

MEIO DE CULTURA PARA QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS EM FARELO DE ARROZ.

CARMO, E.J.S¹, SILVA-LOBO, V. L²., BASSINELLO, P.Z.², RINALDI, M.M.³, OLIVEIRA, M.G.C.⁴

INTRODUÇÃO: O arroz é um cereal que faz parte do hábito alimentar do brasileiro, o que se confirma pelo consumo per capita superior a 70 kg/habitante/ano, considerando suas diferentes formas. O arroz polido é considerado o produto de maior importância econômica em muitos países em desenvolvimento, constituindo-se alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas atualmente, e a estimativa para 2050 é para cerca de 4,5 bilhões de pessoas, segundo a FAO (2000). O arroz polido, ou branco, é preferencialmente utilizado, embora possua menor valor nutritivo que o arroz integral (Sotokuba, 2001). Na etapa de processamento, o arroz é seco e descascado, obtendo-se o arroz integral ou arroz marrom. Logo após, é realizado o polimento em rolos de borracha para retirar a camada marrom, obtendo-se o arroz branco. Esta camada removida é o farelo de arroz integral (Conte, 2000). Quantidades consideráveis de nutrientes passam a formar parte do farelo, entretanto, nas etapas de beneficiamento ocorrem riscos de contaminação microbiana, a qual prejudica a qualidade deste farelo. A presença de microorganismos em índices elevados nos alimentos pode fornecer várias informações, tais como, condições higiênicas deficientes de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem, matéria-prima com contaminação excessiva (Siqueira, 1995). Pesquisas no Brasil e em outros países têm sido conduzidas buscando avaliar o potencial do farelo de arroz, produto rico e abundante, para a alimentação humana quando a maior parte destina-se ainda à alimentação animal. O farelo de arroz pode apresentar uma contaminação por bactérias desconhecida, porém esta população pode ser quantificada pelo método de contagem padrão em placa, por meio de diluições em série, para tal é necessário que a metodologia e o meio de cultura a ser utilizada sejam bem definidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar e selecionar o melhor meio de cultura para quantificar a população bacteriana em farelo de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS: Foi utilizada amostra de farelo de arroz integral, proveniente da Agroindustrial Urbano Ltda. (Sinop/MT). Para a avaliação dos meios de cultura, visando o ajuste da metodologia de quantificação de bactérias em

¹ Estudante de Biologia, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis,GO. Fone (62) 3533-2189. E-mail: elajacob@terra.com.br

² Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Sto. Antônio de Goiás, GO.

³ ProfªDoutora, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis,GO.

⁴ Estudante de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis,GO.

alimentos, foi utilizado o meio de cultura PCA (Plate Count Agar) acrescido ou não de fungicidas e antibióticos, visando a inibição do crescimento de leveduras ou outros contaminantes observados em ensaios prévios, os quais impediam o desenvolvimento e/ou a contagem das colônias de bactérias nas placas. Os tratamentos utilizados foram: 1-PCA + PCNB (Pentacloronitrobenzeno) (0,5 g/L), 2- PCA + PCNB (1,0 g/L), 3-PCA + Captan (0,04g/L), 4-PCA + Tiofanato Metílico (0,5 g/L), 5-PCA + Tiofanato Metílico (0,25 g/L), 6- PCA + Cyclohexamide (15mg/L), 7-PCA + Ampicilina (1mg/L). A amostra foi preparada seguindo-se a metodologia de Siqueira (1995) e utilizaram-se os métodos de plaqueamento em profundidade e em superfície (Silva et al., 2001). Após a inoculação do meio com as amostras diluídas, as placas foram incubadas por 24 a 48 horas a 35°C. O experimento foi realizado com três repetições e sete tratamentos. A avaliação foi feita visualmente as 24 e 48 horas após a incubação, contando-se o número de colônias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Quando o método de plaqueamento em profundidade foi utilizado, mesmo após completa homogeneização do meio de cultura com a amostra, observou-se uma concentração das colônias de bactéria nas bordas das placas de Petri, inviabilizando a contagem das mesmas, independente do meio de cultura utilizado. Houve ainda, o predomínio de crescimento de microrganismos formando placas ou aglomerados, os quais se sobrepuseram ao crescimento das colônias de bactérias, ou mesmo inibindo o seu crescimento (Figura 1). No plaqueamento em superfície, as colônias desenvolveram-se distribuídas em toda sua superfície, podendo ser facilmente contadas, inclusive com a identificação de colônias diferentes e sem a formação de placas (Figura 1). Nas amostras onde usou-se Captan 0,04 mg/L, não houve crescimento de nenhuma colônia após 24 horas, mas em algumas repetições foi observada a formação de algumas colônias após 48 horas; esse fungicida inibiu o crescimento dos microrganismos de forma geral, inclusive das bactérias presentes no farelo. (Figura 2). O uso do Tiofanato Metílico 0,25g/L não inibiu o desenvolvimento de contaminantes, quando se utilizou Tiofanato Metílico 0,5g/L houve a formação individualizada de algumas colônias de bactérias, mas com predomínio de contaminantes. Esse mesmo padrão foi observado quando se utilizou o meio acrescido com Ampicilina. Ao se utilizar o PCNB 1,0 g/L e o Cyclohexamide, observou-se o crescimento de colônias individualizadas de bactérias e em algumas repetições foi verificado a presença de contaminantes, mas estes não interferiram no desenvolvimento e contagem das colônias bacterianas. Ao contrário do PCNB 0,5 g/L, em que predominou o crescimento de contaminantes, inviabilizando a contagem de colônias de bactérias (Figura 2). Os contaminantes presentes, ainda serão identificados, mas parecem ser leveduras e outras bactérias saprófitas, pela característica morfológicas e físicas apresentadas. Devido a este fato, foram escolhidos esses fungicidas para serem acrescidos ao meio com o intuito de inibir o desenvolvimento de tais microrganismos. Pelos resultados, os meios acrescidos

com Cyclohexamide e PCNB (1,0g/mL) foram os mais indicados para se quantificar bactérias em farelo de arroz.

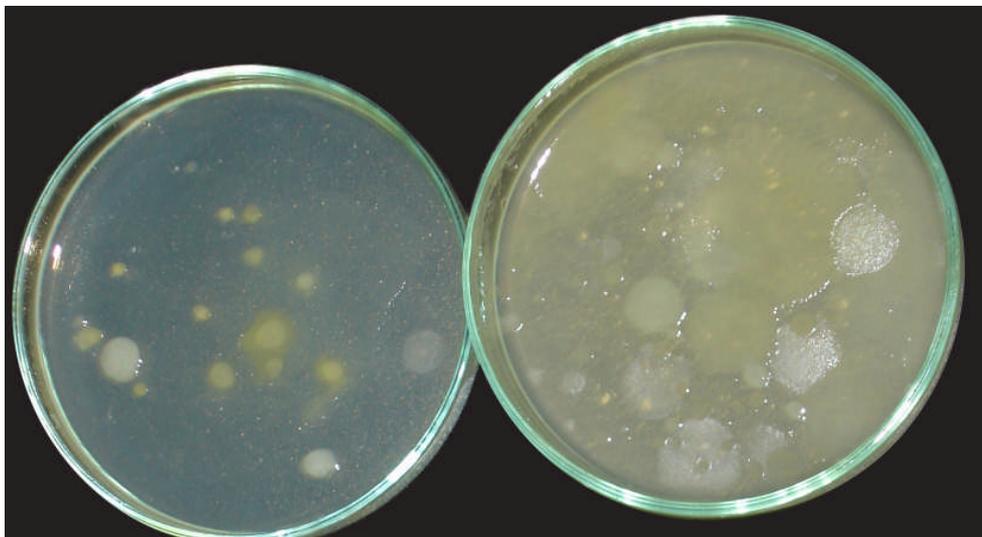


Figura 1. Plaqueamento em superfície (à esquerda) e em profundidade (à direita) de farelo de arroz no meio de cultura PCA.

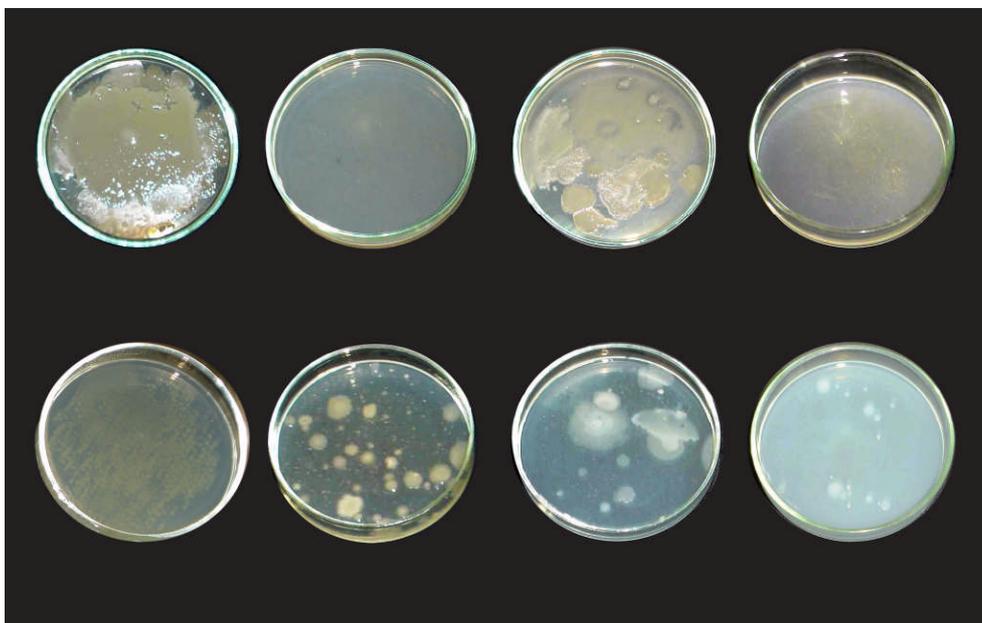


Figura 2. Crescimento de bactérias presentes no farelo de arroz, em meio de cultura PCA e PCA modificado.

1ª linha da esquerda para a direita: PCA, PCA + Captan, PCA + Tiofanato Metílico (0,25g/L), PCA + Tiofanato Metílico (0,5g/L). 2ª linha da esquerda para a direita: PCA + Ampicilina, PCA + Cyclohexamide (15mg/L), PCA + PCNB (0,5g/L), PCNB (1,0g/L)., diluição 10^{-2}

CONCLUSÃO: Os resultados indicam o meio de cultura PCA + PCNB (1,0g/L), PCA + Cyclohexamide e o plaqueamento em superfície, como sendo os melhores métodos para se quantificar bactérias em farelo de arroz. O PCNB e o Cyclohexamide, na dosagem mais elevada, foi eficaz na inibição do crescimento de fungos e outros contaminantes, facilitando a quantificação da população bacteriana presente no farelo de arroz integral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CONTE, A.J. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementado com fitase e xilanase.** Lavras – MG. UFLA, 2000. 164p. (Tese de Doutorado).

FAO. Cómo alimentar a 4000 millones de personas: el desafío para la investigación sobre el arroz en el siglo XXI. **Geojournal**. Disponível: site FAO. [http:// <www.fao.org/docrep/V6017t/V6017T11.htm>](http://www.fao.org/docrep/V6017t/V6017T11.htm). Acesso: 29/05/2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317p.

SIQUEIRA, R. S. de. 1995. **Manual de microbiologia de alimentos.** Brasília: Embrapa, 159p.

SOTOKUBA, C.M.K. **Farelo de arroz como fonte de antioxidantes.** São Paulo: FACIS-IBEHE, 2001. 33p. (Monografia – Especialização em Terapia Ortomolecular, Nutrição celular e Longevidade).

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem ao Dr. Paulo Hideo Rangel Nakano (Embrapa Arroz e Feijão) pela colaboração e à Universidade Estadual de Goiás.