

# revista Higiene Alimentar

MARÇO/ABRIL DE 2015 - ENCARTE

VOLUME 29 - NS. 242/243



VII CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
E XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE

**HIGIENISTAS  
DE ALIMENTOS**

III ENCONTRO NACIONAL DE VIGILÂNCIA DE ZOOSES  
V ENCONTRO DO SISTEMA BRASILEIRO DE INSPEÇÃO  
DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

TRABALHOS APRESENTADOS

**28/04 A 01/05/2015**

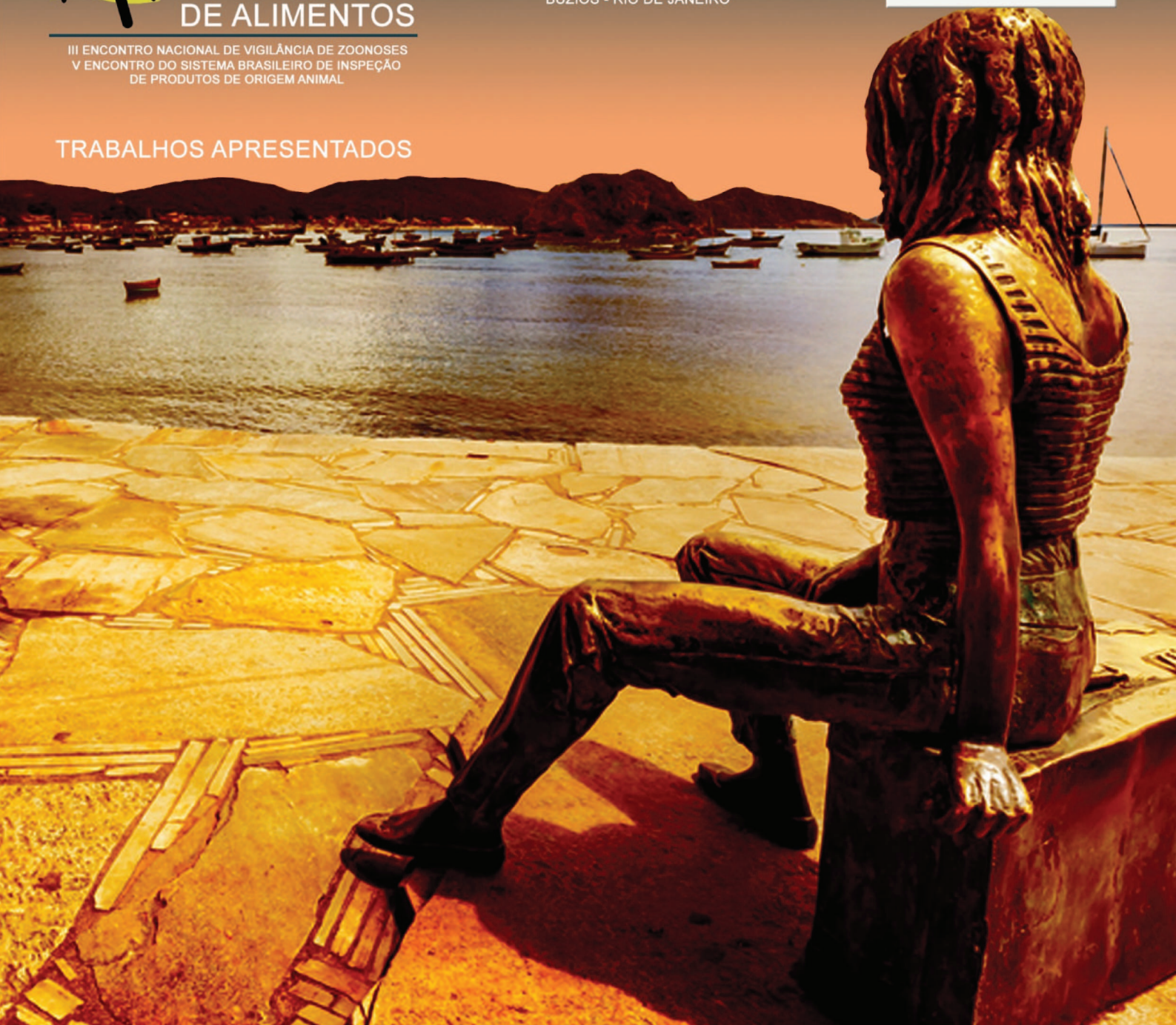
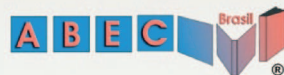
ATLÂNTICO BÚZIOS RESORT

BÚZIOS - RIO DE JANEIRO



ISSN 0101-9171

Indexada nas seguintes  
bases de dados:  
CAB ABSTRACTS  
(Inglaterra)  
LILACS-BIREME (Brasil)  
PERI-ESALQ (Brasil)  
BINAGRI-Mapa (Brasil)  
Afiliação à:  
Associação Brasileira de  
Editores Científicos e



**ALIMENTO, PROMOÇÃO DA SAÚDE E  
COMPROMISSO SÓCIO AMBIENTAL**





Editoria  
**José Cezar Panetta**

Editoria Científica:  
**Sílvia P. Nascimento**

Comitê Editorial: **Eneo Alves da Silva Jr.** (CDL/PAS, S.Paulo, SP)  
**Homero R. Arruda Vieira** (UFPR, Curitiba, PR)  
**Marise A. Rodrigues Pollonio** (UNICAMP, Campinas, SP)  
**Simplicio Alves de Lima** (MAPA/SFA, Fortaleza, CE)  
**Vera R. Monteiro de Barros** (MAPA/SFA, S.Paulo, SP)  
**Zander Barreto Miranda** (UFF, Niterói, RJ)SP)

Jornalista Responsável:  
**Regina Lúcia Pimenta de Castro**

Circulação/Cadastro:  
**Celso Marquetti**

Consultoria Operacional: **Marcelo A. Nascimento Fausto Panetta**

Sistematização e Mercado: **Gisele P. Marquetti Roseli Garcia Panetta**

Projeto gráfico  
**DPI Studio e Editora Ltda**  
(11) 3207.1617  
dpi@dpieditora.com.br

Impressão  
**Prol**

Diagramação **Carlos E. Araujo Jr** (15)  
99728.5256 kadunavit@gmail.com

### Redação

Rua das Gardênias, 36  
(bairro de Mirandópolis)  
04047-010 - São Paulo - SP Fone: 11-  
5589.5732

Fax: 11-5583.1016

Itapetininga: (15) 3527-4616

E-mail:

redacao@higienealimentar.com.br

Site:

www.higienealimentar.com.br



**ADESIVIDADE E SOBREVIVENCIA DE *Salmonella* spp. NA SUPERFÍCIE DE FRUTOS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.)<sup>1</sup>**

**ADHESIVENESS AND SURVIVAL OF *SALMONELLA* SPP. ON THE SURFACE OF ASSAI (*Euterpe oleracea* Mart.) FRUITS**

Valeria Saldanha Bezerra<sup>1</sup>, Eduardo Henrique Miranda Walter<sup>2</sup>, Otniel Freitas-Silva<sup>2</sup>, Vanessa Fiuza de Mello<sup>2</sup>, Lourdes Maria Correa Cabral<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PPGCAL/Instituto de Química/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil e Embrapa Amapá, Macapá, AP, Brasil.

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

O fruto de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é largamente utilizado na elaboração de sucos, sorvetes e bebidas energéticas que são consumidos localmente e exportados para vários países. A alta perecibilidade do fruto é devida à elevada carga microbiana do fruto que juntamente com a ausência de práticas sanitárias adequadas podem comprometer a qualidade do produto final. Processos de descontaminação microbiana de frutos necessitam de procedimentos padrões específicos que devem considerar a grande variabilidade de fatores intrínsecos do fruto e dos microrganismos. Este trabalho teve por objetivo estudar a adesividade e sobrevivência de um inóculo composto de cinco cepas de *Salmonella* spp. ( $1,8 \times 10^{10}$  UFC/mL XLD) em frutos íntegros de açaí. A maior adesividade e sobrevivência efetiva de *Salmonella* spp. ( $1,7 \times 10^6$  UFC/mL XLD) em frutos de açaí foi alcançada ao aplicar o inóculo por gotejamento na superfície do fruto e posterior secagem em ambiente de fluxo laminar, com melhor recuperação da população em meio XLD ágar.

Palavras chave: açaí, inoculação, adesividade, *Salmonella* spp.

Introdução

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma das culturas socioeconômicas mais importantes da região Norte-Oriental do Brasil (YOKOMIZO et al., 2010). Em nível nacional, o açaí extraído e congelado é utilizado largamente como bebida energética, substituindo muitas vezes as principais refeições, assim como matéria prima na elaboração de sorvetes e picolés (OLIVEIRA et al., 2002). O mercado internacional também apresenta um consumo crescente (TEIXEIRA et al., 2013), observado pela exportação de açaí congelado na forma de mistura de açaí com guaraná (ROGEZ, 2000).

O fruto do açaí é considerado altamente perecível, devido à sua elevada carga microbiana (OLIVEIRA et al., 1988), podendo apresentar uma população de  $10^5 - 10^6$  bactérias, bolores e leveduras) por grama de matéria seca logo após a colheita (ROGEZ et al. 1996). Essa contaminação natural aliada à degradação enzimática podem ser responsáveis pelas alterações qualitativas de cor e sabor (QUEIROZ et al., 1998), que levam à inviabilização da comercialização do fruto e da própria polpa produzida. Outros fatores também interagem para explicar esta perecibilidade, como a composição nutricional da polpa, a elevada relação superfície do fruto/espessura da polpa, a elevada umidade relativa dos locais de crescimento da palmeira, propícia ao crescimento de microrganismos e insetos, além de deficiências nas práticas higiênicas desde a colheita até o processamento do fruto (ROGEZ et al., 1997). Consequentemente, as polpas oriundas de frutos que não são submetidas à pasteurização, também apresentam elevada contaminação de bactérias, bolores e leveduras (SANTOS et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

<sup>1</sup> Apoio prestado pela Fundação Tumucumaque, SETEC/AP e Governo do Estado do Amapá.



*Salmonella* spp. é uma bactéria patogênica que se multiplica em temperaturas de 5 a 47°C, sendo a temperatura ótima de 35-37°C e em alimentos com pH entre 4 e 9 e atividade de água maior que 0.94 (GUTHRIE, 1992; JAY et al., 2005). Polpas de açaí médio, apresentando sólidos totais entre 11 e 14%, (BRASIL, 2000) apresentam características para crescimento dessa bactéria, com pH de  $5,2 \pm 0,1$  e  $a_w 0,994 \pm 0,002$  (ALEXANDRE et al., 2004). Por isso, já foram detectadas a presença de *Salmonella* spp. (OLIVEIRA et al., 1988; COHEN et al., 2011) em polpas de açaí congeladas.

Estudos relacionados com descontaminação de frutos, independentemente do processo utilizado, necessitam de decisões primordiais para elaborar um procedimento padrão para determinar, calcular e relatar as populações microbianas, assim como sua redução a partir dos processos aplicados. No caso do açaí, ainda é necessário responder a várias questões, devido à grande variabilidade de fatores naturalmente intrínsecos do fruto que podem influenciar o processo, assim como a variação em tipos e números de microrganismos. Deve-se considerar as características físicas do fruto, composição química, assim como a presença de compostos ativos benéficos à saúde, como é o caso da antocianina no açaí, que podem ser neutralizados por processos químicos, físicos e térmicos (BEUCHAT et al., 2003) durante a descontaminação. Diante disso, este trabalho teve por objetivo estudar o comportamento de um inóculo formado por um pool de cepas de *Salmonella* spp., após diferentes modos de aplicação e posterior secagem, em frutos de açaí, analisando a adesividade do inóculo e sobrevivência do microrganismo, como um fator preponderante nos estudos de descontaminação de frutos de açaí.

## Material e métodos

Cinco cepas de *Salmonella* spp. foram utilizadas neste ensaio. Quatro cepas foram adquiridas na Fundação Oswaldo Cruz: *Salmonella* Choleraesuis ATCC 10708, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 e uma cepa originada da coleção de trabalho da Embrapa Agroindústria de Alimentos, a *Salmonella* Brazil.

As cepas foram ativadas por três dias consecutivos em caldo BHI (), incubadas a  $37^\circ\text{C} \pm 0,5$  por 24h. Foram reunidas e centrifugadas duas vezes a  $2.000 \times g$  por 15 min. Em temperatura ambiente, sendo lavadas e ressuspensas em água peptonada 0,1%.

Frutos de açaí colhidos manualmente em Mazagão, AP (Brasil) foram embalados a vácuo, congelados e transportados à Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro (Brasil). No dia anterior ao ensaio, os frutos foram descongelados em geladeira.

Os tratamentos foram conduzidos em 15 frutos açaí inoculados da seguinte forma: gotejamento de 1,0 mL de inóculo e secagem em fluxo laminar (temperatura ambiente) (T1), gotejamento de 1,0 mL de inóculo e secagem em BOD a  $37^\circ\text{C} \pm 0,5$  por 24h (T2), imersão em suspensão de 2,0 mL inóculo com 18,0 mL água peptonada 0,1% e secagem em fluxo laminar (temperatura ambiente) (T3), imersão em 2,0 mL inóculo com 18,0 mL água peptonada 0,1% e secagem em BOD a  $37^\circ\text{C} \pm 0,5$  por 24h (T4). Os tratamentos de gotejamento dos frutos foram realizados com o auxílio de micropipeta de 100  $\mu\text{L}$ , aplicando gota a gota no fruto mantido dentro de placas de Petri estéreis até a secagem. Os tratamentos de imersão foram realizados em sacos estéreis, colocando os 15 frutos e adicionando-se 18 mL de água peptonada 0,1% e depois os 2 mL de inóculo. Os frutos foram mantidos imersos por um período total de 5 minutos, com revolvimento a cada 1 minuto. Os frutos de cada tratamento, após a etapa de secagem do inóculo em fluxo laminar ou BOD, foram transferidos para sacos estéreis com 20,0 mL de água peptonada 0,1%, para recuperação das células. Os frutos foram esfregados manualmente durante um minuto e o saco agitado por mais 30 segundos. Alíquotas do suco de açaí, extraído durante o esfregaço dos frutos, foram diluídas em série e plaqueadas em superfície (0,1 mL) nos meios ágar XLD (xilose lisina deoxicolato) e ágar HE (Hektoen entérico), em duplicata. As placas de Petri foram incubadas a  $37^\circ\text{C} \pm 0,5$  por 24h e as colônias características de *Salmonella* spp. contadas. O ensaio foi realizado no delineamento blocos ao acaso, em três repetições e analisado estatisticamente no programa Excel (Microsoft)

Resultados e Discussão

O inóculo composto pelo pool de *Salmonella* spp. apresentou concentração média de  $1,8 \times 10^{10}$  UFC/mL no meio XLD e  $1,1 \times 10^{10}$  UFC/mL no meio HE. Estes valores são considerados bastante satisfatórios, pois estudos de descontaminação requerem inóculos com um elevado número de células para permitir a medida de várias reduções de log (BEUCHAT et al., 2003). Os meios XLD e HE são um dos meios mais utilizados para plaqueamento de *Salmonella* spp., em combinação ou sozinhos, por serem considerados meios moderadamente seletivos para esta bactéria (VOETSCH et al., 2004). Kenney e Beuchat (2002) obtiveram uma concentração de  $7,6 \times 10^9$  UFC/mL em pool de *S. muenchen*, em TSA (tryptic soy agar) suplementado com ácido nalidíxico, ao inocular tomates. Cogan et al., (2001) ao utilizar um pool de *Salmonella* spp. para contaminar artificialmente ovos de galinha alcançou uma concentração aproximada de  $2,0 \times 10^8$  UFC/mL em caldo nutriente.

Após a aplicação dos dois tipos de inoculação e posteriores secagens dos frutos contaminados, observou-se que houve diferença significativa em relação à adesividade, sobrevivência e recuperação de células, indicada pela contagem efetuada no suco extraído do açaí. A inoculação por gotejamento e secagem em condições de fluxo laminar propiciou contagem estatisticamente superior ( $p = 0,006$  e  $\alpha = 5\%$ ) aos demais tratamentos (Tabela 1). Este comportamento também foi observado por Lang et al. (2004) ao comparar inoculação por gotejamento, imersão e pulverização em diferentes tempos de secagem em alface.

Tabela 1 – População de *Salmonella* spp. recuperada de frutos de açaí.

Método de inoculação	Secagem do inóculo	População UFC/mL	
		XLD	HE
Gotejamento	fluxo laminar	$1,7 \times 10^6 \pm 7,7 \times 10^5$ a <sup>1</sup>	$4,7 \times 10^6 \pm 4,5 \times 10^6$ a <sup>1</sup>
Imersão	fluxo laminar	$3,6 \times 10^5 \pm 2,2 \times 10^5$ b	$4,7 \times 10^5 \pm 2,2 \times 10^4$ a
Gotejamento	BOD	$5,0 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^4$ b	$2,6 \times 10^5 \pm 3,5 \times 10^5$ a
Imersão	BOD	$1,0 \times 10^4 \pm 0$ b	$1,2 \times 10^4 \pm 7,6 \times 10^3$ a

<sup>1</sup> Valores seguidos de mesma letra minúscula não são significativamente diferentes (5%).

O inóculo aplicado no fruto de açaí por gotejamento e posteriormente seco em ambiente de fluxo laminar propiciou uma maior recuperação da população inicial do inóculo de *Salmonella* spp. do que naqueles inoculados por imersão e na mesma condição de secagem. Também foi superior a ambos os tratamentos secos em condições de BOD ( $37^\circ\text{C} \pm 0,5$ ), em meio XLD ( $\alpha = 5\%$ ). Lang et al. (2004) ao testarem vários métodos de inoculação em alface e salsa observaram também que o inóculo em gotas propiciou uma recuperação maior de *Salmonella* spp. e *E. coli* do que por imersão ou por aspersão, devido ao maior controle alcançado sobre o volume de inóculo e conseqüentemente sobre o número de células aplicadas.

Ao utilizar a temperatura de BOD ( $37^\circ\text{C} \pm 0,5$ ) durante 24h (meio XLD,  $\alpha = 5\%$ ), a reduzida recuperação do microrganismo não foi afetada significativamente pelos diferentes modos de aplicação do inóculo nos frutos de açaí.

Quando plaqueados em meio HE, todos os tratamentos apresentaram a mesma recuperação da população inicial. Segundo Lee et al. (2015), isto deve-se ao fato de que o

meio XLD pode ter exibido maior poder de recuperação para *Salmonella* spp. do que o meio HE, devido às diferenças de seletividades dos meios e as propriedades fisiológicas das cepas utilizadas.

Outros fatores também podem ter afetado a adesividade e a sobrevivência de *Salmonella* spp. no fruto de açaí, como a morte de células durante o período de secagem do inóculo pela exposição a componentes letais liberados do fruto, assim como o alojamento de células em partes da epiderme do fruto que previnem ou impedem a remoção completa (BURNETT e BEUCHAT, 2001).

### Conclusões

A sobrevivência de *Salmonella* spp. em frutos de açaí inoculados artificialmente pode ser substancialmente afetada pelo método de inoculação e tipo de secagem a ser aplicado.

A adesividade e a sobrevivência efetiva de *Salmonella* spp. em frutos de açaí foi alcançada pela aplicação do inóculo por meio de gotejamento na superfície do fruto e posterior secagem em ambiente de fluxo laminar, com melhor recuperação da população em meio XLD.

### Referências Bibliográficas

- ALEXANDRE, D.; CUNHA, R.L.; HUBINGER, M.D. 2004. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. Campinas-SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24 (1):114-119.
- BEUCHAT, L.R.; FARBER, J.N.; GARRETT, E.H.; HARRIS, L.J.; PARISH, M.E.; SUSLOW, T.V.; BUSTA, F.F. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Vol. 2 (Supplement), 2003. 174-178.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000. **Diário Oficial da União**, 2000.
- BURNETT, A.B.; BEUCHAT, L.R. Comparison of sample preparation methods for recovering *Salmonella* from raw fruits, vegetables, and herbs. **Journal of Food Protection**, vol.64, n.10, 2001, 1459-1465.
- COGAN, T.A.; DOMINGUE, B.G; LAPPIN-SCOTT, H.M; BENSON, C.E; WOODWARD, M.J.; HUMPHREY, T.J. Growth of *Salmonella enteritidis* in artificially contaminated eggs: the effects of inoculum size and suspending media. **International Journal of Food Microbiology** 70 2001 131–141.
- COHEN, K.O.; MATTA, V.M.; FURTADO, A.P.L.; MEDEIROS, N.L.; CHISTÉ, R.C. Contaminantes microbiológicos em polpas de açaí comercializadas na cidade de Belém-PA. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** v. 05, n. 02: p. 524-530, 2011.
- GUTHRIE, R.K. (1992). **Salmonella**. USA: CRS press. pp. 23-156.
- JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology**. 7th ed Springer Science & Business Media, 2005, 790 p.
- KENNEY, S.J.; BEUCHAT, L.R. Comparison of aqueous commercial cleaners for effectiveness in removing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella muenchen* from the surface of apples. **International Journal of Food Microbiology** 74 (2002) 47–55.
- LANG, M.M.; HARRIS, L.J.; BEUCHAT, L.R. Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce and parsley as affected by method of inoculation, time between inoculation and analysis, and treatment with chlorinated water. **Journal of Food Protection**, vol.67, nº.6, 2004, pages 1092-1103.
- LEE, K-M.; RUNYON, M.; HERRMAN, T.J.; PHILLIPS, R.; HSIEH, J. Review of *Salmonella* detection and identification methods: aspects of rapid emergency response and food safety. **Food Control** 47 (2015) 264-276.
- OLIVEIRA, M. de L.S., SOUSA, C.L., OLIVEIRA, R.A. Qualidade microbiológica da bebida açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) comercializada na cidade de Belém. In: ENCONTRO DE

- PROFISSIONAIS DE QUÍMICA DA AMAZÔNIA, 6., 1988, Manaus. Anais... Belém : CRQ, 1988. p. 189-195.
- OLIVEIRA, M.S.P.; CARVALHO, J.E.U.; NASCIMENTO, W.M.O.; MÜLLER, C.H. Cultivo de açaizeiro visando produção de frutos. Embrapa Amazônia Oriental. **Circular técnica**. Belém, n.26, 2002, 51p
- OLIVEIRA, P.A.A.C.; SILVA, I.G.; SOUZA, M.L.; FURTADO, C.M.; SILVA, R.F. In natura açai beverage: quality, pasteurization and acidification. Bebida de açai in natura: qualidade, pasteurização e acidificação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 31(2): 502-507, abr.-jun. 2011.
- QUEIROZ, M.; CUNHA, S. C.; ROGEZ, H. Impacto da pasteurização no suco de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre a atividade da peroxidase. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE QUÍMICA, 1998, São Luís – MA. Resumo QA 99, p.171-172.
- ROGEZ, H. **Açai**: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém, PA: EDUFPA, 2000. 313 p.
- ROGEZ, H., PASCAL, S., BUXANT, R., LOPES, S.Q., COLSONCORBISIER, A.M. Identificação dos principais fungos e leveduras presentes na polpa do açai (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19, 1997, Rio de Janeiro. Resumos... Rio de Janeiro : SBM, 1997. p. 269.
- ROGEZ, H., SOUZA, J.N.S. de, NASCIMENTO, M. de Q., BUXANT, R., PASCAL, S. Branqueamento dos frutos de açai (*Euterpe oleracea* Mart) para a diminuição da carga microbiana do suco. **Anais da Assoc. Bras. Quím.**, v. 45, n. 4, p. 177-184, 1996.
- SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 913-915, 2008.
- TEIXEIRA, M.A.; PALACIO, J.C.E.; SOTOMONTE, C.R.; LORA, E.E.S.; VENTURINI, O.J.; ABMANN, D. Assai – An energy view on an Amazon residue, **Biomass and Bioenergy**, Volume 58, November 2013, Pages 76-86
- VOETSCH, A.C; VAN GILDER, T.J.; ANGULO, F.J.; FARLEY, M.M.; SHALLOW, S.; MARCUS, R.; CIESLAK, P.R.; DENEEN, V.C.; TAUXE,R.V. FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal Salmonella infections. **Clinical Infectious Diseases** 2004; 38 (Suppl 3):S127–34.
- YOKOMIZO, G. K. I.; QUEIROZ, J. A. L. de; MOCHIUTTI, S.; PINHEIRO, I. de N.; SILVA, P. A. R. da Desempenho de progênies de açaizeiros avaliadas para caracteres agrônômicos no Estado do Amapá. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 367-376, set. 2010.

Autora a ser contactada:

Valeria Saldanha Bezerra [valeria.bezerra@embrapa.br](mailto:valeria.bezerra@embrapa.br)

Embrapa. Av. das Américas, 29.501, Guaratiba Rio de Janeiro, RJ. CEP 23020-470

Fone: +55(21) 3622-9645 Fax: +55(21) 3622-9713

## ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO MEL INSPECIONADO E NÃO INSPECIONADO COMERCIALIZADO NA REGIÃO DO VALE DO RIO DOS SINOS, RS.

## ANALYSIS OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF INSPECTED AND UNINSPECTED HONEY SOLD IN THE VALE DO RIO DOS SINOS REGION, RS.

Simone Weschenfelder<sup>1</sup>, Caroline Luize Welter<sup>2</sup>, Marcelo Pinto Paim<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA/UFRGS). Docente do curso de Nutrição da Universidade Feevale.