

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**ANAIS DO VII WORKSHOP DA REDE DE  
NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

Maria Alice Martins  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Embrapa Instrumentação  
São Carlos, SP  
2013

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
www.cnpdia.embrapa.br  
E-mail: cnpdia.sac@embrapa.br

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Sandra Protter Gouvea  
Valéria de Fátima Cardoso  
Membro Suplente: Dra. Lucimara Aparecida Forato

Revisor editorial: Valéria de Fátima Cardoso  
Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Ângela Beatriz De Grandi  
Imagem da capa: Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus  
Loures Mourão, Viviane Soares

**1a edição**

1a impressão (2013): tiragem 50

Todos os direitos reservados.  
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).  
CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Instrumentação

---

Anais do VII Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio –  
2012 - São Carlos: Embrapa, 2012.

Irregular  
ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Assis, Odílio Benedito Garrido de.  
III. Ribeiro, Caue. IV. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. V. Embrapa Instrumentação.

---

© Embrapa 2013

---

# IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO NO COMÉRCIO VAREJISTA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO DE AGENTES ANTIMICROBIANAS NANOESTRUTURADOS

---

Melina Z. Fabiano<sup>1</sup>, Lucimara A. Forato<sup>2</sup>, Odílio B. G. Assis<sup>2</sup>, Rubens Bernardes-Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – UFSCar, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. Brasil. Rua XV de Novembro, 1452 – CP. 741 CEP: 13560-970 –  
Telefone: 55 (16) 2107-2800 rubens.bernardes@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC3    **Plano de Ação:** PA2

---

## Resumo

Com o objetivo de avaliar os principais pontos de contaminação em estabelecimento de venda de hortifrutícolas, foram coletadas amostras que permitiram a identificação de 46 tipos de bactérias em diversos pontos de estabelecimento comercial de varejo. A gôndola de hortaliças e o prato da balança foram os locais de maior incidência microbiana. A maioria dos micro-organismos é do tipo gram-positivo. Das bactérias do tipo gram-negativas isoladas 13 apresentavam média ou alta motabilidade. Por meio de análise por técnica de PCR identificaram-se duas espécies dominantes, os gêneros *Escherichia* sp e *Enterobacter* sp.

**Palavras-chave:** Pos-colheita, contaminação, antimicrobianos, *E. coli*, *Enterobacter* SP.

## Publicações relacionadas:

FABIANO, M.Z. Efeito da própolis sobre o crescimento de bacilos Gram-negativos móveis coletados em hortifrutigranjeiro. 2011. 75 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal de São Carlos UFSCar, São Carlos, 2011.

FABIANO, M.Z.; FORATO, L.A.; ASSIS, O.B.G.; BERBARDES-FILHO, R. Incidência e identificação de bactérias nos pontos de venda de hortifrutícolas. **Brazilian Journal of Food Technology** (submetido), 2013.

---

## Introdução

Uma grande quantidade das perdas que ocorrem no setor de hortifrutícolas deve-se às más práticas de conservação e a incidência de contaminações que reduzem a qualidade de consumo desses produtos. O manejo inadequado, associado a condições precárias de sanitização, armazenamento e comercialização podem levar a contaminações generalizadas que resultam em riscos à saúde humana e perdas de caráter econômico. Também não é raro o uso de procedimentos condenáveis como a irrigação de áreas de cultivo com água de rios poluídos ou por efluentes de esgotos (BALBANI; BUTUGAN 2001). Ou seja, apesar da rápida expansão do setor hortifrutícola brasileiro, alguns segmentos da cadeia ainda continuam frágeis e pautados pelo uso de tecnologias não apropriadas e/ou ausentes

de boas práticas que possam preservar a qualidade dos produtos.

Em condições normais, a maioria da microbiota presente em frutas e hortaliças tem origem no campo (JAY, 2005), embora, acondicionamentos inadequados têm sido também responsáveis pela proliferação das contaminações que ocorrem na condição pós-colheita (TERREZZAN et al., 2006). Segundo SOMMER (1982), os patógenos, principalmente os quiescentes, são os que geram as maiores perdas, além de serem os responsáveis por boa parte de infecções diagnosticadas em humanos.

Assim levando-se em consideração as condições usuais de estocagem e a manipulação, buscou-se nesse trabalho identificar as principais bactérias incidentes nos pontos de conservação e comercialização de supermercados e similares.

Espera-se que com levantamentos dessa origem. Agentes antimicrobianos específicos à base de nanopartículas possam ser desenvolvidos

e aplicados nestes pontos com maior eficiência. Neste sentido os resultados deste trabalho veem contribuir com dados, como identificação e incidência, informações estas fundamentais no desenvolvimento de antimicrobianos em curso na Unidade da Embrapa Instrumentação.

## Materiais e métodos

A coleta de material foi realizada em diferentes pontos de um típico estabelecimento que comercializa hortifrútiolas na cidade de São Carlos, SP. Contaminantes foram recolhidos do interior de geladeiras e freezers, sobre a superfície de pratos de balanças, gôndolas de hortaliças (alface, repolho e vargem) e diretamente da casca de frutos tomados aleatoriamente (maçãs, peras, goiabas e mamões).

As amostras microbianas foram colhidas com auxílio de “swabs” esterilizados, devidamente identificados e cultivadas em meio Luria-Bertani (LB) líquido a 37 °C por 24 h. As coletas foram realizadas em triplicata e a inoculação se deu por esgotamento em placas de Petri (Agar) por mais 24 h também a 37 °C.

A primeira identificação dos organismos foi conduzida pelo teste de Coloração Diferencial de Gram em amostras preparadas sobre lâminas para microscopia. Empregaram-se corantes cristal violeta, corante mordente lugol e corante fucsina. Após os procedimentos de fixação e secagem as lâminas foram observadas em microscópio ótico.

Em frutos e hortaliças as bactérias do tipo gram-negativa com “alta” ou “média motilidade” são consideradas mais patogênicas (BALBANI; BUTUGAN 2001). Assim, verificou-se esta característica nas culturas isoladas de micro-organismos gram-negativos por crescimento em meio semi-sólido LB e observação microscópica.

Dois procedimentos foram adotados para a confirmação da motilidade: i) por espalhamento, na qual as bactérias são incubadas em orifício em meio de cultura LB em um tubo inclinado, e ii) por análise microscópica realizada após a incubação, na qual a motilidade é registrada quando várias células individuais movem-se em várias direções.

A identificação bacteriana foi realizada em dez isolados bacterianos por meio de amplificação de DNA total utilizando primers universais 16S e posterior sequenciamento da região amplificada. A identificação final do micro-organismo teve por base o banco da National Center for Biotechnology Information.

## Resultados e discussão

Um total de 46 colônias foram identificadas, indicando que micro-organismos distintos encontram-se presentes simultaneamente nos diversos locais avaliados. Ao serem cultivadas apresentam a formação de culturas mistas fazendo necessária a separação individual das colônias.

Com respeito ao local de coleta, as bancadas (gôndolas) nas quais ficaram dispostas os produtos para a compra foram os locais nos quais a presença de um maior número de bactérias distintas foram colhidas. Comparativamente, na bancada de repolhos foi identificado o maior número de contaminações (9 organismos distintos) e no interior da geladeira o menor número (1 micro-organismo). A distribuição da quantidade de colônias distintas em cada um dos pontos avaliados está disposta na Tab. 1. Praticamente não foi observada variação estatística significativa entre as três amostras coletadas e cultivadas em cada ponto examinado.

Pela análise de coloração de Gram identificou-se que destas, 24 bactérias eram Gram-positivas (15 cocos e 9 bacilos) e 16 Gram-negativas (bacilos), não sendo observado nenhum organismo no formato espiral (espirila). Durante a análise 6 amostras mostraram-se com contaminações múltiplas inviabilizando a diferenciação das estruturas de parede celular pelo método de coloração.

Tab 1. Número de micro-organismos isolados nos pontos de venda

Ponto de Isolamento	Número de organismos distintos
Balança	5
Bancada alface	7
Bancada repolho	9
Bancada vargem	7
Geladeira	1
Freezer	4
Superfície pêra	2
Superfície goiaba	4
Superfície mamão	4
Superfície maçã	3

Das 16 espécies identificadas como gram-negativas apenas 3 não apresentaram motilidade. Todas as demais (13) apresentaram

comportamento típico de média-alta motilidade, indicando bactérias de alto potencial patógeno.

A análise por sequenciamento desses 13 micro-organismos com motilidade permitiu a identificação de duas espécies gram-negativas dominantes, os gêneros *Escherichia* sp e *Enterobacter* sp. Pode-se dizer que os gêneros identificados foram *Escherichia* sp e *Enterobacter* sp., com características diferentes entre si.

---

## Conclusões

---

Os pontos de acondicionamento e vendas de frutas e hortaliças no varejo, mesmo quando submetidos a limpezas convencionais frequentes, possibilitam e favorecem a ocorrência de uma grande diversidade de bactérias.

Da análise realizada neste trabalho, constatou-se que as gôndolas, assim como os pratos das balanças são os locais onde se prolifera o maior número de micro-organismos. Em particular, foram possíveis isolar 46 tipos de bactérias sendo destes 24 do tipo Gram-positivas (15 cocos e 9 bacilos) e 16 Gram-negativas (bacilos) e 6 indeterminadas. Embora ocorra um predomínio de colônias do tipo gram-positivas, as bactérias gram-negativas com motilidade são consideradas patogenicamente mais agressivas e foram identificadas como constituídas por duas espécies dominantes, os gêneros *Escherichia* sp e *Enterobacter* sp..

---

## Agradecimentos

---

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes, Projeto MP1 Rede AgroNano – Embrapa

---

## Referências

---

BALBANI, A.P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica dos alimentos. Revista Pediatria, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 320-328, 2001.

JAY, J.M. Microbiologia de Alimentos. 6. ed, Artmed: Porto Alegre:, p. 355-383, 2005.

TERREZZAN, P.; AGUILA, J. S.; HEIFFIG, L. S.; KLUGE, R. A. Phisicochemical characterization of refrigerated strawberries from conventional and organic crop systems. Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha. Cidade do México, v.8, n.1, p.33-37, 2006.

SOMMER, N.F.; Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. Plant Disease. Saint Paul, v. 66. n.5 p. 357-364. 1982.