como os extratos vegetais, podem ser uma alternativa interessante para reduzir ou eliminar microrganismos capazes de deteriorar alimentos ou causar doenças transmitidas por estes. A composição química de cada tipo de extrato é bem variada, deste modo a atividade antimicrobiana não pode ser atribuída a um único mecanismo de ação, uma vez que os diferentes componentes podem exercer ações distintas nas células microbianas (16).

Os óleos essenciais possuem efeitos bactericidas, caracterizado pela morte das bactérias, e bacteriostáticos, relacionados a inibição do crescimento, com recuperação da capacidade reprodutiva nas células microbianas (17,18). É importante ressaltar que a atividade antimicrobiana exercida pelos óleos essenciais, também difere ao considerar as bactérias gram negativas e positivas, o que se justifica pela limitação da membrana externa nas gram negativas à entrada de componentes hidrofóbicos nas células. Compostos de baixo peso molecular, como o carvacrol presente no orégano, podem

interagir com a água por pontes de hidrogênio e por meio da difusão, ultrapassar a parede externa, chegando à parede celular interna das bactérias gram negativas (17).

Os compostos fenólicos como fenóis simples, flavonoides, taninos, cumarinas, quininas, ácidos fenólicos e xantonas, possuem atividade antimicrobiana relacionada principalmente com a posição do grupo hidroxila (16,19,20). Alguns autores, atribuem o mecanismo de ação dos óleos essenciais à sua capacidade de penetrar na membrana externa das células microbianas e na membrana citoplasmática, ao atravessar estas barreiras ocorre o comprometimento de estruturas celulares e tornando-as permeáveis aos óleos essenciais (20,21). Os mecanismos de ação comumente atribuídos aos óleos essenciais estão relacionados aos danos a membrana citoplasmática, alteração de ácidos graxos na membrana celular, extravasamento do conteúdo celular e comprometimento da cadeia transportadora de elétrons (16).

Por serem substâncias hidrofóbicas, os óleos essenciais interagem com os lipídios da membrana celular e das mitocôndrias dos microrganismos. Esta interação entre o óleo essencial e a membrana celular, altera a estrutura das mesmas, tornando-as mais fluidas, capazes de se expandir e permeáveis, o que implica em um maior extravasamento de íons e demais conteúdos citoplasmáticos. A perda de íons como potássio, comprometem o funcionamento celular o que pode levar a morte da célula. Outro desfecho possível, está relacionado a perda do conteúdo citoplasmático e o gasto extra de energia, que resultam na redução do número de microrganismos patogênicos, tornando-os menos competitivos (16).

No entanto, os óleos essenciais também podem apresentar atividade antioxidante, variando de acordo com seus constituintes. No óleo de alecrim pode-se encontrar substâncias como 1,8 cineol, cânfora, canfeno, borneol e α -pineno, que podem apresentar capacidade antioxidante e atividade quelante de íons Fe^{2+} (22). Outros óleos essenciais como os de canela, citronela e gengibre também possuem atividade antioxidante, sendo esta caracterizada pela doação de átomos de hidrogênio a moléculas instáveis, resultando na interrupção de reações em cadeia. Os radicais livres, formados durante o processo podem reagir com radicais semelhantes e causar danos celulares permanentes. Os compostos fenólicos presentes nos extratos são fundamentais para a ação redox, com a capacidade de doação de um elétron ao radical livre, evitando a oxidação (16,22). Além da desta atividade, alguns compostos presentes encontrados na menta e na rosa Damascena, podem atuar como agentes quelantes ao se complexarem com íons metálicos como, o cobre e ferro, impedindo que estes participem da oxidação lipídica (23,24).

A utilização de óleos essenciais como agentes antimicrobianos naturais, ainda apresenta limitações. Sendo uma delas, a necessidade de utilizar elevadas concentrações dos óleos, para atenuar os microrganismos, o que implica em um comprometimento dos aspectos sensoriais dos produtos. Deste modo, uma possível solução estaria relacionada a encapsulação dos compostos, a fim de melhorar a solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade, proteção dos ativos, controle da liberação, além de minimizar sabores e odores intensos (25,26).

Aplicação de extratos naturais em embalagens

A indústria de embalagens está constantemente em busca de alternativas atrativas e seguras para atender às demandas dos consumidores e regulamentações. Nesse contexto,

a aplicação de extratos naturais em embalagens tem despertado grande interesse. Esses extratos são derivados de fontes naturais, como plantas, frutas e ervas, e possuem propriedades bioativas que podem ser aproveitadas para desenvolver embalagens ativas com funcionalidades antimicrobianas, antioxidantes e de barreira.

Os extratos naturais são conhecidos por sua riqueza em compostos bioativos, como polifenóis, flavonoides e terpenoides, que conferem às embalagens propriedades funcionais (27). Esses compostos apresentam atividade antimicrobiana contra diversos patógenos e microrganismos deteriorantes, garantindo a segurança microbiológica dos alimentos embalados (28). Além disso, os extratos naturais exibem propriedades antioxidantes, auxiliando na proteção contra a oxidação lipídica e na preservação da qualidade sensorial dos alimentos (29).

Ao compreender a mudança de ação dos extratos naturais, torna-se possível explorar seu potencial na inibição do crescimento microbiano e na proteção contra a transmissão. Esses extratos podem agir por meio do comprometimento da integridade da membrana celular dos microrganismos, da sequência de sua síntese proteica ou da alteração de seu metabolismo energético (30). Além disso, eles podem interagir com radicais livres, evitando a oxidação lipídica nos alimentos embalados (31).

As aplicações da utilização de extratos naturais em embalagens têm resultados promissores demonstrados. A incorporação desses extratos filmes em biodegradáveis resulta em embalagens com propriedades antimicrobianas efetivas, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas e micro-organismos deteriorantes (32). Além disso, a adição desses extratos em revestimentos comestíveis aumenta a resistência à apresentação, prolongando a vida útil dos alimentos e mantendo sua qualidade durante o armazenamento (33).

Sharma et al. (27) exploraram o uso de extratos naturais, como o extrato de cravo e óleo de tomilho, para melhorar a atividade antimicrobiana em embalagens. Os resultados revelaram que esses extratos naturais apresentaram atividade significativa contra patógenos alimentares, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, inibindo efetivamente seu crescimento e oferecendo uma barreira adicional de segurança microbiológica às embalagens.

Lagos (29) avaliaram a aplicação do extrato de boldo em embalagens para avaliar sua eficácia na prevenção de oxidação lipídica e ação antimicrobiana. Os resultados revelaram que o extrato boldo demonstrou uma forte atividade antioxidante, retardando a oxidação dos lipídios nos alimentos embalados, além de um controle microbiano extremamente eficaz, ao comparado com o controle. Isso resultou em uma melhor preservação da qualidade dos alimentos, mantendo sua cor, aroma e sabor por um período mais longo.

Ardjoum (30) investigou o potencial do extrato de tomilho em filmes ativos com propriedades antimicrobianas. Os resultados indicaram que o extrato incorporado nas embalagens apresentou uma atividade antimicrobiana significativa contra patógenos alimentares, como *Staphylococcus aureus* e *Penicillium sp.*, inibindo seu crescimento e efetivamente a segurança microbiológica dos alimentos embalados.

Aplicação de extratos naturais em revestimentos

A utilização dos revestimentos emergiu como um dos principais métodos de conservação usados nos últimos anos, por serem considerados materiais naturais e não tóxicos. Além dessas características, os revestimentos podem carrear diversos aditivos alimentares como antimicrobianos e antioxidantes. Na Tabela 1 estão apresentados pesquisas com adição de extratos naturais em revestimentos para conservação de frutas e hortaliças.

Tabela 1 – Pesquisas com adição de extratos naturais em revestimentos para conservação de frutas e hortaliças

Extrato natural	Composição do Revestimento	Matriz alimentar	Referência
Extrato da casca de manga	Ácido polilático Nanopartículas de prata	Morango	(34)
Extratos de açafrão e chá verde	Quitosana	Morango	(35)
Extrato etanólico de folha de <i>Prosopis juliflora</i>	Quitosana	Morango	(36)
Extrato de semente de uva	Suco de uva e amido de milho reticulado	Morango	(37)
Extrato de chá preto	Quitosana Gelatina de pele de peixe	Mamão minimamente processado	(38)
Extrato de folha de jaca	Pectina	Tomate	(39)
Extrato rico em antocianina de amora (<i>Morus nigra</i> L.)	Carboximetilcelulose	Tomate cereja	(40)
Extrato de folhas de oliveira incorporado com zinco (Zn) e selênio (Se)	NI*	Vagens de feijão	(41)
Extrato de glicerol e gengibre	Quitosana	Nozes	(42)
Extrato de semente de uva	Pectina Pululana	Amendoim	(43)
Extrato de casca de romã	Nanoquitosana	Damasco	(44)

*NI – Não informado

O morango é uma fruta consumida em todo o mundo, mas, apresenta alta perecibilidade pós-colheita devido à perda de umidade e decomposição física, apresentando uma vida útil muito curta, inferior a 5 dias em temperatura ambiente (45,46). *Botrytis cinerea*, que pode causar a doença do mofo cinzento, é considerado o patógeno mais comum que afeta os morangos (47). Segundo Saleh et al. (36) os resultados da análise *in vivo mostraram* que as amostras de morango tratadas com extrato etanólico de folha de *Prosopis juliflora*, tanto em temperatura ambiente quanto refrigerado, apresentaram um efeito retardador na taxa de progressão do mofo cinzento, o que indica que os compostos ativos no extrato bruto foram capazes de prevenir o crescimento de fungos nas amostras. Já Yang et al. (35) observaram que ambos os extratos de açafraão e chá verde continham compostos fenólicos, mas somente o extrato de açafraão apresentou forte atividade antifúngica. O extrato de açafraão inibiu a proliferação de *Botrytis cinerea* durante 7 dias de armazenamento a 20 °C, enquanto o revestimento contendo extrato de GT estendeu as propriedades antioxidantes de morangos pós-colheita de 4 para 8 dias a 20 °C, sendo a curcumina o principal composto do extrato de açafraão. Cheng et al. (34) desenvolveram um revestimento para o morango com nanopartículas de prata com extrato de casca de manga com ácido polilático. O filme desenvolvido apresentou excelentes propriedades antibacterianas e a taxa de inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* ficaram acima de 95%. Além de que os morangos revestidos não apodreceram e nem se deterioraram por 7 dias.

Frutos climatéricos minimamente processados também podem ser revestidos a fim de promover uma maior conservação e estender sua vida útil. Com uma exposição e ruptura da sua parede celular, além da sua alta taxa de respiração pós-colheita, sua deterioração se dá de maneira mais acelerada. Sekarina et al. (38) desenvolveram um revestimento comestível de quitosana-gelatina com adição de extrato de chá preto para mamão minimamente processado e observaram que na análise de contagem total de placas, o revestimento aplicado foi capaz de suprimir o crescimento microbiano durante o armazenamento. O extrato de chá preto é composto por polifenóis, e continha catequinas, flavonas, antocianinas e ácidos fenólicos, sendo as catequinas o principal composto. Esses polifenóis podem coagular as proteínas estruturais, ligar o ácido desoxirribonucleico com moléculas e destruir as membranas celulares e as paredes dos microrganismos, inibindo o seu crescimento. A quitosana também pode inibir o crescimento dos microrganismos. Esse composto interage com os resíduos carregados negativamente das células microbianas por uma atração eletrostática, floculando e absorvendo na superfície dos microrganismos alterando o metabolismo fisiológico dos mesmos (48).

Outros frutos climatéricos também foram estudados como tomate (39) e tomate cereja (40). Para controle de *Alternaria spp.*, Aguilar et al. (39) utilizaram o extrato de folhas de jaca e observaram que a ação antimicrobiana foi de 39,9% a 1mg mL⁻¹. Essa ação pode ser justificada devido ao teor de antioxidantes e os mecanismos de ação dos polifenóis (49) e o conteúdo abundante de flavonóides (catequina (+), epicatequina (+), carthamidina, isoschaftosídeo e quercetina glicosídeo-O-rutinosídeo) (50). Esses compostos podem causar distúrbios de membrana que levam ao encolhimento celular e extravazamento de componentes intracelulares. Isso induz o atraso da peroxidação

lipídica e eliminação de radicais livres e contribui com a inativação de enzimas relacionadas com a respiração celular, causando a morte celular do patógeno (51). Sganzerla et al. (40) também avaliaram filmes adicionados de extratos de amora com alta concentração de antocianinas para aplicação em tomates cereja. O extrato apresentou propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Além disso, a liberação controlada dos compostos ativos do extrato, indicaram um perfil constante entre 2 e 240 h, o que denomina um comportamento promissor para a conservação de alimentos.

Elsayed et al. (41) avaliaram a adição do extrato de oliva estendeu a vida útil das vagens de vagem para 28 dias em armazenamento refrigerado e melhorando as características microbianas do vegetal. Shaukat et al. (42) inocularam artificialmente com suspensão de esporos de *Aspergillus flavus*, nozes tratadas com revestimento enriquecido com extrato de glicerol e gengibre e observaram uma menor incidência da doença e a menor concentração de esporos. Priyadarshi et al. (43) desenvolveram um filme de pectina/pululana bioativa adicionad com extrato de semente de uva *Vitis vinífera* para aplicação em amendoim. O filme contendo o extrato, ofereceu atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *L. monocytogenes*, retardando o crescimento bacteriano. Além disso, exibiu potencial antioxidante devido à capacidade de eliminação de radicais livres de compostos polifenólicos no extrato. Gull et al. (44) avaliaram o efeito do revestimento de nanoquitosana contendo extrato de casca de romã na qualidade pós-colheita de frutos de damasco. O revestimento de nanoquitosana contendo 1% do extrato inibiu significativamente a contagem total de bactérias psicofílicas, leveduras e bolores durante o armazenamento.

CONCLUSÕES

Conclui-se que as pesquisas recentes identificaram os extratos naturais podem ser aplicados em embalagens e revestimentos biodegradáveis. Os extratos naturais tem se mostrado um ingrediente interessante, devido a sua origem natural e propriedades fitoquímicas, permitindo a obtenção de compostos ativos que podem prolongar a vida útil de frutas e vegetais frescos e agregando valor ao produto. Essas novas opções de embalagens e revestimentos vem ganhando o interesse dos pesquisadores devido a suas propriedades que fornecem qualidade e segurança alimentar nas matrizes alimentares que são adicionadas.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

1. Bondi M, Lauková A, Niederhausern S de, Messi P, Papadopoulou C. Natural preservatives to improve food quality and safety. *Journal of Food Quality*. 2017; 1090932.

2. Palou L, Ali A, Fallik E, Romanazzi G. GRAS, plant-and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*. 2016;122:41-52.
3. Mir A, Dar BN, Wani, AA, Shah MA. Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. *Trends in Food Science & Technology*. 2018; 80:141-154.
4. Carpes, ST; Bertotto C; Bilck AP; Yamashita, F; Anjos O; Bakar Siddique MA; Harrison SM; Brunton NP. Bio-based films prepared with apple pomace: volatiles compound composition and mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT*. 202;144:111241
5. Huang K, Wrenn S, Tikekar R, Nitin N. Efficacy of decontamination and a reduced risk of cross-contamination during ultrasound-assisted washing of fresh produce. *J Food Eng*. 2018;224:95-104.
6. Mukhopadhyay S, Ukuku DO. The role of emerging technologies to ensure the microbial safety of fresh produce, milk and eggs. *Curr Opin Food Sci*. 2018;19:145-154.
7. Gil MI, Marín A, Andujar S, Allende A. Should chlorate residues be of concern in fresh-cut salads? *Food Control*. 2016;60:416-421.
8. Alenyorege EA, Ma H, Aheto JH, Ayim I, Chikari F, Osaе R, et al. Response surface methodology centred optimization of mono-frequency ultrasound reduction of bacteria in fresh-cut Chinese cabbage and its effect on quality. *LWT*. 2020;122:108991.
9. Boateng ID. Thermal and Nonthermal Assisted Drying of Fruits and Vegetables. Underlying Principles and Role in Physicochemical Properties and Product Quality. *Food Eng Rev*. 2023;15(1):113-155.
10. Balakrishna AK, Wazed MA, Farid M. A review on the effect of high pressure processing (HPP) on gelatinization and infusion of nutrients. *Molecules*. 2020;25(10):2369.
11. Noci F, Riener J, Walkling-Ribeiro M, Cronin DA, Morgan DJ, Lyng JG. Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *J Food Eng*. 2008;85(1):141-146.
12. Xue W, Macleod J, Blaxland J. The Use of Ozone Technology to Control Microorganism Growth, Enhance Food Safety and Extend Shelf Life: A Promising Food Decontamination Technology. *Foods*. 2023;12(4):814.
13. Shi J, Cai H, Qin Z, Li X, Yuan S, Yue X, et al. Ozone micro-nano bubble water preserves the quality of postharvest parsley. *Food Res Int*. 2023;170:113020.
14. Roobab U, Khan AW, Irfan M, Madni GM, Zeng XA, Nawaz A, et al. Recent developments in ohmic technology for clean label fruit and vegetable processing: An overview. *J Food Process Eng*. 2022;45(8):e14045.
15. Khan MR, Bhat R, Ghoshal G, Semwal A, Tiwari AK. Recent advances in biopolymeric antioxidant films and coatings for preservation of nutritional quality of minimally processed fruits and vegetables. *Food Packag Shelf Life*. 2021;30:100752.
16. Pateiro M, Munekata PE, Sant'Ana AS, Domínguez R, Rodríguez-Lázaro D, Lorenzo JM. Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage

- and pathogenic microorganisms in meat products. *Int J Food Microbiol.* 2021;337:108966.
17. Falleh H, Ben Jemaa M, Saada M, Ksouri R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chem.*2020;330:127268.
 18. Hoyos-Nogués M, Buxadera-Palomero J, Ginebra MP, Manero JM, Gil FJ, Mas-Moruno C. All-in-one trifunctional strategy: A cell adhesive, bacteriostatic and bactericidal coating for titanium implants. *Colloids Surf B.*2018;169:30-40.
 19. Klančnik A, Šikić Pogačar M, Trošt K, Tušek Žnidarič M, Mozetič Vodopivec B, Smole Možina S. Anti-Campylobacter activity of resveratrol and an extract from waste Pinot noir grape skins and seeds, and resistance of Camp. jejuni planktonic and biofilm cells, mediated via the CmeABC efflux pump. *J Appl Microbiol.* 2016;122(1):65-77.
 20. Farid N, Waheed A, Motwani S. Synthetic and natural antimicrobials as a control against food borne pathogens: A review. *Heliyon.* 2023; 9(6):17021.
 21. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals.* 2013; 6:1451-74.
 22. Brandt CC, Lobo VS, Fiametti KG, Wancura JH, Oro CE, Oliveira JV. Rosemary Essential Oil Microemulsions as Antimicrobial and Antioxidant Agent in Tomato Paste. *Food Chem Adv.*2023:100295.
 23. Senol FS, Orhan IE, Kurkcuoglu M, Khan MT, Altintas A, Sener B, Baser KH. A mechanistic investigation on anticholinesterase and antioxidant effects of rose (*Rosa damascena* Mill.). *Food Res Int.* 2013; 53(1):502-9.
 24. Sánchez-Vioque R, Polissiou M, Astraka K, Mozos-Pascual MD, Tarantilis P, Herraiz-Peñalver D, Santana-Méridas O. Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Ind Crop Prod.* 2013;49:150-9.
 25. Sundar SK, Parikh JK. Advances and trends in encapsulation of essential oils. *Int J Pharm.* 2023; 635: 122668.
 26. Reis DR, Ambrosi A, Luccio MD. Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods.* 2022;5:100126.
 27. Sharma, S.; Barkauskaite S, Duff B, Jaiswal AK, Jaiswal S. Characterization and Antimicrobial Activity of Biodegradable Active Packaging Enriched with Clove and Thyme Essential Oil for Food Packaging Application. *Foods.* 2020;9:1117.
 28. Daniloski, D. Advances In Active Packaging: Perspectives In Packaging Of Meat And Dairy Products. *Advanced Materials Letters.* 2020;11:20051504–20051504.
 29. Lagos MJB, Sobral PJ. do A. Application of active films with natural extract for beef hamburger preservation. *Ciência Rural.* 2019;49.
 30. Ardjoum N, Chibani N, Shankar S, Fadhel YB, Djidjelli H, Lacroix M. Development of antimicrobial films based on poly (lactic acid) incorporated with *Thymus vulgaris* essential oil and ethanolic extract of Mediterranean propolis. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2021;185:535–542.
 31. H C, Bhajantri RF, R, S, Prarthana N. Simple fabrication of PVA-ATE (*Amaranthus tricolor* leaves extract) polymer biocomposites: An efficient UV-Shielding material for organisms in terrestrial and aquatic ecosystems. *Optical Materials.* 2020;109:110204.








32. Bangar SP, Whitside WS, Dunno KD, Cavender GA, Dawson P, Love R. Starch-based bio-nanocomposites films reinforced with cellulosic nanocrystals extracted from Kudzu (*Pueraria montana*) vine. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022;203:350–360.
33. Lee et al. Multifunctional chitosan/tannic acid composite films with improved anti-UV, antioxidant, and antimicrobial properties for active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2023;136:108249–108249.
34. Cheng J, Lin X, Wu X, Liu Q, Wan S, Zhang Y. Preparation of a multifunctional silver nanoparticles polylactic acid food packaging film using mango peel extract. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;188:678-688.
35. Yang C, Lu J-H, Xu M-T, Shi X-C, Song Z-W, Chen, T-M, Herrera-Balandrano DD, Zhang Y-J, Laborda P, Shahriar M, Wang S-Y. Evaluation of chitosan coatings enriched with turmeric and green tea extracts on postharvest preservation of strawberries. *LWT*. 2022;163:113551.
36. Saleh I, Abu-Dieyeh M. Novel *Prosopis juliflora* leaf ethanolic extract coating for extending postharvest shelf-life of strawberries. *Food Control*; 2022; 133:108641.
37. Yıldırım-Yalçın M; Şeker M; Sadıkoğlu H. Effect of grape derivatives and cross-linked maize starch coatings on the storage life of strawberry fruit. *Progress in Organic Coatings*. 2022; 167;106850
38. Sekarina AS, Supriyadi, Munawaroh HSH, Susanto E, Show PL, Ningrum A. Effects of edible coatings of chitosan - fish skin gelatine containing black tea extract on quality of minimally processed papaya during refrigerated storage. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2023;5:100287.
39. Aguilar-Veloz M, Calderón-Santoyo M, Carvajal-Millan E, Martínez-Robinson K, Ragazzo-Sánchez JÁ. *Artocarpus heterophyllus* Lam. leaf extracts added to pectin-based edible coating for *Alternaria* sp. control in tomato. *LWT*. 2022;156:113022.
40. Sganzerla WG; Ribeiro CPP; Uliana NR; Rodrigues MBC; Rosa CG da; Ferrareze JP; Veeck AP de L; Nunes MR. Bioactive and pH-sensitive films based on carboxymethyl cellulose and blackberry (*Morus nigra* L.) anthocyanin-rich extract: A perspective coating material to improve the shelf life of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L. var. cerasiforme). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;33:101989.
41. Elsayed N; Hasanin MS; Abdelraof M. Utilization of olive leaves extract coating incorporated with zinc/selenium oxide nanocomposite to improve the postharvest quality of green beans pods. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2022; 28:100333.
42. Shaukat MN, Palmeri R, Restuccia C, Parafati L, Fallico B. Glycerol ginger extract addition to edible coating formulation for preventing oxidation and fungal spoilage of stored walnuts. *Food Bioscience*. 2023;52:102420
43. Priyadarshi R; Riahi Z; Rhim J-W. Antioxidant pectin/pullulan edible coating incorporated with *Vitis vinifera* grape seed extract for extending the shelf life of peanuts. *Postharvest Biology and Technology*. 2022;183:111740.

44. Gull A; Bhat N; Wani SM; Masoodi FA; Amin T; Ganai SA. Shelf life extension of apricot fruit by application of nanochitosan emulsion coatings containing pomegranate peel extract. *Food Chemistry*. 2021;349:129149.
45. Barkaoui, S; Mankai M; Miloud NB; Kraiem M; Kraiem M; Madureira J; Green SC; Boudhrioua N. Effect of gamma radiation coupled to refrigeration on antioxidant capacity, sensory properties and shelf life of strawberries. *LWT – Food Science and Technology*. 2021;150:112088.
46. Feliziani E; Romanazzi G. Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. *Journal of Berry Research*. 2016;6:47-63.
47. Ahmed F; Shamki M; Reda A. Postharvest decay control of strawberry gray mold by application of sodium bicarbonate and vinegar combination. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021;25:14039-14048.
48. Bansal S; Choudhary S; Sharma, M; Kumar SS; Lohan S; Bhardwaj, V; Syan, N; Jyoti S. Tea: A native source of antimicrobial agents. *Food Research International*. 2013;53:568-584.
49. Thapa N; Thapa P; Bhandari J; Niraula P; Shrestha N; Shrestha BG. Study of phytochemical, antioxidant and antimicrobial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Nepal Journal of Biotechnology*. 2016;4:47-53.
50. Aguilar-Veloz LM; Calderón-Santoyo M; Ragazzo-Sánchez JA. Microwave assisted extraction of polyphenols of *Artocarpus heterophyllus* Lam. with antifungal activity against *Alternaria* spp. *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. 2021;9:52-62.
51. Aguilar-Veloz LM; Calderón-Santoyo M; Vázquez González Y; Ragazzo-Sánchez JA. Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Sciences and Nutrition*. 2020;8:2555-2568.
- 52.

Capítulo 16

DOI: 10.53934/IISEMICRO-16

APLICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Isabela Soares Magalhães *; Maria José do Amaral e Paiva ; Jeferson Silva Cunha ; Irene Andressa ; Flaviana Coelho Pacheco ; Fábio Ribeiro dos Santos ; Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior 

* Autor correspondente (Corresponding author) – Email: isabela.magalhaes@ufv.br

Resumo: O rótulo *clean label* é uma tendência que surgiu nos últimos anos a partir de uma demanda da população, que tem dado preferência aos alimentos minimamente processados e isentos de aditivos artificiais. Ao mesmo tempo, esses consumidores buscam por alimentos seguros, que provoquem pouco ou nenhum impacto ao meio ambiente e sejam benéficos à saúde. Nesta perspectiva, o mercado de produtos naturais, como o de óleos essenciais, tem sido cada vez mais estudado. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi sintetizar as informações disponíveis sobre a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e a aplicação desses compostos como conservantes alimentares, bem como destacar os desafios e tendências relacionados a essa aplicação. As propriedades dos óleos essenciais e a classificação como compostos naturais e seguros aumentam as possibilidades de utilização desses compostos em alimentos. São crescentes os estudos associando diversos óleos essenciais à produtos alimentícios e embalagens ativas, com destaque para as técnicas de microencapsulação e revestimento de frutas, produtos cárneos e de panificação. No entanto, para expansão do uso dos óleos essenciais, são necessárias mais investigações a respeito da toxicidade, dosagem e custo-benefício inerentes à aplicação desses compostos com ação antimicrobiana na indústria alimentícia.

Palavras-chave: óleos essenciais; efeito antimicrobiano; conservantes naturais.

Abstract: The clean label is a trend that has emerged in recent years from a demand from the population, which has given preference to minimally processed foods free of artificial additives. At the same time, these consumers are looking for safe foods that cause little or no impact on the environment and are beneficial to health. In this perspective, the market for natural products, such as essential oils, has been increasingly studied. Therefore, the objective of this work was to synthesize the available information on the antimicrobial activity of essential oils and the application of these compounds as food preservatives, as well as highlight the challenges and trends related to this application. The properties of essential oils and the classification as natural and safe compounds increase the possibilities of using these compounds in food. There is a growing number of studies associating different essential oils with food products and active packaging, with emphasis on microencapsulation techniques and coating of fruits, meat and bakery products. However, in order to expand the use of essential oils, further investigations are

needed regarding the toxicity, dosage and cost-effectiveness inherent in the application of these compounds with antimicrobial action in the food industry.

Keywords: essential oils; antimicrobial effect; natural preservatives.

INTRODUÇÃO

Com o aumento da produção de alimentos em escala mundial e da preocupação com uma alimentação segura, é comum o uso de aditivos alimentares que conservem a qualidade e as características desejáveis dos produtos. No entanto, nos últimos anos, tem-se intensificado a demanda dos consumidores por alimentos com o chamado “rótulo limpo” e embalagens biodegradáveis (1).

Deste modo, a indústria alimentícia tem investido na busca por aditivos naturais que garantam o equilíbrio entre a qualidade e a necessidade de atender aos consumidores, cada vez mais exigentes, principalmente no que diz respeito aos aspectos negativos associados aos conservantes sintéticos, que ainda são amplamente aplicados para eliminar microrganismos indesejáveis em alimentos, incluindo bactérias e fungos (2, 3).

Nesse contexto, tem-se os óleos essenciais (OE), que são utilizados na conservação dos alimentos desde a antiguidade. No entanto, as pesquisas a respeito desta e de outras aplicações surgiram somente na década de 1960 e, desde então, tem sido crescente as pesquisas com relação aos óleos essenciais (4). Esses compostos são naturais e consistem em metabólitos secundários de plantas, que podem conferir proteção aos materiais vegetais, como folhas, flores, sementes e cascas, contra ameaças ambientais, microrganismos patogênicos, dentre outros (2). São compostos voláteis, odoríferos e imiscíveis ou muito pouco miscíveis em água, sendo designados pela *Food and Drug Administration* (FDA) como GRAS (Geralmente reconhecidos como seguros) (5, 6).

Há evidência de que cerca de 35% dos óleos essenciais de plantas possuem atividade antibacteriana, sendo que 65% possuem atividades antifúngicas, podendo atuar na preservação de diferentes produtos (7, 8). De fato, o estudo das propriedades antimicrobianas dos OE tem sido explorado em diferentes fontes, como extratos de especiarias, metabólitos vegetais e subprodutos alimentares, considerando seu potencial para as diversas aplicações, como por exemplo, associados às embalagens de alimentos (9).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo sintetizar as informações disponíveis sobre a atividade antimicrobiana dos OE e aplicação desses compostos como conservantes alimentares, bem como destacar os desafios e tendências relacionados a essa aplicação.

Óleos essenciais com ação antimicrobiana

Os óleos essenciais são compostos líquidos e voláteis, formados a partir de metabólitos secundários das plantas, presentes em seus diferentes órgãos, como brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas e cascas. Eles são formados principalmente por classes de ésteres de ácidos graxos, mono e sesquiterpenos, terpenos, fenilpropanonas e álcoois aldeidados e podem ser extraídos por diferentes métodos, como a hidrodestilação, destilação a vapor, extração por solventes orgânicos e extração com fluido supercrítico. Na natureza, esses compostos têm a importante função de proteger a planta contra os ataques de predadores, como insetos e microrganismos, a partir de diferentes mecanismos de ação (10) (Figura 1).

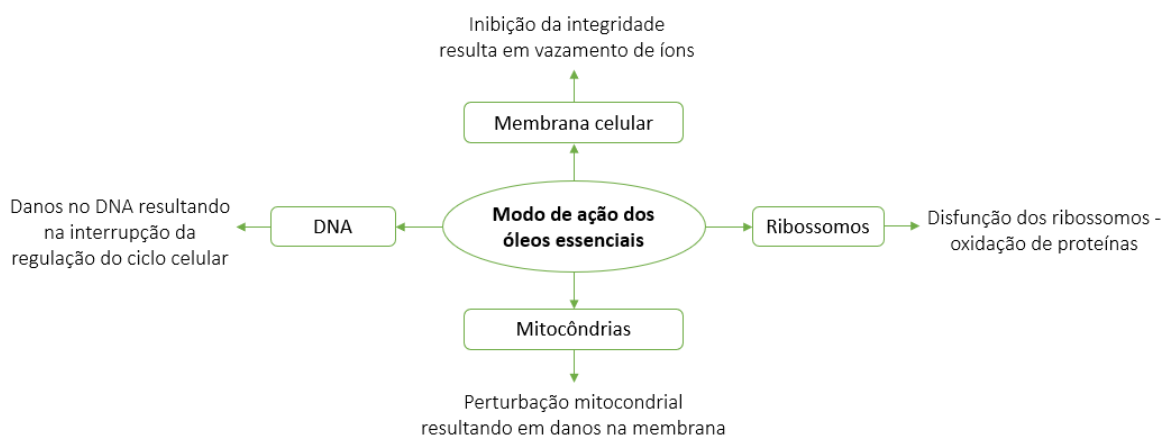


Figura 1: Mecanismos de ação dos óleos essenciais à nível celular.

O mecanismo de ação antimicrobiana pode variar de acordo com o tipo de OE ou com a cepa do microrganismo utilizado. As bactérias Gram-negativas têm uma espessa camada de lipopolissacarídeos que reduz a suscetibilidade dos microrganismos aos OEs, mas as bactérias Gram-positivas carecem desse lipopolissacarídeo. Além disso, devido à presença do ácido lipoteicóico, a entrada de OE nas células microbianas gram-positivas é facilitada. Pesquisas demonstraram que os componentes bioativos contidos nos OEs se ligam à superfície celular e penetram na bicamada fosfolipídica da membrana, o que causa impactos negativos nas atividades metabólicas celulares. A própria alteração da integridade da membrana celular resulta na perda de componentes intracelulares importantes, como proteínas, açúcares redutores, ATP e DNA, além de bloqueio à síntese de ATP e enzimas associadas, resultando em vazamento de eletrólitos e morte celular (11, 12, 13). Estudos com diversas matérias-primas têm sido realizados a fim de identificar o potencial de uso dos óleos essenciais contra diferentes microrganismos (Tabela 1).

Tabela 1. Diferentes fontes de óleos essenciais e suas atividades antimicrobianas.

Fontes de Óleos Essenciais	Atividades antimicrobianas	Referência
Tangerina	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Penicillium italicum</i> e <i>Penicillium digitatum</i>	(14)
Laranja bergamota	<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>E. coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> e <i>S. aureus</i>	(15)

Capim-limão	HSV-1, HSV-2, <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>Gaeumannomyces graminis</i>	(16)
Cravo-da-índia	<i>B. cereus</i> , <i>S. Typhimurium</i> e <i>E. coli</i>	(17, 18)
Alecrim-pimenta	Larvas de <i>Stegomyia aegypti</i>	(19)
Camomila-vulgar	<i>Leishmania amazonensis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>	(20)
Hortelã-pimenta	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Pichia anomala</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(21)
Manjericão	<i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i>	(22)
Orégano	<i>Trichophyton tonsurans</i> , <i>Trichophyton violaceum</i> , <i>Trichophyton floccosum</i> e <i>T. mentagrophytes</i>	(23)
Goiabeira	<i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp. e <i>E. coli</i>	(24)
Romã	<i>S. epidermidis</i>	(25)
Alecrim	<i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>	(26)

Devido às suas propriedades antifúngicas, antiparasitárias, antibacterianas e antivirais, nos últimos anos, os OE têm sido explorados como agentes antimicrobianos na conservação de alimentos (11). Uma vez extraídos adequadamente, esses compostos se enquadram como aromatizantes naturais e são permitidos para aplicação em alimentos e embalagens, aumentando a extensão da vida útil de diversos produtos (10).

Aplicação dos óleos essenciais na conservação de alimentos

Os conservantes alimentícios são de suma importância para garantir a qualidade de diversos produtos e a segurança do consumidor. Existe uma ampla variedade de compostos de origem sintética que são utilizados como conservantes em alimentos, como benzoato e propionato de sódio, sorbato de potássio, ácido sórbico, sulfitos, dentre outros. Por outro lado, quando consumidos em excesso, esses compostos podem causar alguns malefícios à saúde, como prejudicar a absorção de nutrientes pelo organismo. Por isso, têm-se buscado produtos que apresentem uma lista de ingredientes minimalista, o chamado “rótulo limpo”, que sejam livres da adição de ingredientes sintéticos (27, 28).

Nesse contexto, tem-se aumentado o uso de OE na conservação de alimentos, que possuem ação antimicrobiana devido à presença de compostos como eugenol, alicina, timol e carvacrol e a substâncias como o linalol, sabineno, mentol, mirceno, camphene, dentre outros, e dificilmente microrganismos indesejáveis desenvolvem resistência a eles (29). A aplicação dos OE em alimentos depende de fatores como pH, atividade de água, permeabilidade ao oxigênio e composição química do meio. Em geral, os OE apresentam

baixa solubilidade em meio aquoso e propriedades sensoriais acentuadas, como sabor e aroma, o que limita sua aplicação direta em matrizes alimentícias. Assim, tecnologias como microencapsulação, nanoemulsões e a incorporação desses óleos em revestimentos comestíveis, são alternativas factíveis para o uso dos OE pela indústria alimentícia (30).

A microencapsulação consiste no aprisionamento do composto de interesse através da utilização de materiais de parede que podem ser de origem natural ou sintética. No caso dos OE, essa técnica é capaz de contornar as principais limitações da aplicação direta desses compostos em alimentos: baixa solubilidade, sensibilidade à luz, ao oxigênio e ao calor, além da alta volatilidade. De modo geral, as microcápsulas apresentam entre 1 a 1000 μm , o que aumenta a superfície de contato do material com o meio e potencializa sua ação. Adicionalmente, a técnica proporciona a liberação controlada desses óleos no meio e promove maior dispersibilidade em água (31).

A microencapsulação de OE pode ser realizada por diferentes técnicas, como a coacervação complexa, pulverização por *spray dryer* e geleificação iônica. Devido a demanda pelo uso de componentes naturais e as preocupações ambientais, materiais de parede alternativos para a microencapsulação de óleos essenciais tem despertado a atenção dos pesquisadores, como as proteínas do soro do leite (32), leiteiro (33), mucilagem de plantas (34), proteínas vegetais (35), dentre outros. Tanto o material de parede, quanto a tecnologia utilizada, dependem das condições de processamento e armazenamento do produto. A Tabela 2 apresenta a técnica de microencapsulação utilizada para promover a estabilização de óleos essenciais de diferentes fontes vegetais.

Tabela 2. Tipos de óleos essenciais microencapsulados por gelificação iônica, coacervação complexa e pulverização por *spray dryer*.

Óleo essencial encapsulado	Técnica de microencapsulação	Referência
Óleo essencial de manjerona (<i>Origanum majorana</i> L.)	Gelificação iônica, utilizando alginato de sódio e isolado de proteína de soro de leite	(32)
Óleo essencial de pimenta de Sichuan (<i>Zanthoxylum</i> L.)	Coacervação complexa, utilizando isolado de proteína de soja	(35)
Óleo essencial de baga de zimbro (<i>Juniperus communis</i> L.)	Pulverização por <i>spray dryer</i> , usando goma arábica, maltodextrina, alginato de sódio e concentrado de proteína de soro de leite	(36)
Óleo essencial de hortelã persa (<i>Mentha spicata</i>)	Pulverização por <i>spray dryer</i> , usando inulina e goma arábica	(37)

Outra forma de aplicação dos OE na conservação de alimentos está relacionada ao uso desses compostos em filmes e revestimentos. A embalagem de um produto tem como funções básicas armazenar e proteger o produto contido nela. No entanto, as novas tecnologias desenvolvidas possibilitam funções adicionais, como o aumento da conservação do alimento, o que pode ocorrer a partir da interação da embalagem com o produto, sendo então denominada de embalagem ativa (10).

A maior parte das embalagens para alimentos é produzida a partir de plástico que não é biodegradável e agride o meio ambiente. Já os revestimentos à base de OE são

ecológicos e interagem com o produto em prol da manutenção da qualidade e aumento da vida de prateleira (38, 39). Diversos estudos têm sido realizados visando a aplicação de revestimentos comestíveis à base de OE em frutas e vegetais, produtos de panificação, produtos cárneos, dentre outros (Tabela 3).

Tabela 3. Aplicação de filmes comestíveis com incorporação de óleos essenciais em alimentos.

Óleo essencial	Filme	Alimento alvo	Referência
Óleo essencial de endro (<i>Anethum graveolens</i>)	Filmes antifúngicos biodegradáveis de goma nanocelulose-gelana	Pães	(40)
Óleo essencial de melaleuca	Filmes antifúngicos de nanoemulsão de alginato de sódio/OE	Bananas	(41)
Óleo essencial de óregano (<i>Origanum vulgare</i> L.)	Filmes antibacterianos e antifúngicos, comestíveis à base de quitosana/caseína	Tomate	(42)
Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	Filmes antibacterianos à base de amido de tamarindo e concentrado de proteína do soro de leite	Tomate	(43)
Óleo essencial de inflorescência de gengibre (<i>Etilingera elatior</i> Jack)	Filmes antibacterianos à base de amido	Carne de frango	(44)

Para a produção desses filmes, a incorporação dos OE pode ser realizada de forma direta ou microencapsulada. A microencapsulação é a técnica mais utilizada para carrear esses compostos em diferentes matrizes pois proporciona o aumento da superfície de contato e proteção contra os fatores intrínsecos e extrínsecos do alimento, o que acarreta maior durabilidade da ação do OE (45).

Desafios e tendências da aplicação de OE na indústria alimentícia

A mudança na preferência dos consumidores por alimentos *clean label* vêm reforçando a necessidade da indústria alimentícia em desenvolver produtos mais saudáveis e sustentáveis, ou seja, substituindo aditivos artificiais por alternativas naturais (46). Neste contexto, os óleos essenciais se tornam uma tendência no mercado, uma vez que são agentes antimicrobianos naturais com grande potencial para utilização na indústria alimentícia, pois possibilitam rótulos limpos e funcionam para mitigar um dos principais mecanismos de deterioração dos alimentos: a oxidação lipídica (47).

Uma das principais causas de deterioração dos alimentos, está associado com a atividade microbiana, que causa a perda de qualidade e segurança dos alimentos. No entanto, muitos microrganismos patogênicos e deteriorantes estão se tornando resistentes aos antibióticos tradicionalmente usados. Desta forma, a utilização do efeito

antimicrobiano dos óleos essenciais, pode ser uma estratégia viável de aplicação, sendo imprescindível investigar seu efeito no controle de uma gama de bactérias (48).

Em um estudo realizado por Brito et al. (49), foi avaliada a atividade antimicrobiana de óleo essencial de orégano frente a sorovares de *Salmonella entérica* com resistência a antibióticos. Os autores concluíram que, os patógenos se mostraram resistentes aos agentes antimicrobianos convencionais (como amoxicilina), mas em contrapartida, foram suscetíveis a ação do óleo essencial de orégano em todas as concentrações testadas. Nesse sentido, os óleos essenciais apresentam grande potencial de uso no controle microbiológico de alimentos, incluindo os que apresentam maiores riscos de contaminação por patógenos, como a *Salmonella* spp. (49).

Com isso, é crescente o número de estudos envolvendo o uso dos óleos essenciais, como agente antimicrobiano e antioxidante. Atualmente, o uso dos óleos essenciais tem sido amplamente avaliado em queijos, através de estudos *in vitro* e avaliações sensoriais obtendo-se eficiência da aplicação no produto. Outras matrizes lácteas como bebida láctea, iogurte, leite fluido e doce de leite, também vem sendo avaliados, enfatizando a ação antioxidante dos OE. Apesar de terem poucos estudos envolvendo produtos cárneos, a aplicação desses compostos também tem se tornado uma tendência para esse setor, principalmente em derivados cárneos como salames, hambúrgueres e linguças (50).

É importante ressaltar que apesar de serem conhecidos pela atividade antimicrobiana, os óleos essenciais ainda apresentam certas limitações para serem utilizados como conservantes nos alimentos. Em alguns casos é necessária a utilização de altas concentrações para obtenção de efeito desejável sobre os microrganismos (51).

Além disso, de forma geral, existem algumas limitações relacionadas aos agentes antimicrobianos naturais, como o processo de registro. Alguns componentes dos óleos essenciais com atividade antimicrobiana são registrados pelos EUA apenas como agentes aromatizantes para alimentos. Outros compostos, como estragol e metil eugenol, não são permitidos, e para que sejam disponibilizados para aplicação em alimentos, precisam passar por avaliações toxicológicas detalhadas a fim de analisar os efeitos do consumo à saúde e entender os mecanismos de decomposição dessas substâncias no organismo (52).

Além dos resultados satisfatórios a nível laboratorial, torna-se imprescindível um estudo de viabilidade técnico-econômica, a fim de obter a relação custo-benefício do processo produtivo e aplicação dos OE a nível industrial, considerando infraestrutura, disponibilidade de matéria-prima, custo, entre outros fatores (53).

CONCLUSÕES

Tendo em vista as diferentes aplicações dos óleos essenciais como antimicrobianos em alimentos e os efeitos satisfatórios apresentados por diversos estudos acadêmicos aqui compilados, conclui-se que a utilização dos óleos essenciais pela indústria alimentícia é altamente promissora, não sendo descartada a possibilidade futura de substituição de diversos aditivos sintéticos atualmente adicionados nos alimentos. A partir do presente trabalho, é possível perceber que são crescentes os estudos sobre a aplicação dos OE microencapsulados diretamente ao alimento ou como revestimento de uma ampla variedade de produtos alimentícios. Nesse sentido, a utilização de OE como conservantes naturais em alimentos pode ser uma estratégia interessante que visa atender a expectativa do consumidor em relação ao rótulo limpo, de forma segura e eficaz. De

forma adicional, são necessárias mais investigações para avaliação da toxicidade de diferentes compostos químicos que possam estar presentes nos OE, além de novos estudos para estabelecer a dose específica recomendada para cada aplicação e o custo-benefício inerente a todo o processo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES - Código Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto APQ-00388-21; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto (429033/2018-4) e pela bolsa de produtividade à B.R.C. Leite Júnior (nº306514/2020-6).

REFERÊNCIAS

1. Durço, B.B., Tavares Filho, E.R.; Soares, P.T.S., Ribas, M.L.Q.K., Duarte M.C.K.H, Esmerino, E.A. Uso de óleos essenciais como alternativa conservante clean label em produtos lácteos. *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*. 2021; 1:88-107.
2. Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. Assessment of antioxidant and antibacterial properties on meat homogenates of essential oils obtained from four *Thymus* species achieved from organic growth. *Foods*. 2017; 6:59.
3. Sant'Ana, A. S. *Quantitative Microbiology in Food Processing Modeling the Microbial Ecology*. Campinas/SP: Wiley. Department of Food Science, University of Campinas, 2017; 1: 696 p.
4. Konfo, T. R. C., Djouhou, F. M. C., Koudoro, Y. A., Dahouenon-Ahoussi, E., Avlessi, F., Sohounhloue, C. K. D., & Simal-Gandara, J. Essential oils as natural antioxidants for the control of food preservation. *Food Chemistry Advances*. 2023; 2:100312. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2023.100312>
5. Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernández-López, J., Viuda-Martos, M. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. *Journal of Food Science and Technology*. 2016; 53: 3374-3379.
6. Millezzi, A. F., Rossoni, D. F., Cano, I. A., & Piccoli, R. H. Sensibilidade de bactérias patogênicas em alimentos a óleos essenciais de plantas medicinais e condimentares. *Higiene Alimentar*. 2016; 30: 117-122.
7. Stieven, A. C., Moreira, J. J. S., & Silva, C. F. Essential oils of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): evaluation of the microbiological and antioxidant activities. *Ecletica Quimica*. 2009; 34: 7-16.

8. Lima, I. D. O., Oliveira, R. D. A. G., Lima, E. D. O., Farias, N. M. P., & Souza, E. L. D. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2006; 16: 197-201.
9. Ghabraie, M., Vu, K. D., Tata, L., Salmieri, S., & Lacroix, M. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Science and Technology*. 2016; 66: 332-339.
10. De Almeida, J. C., De Almeida, P. P., & Gherardi, S. R. M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutr. Time*. 2020; 17: 8623-8633.
11. Chouhan, S.; Sharma, K.; Guleria, S. Antimicrobial activity of some essential oils— Present status and future perspectives. *Medicines*. 2017; 4: 58.
12. Nair, A., Mallya, R., Suvarna, V., Khan, T. A., Momin, M., & Omri, A. Nanoparticles-Attractive carriers of antimicrobial essential oils. *Antibiotics*. 2022; 11: 108.
13. Rai, M.; Paralikar, P.; Jogee, P.; Agarkar, G.; Ingle, A.P.; Derita, M.; Zacchino, S. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *Int. J. Pharm.* 2017; 519: 67–78.
14. Song, X.; Liu, T.; Wang, L.; Liu, L.; Li, X.; Wu, X. Antibacterial effects and mechanism of mandarin (*Citrus reticulata* L.) essential oil against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2020; 25: 4956.
15. Navarra, M.; Mannucci, C.; Delbò, M.; Calapai, G. Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. *Front. Pharmacol.* 2015; 6: 36.
16. Sharma, S.; Habib, S.; Sahu, D.; Gupta, J. Chemical properties and therapeutic potential of citral, a monoterpene isolated from lemongrass. *Med. Chem.* 2020; 17: 2–12.
17. Guimarães, A.C.; Meireles, L.M.; Lemos, M.F.; Guimarães, M.C.C.; Endringer, D.C.; Fronza, M.; Scherer, R. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*. 2019; 24: 2471.
18. Aldoghaim, F.S.; Flematti, G.R.; Hammer, K.A. Antimicrobial activity of several cineole-rich western australian eucalyptus essential oils. *Microorganisms*. 2018; 6: 122.
19. De Oliveira, E.F.; DE Paula, H.C.; de Paula, R.C. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2014; 113: 146–151.

20. McKay, D.L.; Blumberg, J.B. A Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother. Res.* 2006; 20: 519–530.
21. Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. *International Scholarly Research Notices*, 2012; 718645.
22. Liu, X.; Cai, J.; Chen, H.; Zhong, Q.; Hou, Y.; Chen, W.; Chen, W. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb. Pathog.* 2020; 141: 103980.
23. Rodriguez-Garcia, I.; Silva-Espinoza, B.; Ortega-Ramirez, L.; Leyva, J.; Siddiqui, M.W.; Valenzuela, M.R.C.; Gonzalez-Aguilar, G.; Zavala, J.F.A. Oregano essential oil as an antimicrobial and antioxidant additive in food products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2016; 56: 1717–1727.
24. Dahham, S.S.; Tabana, Y.M.; Iqbal, M.A.; Ahamed, M.B.K.; Ezzat, M.O.; Majid, A.S.A.; Majid, A.M.S.A. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *aquilaria crassna*. *Molecules.* 2015; 20: 11808–11829.
25. Fathi, N.; Lotfipour, F.; Dizaj, S.M.; Hamishehkar, H.; Mohammadi, M. Antimicrobial activity of nanostructured lipid carriers loaded punica granatum seed oil against *Staphylococcus epidermidis*. *Pharm. Nanotechnol.* 2020; 8: 485–494.
26. Wu, K.; Lin, Y.; Chai, X.; Duan, X.; Zhao, X.; Chun, C. Mechanisms of vapor-phase antibacterial action of essential oil from *Cinnamomum camphora* var. *linaloofera* Fujita against *Escherichia coli*. *Food Sci. Nutr.* 2019; 7: 2546–2555.
27. Andressa, I.; Hudson, E. A.; Pires, A. C. dos S. Aplicabilidade do soro de leite em alimentos não lácteos. In: Souza, P. M. Futuro da ciência e tecnologia de alimentos: inovação para alimentar 10bi em 2050. Recife: Even3 Publicações, 2023.
28. Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., & Lombó, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2018; 52:309–315. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2018.04.024>
29. Prieto, M. C., Camacho, N. M., Inocenti, F. D., Mignolli, F., Lucini, E., Palma, S., ... & Asensio, C. M. Microencapsulation of *Thymus vulgaris* and *Tagetes minuta* essential oils: Volatile release behavior, antibacterial activity and effect on potato yield. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 2022; 22: 195-204.

30. Mendonca, A., Jackson-Davis, A., Moutiq, R., & Thomas-Popo, E. Use of Natural Antimicrobials of Plant Origin to Improve the Microbiological Safety of Foods. *Food and Feed Safety Systems and Analysis*. 2018; 249–272. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811835-1.00014-2>
31. Luo, S., He, Y., Zhu, L., Si, T., & Sun, Y. Comprehensive evaluation on the encapsulation performances of melamine-formaldehyde microcapsules affected by core oils. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2023; 659: 130794.
32. Mazza, K. E. L., Costa, A. M. M., da Silva, J. P. L., Alviano, D. S., Bizzo, H. R., & Tonon, R. V. Microencapsulation of marjoram essential oil as a food additive using sodium alginate and whey protein isolate. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 233: 123478. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.123478>
33. Zhang, Y., Pang, X., Zhang, S., Liu, L., Ma, C., Lu, J., & Lyu, J. Buttermilk as a wall material for microencapsulation of omega-3 oils by spray drying. *LWT*. 2020; 127: 109320. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.109320>
34. Bao, H., Ding, H. H., Charles, A. P. R., Hui, D., Rakshit, S., Nahashon, S., & Wu, Y. Application of yellow mustard mucilage in encapsulation of essential oils and polyphenols using spray drying. *Food Hydrocolloids*. 2023; 143: 108815. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2023.108815>
35. Chen, K., Zhang, M., Adhikari, B., & Wang, M. Microencapsulation of Sichuan pepper essential oil in soybean protein isolate-Sichuan pepper seed soluble dietary fiber complex coacervates. *Food Hydrocolloids*. 2022; 125: 107421. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.107421>
36. Bajac, J., Nikolovski, B., Lončarević, I., Petrović, J., Bajac, B., Đurović, S., & Petrović, L. Microencapsulation of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L.) by spray drying: microcapsule characterization and release kinetics of the oil. *Food Hydrocolloids*. 2022; 125: 107430.
37. Mehran, M.; Masoum, S.; Memarzadeh, M. Microencapsulation of *Mentha spicata* essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial Crops and Products*. 2020; 154: 112694, 2020.
38. da Silva, N., de Souza Farias, F., dos Santos Freitas, M. M., Pino Hernández, E. J. G., Dantas, V. V., Enê Chaves Oliveira, M., Joele, M. R. S. P., & de Fátima Henriques Lourenço, L. Artificial intelligence application for classification and selection of fish gelatin packaging film produced with incorporation of palm oil and plant essential oils. *Food Packaging and Shelf Life*. 2021; 27: 100611. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2020.100611>







39. Li, X. L., Shen, Y., Hu, F., Zhang, X. X., Thakur, K., Rengasamy, K. R. R., Khan, M. R., Busquets, R., & Wei, Z. J. Fortification of polysaccharide-based packaging films and coatings with essential oils: A review of their preparation and use in meat preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 242: 124767. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124767>
40. Sripahco, T., Khruengsai, S., & Pripdeevech, P. Biodegradable antifungal films from nanocellulose-gellan gum incorporated with *Anethum graveolens* essential oil for bread packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 125244.
41. Yang, Z., Li, M., Zhai, X., Zhao, L., Tahir, H. E., Shi, J., ... & Xiao, J. Development and characterization of sodium alginate/tea tree essential oil nanoemulsion active film containing TiO₂ nanoparticles for banana packaging. *International journal of biological macromolecules*. 2022; 213: 145-154.
42. Roshandel-Hesari, N., Mokaber-Esfahani, M., Taleghani, A., & Akbari, R. Investigation of physicochemical properties, antimicrobial and antioxidant activity of edible films based on chitosan/casein containing *Origanum vulgare* L. essential oil and its effect on quality maintenance of cherry tomato. *Food Chemistry*. 2022; 396: 133650.
43. Ghoshal, G. Thyme essential oil nano-emulsion/Tamarind starch/Whey protein concentrate novel edible films for tomato packaging. *Food Control*. 2022; 138: 108990.
44. Marzlan, A. A., Muhialdin, B. J., Abedin, N. H. Z., Manshoor, N., Ranjith, F. H., Anzian, A., & Hussin, A. S. M. Incorporating torch ginger (*Etlingera elatior* Jack) inflorescence essential oil onto starch-based edible film towards sustainable active packaging for chicken meat. *Industrial Crops and Products*. 2022; 184: 115058.
45. Brandão, R. M., Batista, L. R., de Oliveira, J. E., Barbosa, R. B., Nelson, D. L., & Cardoso, M. G. In vitro and in vivo efficacy of poly (lactic acid) nanofiber packaging containing essential oils from *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. against *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger* in table grapes. *Food Chemistry*. 2023; 400: 134087.
46. Rao, J., Chen, B., McClements, D.J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. *Annual review of food science and technology*. 2019; 10:365-387.
47. de Lima Júnior, D. M., do Nascimento Rangel, A. H., Urbano, S. A., & Moreno, G. M. B. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. *Acta Veterinaria Brasilica*, 2013; 7: 14-28.

48. Tawema, P.; Hn, J.; Vu, K. D., Salmieri, S.; Lacroix, M. Antimicrobial effects of combined UV-C or gamma radiation with natural antimicrobial formulations against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and total yeasts/molds in fresh cut cauliflower. *LWT - Food Science and Technology*. 2016; 65: 451–456.
49. Brito, D.A.P., de Sousa Lima, L., Soares, B.S., Pinheiro, S.C.S. Atividade antimicrobiana de óleo essencial de orégano frente a sorovares de *Salmonella enterica* com resistência a antibióticos. *Brazilian Journal of Development*. 2020; 6:12: 94029-94036.
50. Boskovic, M.; Glisic, M.; Djordjevic, J.; Vranesevic, J. Preservation of meat and meat products using nanoencapsulated thyme and oregano essential oils. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019.
51. Pinelli, J. J., de Abreu Martins, H. H., Guimarães, A. S., Isidoro, S. R., Gonçalves, M. C., de Moraes, T. S. J., ... & Piccoli, R. H. Essential oil nanoemulsions for the control of *Clostridium sporogenes* in cooked meat product: An alternative?. *Lwt*, 2021; 143: 111123.
52. Mari, M., Bautista-Baños, S., & Sivakumar, D. Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds. *Postharvest. Biology and Technology*. 2016; 122: 70– 81. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.014>
53. Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vazquez Gonzalez, Y., & Ragazzo-Sánchez, J. A. Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 2020; 8: 2555-2568.

Capítulo 17

DOI: 10.53934/IISEMICO-17

ÓLEO ESSENCIAL E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM MATRIZES ALIMENTÍCIAS

Thaís da Silva Araujo *; Maria José do Amaral e Paiva *; Caroline Woelffel Silva ; Nataly de Almeida Costa ; Mirielle Teixeira Lourenço ; Vanessa Caroline de Oliveira ; Érica Nascif Rufino Vieira 

*Autor correspondente (Corresponding author) – Email: thais.d.araujo@ufv.br

Resumo: Existe uma crescente preocupação por parte dos consumidores com a qualidade e a segurança dos alimentos bem como a busca por alimentos mais saudáveis, nutritivos e seguros. A fim de suprir essa demanda, surge a utilização de óleos essenciais em matrizes alimentícias. A utilização desses óleos tanto na medicina tradicional como na conservação de alimentos, evidencia seu potencial na busca por soluções capazes de promover a segurança alimentar e atender às exigências dos consumidores. Estudos revelam que os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana contra diferentes cepas de microrganismos patogênicos. Nesse contexto, os óleos essenciais de algumas plantas têm se destacado como uma opção de aplicação devido sua riqueza fenólica, que justifica sua capacidade de prevenção oxidativa e de combate a microrganismos. A utilização de óleos essenciais em matrizes alimentícias apresenta sucesso em sua execução contra microrganismos, que possam estar presentes nos alimentos, de uma forma segura ao consumidor. Entretanto, a utilização em concentrações acima do permitido desses óleos resulta em prejudiciais alterações sensoriais ao alimento, necessitando assim de estudos e tecnologias que amenizem esses efeitos visando uma aplicação mais ampla e de forma otimizada.

Palavras-chave: antimicrobiano, alimentos, patogenicidade

Abstract: There is a growing concern on the part of consumers with the quality and safety of food, as well as the search for healthier, more nutritious and safer foods. In order to meet this demand, the application of essential oils in food matrices arises. The application of these oils both in traditional medicine and in food preservation, highlights their potential in the search for solutions that promote food safety and meet consumer demands. Studies reveal that essential oils have antimicrobial activity against different strains of pathogenic microorganisms. In this context, the essential oils of some plants have stood out as an application option due to their phenolic richness, which justifies their capacity for oxidative prevention and combating microorganisms. The application of essential oils in food matrices is successful in its execution against microorganisms that may be present in food, in a safe way for the consumer. However, the application of these oils results in harmful sensory changes to the food, thus requiring studies and technologies that mitigate these effects, aiming at a broader and optimized application.

Keywords: antimicrobial, food, pathogenicity

INTRODUÇÃO

A preocupação com a qualidade e a segurança dos alimentos tem aumentado significativamente por parte dos consumidores, que exigem e buscam alimentos mais

saudáveis, nutritivos e seguros. Essa demanda reflete diretamente na necessidade de investigação de novas tecnologias para a sua preservação durante a produção, o transporte e o armazenamento. Assim, novas alternativas provenientes de fontes naturais têm se tornado alvo das pesquisas, como a utilização de óleos essenciais (OEs). Estes têm sido utilizados há séculos tanto na culinária quanto na medicina popular, e após estudos, têm se mostrado compostos com importantes propriedades biológicas (1).

O crescimento inesperado de agentes patogênicos e o desenvolvimento de resistência múltipla aos medicamentos são preocupações para a saúde pública. Consequentemente, os extratos de plantas e os óleos essenciais têm sido alvo de estudo sobre as propriedades antimicrobianas com objetivo de encontrar novos compostos potencialmente eficazes, visando uma possível substituição de aditivos alimentares sintéticos por naturais. Esses óleos têm demonstrado potencial conservante devido à capacidade antimicrobiana e antioxidante presente em sua composição, capaz de minimizar ou eliminar a presença de microrganismos e/ou reduzem o fenômeno de oxidação lipídica (2,3).

O controle da deterioração por microrganismos e da oxidação dos lipídeos é necessário para aumentar a estabilidade dos alimentos e prolongar o prazo de validade dos produtos e, portanto, a segurança alimentar e a rentabilidade econômica da indústria, visto que esses fatores são as principais causas da perda de alimentos (1).

Uma grande variedade de óleos essenciais de diferentes plantas, como o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), cinamomo (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) tem sido aplicada aos alimentos para prolongar o seu prazo de validade (1). E alguns óleos essenciais já evidenciaram importante ação biológica com microrganismos patogênicos de origem alimentar, como *Salmonella typhimurium*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas putida* e *Staphylococcus aureus* (4).

Além disso, já é possível observar a utilização desses óleos essenciais na indústria de alimentos, como por exemplo, óleo de manjeriço adicionado no pão (5), o óleo de casca de canela adicionado no queijo mozzarella (6), óleo de orégano aplicado na carne de porco (7). Contudo, mais investigações são necessárias sobre a utilização de óleos essenciais com função antimicrobiana em alimentos.

Dessa forma, no presente capítulo de revisão tem como objetivo descrever a aplicação de óleo essencial e evidenciar sua atividade antimicrobiana, bem como sua bioatividade, a fim de apontar possíveis aplicações em matriz alimentícia e sua ação contra alguns patógenos.

ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais são líquidos aromáticos voláteis, extraídos de várias partes das plantas como cascas, sementes, flores, cascas, frutos, raízes, folhas, madeira, frutos ou plantas inteiras, logo o seu nome depende da planta em que foi extraído (8). A definição de óleo essencial descrita pela Organização Internacional de Padronização (ISO - International Organization for Standardization), que o define como “obtido a partir de uma matéria-prima natural de origem vegetal, por destilação a vapor, por processos de extração mecânica a partir do epicarpo de frutas cítricas, ou por destilação a seco, após separação da fase aquosa por processos físicos, se houver”(9).

Ainda, são considerados metabólitos secundários de plantas aromáticas, geralmente pertencentes a famílias angiospérmicas, e tem sido alvo de pesquisa não só pela fonte natural, mas pelas propriedades biológicas apresentadas, como atividades antioxidantes,

antimicrobianas, antitumorais, analgésicas, inseticidas, antidiabéticas e anti-inflamatórias (1).

Apesar de ambos serem chamados de ‘óleos’, os óleos essenciais são diferentes dos óleos vegetais (óleos e gorduras) em termos de composição química. Enquanto um é formado basicamente de lipídeos e não possui característica volátil (óleos vegetais), o outro, óleo essencial, é composto de diversos constituintes, principalmente terpenos, derivados de fenilpropanóides e compostos aromáticos (fenóis, aldeídos, alcoóis, derivados metoxi e compostos metileno-dioxi), mas mais de 200 compostos podem estar presentes nos óleos essenciais. Assim, o óleo essencial pode apresentar frações voláteis, em sua maior parte, e não voláteis em cerca de 1-10%, incluindo os carotenóides, ácidos graxos, flavonóides e ceras. Essa mistura de compostos do óleo essencial fornece a ele propriedades biológicas (4).

É muito comum que um óleo essencial seja relacionado a apenas um composto, já que o componente majoritário constitui até 85%, mas os 15% restantes apresentam também papel biológico importante e atuam sinergicamente com o composto majoritário. Por exemplo, o composto majoritário do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é o eugenol, que apresenta propriedades anti-inflamatória e antimicrobiana, conferindo as mesmas propriedades ao óleo essencial de cravo-da-índia (2,10).

A qualidade e composição de um óleo essencial podem ser afetadas tanto pelo método de extração e as condições da análise, quanto pelas características da planta, como por exemplo, a variedade, origem geográfica, fase de desenvolvimento, parte da planta que foi utilizada e a condição dela quando colhida, entre outros (1). Além disso, por causa do progresso tecnológico, as técnicas de extração de óleos essenciais estão em constante evolução, afetando também a composição do óleo obtido.

Os óleos essenciais podem ser extraídos por diferentes métodos, como a hidrodestilação, destilação a vapor, hidrodifusão, extração por solventes e extração por fluido supercrítico (11). Por sua natureza hidrofóbica e de densidade inferior à água, os óleos essenciais são lipofílicos e solúveis em solventes orgânicos, mas dos métodos de extração, a destilação a vapor e a hidrodestilação acabam sendo os mais utilizados na extração de óleo essencial (2,4).

O método de destilação por arraste a vapor é um dos mais utilizados, principalmente em escala industrial, com uma taxa de extração de 93%. Esse método consiste em posicionar a matéria-prima em placas perfuradas acima de caldeira que produz vapor, de maneira que a matéria e a água não entrem em contato. O vapor produzido entra em contato com a matéria-prima provocando um rompimento das cavidades secretoras presentes no tecido vegetal, onde estão armazenados os óleos essenciais, que são então liberados e arrastados pela corrente de vapor até o condensador refrigerado, onde ocorre o processo de condensação separando o óleo extraído da água (4).

Já a extração por hidrodestilação é um dos métodos mais antigos, que atualmente utiliza o equipamento Clevenger. O processo de extração se difere da destilação a vapor por demandar o contato da matéria-prima com a água em ebulição, permitindo que o óleo essencial evapore junto com a água, indo para o condensador a fim de resfriar, a separação ocorre por diferença de densidade (2).

Os rendimentos de extração dependem da espécie e dos segmentos vegetais utilizados, mas um rendimento muito baixo, como 1%, pode torná-los componentes raros altamente valiosos (4). Para identificação e quantificação de compostos voláteis ativos dos óleos essenciais, o método mais comum é a cromatografia gasosa associada a espectrometria

de massa (MS). Este método é simples e eficiente, que permite respostas rápidas, por isso é uma técnica analítica amplamente utilizada para a determinação dos constituintes dos óleos essenciais (1).

Os óleos essenciais de algumas plantas já são amplamente conhecidos e utilizados, como por exemplo, os óleos essenciais de orégano e alecrim. O orégano é uma erva perene que pertence à família *Lamiaceae* e tem sido utilizado em diferentes domínios como medicina popular, cosmética e conservação de alimentos, seu óleo essencial é rico em timol e carvacol, com atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anti-acetilcolinesterase (2). O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) tem sido utilizado na medicina tradicional e na conservação de alimentos devido à sua riqueza fenólica, indicando sua capacidade de prevenção oxidativa e a contaminação microbiana.

AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os OEs são compostos voláteis extraídos de plantas aromáticas e possuem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedade antimicrobiana (12). Esses compostos podem atuar contra bactérias, fungos e vírus, apresentando potencial como alternativa aos antimicrobianos convencionais (13). Essa capacidade antimicrobiana dos óleos essenciais é um assunto bastante difundido na literatura. É possível encontrar diversos trabalhos que realizaram a avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra diferentes microrganismos. Na Tabela 1, encontram-se listados o potencial microbiano de diferentes óleos essenciais encontrados na literatura.

Tabela 1: Atividade antimicrobiana de alguns OEs popularmente conhecidos

Matéria-prima e nome científico	Atividade biológica	Microrganismo avaliado	Referência
Lavanda <i>L. angustifolia</i> Mill. <i>L. stoechas</i> <i>L. latifolia</i>	antiviral antibacteriana antifúngica	HSV-1*, <i>L. angustifolia</i> Mill, <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>A.</i> <i>pullulans</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P.</i> <i>simplicissimum</i>	WIŃSKA, et al., 2019 (14)
Orégano <i>Origanum decumbens</i>	antibacteriana antifúngica	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E.</i> <i>coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>S.</i> <i>marcenscens</i> , <i>A. niger</i> , <i>C. albicans</i>	AMIN, et al., 2005 (15)
Manjeriço <i>Ocimum basilicum</i>	antibacteriana antifúngica	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P.</i> <i>multocida</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. mucedo</i> , <i>F.</i> <i>solani</i> , <i>B. theobromae</i> , <i>R. solani</i>	HUSSAIN, et al., 2008 (16)
Cinamomo <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	antibacteriana antifúngica	<i>S.aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>E. feacalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>B. cereus</i> , <i>A.</i> <i>lwoffii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>M.</i>	UNLU, et al., 2010 (17)

		<i>smegmatis</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>L. monocytogenes</i> F, <i>L. ivanovii</i> F, <i>L. innocua</i> F, <i>L. welshimeri</i> F, <i>L. seeligeri</i> F, <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i>	
Alecrim <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	antibacteriana antifúngica antiviral	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>HSV-1</i>	OKOH., et al., 2010 (18) ANGIONI, et al., 2004 (19) NOLKEMPER, et al., 2006 (20)
Alho <i>Allium sativum</i>	antibacteriana antifúngica	<i>S. aureus</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>E.coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>	BENKEBLIA, N., 2004 (21) JOHNSON, O. O., G. A. AYOOLA, and T. Adenipekun., 2013 (22)
Pimenta-rosa <i>Schinus terebinthifolius</i>	antibacteriana antifúngica	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>C. albicans</i>	EL-MASSRY, et al., 2009 (23) DANNENBERG, et al.,2019 (24)
Salvia <i>Salvia sclarea</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Salvia triloba</i>	antibacteriana antifúngica	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. Aeruginosa</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. sonei</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>B. Pseudomonas</i> , <i>E. hirae</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A.s niger</i> , <i>A. gossypii</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>Tr. reesei</i> , <i>A. solani</i> , <i>A. rabies</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>M. laxa</i> , <i>P. italicum</i> , <i>R. solani</i>	CUI, et al., 2015 (25) WIŃSKA, et al., 2019 (14)
Cravo-da-India <i>Syzygium aromaticum</i>	antibacteriana antifúngica antiviral	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , <i>HSV-1</i>	RADÜNZ, et al., 2019 (26) SHARMA, et al., 2017 (27)

			KIKI, M. J., 2023 (39)
Tangerina <i>Citrus reticulata</i>	antibacteriana antifúngica antiviral	<i>S.aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , Hepatite A	JOHNSON, O. O., G. A. AYOOLA, and T. ADENIPEKUN., 2013 (22) BATTISTINI, et al., 2019 (28)

*Vírus Herpes Simplex tipo 1 (HSV-1)

Os OEs apontados foram extraídos de diferentes matérias-primas vegetais. Esses óleos podem apresentar variadas biofuncionalidades. Os trabalhos referidos apontaram propriedade antimicrobiana contra as cepas testadas, também descrevem importantes bioatividades dos OEs em aplicações para testagens *in vitro* e/ou *in vivo*. O mecanismo de ação quanto à atividade antimicrobiana dos OEs tem sido atribuída à membrana celular, inibição da síntese de proteínas e alteração da expressão gênica. Esses mecanismos podem levar à ruptura da membrana celular, vazamento de componentes intracelulares e interrupção de processos metabólicos essenciais para a sobrevivência dos microrganismos (29).

No entanto, é importante ressaltar que a eficácia dos óleos essenciais como agentes antimicrobianos pode variar dependendo da concentração, composição química e interações com outros compostos presentes no ambiente. Além disso, estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança e a eficácia dos óleos essenciais em diferentes contextos clínicos, bem como o seu potencial para o desenvolvimento de resistência. A utilização adequada dos óleos essenciais como agentes antimicrobianos requer uma compreensão abrangente de sua atividade, bem como a consideração de outros fatores relevantes, como toxicidade e estabilidade.

APLICAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

Óleos essenciais de algumas plantas são descritos como seguros para aplicação em alimentos e são utilizados de diferentes formas, como descrito na Tabela 2.

Óleo essencial	Alimento	Forma de utilização	Compostos majoritários	Referência
Endro (<i>Anethum graveolens</i>)	Pães	Filmes biodegradáveis de goma gelatinosa e nanocelulose de abacaxi	Carvona, trans-dihidrocarvona, limoneno e α -acorenol	(SRIPAHCO; KHRUENGSAI; PRIPDEEVECH, 2023) (30)
Tomilho vermelho (<i>Thymus zygis</i> L.); Orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.)	Hambúrgueres de salmão e algas marinhas	Incorporados no momento de preparo	Timol, linalol, carvacrol	DOLEA et al., (2018) (31)
Orégano (<i>Oreganum compactum</i>) Canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) Tomilho e <i>Thymus zygis</i>	Peixe e carne	Em marinada	Carvacrol (47,80%), timol (21,41%), γ -terpineno (13,44%) e p-cimeno; Cinamaldeído (66,28%) e acetato de cinamila (10,54%); Timol (55,91%), p-cimeno (20,61%) e γ -terpineno (5,59%)	(HAUTE et al., 2016) (32)
Folhas de canela (<i>Cinnamomum sp.</i>)	Suco de laranja	Adicionado em suspensão	Eugenol, (74,32%) Benzil benzoato (2,98%)	(SÁNCHEZ-RUBIO et al., 2018) (33)
Folhas de limão siciliano (<i>Citrus limon</i> var <i>pompia</i>)	Ricota	Tecnologia de barreiras com diferentes concentrações de óleo essencial gasoso	Acetato de linalila Limoneno, Mirceno	(FANCELLO et al., 2020) (34)

Hortelã-pimenta (<i>Mentha piperita</i> L)	Linguiça suína	Em combinação com fluido supercrítico de bagaço de tomate	Mentol Isomentona Isomentol Eucaliptol terpineno-4-ol e licopeno (tomate)	(ŠOJIC <i>et al.</i> , 2020) (35).
--	----------------	---	--	---------------------------------------

Sripahco, Khruengsai, Pripdeevech (2023) (36) incorporaram óleo essencial de *Anethum graveolens*, *Amomum testaceum*, *Anethum graveolens*, *Piperlongum*, *Kaempferia galanga* e *Zanthoxylum limonella* a filmes de goma gelana-nanocelulose de abacaxi para embalar pães e testaram a sua atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*. O óleo essencial de *Anethum graveolens* apresentou a maior eficiência contra *Aspergillus niger* com zona de inibição de 43,51 mm comparado a zona de 10,02 mm a 26,13 mm dos outros óleos testados; não houve crescimento de *A. niger* detectável de forma visual por três semanas de armazenamento em embalagens com 2% e 4% de óleo de *Anethum graveolens*, diferentemente do controle.

Hambúrgueres de salmão e algas marinhas foram preparados com e sem óleo essencial de tomilho vermelho e de orégano, foram armazenados a vácuo a 4 °C por 17 dias. As características físico-químicas pH, teor de água e textura foram avaliadas e não houve alteração para ambos os óleos essenciais. Os hambúrgueres com óleo essencial de tomilho apresentaram menor oxidação. O tratamento-controle e as amostras adicionadas de óleo essencial de orégano apresentaram maior contagem de mesófilo quando comparados àquelas adicionadas de orégano (31).

O óleo essencial de tomilho apresenta cerca de 80% de capacidade antioxidante e também bactericida, evitando a formação de biofilmes. Pode ser utilizado para controlar patógenos e aumentar a vida útil dos alimentos (37). Óleos essenciais de orégano, tomilho e canela foram utilizados em marinada para imersão de filé de porco, toucinho de porco, filé de frango, pele de frango, salmão e camarão com o objetivo de aumentar a vida útil, visto que possuem alto teor de água e são propensos à rápida deterioração. Os alimentos foram imersos por 2 minutos em soluções contendo os óleos, em seguida foram armazenados a 4 °C. As amostras sem óleos essenciais não apresentaram redução do crescimento microbiano, o óleo essencial de canela promoveu redução de bolores e levedura em todos os alimentos e nas amostras de frango reduziu coliformes totais e bactérias do ácido láctico, isso se deve ao fato que o cinamaldeído é altamente eficiente para controlar fungos, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (32,38).

Em outro estudo, o óleo essencial de orégano aumentou a vida útil de filé suíno e salmão, óleo de tomilho de filé suíno e camarão. O timol e o carvacrol são os principais componentes responsáveis pelo efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de orégano e tomilho, mas os outros componentes também podem interagir e promover esse efeito (32). Porém, a análise sensorial mostrou que as amostras tratadas com óleo essencial oferecidas

cruas obtiveram na escala hedônica valores menores em relação às cozidas por causa do odor exalado pelo material.

O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais pode ser potencializado através de tratamentos combinados como sonicação e tratamento térmico para inativar fungos, leveduras e bactérias. Óleo essencial da folha de canela foi adicionado em suspensão a suco de laranja natural tendo seu efeito avaliado em combinação com ultrassom e tratamento térmico para avaliar a sobrevivência de *Sacharomyces cerevisiae*. As concentrações de óleo foram determinadas através de ensaio de microtitulação em placas, utilizando no suco concentrações menores ou iguais à concentração inibitória mínima. A maior inativação foi obtida com a combinação óleo essencial de canela (650 ppm), ultrassom (24 kHz; 105 μm ; 33,31 W ml^{-1}) e temperatura (50 °C) por 30 minutos, com redução de $\sim 3,8$ log (33). A combinação do tratamento dos óleos essenciais com ultrassom tem sua eficiência aumentada porque que a sonicação promove modificações nas células dos microrganismos, causando ruptura de membranas, cavitação e microfluxo para a parte interna e até a lise das células potencializando a ação dos óleos essenciais (33).

Há indicações que os óleos essenciais em forma gasosa apresentam maior eficiência do que em fase líquida. Com o objetivo de controlar a deterioração causada por *Listeria monocytogenes* em alimentos, foi aplicado óleo essencial de folha de limão siciliano, em forma gasosa, com diferentes concentrações em ricota inoculada com 6 log UFC/g de *L. monocytogenes* em cepas individuais e mistas comparado com citral gasoso e um controle sem adição de óleo essencial, o tratamento foi combinado com refrigeração. Foram feitas avaliações ao longo de 30 dias de armazenamento, houve redução na contagem de cepas mistas de 4,08 log UFC/g aos 15 dias de incubação; aos 30 dias foi observado aumento na contagem das colônias, mas ele foi menor significativamente do que o controle (6,07 log UFC/g). Em relação ao crescimento de *L. monocytogenes* 20600 DMSZ, nos tratamentos com óleo essencial houve redução significativa de aproximadamente 2 log UFC/g após 15 dias de incubação (3,42 log UFC/g) em relação ao controle (5,29 log UFC/g) e 2,56 log UFC/g aos 30 dias. Nos tratamentos com citral gasoso as contagens das células viáveis foram similares àquelas onde foram utilizadas dosagens baixas de óleo essencial (34).

Outra utilização de óleo essencial é para melhorar a qualidade de alimentos como a aplicação em linguiças cozidas produzidas com baixo teor de nitrito de sódio, visto que nitritos são descritos como coadjuvantes em compostos potencialmente cancerígenos. Óleo essencial de hortelã pimenta foi aplicado com combinação com fluido supercrítico de bagaço de tomate em linguiças em substituição parcial ao nitrito de sódio. A combinação de fluido supercrítico de bagaço de tomate com óleo essencial de hortelã-pimenta reduziu o teor de nitrito residual em linguiça suína e isso se deve provavelmente à ação redutora dos seus compostos bioativos. Além disso, o tratamento combinado foi responsável pela menor oxidação lipídica das amostras, devido ação antioxidante dos terpenóides mentol e 1,8-cineol (35).

CONCLUSÃO

Após a descrição dos benefícios e da utilização de óleo essencial bem como de sua atividade antimicrobiana em matrizes alimentícias, pode-se observar que essa substância oriunda do metabolismo secundário de plantas apresenta propriedade antimicrobiana contra cepas patogênicas específicas, além de potencialmente beneficiar

a saúde humana. Entretanto, a aplicação em matrizes alimentícias pode apresentar alterações sensoriais capazes de comprometer a aceitação de produtos pelos consumidores, logo novos estudos se fazem necessários sobre o assunto observando as recomendações da legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro-Santos R, Andrade M, Melo NR de, Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends Food Sci Technol.* 2017;61:132–40.
2. Kharraf S El, El-guendouz S, Farah A, Bennani B, Mateus MC, Hadrami EM El, et al. Hydrodistillation and simultaneous hydrodistillation-steam distillation of *Rosmarinus officinalis* and *Origanum compactum* : Antioxidant , anti-inflammatory , and antibacterial effect of the essential oils. *Ind Crop Prod.* 2021;168(April):113591.
3. Rehman A, Qunyi T, Rizwan H, Korma SA, Karim A, Faisal M, et al. Biopolymer based nanoemulsion delivery system : An effective approach to boost the antioxidant potential of essential oil in food products. *Carbohydr Polym Technol Appl.* 2021;2(November 2020):100082.
4. Aziz ZAA, Ahmad A, Setapar SHM, Karakucuk A, Azim MM, Lokhat D, et al. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Curr Drug Metab.* 2018;19(13):1100–10.
5. Chakravartula SSN, Cevoli C, Balestra F, Fabbri A, Dalla Rosa M. Evaluation of the effect of edible coating on mini-buns during storage by using NIR spectroscopy. *J Food Eng.* 2019;263(May):46–52.
6. Kim H, Beak S-E, Yang S-Y, Song K Bin. Application of an antimicrobial packaging material from chicken bone gelatine and cinnamon bark oil to mozzarella cheese. *Int J Food Sci Technol.* 2017;53(3).
7. Cheng C, Liu Z, Zhou Y, Wei H, Zhang X, Xia M, et al. Effect of oregano essential oil supplementation to a reduced-protein, amino acid-supplemented diet on meat quality, fatty acid composition, and oxidative stability of *Longissimus thoracis* muscle in growing-finishing pigs. *Meat Sci.* 2017;133(Nov):103–9.
8. Sharma S, Barkauskaite S, Jaiswal AK, Jaiswal S. Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chem.* 2021;343(July 2020):128403.
9. Standardization. IO for. ISO 9235:2021. Aromatic natural raw materials – Vocabulary. *Int Organ Stand.* 2021;(Genebra).
10. Yin X, Hu Q, Chen X, Tan S, Niu A, Qiu W, et al. Inclusion complexes of clove essential oil with sodium caseinate and gum arabic prepared by high-pressure homogenization : Characterization and non-contact antimicrobial activity. *Food Control.* 2023;150(March):109765.
11. Lainez-Cerón E, Jiménez-Munguía MT, López-Malo A, Ramírez-Corona N. Effect of process variables on heating profiles and extraction mechanisms during hydrodistillation of eucalyptus essential oil. *Heliyon.* 2021;7(August).

12. Costa DC, Costa HS, Albuquerque TG, Ramos F, Castilho MC, Sanches-Silva A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends Food Sci Technol.* 2015 Oct;45(2):336–54.
13. Safaei-Ghomi J, Ahd A. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacogn Mag.* 2010;6(23):172.
14. Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? *Molecules.* 2019 Jun 5;24(11):2130.
15. Amin G, Sourmaghi MHS, Zahedi M, Khanavi M, Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia.* 2005 Dec;76(7–8):704–7.
16. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 2008 Jun;108(3):986–95.
17. Unlu M, Ergene E, Unlu GV, Zeytinoglu HS, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food Chem Toxicol.* 2010 Nov;48(11):3274–80.
18. Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem.* 2010 May;120(1):308–12.
19. Angioni A, Barra A, Cereti E, Barile D, Coisson JD, Arlorio M, et al. Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial and Antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L. *J Agric Food Chem.* 2004 Jun 1;52(11):3530–5.
20. Nolkemper S, Reichling J, Stintzing F, Carle R, Schnitzler P. Antiviral Effect of Aqueous Extracts from Species of the Lamiaceae Family against Herpes simplex Virus Type 1 and Type 2 in vitro. *Planta Med.* 2006 Dec;72(15):1378–82.
21. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Sci Technol.* 2004 Mar;37(2):263–8.
22. Johnson OO, Ayoola GA, Adenipekun T. Antimicrobial Activity and the Chemical Composition of the Volatile Oil Blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit). 2013;5(4):187–93.
23. El-Massry KF, El-Ghorab AH, Shaaban HA, Shibamoto T. Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus terebinthifolius* Leaves Cultivated in Egypt. *J Agric Food Chem.* 2009 Jun 24;57(12):5265–70.
24. Dannenberg G da S, Funck GD, Silva WP da, Fiorentini ÂM. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition,

- antibacterial activity and mechanism of action. *Food Control*. 2019 Jan;95:115–20.
25. Cui H, Zhang X, Zhou H, Zhao C, Lin L. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. *Bot Stud*. 2015 Dec 19;56(1):16.
 26. Radünz M, da Trindade MLM, Camargo TM, Radünz AL, Borges CD, Gandra EA, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chem*. 2019 Mar;276:180–6.
 27. Sharma A, Rajendran S, Srivastava A, Sharma S, Kundu B. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *J Biosci Bioeng*. 2017 Mar;123(3):308–13.
 28. Battistini R, Rossini I, Ercolini C, Gorla M, Callipo MR, Maurella C, et al. Antiviral Activity of Essential Oils Against Hepatitis A Virus in Soft Fruits. *Food Environ Virol*. 2019 Mar 25;11(1):90–5.
 29. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol*. 2008 Feb;46(2):446–75.
 30. Sripahco T, Khruengsai S, Pripdeevech P. Biodegradable antifungal films from nanocellulose-gellan gum incorporated with *Anethum graveolens* essential oil for bread packaging. *Int J Biol Macromol*. 2023 Jul;243:125244.
 31. Dolea D, Rizo A, Fuentes A, Barat J, Fernández-Segovia I. Effect of thyme and oregano essential oils on the shelf life of salmon and seaweed burgers. *Food Sci Technol Int*. 2018 Jul 13;24(5):394–403.
 32. Van Haute S, Raes K, Van der Meeren P, Sampers I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control*. 2016 Oct;68:30–9.
 33. Sánchez-Rubio M, Taboada-Rodríguez A, Cava-Roda R, López-Molina D, Marín-Iniesta F. Combined use of thermo-ultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in culture broth and natural orange juice. *J Food Sci Technol*. 2018 Nov 5;55(11):4623–33.
 34. Fancello F, Petretto GL, Marceddu S, Venditti T, Pintore G, Zara G, et al. Antimicrobial activity of gaseous Citrus limon var pompia leaf essential oil against *Listeria monocytogenes* on ricotta salata cheese. *Food Microbiol*. 2020 May;87:103386.
 35. Šojić B, Pavlić B, Tomović V, Kocić-Tanackov S, Đurović S, Zeković Z, et al. Tomato pomace extract and organic peppermint essential oil as effective sodium nitrite replacement in cooked pork sausages. *Food Chem*. 2020 Nov;330:127202.
 36. Sripahco T, Khruengsai S, Pripdeevech P. International Journal of Biological Macromolecules Biodegradable antifungal films from nanocellulose-gellan gum incorporated with *Anethum graveolens* essential oil for bread packaging. *Int J Biol Macromol*. 2023;243(February):125244.

37. Bouymajane A, Filali FR, Ed-Dra A, Aazza M, Nalbone L, Giarratana F, et al. Chemical profile, antibacterial, antioxidant, and anisakicidal activities of *Thymus zygis* subsp. *gracilis* essential oil and its effect against *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* 2022 Dec;383:109960.
38. Wang S-Y, Chen P-F, Chang S-T. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresour Technol.* 2005 May;96(7):813–8.
39. Kiki, M. J. (2023). In Vitro Antiviral Potential, Antioxidant, and Chemical Composition of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil. *Molecules*, 28(6), 2421.

ISBN 978-658506208-4



9 786585 062084



AGRON FOOD
ACADEMY