

CONTAGEM TOTAL DE MESÓFILOS AERÓBIOS E BOLORES EM MARCAS COMERCIAIS DE ARROZ BRANCO POLIDO

[Tiago André Kaminski¹; Everaldo Rodrigo Fatore²; Adriane Lettnin Roll Feijó³]

Palavras-chave: [*Oryza sativa*, microrganismos, bactérias, fungos.]

INTRODUÇÃO

[Cultivado em todos os continentes, o arroz (*Oryza sativa* L.) destaca-se pelo desenvolvimento econômico e social, além da sua importância nutricional; com cerca de 150 milhões de hectares cultivados anualmente, corresponde a 29% dos grãos utilizados na alimentação humana (SOSBAL, 2012).

Da produção mundial, mais de 75% provém do sistema de cultivo irrigado (EMBRAPA, 2015), que propicia umidade necessária para o desenvolvimento de uma ampla variedade de microrganismos ativos (FRITZ *et al.*, 2010). Embora os microrganismos sejam importantes para a cultura, pois participam no controle de pragas e doenças, podem ser transferidos para os grãos e contaminá-los ainda do campo, permanecendo e se desenvolvendo quando esses não são submetidos a adequados processos de pós-colheita (SCAVINO *et al.*, 2010; ELIAS *et al.*, 2007).

A quantidade de aeróbios mesófilos totais incidente em alimentos reflete inversamente a qualidade sanitária do produto, bem como as condições de manuseio, armazenamento e estocagem (DOORES *et al.*, 2013; SILVA, 2000). O desenvolvimento fúngico, comum em cereais, é responsável por perdas na produtividade, redução do valor nutricional e danos à saúde pública (BARBIERI e CARVALHO, 2001). Alguns fungos, como bolores dos gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp., são produtores de micotoxinas, embora a presença dos mesmos não necessariamente constitui a de micotoxinas, apenas a possibilidade de contaminação (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A legislação brasileira, através da Resolução da Diretoria Colegiada-RDC n°12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não estabelece limites máximos para a presença de aeróbios mesófilos e fungos no arroz (BRASIL, 2001); mas os limites para micotoxinas em alimentos é estabelecido na Resolução n°7 da ANVISA (BRASIL, 2011).

Considerando a relevância sanitária no monitoramento destes parâmetros microbiológicos, foram avaliados bimestralmente a incidência de bactérias mesófilas aeróbias totais e de bolores e leveduras em dez marcas de arroz branco polido comercializadas no estado do Rio Grande do Sul, durante o período de seis meses.]

MATERIAL E MÉTODOS

[Amostras: dez amostras de arroz do grupo beneficiado, subgrupo polido, classe longo fino e tipo 1, foram adquiridas em supermercados das cidades de Itaqui/RS e Santa Maria/RS, nos meses de janeiro, março e maio de 2014, conforme informações descritas na Tabela 1. As amostras foram mantidas em suas embalagens originais, acondicionadas em caixas plásticas e temperatura ambiente até o momento das análises microbiológicas.

Diluições seriadas: para a diluição 10^{-1} utilizou-se 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada a 0,1%; após 25 minutos, realizaram-se diluições subsequentes até 10^{-3} (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem total de aeróbios mesófilos: realizou-se inoculação por plaqueamento em profundidade adicionando 1 mL de cada diluição seriada em placas descartáveis estéreis

¹ Doutor, Universidade Federal do Pampa – campus Itaqui, Rua Luiz Joaquim de Sá Britto s/n, Bairro Promorar, Itaqui/RS, Brasil, 97650-000. E-mail: efatore@yahoo.com.br.

² Graduando do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa – campus Itaqui.

³ Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa – campus Itaqui.

com etileno e acrescidas de Ágar Padrão para Contagem (PCA), conforme metodologia da American Public Health Association (APHA) e descrito pela Instrução normativa nº62 (BRASIL, 2003). A contagem das colônias foi expressa em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC.g⁻¹).

Contagem total de bolores e leveduras: realizou-se inoculação por plaqueamento em superfície com as diluições em placas contendo Ágar Base Dicloran Glicerol 18, preparado conforme recomendação do fabricante. Utilizou-se alça de Drigalski para espalhamento, mergulhada em etanol 70% e flambada entre as diluições, da mais diluída para mais concentrada, conforme recomendações da APHA e descrito pela Instrução normativa nº62 (BRASIL, 2003). Os resultados também foram expressos em UFC.g⁻¹.

Tabela 1. Informações das amostras de arroz avaliadas.

Amostra	Proveniência	Janeiro/2014	Março/2014	Maio/2014
		Lotes		
1	Pelotas/RS	06SET14 01A	28DEZ14 01A	14FEV15 03A
2	Itaqui/RS	091014	120115	080315
3	São Borja/RS	MT T1 18JBC	MT T1 00AFD	MT T1 11JFD
4	Capão do Leão/RS	CL 48201316	CL 09201414	CL 12201411
5	Santa Maria/RS	11 13	02 14	04 14
6	Camaquã/RS	024H3CAM4	021L3CAM4	024A4CAM4
7	Alegrete/RS	48 M08 M	09 M08 M	04 M09
8	Camaquã e Bagé/RS	5L4313 SLC	D1L/0814 CCB	N1L/1414 CCB
9	Nova Santa Rita/RS	51113	50214	30514
10	Itaqui/RS	36	36	36

Análise estatística: as amostras foram analisadas em triplicata, os resultados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância no programa Statistica versão 8.0 (STATSOFT, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas informações descritas para as amostras na Tabela 1, pode-se observar que a amostra 10 apresenta o mesmo lote (36) nos três meses avaliados. Neste caso, embora as amostras apresentassem o mesmo lote, as embalagens descreviam diferentes datas de fabricação. Outro detalhe é a proveniência da amostra 8, que informa diferentes cidades; no entanto, a embalagem dos produtos descrevia que as três letras do lote indicam o local de produção em Bagé/RS (CCB) ou Camaquã/RS (SLC).

Tabela 2. Bactérias aeróbias mesófilas nas amostras de arroz.

Amostra	Janeiro/2014	Março/2014	Maio/2014
	UFC.g ⁻¹		
1	2,6.10 ² ± 40,41 ^{AB a}	3,2.10 ² ± 55,68 ^{BCD a}	2,7.10 ² ± 51,32 ^{CD a}
2	1,7.10 ² ± 36,05 ^{BC a}	4,0.10 ² ± 206,64 ^{BC a}	2,7.10 ² ± 70,00 ^{CD a}
3	3,0.10 ² ± 83,27 ^{AB b}	7,2.10 ² ± 126,62 ^{A a}	3,7.10 ² ± 60,00 ^{BC b}
4	1,7.10 ² ± 26,46 ^{BC b}	5,7.10 ² ± 66,58 ^{AB a}	4,9.10 ² ± 36,05 ^{AB a}
5	1,9.10 ² ± 52,91 ^{BC b}	4,0.10 ² ± 32,14 ^{BC a}	3,5.10 ² ± 76,38 ^{BC a}
6	1,7.10 ² ± 41,63 ^{BC a}	1,9.10 ² ± 45,09 ^{CD a}	1,7.10 ² ± 20,82 ^{D a}
7	2,4.10 ² ± 55,08 ^{B a}	4,6.10 ² ± 151,77 ^{ABC a}	2,2.10 ² ± 15,27 ^{CD a}
8	8,7.10 ¹ ± 30,55 ^{C a}	7,3.10 ¹ ± 40,41 ^{D a}	1,4.10 ² ± 45,83 ^{D a}
9	4,0.10 ² ± 70,24 ^{A a}	4,7.10 ² ± 96,44 ^{ABC a}	5,8.10 ² ± 60,00 ^{A a}
10	5,3.10 ¹ ± 5,77 ^{C c}	2,7.10 ² ± 45,83 ^{BCD a}	1,7.10 ² ± 40,41 ^{D b}

Valores numéricos expressos como média ± desvio padrão seguidos por letras que indicam diferença estatística significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey; letras maiúsculas correspondem às diferenças estatísticas entre as médias das colunas e minúsculas das linhas.

Os resultados da Tabela 2 demonstram que todas as amostras tiveram incidência de bactérias aeróbias mesófilas. As amostras 8 e 9 destacaram-se por apresentar menor e

maior contagem de mesófilos aeróbios entre as amostras, respectivamente; sem diferirem significativamente ($P>0,05$) entre suas contagens mensais. Já as amostras 3, 4, 5 e 10 diferiram significativamente entre os meses ($P<0,05$), com maiores contagens no mês de março.

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas pode indicar falhas no processamento, mas não a segurança alimentar, já que não diferencia bactérias presentes. Mesmo sem tolerância máxima estabelecida no Brasil, todas as amostras avaliadas apresentaram contagens inferiores para limites descritos pela APHA, de $1,4 \cdot 10^3$ UFC.g⁻¹ (DOORES *et al.*, 2013) e pela FAO e OMS, de $1,0 \cdot 10^4$ UFC.g⁻¹ (para produtos desidratados, consumidos após adição de líquido e emprego de calor) (SILVA *et al.*, 2010).

O ensaio microbiológico utilizado para avaliação dos fungos permite realizar a contagem de bolores e leveduras, porém não se observou o crescimento de colônias com características morfológicas de leveduras. Desta forma, os resultados descritos na Tabela 3 demonstram a incidência de bolores nas amostras.

Tabela 3. Bolores nas amostras de arroz.

Amostra	Janeiro 2014	Março 2014	Maio 2014
	UFC.g ⁻¹		
1	$1,7 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^B	ND	$6,6 \cdot 10^1 \pm 57,74$ ^A
2	ND	ND	ND
3	ND	$1,3 \cdot 10^3 \pm 577,35$ ^A	$2,7 \cdot 10^2 \pm 152,75$ ^A
4	$1,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^B	ND	ND
5	$2,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^B	ND	$1,0 \cdot 10^2 \pm 100,00$ ^A
6	$1,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^B	ND	$3,3 \cdot 10^1 \pm 57,74$ ^A
7	$4,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^{Ba}	$1,7 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^{Bb}	$2,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^{Ab}
8	$4,7 \cdot 10^2 \pm 152,75$ ^B	ND	ND
9	$1,1 \cdot 10^3 \pm 529,15$ ^{Aa}	$1,7 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^{Bb}	$1,3 \cdot 10^2 \pm 57,74$ ^{Ab}
10	$3,3 \cdot 10^2 \pm 115,47$ ^{Ba}	$2,0 \cdot 10^2 \pm 0,00$ ^{Ba}	$2,0 \cdot 10^2 \pm 100,00$ ^{Aa}

Valores numéricos expressos como média \pm desvio padrão seguidos por letras que indicam diferença estatística significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey; letras maiúsculas correspondem às diferenças estatísticas entre as médias das colunas e minúsculas das linhas. ND: não detectado (limite de detecção = 100 UFC.g⁻¹).

Das amostras analisadas no mês janeiro, em oito foram constatados bolores, com maior incidência na amostra 9, enquanto as demais não diferiram estatisticamente ($P>0,05$). No mês de março, apenas quatro amostras apresentaram bolores, com maior incidência na amostra 3 e sem diferir significativamente ($P>0,05$) das amostras 7, 8 e 9. Já em maio, em oito amostras verificaram-se bolores, mas sem diferirem entre si ($P>0,05$). Na comparação entre os meses, destacou-se a amostra 2, com contagens de bolores abaixo do limite de detecção (100 UFC.g⁻¹) nos três meses analisados. Já nas amostras 7, 9 e 10 observou-se o contrário, ou seja, incidência de bolores nos três meses. Nas amostras 7 e 9 as contagens foram significativamente maiores no mês de janeiro ($P<0,05$), enquanto que na 10 as contagens não diferiram entre os meses ($P>0,05$) (Tabela 3).

O Brasil, em especial o Rio Grande do Sul, é um país exportador de arroz e precisa observar legislações internacionais no comércio do produto acabado. Na Venezuela, a Norma Venezuelana limita a presença de bolores no arroz branco em até 10^3 UFC.g⁻¹ (VENEZUELA, 1986). Já no Peru, a tolerância para bolores em cereais desidratados é maior, com limite de 10^5 UFC.g⁻¹ estabelecido pela Resolução Ministerial Peruana n° 591-2008/MINSA (PERU, 2008). Com base nas recomendações dos países vizinhos, as amostras 3 e 9 coletadas nos meses de março e janeiro, respectivamente, não estariam adequadas à Norma Venezuelana; mas todas as amostras estariam adequadas à legislação peruana (Tabela 3). |

CONCLUSÃO

As análises microbiológicas realizadas, embora não tenham limites estabelecidos na legislação brasileira para o arroz, são de interesse sanitário e demonstram que as amostras cumprem limites de tolerância. Mesmo assim, faz-se necessário um maior monitoramento no arroz, visando o cumprimento de padrões sanitários do produto comercializado.]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v.7, n.2, p. 79-83, mai./ago. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45-53.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14-51.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 7, de 18 de fevereiro de 2011. **Dispõe sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 mar. 2011. Seção 1, p. 66-67.
- DOORES, S. *et al.* (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2013.
- ELIAS, M. C. **Pós-colheita de arroz: Secagem, armazenamento e qualidade**. Pelotas, RS: Editora e Gráfica Universitária, 2007.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>>. Acesso em: maio de 2015.
- FRITZ, L. L. *et al.* Frequência de *Bacillus* spp. em solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado em Cachoeirinha, RS. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 69, n. 2, p. 405-412, 2010.
- GUIMARÃES, Í. C. O. *et al.* Identificação de *Aspergillus* spp: toxigênico em arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, SP, v. 30, supl. 1, p. 60-62, mai. 2010.
- PERU. Resolução Ministerial Peruana n° 591-2008/MINSA. **Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano**. 2008. Disponível em: <<http://www.itp.gob.pe/normatividad/demos/doc/Normas%20Nacionales/Resoluciones%20Ministeriales/59.pdf>>. Acesso em junho de 2014.
- SCAVINO, A. F. *et al.* Bacterial community analysis of the water surface layer from a rice-planted and an unplanted flooded field. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, SP, v. 41, n. 2, p. 411-419, jun. 2010.
- SILVA, J. A. **Tópicos de tecnologia de alimentos**. São Paulo, SP: Editora Varela, 2000.
- SILVA, N. *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo, SP: Editora Varela, 2010.
- STATSOFT. **Statistica**: data analysis software system. Versão 8.0. Tulsa: StatSoft Inc, 2007.
- SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Itajaí, SC: Epagri, 2012.
- VENEZUELA. COVENIN 2384-86. **Arroz Blanco para uso industrial**. Comisión Venezolana de Normas Industriales. 1986. Disponível em: <<http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2384-86.pdf>>. Acesso em junho de 2014.]