

CD DE RESUMOS

IV SIMPÓSIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA E I ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA APLICADA



**DE 17/11 A 20/11/2010
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PORTO ALEGRE / RS - BRASIL**

APOIO



PROPG



COMISSÃO ORGANIZADORA

Carolina De Marco Veríssimo

Luciana Senter

Michele Mann

Francielle Bucker

Ismael Pretto Sauter

Éder Moraes Soucedo

Ana Maris Carlesso

Simone Pieniz

Priscila Pauly Ribas

Manuela Bruxel

Raquel Damasceno

Martha Oliveira

Tiane Martin de Moura

ATIVIDADE ANTI-SALMONELLA DE DIFERENTES PARTES DE *HIBISCUS SABDARIFFA* L.

Marcelo Pinto Paim¹; Mônica Jachetti Maciel²; José Maria Wiest³; Heloisa Helena Chaves Carvalho⁴

¹Estudante do Programa de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; E-mail: marceloppaim@yahoo.com.br; ²Estudante do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; E-mail: monicajm@univates.br; ³Professor do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFRGS) e líder do Grupo de Pesquisa Alimentos de Origem Animal; E-mail: jmwiest@ufrgs.br; ⁴Participante do Grupo de Pesquisa Alimentos de Origem Animal; E-mail: hrcarvalho@terra.com.br

Resumo - Atualmente os consumidores têm se preocupado em consumir alimentos naturais e menos processados. O uso de conservantes químicos artificiais pode ser prejudicial à saúde. Os conservantes químicos naturais podem ser utilizados como antibacterianos em alimentos, como o hibisco. O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação “*in vitro*” do extrato de sépalas e das cápsulas deiscetes por maceração alcoólica de *Hibiscus sabdariffa* L. frente ao microrganismo padrão *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076). O método utilizado foi o de diluição em sistema de tubos múltiplos. O extrato de sépalas mostrou-se mais eficiente do que o extrato de cápsulas deiscetes, frente a *Salmonella* Enteritidis.

Palavras-chave: *Hibiscus sabdariffa* L.; atividade anti-*Salmonella*; *Salmonella* Enteritidis.

Introdução

Os condimentos, as especiarias e as plantas medicinais podem aumentar a vida útil dos alimentos através da sua atividade bacteriostática e bactericida (SOUZA, 2003).

O hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) é um alimento funcional nos países da Ásia (LIU *et al.*, 2005). O interesse econômico está nos seus cálices desidratados para a produção de bebida, alimento, conservante e corante (D’ HEUREX- CALIX & BADRIE, 2004). A atividade antibacteriana do hibisco pode ser comparada a da Estreptomicina. As sementes (cápsula deiscete) são trituradas para a alimentação humana e quando torradas, substituem o café (MORTON, *apud* ESA *et al.*, 2010).

As infecções provocadas pelas *Salmonella* são universalmente consideradas como as mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos (GERMANO & GERMANO, 2003).

O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação “*in vitro*” do extrato de sépalas e das cápsulas deiscetes por maceração alcoólica de *Hibiscus sabdariffa* L. frente ao microrganismo padrão *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076).

Materiais e Métodos

As sépalas e as cápsulas deiscetes do *Hibiscus sabdariffa* L. (hibisco) foram coletadas no município de Porto Alegre/RS. A obtenção das soluções conservantes ou antimicrobianas alcoólicas foram baseadas segundo Avancini & Wiest (2008).

Utilizou-se a amostra de inóculo padrão *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076) para a avaliação da atividade antibacteriana (IINIB/bacteriostasia e IINAB/bactericidia) das diferentes partes de *Hibiscus sabdariffa* L. Os inóculos foram ativados em meio de cultura BHI à 37 °C por um período de 18 a 24 horas de incubação aeróbia, com o objetivo de atingir uma concentração $\geq 1,0 \times 10^8$ UFC/mL para confrontação com o extrato alcoólico de cápsulas deiscuentes e sépalas de *Hibiscus sabdariffa* L.

Para a determinação da atividade antibacteriana dos extratos de hibisco, utilizou-se o Teste de Diluição segundo Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/Sociedade Alemã de Medicina Veterinária (DVG, 1981), modificada por Wiest *et al.* (2009). O valor final considerado constituiu-se da média das contagens das gotas triplicadas, avaliadas biometricamente segundo Cavalli-Sforza (1974).

IINIB/bacteriostasia é o resultado do confronto da bactéria com a solução antibacteriana em meio específico, e por IINAB/bactericidia, o mesmo resultado, porém sob a influência dos desinibidores bacterianos acrescidos ao BHI (WIEST *et al.*, 2009). Os resultados de IINIB e IINAB foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, com valores de 12 a 0, o valor de 12 (doze) representa atividade máxima e 0 (zero) a não-atividade. A avaliação dos resultados obtidos nas variáveis de IINIB e IINAB foi verificada através da Análise de Variância (ANOVA) num nível de significância de 5% ($p < 0,05$), através do programa Excel/Windows 2007.

Resultados e Discussão

A solução conservante de sépalas de hibisco frente a *Salmonella* Enteritidis mostrou intensa inibição (IINIB) e inativação (IINAB) (Tabela 1). Houve inibição e inativação mesmo após 144h de exposição do inóculo à solução conservante. Os resultados de IINIB e IINAB foram excelentes, pois além do estado de latência houve morte microbiana, ou seja, em todas as horas o extrato permaneceu com o efeito antibacteriano ($p=0,78$).

Tabela 1- Intensidade de Inibição e Inativação do extrato alcoólico das sépalas de *Hibiscus sabdariffa* L., sobre *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076)

Extrato alcoólico de Sépalas <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.						
IINIB			IINAB			
Tempo	1ª análise	2ª análise	Média	1ª análise	2ª análise	Média
24h	12	12	12	9	11	10
48h	12	12	12	12	11	11,5
72h	12	12	12	12	11	11,5
144h	12	10	11	12	12	12

12 a 1=variáveis ordinais arbitrárias que representam a Intensidade de Inibição/latência (IINIB) ou Inativação/morte (IINAB). 0= não houve atividade.

Observando as Tabelas 1 e 2, em relação aos números arbitrários, ambas diferem notoriamente. As cápsulas deiscuentes do hibisco apresentaram baixa atividade antibacteriana se comparado às sépalas, fato que também pode ser examinado na Figura 1. O extrato, tanto nas 144h do IINIB e do IINAB, parou de inibir/inativar as *Salmonellas* (Tabela 2).

Tabela 2- Intensidade de Inibição e Inativação do extrato alcoólico das cápsulas deiscuentes de *Hibiscus sabdariffa* L., sobre *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076)

Extrato alcoólico de Cápsulas deiscuentes <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.						
IINIB			IINAB			
Tempo	1ª análise	2ª análise	Média	1ª análise	2ª análise	Média
24h	4	5	4,5	6	3	4,5
48h	2	1	1,5	8	0	4
72h	2	0	1	3	0	1,5
144h	0	0	0	0	0	0

12 a 1=variáveis ordinais arbitrárias que representam a Intensidade de Inibição/latência (IINIB) ou Inativação/morte (IINAB). 0= não houve atividade.

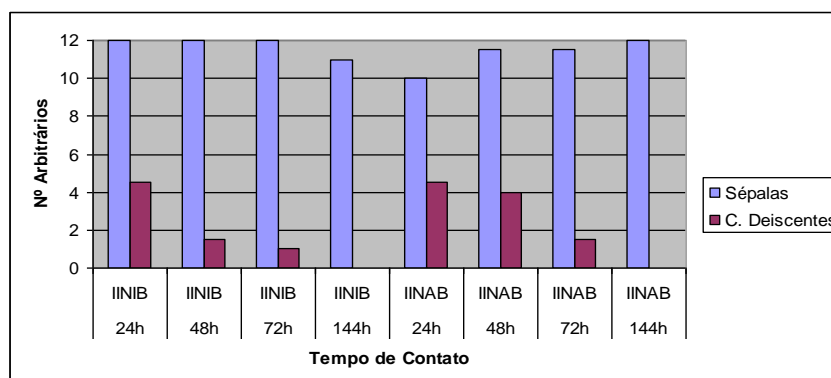


Figura 1 – Média da Intensidade de Inibição e Inativação do extrato alcoólico das sépalas e das cápsulas deiscuentes de hibisco, sobre *Salmonella* Enteritidis

Um dos fatores determinantes para a atividade antimicrobiana eficiente da sépala pode ser em razão da quantidade elevada de antocianinas existentes, o que não acontece com as cápsulas deiscuentes.

Conclusões

O extrato de sépalas do hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) demonstrou atividade antimicrobiana excelente frente a *Salmonella* Enteritidis, fato que se confirmou com o tempo de ação, inibição e inativação. O extrato das cápsulas deiscuentes não apresentou atividade antimicrobiana satisfatória.

Referências

- AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.M.; Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Schlecht. - Guttiferae (“escadinha/sinapismo”) frente a diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. Botucatu v. 10, n. 1, p. 64-69, 2008.
- CAVALLI-SFORZA, L. Biometrie: Grundzüge biologisch-medizinische Statistik (Biometria: fundamentos de estatística viológica-médica). Stuttgart: Gustav Fisher V. p.201-204. 1974.
- D’ HEUREX- CALIX, F. & BADRIE, N. Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymatic extracted calyces. *Food Serv Technol* 4:141–8, 2004.
- ESA, N.M., et al. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry* doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.074, 2010.
- DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft). Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. (Normas para o teste de desinfetantes químicos para a medicina veterinária). Giessen, 1980. In: SCHLIESSER, Th.; STRAUCH, D. Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft. (Desinfecção aplicada à Produção Animal, a Frigoríficos e Laticínios). Stuttgart: Enke Verlag, p.455, 1981.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. 2 ed. São Paulo: Manole, p. 234, 235, 236 e 237, 2003.
- LIU, K. S., TSAO, S. M. & YIN, M. C. In vitro antibacterial activity of roselle calyx and protocatechuic acid. *Phytother Res.*;19:942–945, 2005.
- SOUZA, E.L. Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. *Revista Higiene Alimentar*, v.17, n.113, p.38- 42, 2003.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

Diane Scapin¹; Mônica Lourdes Rosanelli²; Eliandra Mirlei Rossi³

¹Bióloga, Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste. Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Microbiologia. dianescapin2005@yahoo.com.br; ²Estudante do Curso de Ciências Biológicas da Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste. Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Microbiologia. monylrosanelli@hotmail.com; ³Bióloga, Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente-UFRGS, Professora do Curso de Ciências Biológicas da Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste, Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Microbiologia. eliandra_bio@yahoo.com.br

Resumo - Atualmente o consumo e a comercialização dos alimentos artesanais têm aumentado constantemente por serem vistos como mais saborosos e naturais. Desse modo, o objetivo desse estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de produtos produzidos e comercializados pelas agroindústrias do extremo oeste catarinense. Foram coletadas 44 amostras (10 de salame, 5 de linguiçinha, 5 de banha, 4 de torresmo, 1 de presunto, 1 de bacon, 2 de copa, 3 de morcela branca, 2 de queijo colonial, 2 de leite pasteurizado, 1 de manteiga, 1 de nata, 1 de doce de leite, 1 de requeijão, 1 de miúdos de frango, 1 de cortes congelados de frango e 2 amostras de peixes (filé e carpa) provenientes das agroindústrias. Após a coleta, as amostras foram mantidas sob refrigeração e conduzidas ao Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico de Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina, para análise. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a recomendação e exigência da RDC 12 de janeiro de 2001. A metodologia para efetuar as análises microbiológicas foi de acordo com a Instrução Normativa Nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Das 44 amostras analisadas, 6 (13,6%) estavam impróprias para o consumo. Destas, apenas duas (33,33%) estavam contaminadas somente por coliformes termotolerantes, duas (33,33%) por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva e duas (33,33%) por *Staphylococcus* coagulase positiva. Os demais alimentos analisados estavam dentro dos padrões permissíveis. Não foram encontradas contaminações por *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, e *Clostridium* sulfíto redutor em nenhuma das amostras analisadas.

Palavras-chave: *Staphylococcus* coagulase positiva; agroindústrias; coliformes termotolerantes.

Introdução

Alimentos contaminados são uma das principais preocupações de saúde pública (WHO, 2007), podendo ser uma das maiores causas de doenças e mortes (SARTER; SARTER; GILABERT, 2010). Apesar dos esforços para a sua prevenção, as doenças transmitidas por alimentos (DTA) continuam sendo um evento muito frequente, podendo apresentar elevada gravidade para um grande número de pessoas, no Brasil e no mundo (HAVELAAR et al., 2009; SVS, 2005).

A substituição de produtos industrializados pelos coloniais tem aumentado nos últimos anos, pois estes são considerados pela população em geral como, mais saborosos e “naturais” que os industrializados, porém geralmente não possuem controle microbiológico e podem ser um veículo frequente de patógenos por serem, na maioria das vezes, bastante manipulados e elaborados sem tratamento térmico adequado.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos artesanais produzidos pelas agroindústrias e comercializados NA região do extremo oeste catarinense, uma vez que esses alimentos são amplamente consumidos pela população.

Materiais e métodos

Foram coletadas 44 amostras de alimentos produzidos pelas agroindústrias da região extremo oeste de Santa Catarina. Nas agroindústrias foram adquiridos no mínimo 200 g ou mL de cada um dos produtos, de acordo com a disponibilidade no momento da coleta. Após a coleta, as amostras foram mantidas sob refrigeração e conduzidas ao Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico de Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina, para análise.

Do total de amostras coletadas, 10 eram de salame, 5 de linguiçinha, 5 de banha, 4 de torresmo, 1 de presunto, 1 de bacon, 2 de copa, 3 de morcela branca, 2 de queijo colonial, 2 de leite pasteurizado, 1 de manteiga, 1 de nata, 1 de doce de leite, 1 de requeijão, 1 de miúdos de frango, 1 de cortes congelados de frango e 2 amostras de peixes (filé e carpa).

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a recomendação e exigências da RDC 12 de janeiro de 2001, uma vez que são variáveis para cada alimento comercializado. A metodologia para efetuar as análises microbiológicas foi de acordo com a proposta pela Instrução Normativa Nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Resultados e Discussão

Das 44 amostras analisadas, 6 (13,6%) estavam impróprias para o consumo, conforme os padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC/12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Destas, apenas duas (33,33%) estavam contaminadas por coliformes termotolerantes, duas (33,33%) por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva e duas (33,33%) por *Staphylococcus* coagulase positiva.(Tabela 1).

As amostras de banha, presunto, torresmo, linguiçinha, copa, miúdos e cortes de frango, peixes (filé e carpa), leite pasteurizado, manteiga, doce de leite e requeijão estavam dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC/12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Além disso, destacam-se que não foram encontradas contaminações por *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, e *Clostridium* sulfito redutor em nenhuma das amostras analisadas.

Resultados semelhantes aos deste trabalho foram obtidos por Salvatori, Bessa, Cardoso (2003), que do total de 93 amostras de embutidos artesanais avaliados, nenhuma das amostras apresentou *Salmonella* sp, porém 5 amostras estavam em condições sanitárias insatisfatórias para coliformes termotolerantes.

Diferentemente dos nossos resultados, Rohden et al. (2005), em pesquisa realizada com salames coloniais coletadas, no comércio local da mesma região deste estudo, demonstraram que de 24 amostras analisadas, 21 estavam fora dos padrões permitidos pela legislação para *Staphylococcus aureus*, com média de $6,7 \times 10^7$ UFC/g.

As contagens elevadas de coliformes termotolerantes indicam um processamento inadequado e ou/ recontaminação pós processamento, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamento contaminado ou manipulação sem cuidados de higiene. (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Tabela 1: Resultados encontrados para as amostras consideradas como impróprias para o consumo.

Alimento Analisado	Resultado	Padrões permissíveis
Salame 1	Coliformes termotolerantes: $1,9 \times 10^4$ UFC/g <i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: $<1 \times 10^2$ UFC/g	10^3 UFC/g Ausência em 25g 5×10^3 UFC/g
Salame 2	Coliformes termotolerantes: $3,6 \times 10^3$ UFC/g <i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: $<1 \times 10^2$ UFC/g	10^3 UFC/g Ausência em 25g 5×10^3 UFC/g
Bacon	<i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: $1,4 \times 10^4$ UFC/g	Ausência em 25g 3×10^3 UFC/g
Morceia branca	Coliformes termotolerantes: 30 UFC/g <i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: $3,5 \times 10^3$ UFC/g <i>Clostridium</i> sulfito redutor: $<1 \times 10^1$ UFC/g	10^3 UFC/g Ausência em 25g 3×10^3 UFC/g 5×10^2 UFC/g
Queijo colonial	Coliformes termotolerantes: $5,8 \times 10^6$ UFC/g <i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: $1,5 \times 10^3$ UFC/g <i>Listeria monocytogenes</i> : Ausência em 25g	10^3 UFC/g Ausência em 25g 10^3 UFC/g Ausência em 25g
Creme de leite pasteurizado	Coliformes termotolerantes: NMP > 110/g <i>Salmonella</i> sp.: Ausência em 25g <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva: 550 UFC/g	NMP 10/g Ausência em 25g 10^2 UFC/g

Conclusões

Os resultados permitem concluir que apesar de apenas 13,6% das amostras avaliadas serem consideradas como impróprias para o consumo, elas apresentaram elevadas contagens de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, o que demonstra a falta de um controle mais efetivo das matérias-primas, dos manipuladores, bem como do processamento do produto até a fase final, pois esses resultados indicam condições higiênico-sanitárias deficientes no processo de produção destes alimentos.

Apoio

Universidade do Oeste de Santa Catarina-UNOESC.

Referências

- BRASIL, Instrução Normativa n°. 62 de 26/08/2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília, DF. **Diário Oficial da União**, 18/09/2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10/01/2001. Seção 1, p. 45-53.
- FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182 p.
- HAVELAAR, A. H et al. Future challenges to microbial food safety. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 79-94, 2009.
- RHODEN, F. et al. . *Staphylococcus aureus*: Presença e implicações em salames coloniais. **In: IV Simpósio de Alimentos para a Região Sul**, 2005, Passo Fundo, 2005.

SALVATORI, R. U.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. R. I. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto alegre, RS. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 771, 773, 2003.

SARTER, S.; SARTER, G.; GILBERT, P. A. Swot analysis of HACCP implementation in Madagascar. **Food Control** . v. 21, p. 253–259, 2010.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Boletim eletrônico epidemiológico**. n. 6 , 2005. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf>. Acesso em 03 de junho de 2008.

WHO Food safety and foodborne illness. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>> Acesso em: 04 de janeiro de 2007.