

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) e
ORÉGANO (*Origanum vulgare*) VENDIDOS EM ESTABELECIMENTOS
COMERCIAIS E EM FEIRAS-LIVRES DA CIDADE DE UBERLÂNDIA –
MG.

PRYSCILA MARIA SANTOS

Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Setembro de 2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) e
ORÉGANO (*Origanum vulgare*) VENDIDOS EM ESTABELECIMENTOS
COMERCIAIS E EM FEIRAS-LIVRES DA CIDADE DE UBERLÂNDIA –
MG.

PRYSCILA MARIA SANTOS

Dr. DAISE APARECIDA ROSSI

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

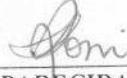
Uberlândia – MG
Setembro de 2002

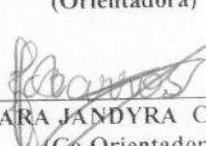
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

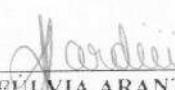
ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) e
ORÉGANO (*Origanum vulgare*) VENDIDOS EM ESTABELECIMENTOS
COMERCIAIS E EM FEIRAS-LIVRES DA CIDADE DE UBERLÂNDIA - MG.

PRYSCILA MARIA SANTOS

Aprovado Pela Banca Examinadora Em 11/09/02 Nota 100,00


DAISE APARECIDA ROSSI
(Orientadora)


JUPYRACYARA JANDYRA CARVALHO BARROS
(Co-Orientadora)


FÚLVIA ARANTES ZARDINI
(Prof. Convidada)

Uberlândia, 11 de Setembro de 2002.


Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Dra. Ana Angelica Almeida Barbosa
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Agradecimentos

Agradeço a *Deus* pela oportunidades concedidas.

Aos meus pais, *Jair e Maria Aparecida* com muito amor, agradeço e dedico este estudo. Obrigada por seu constante empenho e paciência em todos os momentos necessários.

À minha orientadora *Daise* agradeço por me ajudar com todo o seu conhecimento e paciência .

Ao meu namorado, *Josenilson* que com muito amor e profissionalismo, sempre me deu grandes idéias de como realizar este trabalho.

À *Jupys* uma pessoa incrivelmente carinhosa, que ajuda a todos com grande empenho e disposição e tem o dom de levar alegria por onde passa.

Às minhas amigas *Fabiana, Luciana e Cláudia*...adoro vocês e agradeço toda ajuda e companhia durante este trabalho.

Aos meus irmãos , *Karla e Sérvio* amo vocês.

Ao meu cunhado *Fábio*, por toda a preocupação e caronas durante o período prático desta pesquisa.

Ao meu sobrinho, *Yuri* ; você sempre será o neném da titia , te amo.

À *Chesca* um grande abraço e me desculpe pelos tubinhos de Durhan entupidos com pimenta.

À *Soninha e Seu Odécio* que me apoiaram muito, em tudo que precisei, não só com relação a esta pesquisa. Muito obrigada. Adoro vocês!!!

ÍNDICE

1 – INTRODUÇÃO.....	01
2 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2. 1 – Microrganismos pesquisados em alimentos.....	03
2. 2 – Especiarias	04
2.2.1 – Pimenta-do-reino (<i>Piper nigrum</i>).....	05
2.2.2 – Orégano (<i>Origanum vulgare</i>).....	06
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	07
3. 1 – Amostras.....	07
3. 2 – Métodos.....	07
3.2.1 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas	07
3.2.2. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Fecais.	09
3.2.3. Enumeração de bolores e leveduras.....	09
3.2.4. Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	09
3.2.5. Análise estatística.....	10
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
5 – CONCLUSÃO.....	16
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

RESUMO

Foram analisadas 44 amostras de condimentos (22 de pimenta-do-reino moída e 22 de orégano desidratado), para a presença de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais, bolores e leveduras (apenas em pimenta), *Staphylococcus coagulase positiva*, coletadas em 4 feiras livres e 5 comércios da cidade de Uberlândia (MG). Em média, amostras de pimenta do reino provenientes de feira apresentaram níveis de contaminação mais elevado com relação a aeróbios mesófilos ($1,0 \times 10^7$) do que amostras provenientes de comércio ($3,9 \times 10^5$). O mesmo não ocorreu na análise de orégano que demonstrou resultados próximos ($2,7 \times 10^4$ e $5,7 \times 10^3$) em amostras de feira e comércio. Coliformes totais foram encontrados em 81,8 % das amostras de pimenta provenientes de feira e em 54,5% de amostras coletadas em comércio. Das amostras de orégano adquiridas em feira e comércio, 54,5% e 18,2% respectivamente, também apresentaram este tipo de contaminação, provavelmente, devido ao excesso de exposição e manipulação inadequados dos mesmos. Das 44 amostras analisadas, uma de pimenta apresentou contagem acima de 10^2 , para coliformes fecais, e *staphylococcus coagulase positiva* não foi identificado.

Palavras - chave: pimenta-do-reino, orégano e contaminação microbiológica.

1 - INTRODUÇÃO

Uma das maiores causas de enfermidades em todo o mundo é a intoxicação alimentar provocada por ingestão de alimentos contaminados por microrganismos ou por metabólitos destes. Geralmente, essa contaminação não é percebida pelo consumidor, pois muitos destes patógenos não provocam alteração na cor, no sabor ou no aroma dos alimentos (MERCATELLI, 1997).

De acordo com COLLINS (1997) as doenças alimentares de origem bacteriana são o mais sério problema de segurança alimentar nos Estados Unidos. WINARNO (1992) relata que a contaminação microbiológica dos alimentos é responsável por mais de 90% dos episódios de ETA (Enfermidades Transmitidas por Alimentos), incluindo as salmoneloses, cólera e demais doenças entéricas de origem bacteriana.

Em geral alimentos preparados e consumidos em domicílios, restaurantes e lanchonetes são temperados com algum tipo de condimento que irá realçar seu sabor. Como exemplos, temos a pimenta, a cebola e alguns tipos de ervas secas ou in natura como o orégano, o alecrim e o manjericão.

Como os condimentos estão presentes no prato do dia-a-dia do brasileiro, sua aquisição pode ser realizada em estabelecimentos comerciais de grande e pequeno porte ou feiras-livres. São considerados veículos importantes de vários microrganismos, que podem resultar em possíveis problemas de saúde para os consumidores, bem como interferirem na qualidade e na vida útil dos alimentos onde esses ingredientes forem adicionados (FROEHLICH et al., 2002)

Geralmente os condimentos são acrescentados ao fim do cozimento, pouco antes do alimento ser servido ou mesmo embalado, podendo carregar microrganismos para os mesmos.

Os condimentos são oriundos de diversos órgãos de vegetais, colhidos em regiões tropicais e subtropicais, submetidos a variações climáticas, e secos de modo artesanal. Desta forma, estão sujeitos, com relativa facilidade, à fermentação e/ou à proliferação de microrganismos. Além disso, condições sanitárias das plantações influem nos níveis de contaminação, assim como, os cuidados com a colheita. Por outro lado, o armazenamento em galpões velhos, úmidos, mal ventilados e com paredes cobertas de bolor, propiciam a multiplicação das espécies contaminantes e/ou a invasão por novas espécies a partir do ambiente (GERMANO et al., 2001).

Dois tipos de especiarias, a pimenta-do-reino preta e o orégano são facilmente encontráveis e bastante consumidos em vários pratos da cozinha brasileira e internacional. Desta forma, este estudo possuiu como objetivos:

- Avaliar através das contagens de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes, bolores e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positiva, amostras de pimenta-do-reino moída e orégano desidratado provenientes de feiras livres e estabelecimentos comerciais da cidade de Uberlândia – MG.
- Verificar se o local de aquisição dos condimentos influencia nas condições higiênico-sanitárias dos mesmos.
- Comparar os resultados das contagens com os padrões preconizados pelo Ministério da Saúde.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Microrganismos pesquisados em alimentos

Em alimentos, devido a grande diversidade de microrganismos presentes, geralmente são pesquisados indicadores de contaminação, entre eles os coliformes de origem ambiental ou fecal. O grupo é composto por bacilos Gram negativos, fermentadores de lactose com produção de ácido e gás. O grupo é utilizado como indicador de condições higiênicas dos alimentos, sendo a presença de coliformes fecais, indicadora de contaminação recente e da possibilidade da presença de patogênicos, transmitidos pelas fezes. Dentre os principais representantes do grupo encontram-se o *Enterobacter aerogene* e a *Escherichia coli*, cujo habitat natural é o intestino humano e animal (SILVA, 2000; SIQUEIRA, 1995).

Staphylococcus coagulase positiva, da família Micrococaceae, se apresenta na forma de cocos Gram positivos. Pode ser encontrado em várias partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Pode ser encontrada em alimentos como o leite, queijos, doces de confeitoraria, molhos, maionese, presunto* e alimentos ricos em proteínas. Cresce em temperatura ambiente e libera toxinas. O aquecimento dos alimentos é capaz de inativar as bactérias, mas sua toxina é termoestável. É um importante patógeno em seres humanos, podendo causar intoxicação alimentar, infecção cutânea de pouca importância até infecções graves potencialmente fatais (MERCATELLI, 1997).

Microrganismos aeróbios mesófilos são aqueles que crescem em temperaturas entre 5°C e 45°C, sendo a temperatura ideal de crescimento em torno de 30-37°C (MOSSEL et al., 1982). A contagem destas bactérias tem sido usada como indicadora da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também informações sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número indica matérias primas excessivamente contaminadas, limpeza e

desinfecção de superfícies ineficientes, deficiente higiene na produção e condições inadequadas de tempo/temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos, ou ainda, uma combinação destes fatores (GUERREIRO, 1984).

Bolores (fungos filamentosos) e leveduras (fungos unicelulares), são amplamente distribuídos na natureza, encontrados no solo e superfície de vegetais, no ar, na água e animais. Quando são adicionados condimentos contaminados com estes microrganismos aos alimentos, seu crescimento pode ocorrer de forma mais rápida do que a que se observa em relação às bactérias. Este diferencial de crescimento depende da acidez e quantidade de água disponível. Em alimentos são conhecidos pôr provocarem deteriorações e pôr produzirem toxinas. Algumas espécies podem produzir compostos tóxicos chamados micotoxinas, que representam grande perigo ao homem e aos animais. As micotoxinas são capazes até de induzir ao desenvolvimento de neoplasias, por produzirem lesões orgânicas após ingestão repetida de pequenas quantidades dos mesmos (ICMSF, 1982).

2.2. Especiarias

As especiarias ou condimentos têm sido usados desde os tempos pré-históricos. Determinadas especiarias foram empregadas para embalsamar no antigo Egito e, em muitos países, são usadas para fins medicinais, queimadas em cerimônias religiosas e, em locais de clima quente onde falta refrigeração, têm servido para mascarar o sabor e odor de carnes em início de decomposição (ICMSF, 1985).

Designam-se especiarias as substâncias vegetais de origem indígena ou exótica, aromáticas ou de sabor forte, picante. São utilizadas para realçar o gosto dos alimentos ou adicionar os princípios estimulantes nelas contidos. Portanto, o termo se refere a produtos naturais de origem vegetal, ou à sua mistura, estabilizados, inteiros, fragmentados ou em pó, sem adição de matérias de outras naturezas. São utilizadas na prática culinária como condimento ou tempero, para conferir sabor e aroma, não tendo, a maior parte delas, qualquer valor nutritivo. Podem estar contidas no fruto, na flor, na semente, na raiz ou na córtex de uma planta (GERMANO et al, 1998).

O interesse da microbiologia por estes condimentos se dá por quatro razões fundamentais: 1) podem desenvolver fungos se mantidos em umidade e temperaturas

inadequadas; 2) podem conter microrganismos que, ao serem introduzidos nos alimentos, podem provocar alterações e ocasionar enfermidades a quem os ingere; 3) em certos casos, podem estimular o metabolismo microbiano; 4) podem exercer certa ação antimicrobiana, ajudando na conservação dos alimentos (ICMSF, 1985).

A sobrevivência e a multiplicação dos microrganismos é limitada nas ervas secas, mas a contaminação de condimentos tem sido reportada como veículo de doenças e de deteriorações, sendo preconizada a observância da formas de controle destes contaminantes de alimentos (BEDIN et al, 1999).

2.2.1. Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*)

Originária da Índia, é uma planta trepadeira pertencente à família *Piperaceae*. A introdução da cultura de cultivo se deu pela colônia japonesa em 1933.

O clima ideal para a pimenta-do-reino é quente e úmido, com precipitação pluviométrica acima de 1800mm/ano e temperatura média de 26 graus Celsius. Hoje essa cultura tem sido o suporte econômico de pequenos e grandes produtores na região Norte do Brasil.

A colheita da pimenta-do-reino é manual por meio de repasses, podendo ser colhidos três tipos: pimenta-verde: quando os frutos ainda estão verdes; pimenta-branca: quando os frutos apresentam coloração avermelhada; pimenta-preta: quando os frutos estão verdolengos. A comercialização pode ser feita nas formas de conserva ou em pó, além de óleo e óleo resina, onde o preço pode ser até três vezes maior.

O mercado externo é o principal destino da pimenta-do-reino brasileira. Os dois principais países importadores continuam sendo os EUA e a Alemanha, não obstante terem reduzido suas importações em 15,7% e 49,5%, respectivamente, comparando-se o ano 2000 com o ano anterior. Já dentre os seis principais países importadores, os que registraram, nesse mesmo período comparativo, aumento das importações do produto brasileiro foram a Espanha (77,9%), a Argentina (8,8%) e o México (137,1%), apesar deste último importar o equivalente a apenas 13,8% da quantidade que os Estados Unidos importam do Brasil.

A pimenta-do-reino tem sido apontada por alguns estudiosos como fonte de contaminação de alimentos, segundo estudos realizados e relatados em GERMANO et al (2001). Microrganismos como o *Clostridium perfrigens*, o *Bacillus subtilis*, coliformes fecais e esporos aeróbios foram encontrados em número considerável das amostras analisadas, bem

como em produtos preparados com este condimento. FROEHLICH et al (2002) ao estudar 37 amostras de pimenta do reino, observaram que em 85% das amostras, a bactéria *Bacillus cereus* foi identificada, além disso, em outras pesquisas por eles relatadas foi comprovada a contaminação por outras bactérias.

2.2.2. Orégano (*Origanum vulgare*)

Pertence a família *Labiateae* (*Lamiaceae*) e era considerado pelos antigos romanos como símbolo da paz e da felicidade. É originário do Mediterrâneo Oriental e Ásia, em colinas com boa insolação. Os gregos deram o nome desta erva, oros ganos, alegria das montanhas, pois os oréganos cobriam suas colinas e perfumavam o verão. A medicina grega usava o orégano como chá para convulsões e antídoto para venenos narcotizantes, além disso, era ainda muito apreciado como pós-banhos.

É comum confundir o orégano com outra planta da mesma família, a manjerona, que não tem um aroma tão acentuado como o seu. Além de ser um tempero saboroso, especialmente usado em pizzas e molhos, o orégano tem propriedades terapêuticas.

Com mais de 30 espécies, ocorre de forma nativa na Europa, no México e em certas regiões da América do Sul. Varia de 25 a 80cm de altura, tem caule ereto e quadrangular. As folhas são ovais, pontiagudas, verde-escuras ou levemente acinzentadas, com a face inferior coberta de pêlos finos e curtos. As flores são avermelhadas e agrupam-se em tufo nas extremidades dos ramos superiores. A planta toda emana um forte aroma característico e intenso. É cultivado em pleno sol, em solo rico em matéria orgânica.

As exportações do orégano tem mostrado um crescimento alto ao longo da última década. Em 1990 seu valor para exportação representou em total de US 125.000 e em 1999 chegou ao significativo valor de US\$2.3 milhões em exportações.

Em estudos realizados por GARCIA et al. (2001) e RODRIGUEZ et al (1991), foram encontrados aeróbios mesófilos e outras bactérias em vários condimentos analisados entre eles o orégano.

É um tipo de condimento que pode ser contaminante de alimentos, devido as suas características de produção, armazenamento e seu consumo freqüente, por este motivo torna-se relevante conhecer seus possíveis contaminantes.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

Onze amostras de pimenta-do-reino moída e onze de orégano desidratado à granel foram adquiridas em barracas de 4 feiras-livres que vendem condimentos em 4 bairros da cidade de Uberlândia – MG, e outras onze de cada condimento, compradas em mercearias, supermercados e outros tipos de comércio de 5 fabricantes diferentes. As amostras obtidas em feiras eram coletadas em embalagens fornecidas pelo próprio feirante ou adquiridas em pacotes fechados contendo 10 a 20 gramas do condimento quando compradas em comércio e transportadas para o Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia, onde foram analisadas em prazo máximo de 24 horas.

Foram quantificados nas amostras de pimenta-do-reino e orégano, bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais, *Staphylococcus* coagulase positiva, além de bolores e leveduras apenas para pimenta-do-reino (Figura 1). Para análise, foram pesadas assepticamente 10 gramas das amostras em frascos contendo 90 mL água peptonada 0,1% estéril, sendo esta considerada a diluição 10^{-1} .

3.2. Métodos

3.2.1 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas

A análise de bactérias mesófilas constou de diluições decimais seriadas, sendo 1 mL de cada diluição adicionado à placas de Petri estéreis, onde foram adicionados 15 mL de ágar padrão para contagem (PCA) previamente fundido e resfriado a 45°C. Após a

homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C/48 horas. Após incubação, as placas foram contadas e o número de colônias multiplicado pela recíproca diluição utilizada e o resultado expresso como unidades formadoras de colônias por grama de condimento (VANDERZANT et al, 1992).

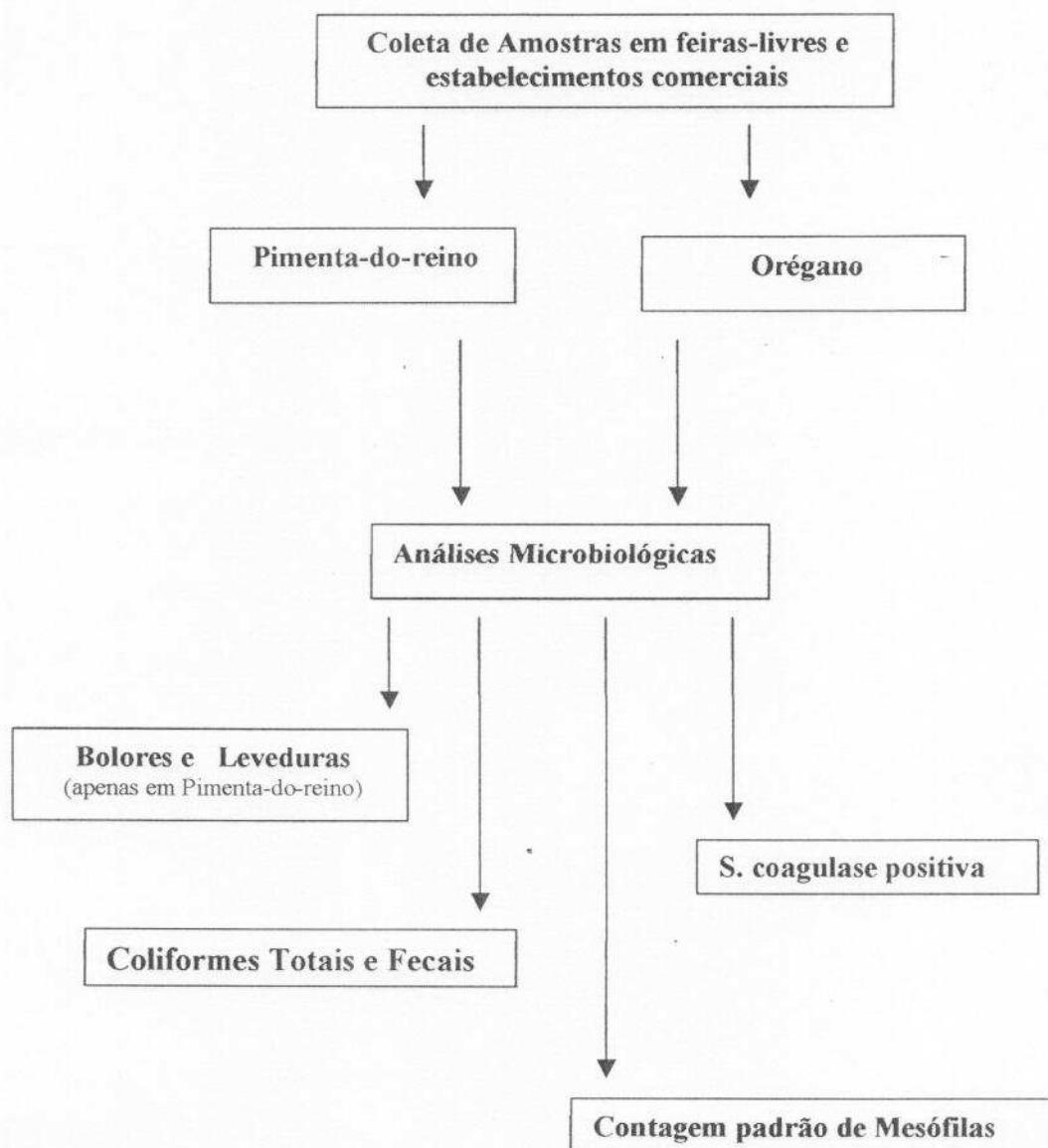


Figura 1. Esquema de análise das amostras de pimenta-do-reino e orégano.

3.2.2. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Fecais

A análise do número mais provável de coliformes fecais e totais, foi realizada através da técnica de tubos múltiplos e foi subdividida em duas etapas, o teste presuntivo e o confirmativo. No teste presuntivo utilizou-se 3 séries de 3 tubos, contendo em cada tubo caldo lauril sulfato de sódio, todos com tubos de Durhan invertidos. Foram adicionados 10, 1 e 0,1 mL da amostra diluída (10^{-1}) correspondendo a 1, 0,1 e 0,01 gramas da amostra. Os tubos foram incubados a 35°C/48 horas e aqueles com resultado positivo (gás nos tubos de Durhan) foram anotados e, posteriormente confirmados em caldo verde brilhante e bile 2% (35°C/48 horas) e caldo E.C (45°C/48 horas), para determinação de coliformes totais e fecais, respectivamente. Os tubos positivos foram anotados e os resultados expressos de acordo com 3a tabela de NMP e registrados como NMP de coliformes/g (BRASIL,1981).

3.2.3. Enumeração de bolores e leveduras

Para a enumeração de bolores e leveduras, a partir da diluição 10^{-4} mL das diluições decimais seriadas, adicionou-se 1 mL à placas Petri estéreis, adicionou-se 15 mL de ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico a 10%, até pH 3,5, previamente fundido e resfriado a 45°C. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 25°C / 3-5 dias, contadas e o número de colônias encontrado multiplicado pela recíproca da diluição. O resultado foi expresso como unidades formadoras de colônias por grama de condimento (SILVA et al., 1997).

3.2.4. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foram semeados com o auxílio de uma alça de Drigalski sobre a superfície do ágar Baird Parker, 0,1 mL de cada diluição selecionada. O inóculo foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio até total absorção e as placas incubadas em posição invertida a 35°C/48horas. Após incubação, placas com número de colônias entre 25 e 250 foram contadas. Foram consideradas colônias típicas, as que apresentassem as seguintes características: circulares, negras, brilhantes com anel branco, opaco, rodeado por um claro halo transparente destacando-se sobre a opacidade do

meio e atípicas aquelas que não apresentassem tais características. As colônias selecionadas foram repicadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e ágar tripticase de soja (TSA) inclinado e incubadas a 35°C/24 horas. Provas de coloração diferencial de Gram, catalase e coagulase foram efetuadas e em caso de resultados positivos em todas as provas, estas bactérias foram consideradas *Staphylococcus* coagulase positivas. Os resultados expressos como UFC/g (ABNT, 1991).

3.2.5. Análise estatística

Foram utilizadas para tratamento dos dados, análise de variância e as diferenças entre médias, verificadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade (SAMPAIO, 1998). O delineamento utilizado foi o DIC (delineamento inteiramente casualizado) em esquema fatorial. Foram verificadas as diferenças entre as médias obtidas nas contagens microbiológicas das amostras de pimenta-do-reino e orégano provenientes de feira e comércio.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média das contagens de bactérias aeróbias mesófilas presentes nas 22 amostras de pimenta-do-reino provenientes do comércio e feira livre, apresentaram diferença estatística significativa ($p>0,05$). Os índices médios encontrados foram de $2,7 \times 10^4$ UFC/g, $5,7 \times 10^3$ UFC/g no orégano e $1,1 \times 10^7$ UFC/g e $3,9 \times 10^5$ UFC/g na pimenta, para amostras colhidas no feira e comércio, respectivamente.

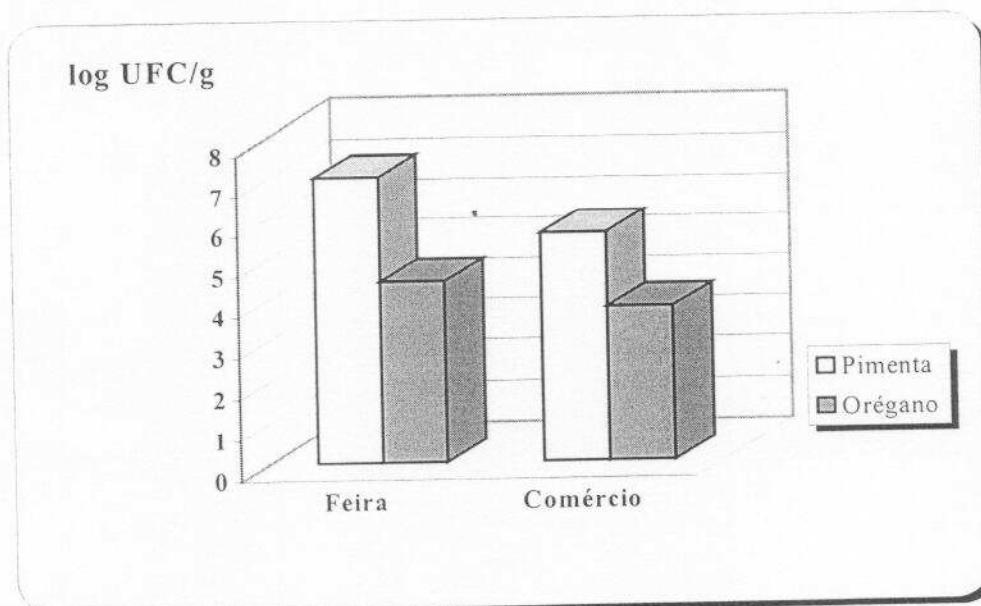


Figura 2. Contagem média de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de pimenta-do-reino e orégano coletadas em feiras e estabelecimentos comerciais, da cidade de Uberlândia – MG (2002).

Embora não causem danos à saúde do consumidor, as bactérias mesófilas podem alterar as qualidades físico-químicas dos alimentos, reduzindo sua vida de prateleira. A ANVISA (Agência Nacional de Alimentos, 2002), não estabelece limite para microrganismos mesófilos em condimentos. Contudo, os valores encontrados no presente estudo, podem ser comparados aos registrados por FROELICH et al. (2002), FARKAS (1992) e SHIGEMURA et al. (1991), que ao avaliarem as condições higiênico-sanitária da pimenta-do-reino, encontraram índices médios entre 10^6 a 10^8 UFC/g. GARCIA et al. (2001) ao analisarem 304 amostras de condimentos, dentre eles o orégano e a pimenta-do-reino, encontraram os menores níveis destes microrganismos em orégano e folha de louro (10^2 UFC/g) e os mais elevados (10^5 a 10^7 UFC/g) nas amostras de pimenta-preta e sementes de cominho. O índice de 10^4 UFC/g em orégano também foi relatado em estudos realizados por RODRIGUEZ et al. (1991).

A contagem média de coliformes totais foi de 39,52NMP/g, 7,58NMP/g em pimenta-do-reino, 5,23NMP/g, 0,79NMP/g orégano, coletados na feira e comércio respectivamente.

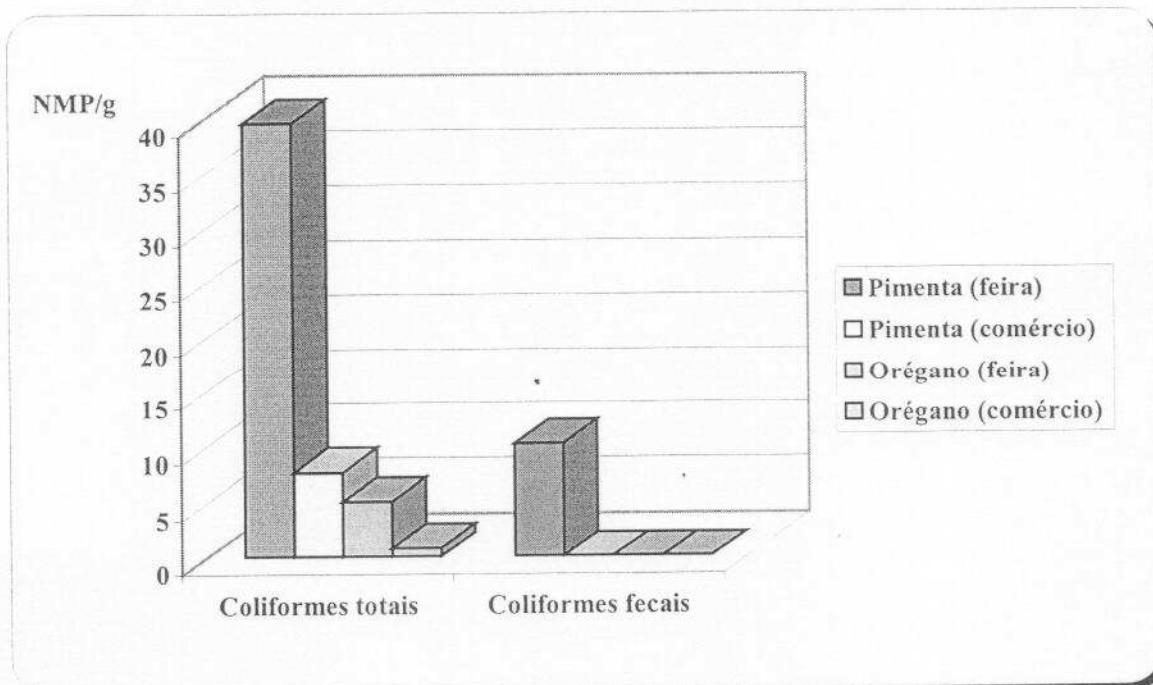


Figura 3. Número Mais Provável de Coliformes totais e fecais/g em amostras de pimenta-do-reino e orégano coletadas em feiras-livres e estabelecimentos comerciais da cidade de Uberlândia – MG (2002).

Conforme pode ser observado na figura 3, a prevalência desses bioindicadores, foi maior nas amostras de feira livre, entretanto, não foi registrada diferença significativa quando comparadas com as amostras obtidas de comércio ($p>0,05$). Tal fato pode ser consequência da heterogeneidade entre os resultados. RODRIGUEZ et al. (1991) verificaram que dentre os diferentes condimentos consumidos em Cuba, a pimenta destacou-se pelo elevado índice ($>10^5/g$) de bactérias do grupo coliforme

A presença de coliformes fecais em alimentos, indica contaminação por fezes de animais de sangue quente, tornando-o impróprio para o consumo dependendo do número determinado e da natureza do alimento (ANVISA, 2002). Neste trabalho, coliformes fecais foram detectados somente em 2 amostras de pimenta (9,09%) obtidas de feira livre, sendo que, apenas uma com contagem superior a 10^2 NMP/g, limite preconizado pela legislação vigente (Figura 3). Geralmente, a incidência desses patógenos em alimentos está associado a práticas de higiene e sanitização deficiente dos utensílios e equipamentos que entram em contato direto com o alimento, bem como, manipulação excessiva.

Os bolores e leveduras são facilmente encontrados em especiarias, sendo prevalentes em pimenta-do-reino (GERMANO et al., 1998). As médias foram de $7,3 \times 10^3$ UFC/g a $8,3 \times 10^3$ UFC/g, nas amostras da feira e comércio, respectivamente. Em indústrias de alimentos, o emprego de condimentos contaminados com os mesmos podem causar alterações em produtos enlatados. Sua presença pode ocorrer por contaminação accidental como resultado da proliferação durante a secagem, armazenamento ou transporte (International Comission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF, 1985).

Neste experimento não foi realizada a identificação das espécies dos fungos contaminantes. Todavia, GERMANO et al. (2001), afirmam que dentre os fungos invasores destacam-se os dos gêneros *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, sendo o mais comum na pimenta-preta o *Aspergillus flavus*. Esta informação é confirmada por DELCOURT et al. (1994) que ao analisarem amostras de pimenta-do-reino preta e branca encontraram particularmente *Aspergillus fumigatus*, *A. Flavus*, *A. niger* e *A. ochraceus* que podem ser perigosos para pacientes predispostos.

Apesar da detecção de colônias atípicas na superfície do ágar Baird – Parker, a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi confirmada (testes da catalase e coagulase) em nenhuma das amostras analisadas. Esse resultado concorda com a afirmação de JULSETH & DEIBEL apud ICMSF (1985), que consideram rara a incidência desses patógenos em especiarias desidratadas.

De maneira geral, a incidência dos boindicadores estudados, foram superiores nas amostras de pimenta. Tal fato, pode ser melhor visualizado nas figuras 4 e 5.

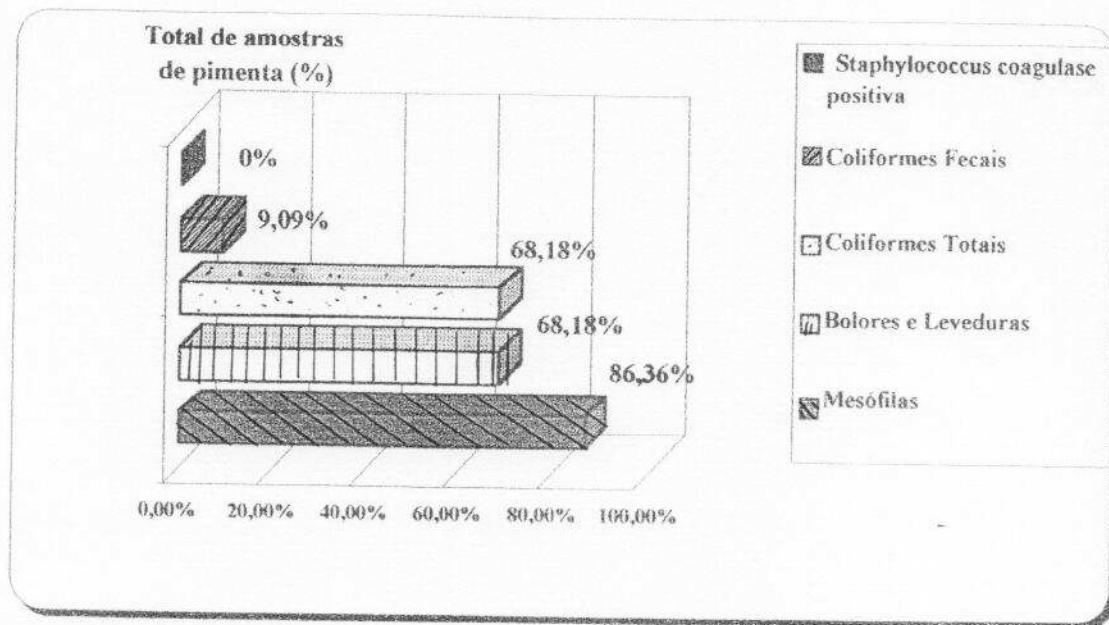


Figura 4. Perfil microbiológico das amostras de pimenta-do-reino adquiridas em estabelecimentos comerciais e feira-livres na cidade de Uberlândia-MG (2002).

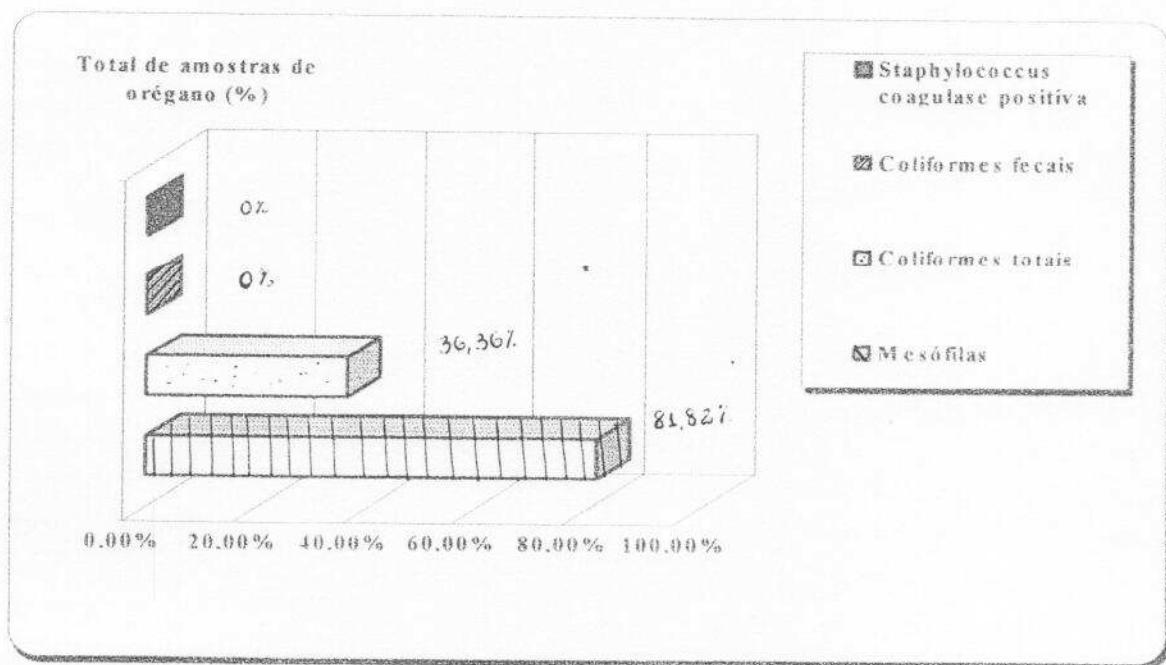


Figura 5. Perfil microbiológico das amostras de orégano adquiridas em estabelecimentos comerciais e feira-livres na cidade de Uberlândia – MG (2002).

A menor incidência dos bioindicadores estudados no óregano, provavelmente, é consequência da sua alta alta atividade antimicrobiana. Como sugerem BEDIN et al. (1999), poucos microrganismos estão presentes em condimentos como o orégano, sálvia e cravo da índia, devido à ação inibitória desses sobre os patógenos. Contudo, em locais onde as condições de saneamento básico são precárias, é possível encontrar nestes condimentos contaminações por variedades de bactérias e fungos.

TASSOU et al (1995) estudaram a atividade antimicrobiana de uma mistura de óleo de oliva, orégano (*O. vulgare*) e suco de limão sobre *Salmonella enteretidis*, *Staphylococcus aureus* e outras bactérias. O tratamento teve efeito bactericida e bacteriostático sobre os microrganismos. Em outro estudo, o orégano demonstrou maior atividade sobre fungos que outras especiarias, como a artemísia (*Artemisia herba-alba*) e o eucalipto (*Eucaliptus globulus*) (TANTAOUI – ELARAKI, 1993). A ação inibitória do orégano em espécies de fungos, também foi comprovada em estudos realizados por BASILICO et al. (1999) e por microbiologistas da Universidade Estadual Weber, nos Estados Unidos (ÓLEO..., 1998).

GÓES et al. (2001), afirmam que somente através de eficazes e permanentes programas de treinamento, informação e conscientização dos manipuladores é que se conseguirá produzir e oferecer alimentos seguros e inócuos. O autor afirma ainda que, ações que garantam a manutenção da qualidade dos alimentos durante todas as etapas do seu processamento devem ser realizadas, periódica e permanentemente, de forma a reduzir o risco de contaminação .

5 – CONCLUSÃO

A análise microbiológica das 44 amostras de pimenta-do-reino e orégano coletadas em estabelecimentos comerciais e feiras-livres na cidade de Uberlândia –MG, permitem concluir:

- As diferenças nas contagens médias de bactérias aeróbias mesófilas de pimenta-do-reino coletadas nas feiras foi maior que a média das amostras coletadas em estabelecimentos comerciais ($p<0,05$).
- Não foi verificada diferença estatística significativa entre as análises de coliformes totais e fecais, *Staphylococcus coagulase positiva*, bolores e leveduras, realizadas em pimenta-do-reino, ou em orégano.
- De acordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde, apenas 1 amostra (pimenta-do-reino coletada em feira) foi identificada como não adequada ao consumo humano por apresentar presença de coliformes fecais acima do valor máximo permitido (10^2).

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. MB3464. **Contagem de *Staphylococcus aureus* em placa.** Rio de Janeiro. 1991. 65p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, Anexo I n.15 letra b. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: < akses >. Acesso em: 28 ago. 2002.

BASILICO, M. Z.; BASILICO, J. C. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett. appl. microbiol.*, v. 29, n.4, p. 238-241, oct. 1999.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade Antimicrobiana das Especiarias. **Higiene alimentar**, v. 13, n. 65, p. 26-29, out. 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes** In: **métodos microbiológicos**. Brasília, 1981. 68p.

- COLLINS, J. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/reemergence of foodborne pathogens. **Emerging infectious diseases**, v. 3, n. 4, p. 12-16, oct/dec. 1997.
- DEL COURT, A.; ROUSSET, A.; LEMAITRE, J. P. Microbial and mycotoxic contamination of peppers and food safety. **Biology, chemistry and pharmacy**. v. 133, n. 4, p. 235 –238, apr. 1994.
- FARKAS, J. Irradiation treatment of spices. **Prehrambeno-technology biotechnology**, v.30, n. 4, p. 159-163, 1992.
- FROEHLICH, A.; GIOMBELLI, A. Ocorrência de bactérias aeróbias mesófilas e de *Bacillus cereus* em pimenta-do-reino. **Higiene alimentar**. v. 16, n. 97, p. 66-69, 2002.
- GARCIA, S. et al. Microbiological survey of retail herbs and spices from Mexican markets. **Journal of food protection**, v.64, n. 1, p. 99-103, jan. 2001.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Importância e riscos das especiarias. **Higiene alimentar**, v. 12, n. 57, p. 23 – 31, set/out. 1998.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629p.
- GÓES, J. A. W. et al. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Higiene alimentar**. v.15, n.82, p. 20-22, 2001.
- GUERREIRO, M. G. **Bacteriologia especial com interesse à saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984. 205p.
- ICMSF. INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico**. 2. ed. Zaragoza - España: Acribia, 1v., 1982, 431p.

ICMSF. INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecología microbiana de los alimentos : productos alimenticios.** Zaragoza - España: Acribia, 2v, 1985, p. 739-758.

JAWETZ, E.; MELNICK, J.; ADELBERG, E. A.; et al. **Microbiología médica.** 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 524 p.

MERCATELLI, R. Perigo na Mesa. **Saúde é vital.** São Paulo, n. 160, 1997. p.90-97.

MOSSEL, D. A. A.; MORENO GARCIA, B. **Microbiología de los alimentos: fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de- los alimentos.** Zaragoza - España: Acribia S.A., 1982. 375 p.

ÓLEO CONTRA A PNEUMONIA. Saúde é vital, n. 182. p. 19. nov 1998.

RODRIGUEZ, M; ALVAREZ, M; ZAYAS, M. Calidad microbiologica de especias consumidas en Cuba. **Revista latino-americana de microbiología,** v. 33, n. 2-3, p. 149-151, apr. - sep. 1991.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** 1. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela. 1997. p. 22-24.

SILVA, V. A. **Bioindicadores de contaminação em sorvetes comercializados no sistema Self-Service em Uberlândia – MG.** 2000. 23f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biologia. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2000.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos.** Rio de Janeiro: EMBRAPA – CTAA, 1995. 159p.

SHIGEMURA, R., GERDES, D. L.; HALL, W.R. Effect of gamma processing on prepackaged black and white pepper (*Piper nigrum L.*). **Food science and technology**, v. 24, p. 135-138, 1991.

TANTAOUI-ELARAKI, A.; FERHOUT, H.;ERRIFI, A. Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils. **Journal essencial oils research.** v.5, n.5, p. 535-543, set-oct., 1993.

TASSOU, C. C.; DROSINOS, E. H.; NYCHAS, G. J. E. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air. **Journal fo food protection.** v. 59, n.1, p. 31-34, 1995.

VANDERZANT, C.; SPLITSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 3. ed. Washington: Public Health Association. 1992. 1219p.

WINARNO, F.G. Food safety standarts and regulations. In: WORD CONGRESS FOOD - BORNE INFECTIONS AND INTOXICATIONS, 3, Berlin. **Proceedings.** Berlin: Oraniendruck GmbH, 1992. p. 841-844.

***Referências elaboradas de acordo com:**

SILVA, A.M.; PINHEIRO, M. S. F.; FREITAS, N.E. **Guia para normalização de trabalhos técnico – científicos: projetos de pesquisa, monografias, dissertações, teses.** 2. ed. Uberândia:EDUFU, 2002. 159p.