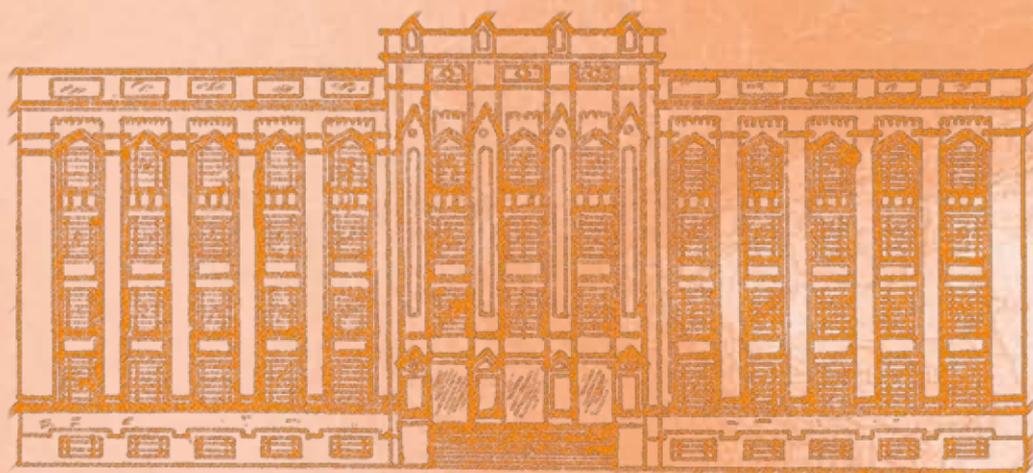


REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855
RIALA6

70 ANOS 1941
2011



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

Volume 70 número 3, 2011



Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Controle de Doenças
Instituto Adolfo Lutz

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Volume 70 número 3, 2011
Julho - Setembro 2011

Publicação trimestral/Quarterly publication
Solicita-se permuta/Exchange desired

Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz

Alberto José da Silva Duarte

Editor Chefe

Adriana Bugno

Editor Adjunto

Luis Fernando de Macedo Brígido

Editores Assistentes

Christiane Asturiano Ristori Costa

Jacqueline Tanury Macruz Peresi

Lucile Tiemi Abe Matsumoto

Márcia Liane Buzzo

Maria Helena Iha

Maria Helena Martini

Miriam Solange Fernandes Caruso

Neuza Kasumi Shirata

Raquel dos Anjos Fazioli

Núcleo de Acervo

Rocely Aparecida Bueno Moita

Conselho Editorial / Editorial Board

Adele Caterino-de-Araújo, São Paulo, Brasil.
Alexandre Januário da Silva, Atlanta, EUA.
Antonio Ruffino Netto, Ribeirão Preto, Brasil.
Bernadette Dora G. de Melo Franco, São Paulo, Brasil.
Delia Rodrigues Amaya, Campinas, Brasil.
Elizabeth de Souza Nascimento, São Paulo, Brasil.
Elizabeth Castañeda, Bogotá, Colômbia.
Eliseu Alves Waldman, São Paulo, Brasil.
Fernando C. Schmitt, Porto, Portugal.
Gordon S. Shephard, Cape Town, África do Sul.
Guilherme Prado, Belo Horizonte, Brasil.
Hans P. van Egmond, Bilthoven, Holanda.
Heitor Franco de Andrade Junior, São Paulo, Brasil.
John Gilbert, York, UK.
Juan Carlos Palomino, Antuérpia, Bélgica.
Lúgia Bicudo de Almeida Muradian, São Paulo, Brasil.

Luz Elena Cano Restreppo, Medellín, Colômbia.
Maria José Mendes Gianini, Araraquara, Brasil.
Marluce Bibbo, Pennsylvania, EUA.
Martin Emilio Munk, Copenhagen, Dinamarca.
Myrna Sabino, São Paulo, Brasil.
Paul W. Flinn, Kansas, EUA.
Pedro Paulo Chieffi, São Paulo, Brasil.
Regina Maura Bueno Franco, Campinas, Brasil.
Susana Córdoba, Buenos Aires, Argentina.
Terezinha de Jesus Andreoli Pinto, São Paulo, Brasil.
Thales de Brito, São Paulo, Brasil.
Vanessa Yardley, London, UK.
Venâncio Avancini Ferreira Alves, São Paulo, Brasil.
Vera Akiko Maihara, São Paulo, Brasil.
Vera Lucia Garcia Calich, São Paulo, Brasil.

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ
(Secretaria de Estado da Saúde)
São Paulo, SP – Brasil

1941
2011, 70(3)

ISSN 0073-9855 CDD₁₈ 614.07205

RIALA 6
ISSN 1983-3814 versão *on line*
ISSN 2176-3844 CD-ROM

(*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos.

Normas para catalogação de publicações seriadas especializadas, São Paulo, Ed. Polígono, 1.072.

Os artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz são indexados por: Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases; Analytical Abstracts; Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootécnica; Biological Abstracts; Chemical Abstracts; Food Science and Technology Abstracts; Index Medicus Latino-americano; LILACS, SP: Saúde Pública; Microbiology Abstracts; Sumários Correntes Brasileiros; Toxicology Abstracts; Tropical Diseases Bulletin; e Virology Abstracts.

Acesso on line / on line access. Texto integral / full text.

<http://revista.ial.sp.gov.br>

Portal de Revistas Saúde SP

<http://periodicos.ses.sp.bvs.br>

Cartas ao editor:

Endereço / Address

Núcleo de Acervo

Av. Dr. Arnaldo, 355, 01246-902 São Paulo/ SP – Brasil

Tel/ Fax. + 55 11 3068-2869

E-mail: rial@saude.sp.gov.br

Apoio:



■ ARTIGO DE REVISÃO/ REVIEW ARTICLE

- 1371 Revista do Instituto Adolfo Lutz. Setenta anos dedicados à comunicação científica em Saúde Pública**
Revista do Instituto Adolfo Lutz. Seventy years dedicated to scientific communication in Public Health
Adele CATERINO-DE-ARAUJO, Karoline Rodrigues CAMPOS 251-257
- 1372 Efeito da utilização de substitutos de gordura em queijos *light***
Effect of the fat substitutes used in light cheeses production
IRIS MARTINS DIAMANTINO, ANA LÚCIA BARRETTO PENNA 258-267
- ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE
- 1373 Bolo *light*, *diet* e com alto teor de fibras: elaboração do produto utilizando polidextrose e inulina**
Preparing a light, diet and high fiber contents-containing cake formulation adding polydextrose and inulin
Maria Carliana MOTA, Silvia Silveira CLARETO, Eveline Monteiro Cordeiro DE AZEREDO,
Dione Moreira DE ALMEIDA, Ana Lúcia Leite MORAES 268-275
- 1374 Elevação dos níveis de amido resistente: efeito sobre a glicemia e na aceitabilidade do alimento**
Effect of elevated contents of resistant starch: on the blood glucose and on the food acceptability
Cristiana BASSO, Leila Picolli da SILVA, Ana Betine Beutinger BENDER, Fernanda da SILVEIRA 276-282
- 1375 Aceitação e intenção de consumo de pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio**
Consumer acceptance and purchase intention of bread enriched with milk serum and calcium carbonate
Cristiane Santos Sânzio GURGEL, Janeeyre Ferreira MACIEL, Larissa Raphaela Gonçalves de FARIAS,
Maria José de Carvalho COSTA, Ricardo Targino MOREIRA 283-289
- 1376 Farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): produção e caracterização química**
Production and chemical characterization of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour
Fabiana Carvalho RODRIGUES, Adriano Simões Barbosa CASTRO,
Hércia Stampini Duarte MARTINO, Célia Lúcia de Lucas Fortes FERREIRA 290-295
- 1377 Substituição parcial de nitrito por antioxidantes e seu efeito sobre a cor de linguiça defumada**
Partial replacement of nitrite by antioxidants and its effect on smoked sausage color
Silvia BENEDETTI, André BRUNGERA, Rosiane RIZZATTI, Elci Lotar DICKEL, Telma Elita BERTOLIN 296-301
- 1378 Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca**
Quality and acceptance of goat milk coalho cheese with inclusion of cow milk
Bárbara Melo SANTOS, Maria Elieidy Gomes de OLIVEIRA, Yasmim Régis Formiga de SOUSA,
Ana Raquel Mendes Ferreira Monteiro MADUREIRA, Maria Manuela Estevez PINTADO,
Ana Maria Pereira GOMES, Evandro Leite de SOUZA, Rita de Cássia Ramos do Egypto QUEIROGA 302-310

1379	Determination of soy proteins in calabresa sausage by densitometry on gel electrophoresis Determinação de proteínas de soja em linguiça calabresa por densitometria em gel de eletroforese Igor Moura de PAIVA, Marco Antônio Moreira FURTADO	311-315
1380	Efeito do líquido da casca de castanha de caju sobre as características físico-químicas e sensoriais de castanhas fritas Effect of the liquid from cashew nut skin on physicochemical and sensory characteristics of the fried nuts Jailane de Souza AQUINO, Patrícia Elaine Bellini Alencar da SILVA, Robson de Jesus MASCARENHAS, Cinthya Vivianne de Souza ROCHA, Olimpio José dos SANTOS, Hercília Maria Lins Rolim SANTOS.....	316-323
1381	Efeito do consumo de hambúrguer de carne de avestruz e hambúrguer bovino comercial em ratos jovens, pela análise de teores de colesterol total e frações lipoprotéicas Assessing the effect in young rats fed with ostrich meat hamburger and commercial beef hamburger, by analyzing the total cholesterol and lipoprotein fractions contents João Andrade da SILVA, Elciane da Silva NÓBREGA, Maria José de Carvalho COSTA, Mayara Queiroga BARBOSA, Edvaldo Vasconcelos de CARVALHO FILHO	324-331
1382	Estabilidade de doces em massa de banana prata Study on the stability of banana preserves Glêndara Aparecida de Souza MARTINS, Fabiana Queiroz FERRUA, Karina Scatolino MESQUITA, Soraia Vilela BORGES, João de Deus Souza CARNEIRO	332-340
1383	Avaliação da sensibilidade do método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico para determinação da atividade da fosfatase alcalina residual em manteiga Evaluation of the sensitivity of visual and spectrophotometric Scharer rapid test for determining residual alkaline phosphatase activity in butter Cláudia Aparecida de Oliveira e SILVA, Sebastião Cesar Cardoso BRANDÃO, Antônio Fernandes de CARVALHO, Juraci Alves de OLIVEIRA	341-348
1384	Teores de iodo em sal fortificado para o consumo humano Iodine contents in fortified salt for human consumption Sabrina Maria dos SANTOS, Elaine Marra de Azevedo MAZON, Valéria Pereira da Silva FREITAS.....	349-353
1385	O comércio e a segurança do acarajé e complementos: um estudo com vendedores treinados em boas práticas Trading and safety of <i>acarajé</i> and its complements: a study with sellers trained on good practices Henrique Reis SERENO, Ryzia de Cassia Vieira CARDOSO, Alaíse Gil GUIMARÃES.....	354-361
1386	Avaliação de parâmetros microbiológicos de potabilidade em amostras de água provenientes de escolas públicas Microbiological analyses for assessing the potability of water samples from public schools Joice Trindade SILVEIRA, Roberta CAPALONGA, Ana Beatriz Almeida de OLIVEIRA, Marisa Ribeiro de Itapema CARDOSO.....	362-367
1387	Influência do erro de micropipetas na dosagem espectrofotométrica do ensaio de endotoxina bacteriana (LAL cromogênico) aplicável a produtos sujeitos à Vigilância Sanitária Effect of micropipette inaccuracy on performance of spectrophotometric assay for bacteria endotoxin dosage (chromogenic LAL) employed in products subjected to sanitary surveillance Ana Paula Mello LEMGRUBER, Octavio Augusto França PRESGRAVE, Rosaura de Farias PRESGRAVE, Eloisa Nunes ALVES, Ronald Santos SILVA, Izabela GIMENES, João Carlos Borges Rolim de FREITAS, Cristiane CALDEIRA	368-372

1388	Avaliação de um Sistema de Banco de Dados para Coleção de Fungos de Referência Evaluation of a Database System for Reference Fungi Collection Miguel Madi FIALHO, Marília Martins NISHIKAWA, Paola CARDARELLI-LEITE	373-382
1389	Comparação de técnicas imunológicas <i>in-house</i> empregadas na rotina diagnóstica de cisticercose humana Comparative analysis on in-house immunologic assays used for performing the routine laboratorial diagnosis of human cysticercosis Sílvia Yukari TOGORO, Edna Malone de SOUZA, Maria Salete ROSA, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO, Neuza Satomi SATO	383-390
■ COMUNICAÇÃO BREVE/BRIEF COMMUNICATION		
1390	Qualidade higiênico-sanitária da ração utilizada em piscicultura Sanitary and hygienic quality of fish feed used in aquaculture Francisco das Chagas CARDOSO FILHO, Verbena Carvalho ALVES, Cristiane Evangelista LIMA, Cecília Melo Macedo GUIMARÃES, Maria Marlúcia Gomes PEREIRA, Maria Christina Sanches MURATORI.....	391-394
1391	Avaliação da qualidade da água de abastecimento no período 2007-2009 Evaluation of the quality of water supplied in the period of 2007-2009 Maria Anita SCORSAFAVA, Arlete de SOUZA, Harumi SAKUMA, Monica STOFER, Claudete Azevedo NUNES, Thaís Valéria MILANEZ.....	395-403
1392	Leite cru de regiões leiteiras: perspectivas de atendimento dos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51/2002 Raw milk from dairy regions: the perspectives to comply with the requirements established by the Normative Instruction nº 51/2002 Maria Cristina Delgado da SILVA, Juliana de Oliveira MORAES, Cantídio Francisco de Lima NETO	404-407
■ NOTA CIENTÍFICA/ SCIENTIFIC NOTE		
1393	Avaliação de hexaclorociclohexano em águas nas circunvizinhanças de um passivo ambiental Evaluation of liability from environmental contamination with hexachlorocyclohexane in water in the surroundings areas Tereza Atsuko KUSSUMI, Vera Regina Rossi LEMES, Viviane Emi NAKANO, Sonia Bio ROCHA, Iracema de Albuquerque KIMURA, Irani Cristiane da SILVA	408-411
1394	Teores de minerais de paçoquinhas elaboradas com matérias-primas regionais alternativas Mineral contents of tradicional candy <i>paçoquinha</i> prepared with alternative regional raw materials Patrícia Elaine Alencar BELLINI-SILVA, Marcelo Antônio MORGANO, Marcos Antonio da Mota ARAÚJO, Regilda Saraíva dos Reis MOREIRA-ARAUJO.....	412-416
1395	Avaliação do Programa Nacional de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias Assessment of National Neonatal Screening Program for Hemoglobinopathies Thaiana da Costa LOPES, Leiliane Delgado Mahmud SARMENTO, Rosilene Cutrim FRÓZ, Heliana Trindade MARINHO, Elda Pereira NORONHA, Raimundo Antônio Gomes OLIVEIRA	417-421
■ RESUMOS DE TESES E DISSERTAÇÕES		
	Detecção de parasitos veiculados pela água e solo em aldeias Guarani dos municípios de Angra dos Reis e Paraty do Estado do Rio de Janeiro, Brasil Detection of parasites transmitted by water and soil in Guarani villages of the cities of Angra dos Reis and Paraty in the State of Rio de Janeiro, Brazil Barbosa, AS	423

Molecular epidemiology of rubella virus isolated in Sao Paulo during 1997-2004	
Epidemiologia molecular do virus da rubéola isolados no Estado de São Paulo no período de 1997 a 2004	
Figueiredo, CA	424
Produção de nisina em leite desnatado diluído por <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454 em biorreator	
Nisin production in diluted skimmed milk utilizing <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454 in bioreactor	
Arauz, LJ	425
■ ERRATA	426
■ INSTRUÇÕES AOS AUTORES	427-432

Revista do Instituto Adolfo Lutz. Setenta anos dedicados à comunicação científica em Saúde Pública

Revista do Instituto Adolfo Lutz. Seventy years dedicated to scientific communication in Public Health

RIALA6/1371

Adele CATERINO-DE-ARAÚJO*, Karoline Rodrigues CAMPOS¹

*Endereço para correspondência: Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 355, 11º andar, CEP: 01246-902, Cerqueira César, São Paulo, SP, Brasil, tel/fax: (11) 3068-2898, e-mail: caterino@ial.sp.gov.br

¹ Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq no Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz

Recebido: 28.07.2011 - Aceito para publicação: 16.09.2011

RESUMO

No septuagésimo aniversário da Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), foi realizado estudo retrospectivo enfatizando-se o número de artigos publicados nas duas principais áreas de sua abrangência (Biologia Médica-Patologia – BM e Bromatologia e Química – BQ) e os momentos importantes relacionados à Indexação, Corpo Editorial, Autorias, entre outros. No período compreendido entre julho de 1941 e dezembro de 2010 foram publicados 1.256 artigos científicos e 82 resumos de teses. Foram 69 volumes, 96 fascículos e 10 suplementos. A RIAL teve tiragens anuais, semestrais, quadrimestrais e em 2010 passou a trimestral. Foram publicados 715 trabalhos relacionados à BQ e 541 à BM. Contudo, esses valores podem ter sofrido um viés, pois muitos artigos se enquadram nas duas categorias. Até meados de 1980, curiosamente, houve mais artigos publicados da BM e, a partir de 1986, ocorreu a inversão. Em 2000, a RIAL passou a ser disponível no formato eletrônico. Em 2010, atingiu índice superior a 80% dos artigos da BQ, sendo 90% de autoria externa e originária de 22 Estados da federação. Considerações e especulações a respeito desses dados mostram a singularidade e a importância da RIAL como veículo de comunicação em Saúde Pública e hoje principalmente na área de Ciência de Alimentos.

Palavras-chave. Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), indexadores, Corpo Editorial, Biologia Médica (BM), Bromatologia e Química (BQ), Ciência de Alimentos.

ABSTRACT

In the 70th anniversary celebration of the Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), a retrospective study was carried out emphasizing the number of articles published on two main areas of science fields (Medical Biology-Pathology – MB and Bromatology-Chemistry – BC) and the relevant contexts related to indexing, Editorial Board, authorship, among others. During the period from July 1941 to December 2010, 1,256 scientific articles and 82 MSc/PhD theses' abstracts were published. There were 69 volumes, 96 issues and 10 supplements. RIAL was published annually, semiannually, three annual and in 2010 became quarterly. Seven hundred and fifteen papers related to BC and 541 to MB were published; however, these values may have a bias, by reason of many articles fall under the two categories. Interestingly, by mid-1980, there were mostly MB articles published and from 1986, a reversal occurred. In 2000, the RIAL became available in electronic format. In 2010 more than 80% of papers were from BC, being 90% of external authorship originating from 22 federal states. Considerations and speculations about these data show the uniqueness and relevance of RIAL as a communication vehicle in Public Health and nowadays mainly in the area of Food Science.

Keywords. Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), index, Editorial Board, Medical Biology (MB), Bromatology and Chemistry (BC), Food Science.

INTRODUÇÃO

No ano em que se comemora 70 anos da Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL, ISSN 0073-9855 versão impressa), não poderíamos deixar de prestar nossa homenagem a tão importante meio de comunicação científica em Saúde Pública que teve sua primeira edição publicada em julho de 1941¹. Nela, o então Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz (IAL), Dr. José Pedro Carvalho de Lima, em seu editorial descreveu como se originou o IAL e sua missão. Criado pelo Decreto-Lei nº 11.522, de 26 de outubro de 1940, fruto da fusão do antigo Instituto Bacteriológico (dirigido por Adolfo Lutz de 1893 a 1908) e do Laboratório Bromatológico do Estado, ambos com 48 anos de existência, o IAL foi edificado estrategicamente ao lado do Hospital de Isolamento (atualmente Instituto de Infectologia Emílio Ribas), com o objetivo de estudar agravos de interesse em Saúde Pública nas áreas de sua especialidade: Biologia Médica - Patologia (BM) e Bromatologia e Química (BQ).

Da mesma forma que Adolfo Lutz demonstrou visão de futuro ao escrever:

“Quando os métodos antigos se mostram deficientes e inapropriados, uma metodologia nova se impõe”.

J. P. Carvalho Lima, diretor do IAL fez o mesmo ao criar a RIAL...

“Técnicos que ao lado dos serviços de rotina não empreendem investigações com eles relacionados são candidatos certos à fossilização.”

...e convocou:

“Biologistas e Químicos do Instituto Adolfo Lutz teem, portanto, mais um dever a cumprir - Pesquisar.”

*“Para divulgar essas pesquisas apresentamos hoje a Revista do Instituto Adolfo Lutz que, preenchendo uma enorme lacuna, satisfaz também a uma das maiores aspirações dos discípulos de Lutz. Será finalmente, o testemunho de que o espírito do grande biólogo ainda dirige a sua escola.”*²

Ao folhearmos a coleção da RIAL verificamos que até a década de 1990, fica evidente o caráter endógeno dos autores-colaboradores dos artigos, embora desde sua criação tenha havido co-autoria externa de cientistas de renome nacional e internacional, como por exemplo, Carlos da Silva Lacaz, Vicente Amato Neto, entre tantos outros. No entanto, essa endogenia ocorreu principalmente devido a sua missão inicial. A descrição de métodos, de meios de cultura, isolamento,

identificação e caracterização de micro-organismos e plantas, foi um marco da RIAL nas primeiras décadas de sua existência. A riqueza de detalhes, as figuras ilustrativas e as fotos de microscopia são pérolas da ciência do Brasil que merecem serem preservadas e cultivadas, para que não desapareçam e sim, para que sirvam de incentivo e exemplo aos jovens pesquisadores, da “casa de Lutz”.

Nos primeiros volumes da RIAL, há de se ressaltar os nomes de Luís de Sales Gomes, João Montenegro, Ettore Rugai, Augusto de Escragnolle Taunay e Marcelo Osvaldo Alves Corrêa, que incontestavelmente contribuíram com artigos importantíssimos na área biomédica. Na BQ, foram pioneiros nas publicações A. França Martins, Bruno Rangel Pestana, Renato Fonseca Ribeiro, Ariosto Büller Souto, Lúcia Aché, entre outros. Já nos primeiros volumes foram publicados artigos sobre Vigilância Sanitária do leite³, fiscalização do tabaco incluído no Código Sanitário⁴, sugerida uma revisão da Farmacopeia Brasileira⁵ e um anteprojeto foi publicado posteriormente, em 1954⁶.

Em comemoração ao Cinquentenário do IAL (1942 - 1992), a RIAL publicou a trajetória dos antigos institutos que formaram o IAL⁷. Em 1944, foi editado o primeiro suplemento da revista que exibiu uma relação das publicações existentes na Biblioteca do Instituto⁸. Dez anos mais tarde, um número especial da RIAL contou a História do Instituto Bacteriológico⁹.

Em 1955, foi comemorado o centenário do nascimento de Adolfo Lutz com descrição de suas características pessoais^{10,11} e de sua trajetória nas mais variadas áreas do conhecimento, quais sejam: Entomologia¹², Protozoologia¹³, Bacteriologia¹⁴, Micologia¹⁵, Helmintologia¹⁶, Zoologia¹⁷, Saúde Pública¹⁸ e Medicina Veterinária¹⁹. Na edição de 1956, foram descritas e apresentadas fotos dos oito laboratórios regionais que compunham o IAL, juntamente com o recém-construído prédio da Virologia e o projeto do prédio anexo de 12 andares, atualmente conhecido como Prédio da Saúde²⁰.

Passados vinte anos da criação da RIAL, foi instituída a primeira Comissão de Redação composta por três membros: Maria Elisa Wohlers de Almeida, Evandro Pimenta de Campos e Silvio Jordão, além do Diretor (Ariosto Büller Souto, jornalista)²¹. No ano seguinte, essa Comissão foi ampliada para cinco membros: Adalberto Petroni, Antonio James Brandi, José Lopes Neto, Silvio Jordão e Walkyria Bertha H. Lara, além da Secretária Débora Domingues Estrella

Rebocho e foram acrescentados os títulos e resumos dos artigos em inglês²².

Em 1973, a RIAL passou a ser indexada em cinco bases de dados: Bibliografia Brasileira de Medicina, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medica e Tropical Diseases Bulletin e foi realizada nova catalogação das fichas da Biblioteca²³. Em 1978, a Comissão de Redação passou a ter oito integrantes²⁴. Entre 1979 e 1981, a RIAL foi catalogada em mais cinco bases de dados: Analytical Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-Americano, Virological Abstracts e Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia²⁵. No ano de 1981, passou a contar oficialmente com Redator Chefe (Débora D. E. Rebocho) e Secretária (Mercedes Della Fuente)²⁵. As indexações se seguiram, com acréscimo do Microbiology Abstracts e Sumários Correntes Brasileiros em 1986 e, AGRINDEX, LILACS/SP Saúde Pública e Toxicology Abstracts, em 1987²⁶. Mais recentemente foi indexada no Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases e na

Biblioteca Virtual da Saúde. A relação atual e completa dos indexadores da RIAL está apresentada na Tabela 1.

Pela ampla divulgação da RIAL em bibliotecas nacionais e estrangeiras e pela escassez de veículos de comunicação na área da BQ, a RIAL passou na década de 1990, a receber artigos de autores externos ao IAL²⁷.

Digno de nota a RIAL é distribuída gratuitamente ou por permuta para 324 bibliotecas de universidades públicas e privadas brasileiras, latino-americanas e europeias, assim como para bibliotecas de órgãos públicos nacionais da área de saúde pública.

A Figura 1 apresenta os dados que revelam que durante aproximadamente quatro décadas a RIAL publicou maior número de artigos da BM e, que em 1986, houve uma inversão, com aumento acentuado e gradativo a cada ano de publicações da BQ.

Uma explicação para isso pode ter sido o fato do IAL em 1983, na qualidade de Laboratório de Saúde Pública, ter sido convocado pela Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, a participar do primeiro

Tabela 1.

Nome	Abrangência	Endereço eletrônico
Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases	Internacional	http://www.cabi.org/AbstractDatabases.asp?SubjectArea=&PID=70
Analytical Abstracts	Internacional	http://www.rsc.org/Publishing/CurrentAwareness/AA/AAsearch.asp
Biblioteca Virtual em Saúde	Nacional	http://portal.revistas.bvs.br/index.php?issn=0073-9855&lang=pt
Biological Abstracts	Internacional	http://www.ovid.com/site/catalog/DataBase/24.jsp http://www.fmvz.usp.br/index.php/site/biblioteca/revistas_ eletronicas/r http://dedalus.usp.br:4500/ALEPH/POR/USP/USP/DEDALUS/ FULL/0671945 http://www.cas.org/
Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootécnica	Nacional	http://www.cas.org/
Chemical Abstracts	Internacional	http://www.ovid.com/site/catalog/DataBase/93.js
Food Science and Technology Abstracts	Internacional	http://bmn.sld.cu/secimed/msrc/secimed_idpbs. http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/ iah.xis&base= LILACS&lang=p http://saudepublica.bvs.br/portalrev/adv_search_control. php?server=catserv.bireme.br&path_wxis=/cgi-bin/wxis1660. exe/?IsisScript=&path_cgi_bin=../cgi-bin/catrevistas/&catrevistas_ wxis_script=catrevistas.xis&count=50&cat_name=BVSSP&xsl=xsl/ adv_search_result.xsl&text_country[]=br&lang=pt&comefrom=home
Index Medicus Latino-Americano	Internacional	http://www.asu.edu/lib/resources/db/micrbabs.htm
Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS/SP Saúde Pública)	Nacional	http://www.sumarios.org/
Microbiology Abstracts	Internacional	http://www.asu.edu/lib/resources/db/toxicol.htm
Sumários Correntes Brasileiros	Nacional	http://www.cabi.org/AbstractDatabases.asp?SubjectArea=&PID=82
Toxicology Abstracts	Internacional	http://www.csa.com/factsheets/virology-set-c.php
Tropical Diseases Bulletin	Internacional	
Virology Abstracts	Internacional	

*Programa Estadual de Controle, Prevenção e Diagnóstico da Aids (PEDS – Programa Estadual de Dermatologia Sanitária)*²⁸.

Sob coordenação de Mirthes Ueda, foram realizados estudos visando auxiliar no diagnóstico da infecção-doença e de infecções oportunistas e/ou associadas à aids. Coube à pesquisadora do IAL, Adele Caterino de Araujo, a realização da primeira Dissertação de Mestrado sobre aids no país, sendo avaliada a resposta imune celular nos 110 primeiros casos suspeitos da doença²⁹. Os estudos de toda a BM foram importantes no início da epidemia da aids e muitos deles foram e vêm sendo publicados em inglês e em revistas estrangeiras, pela maior rapidez na publicação e maior impacto da revista (fato que pode ser decorrente da submissão eletrônica dos manuscritos e do acesso on-line). Nas últimas décadas foram lançadas inúmeras revistas e isto pode ter contribuído para a pulverização dos artigos, na área da BM, que seriam encaminhados à RIAL. Além disso, em São Paulo e no Brasil, dispomos de várias revistas indexadas com ótima avaliação da CAPES que publicam artigos da área biomédica, como: Memórias do Instituto Osvaldo Cruz, Revista do Hospital das Clínicas (atualmente Clinics), Revista de Saúde Pública - São Paulo, Cadernos de Saúde Pública - Rio de Janeiro, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Brazilian Journal of Infectious Diseases, entre outras.

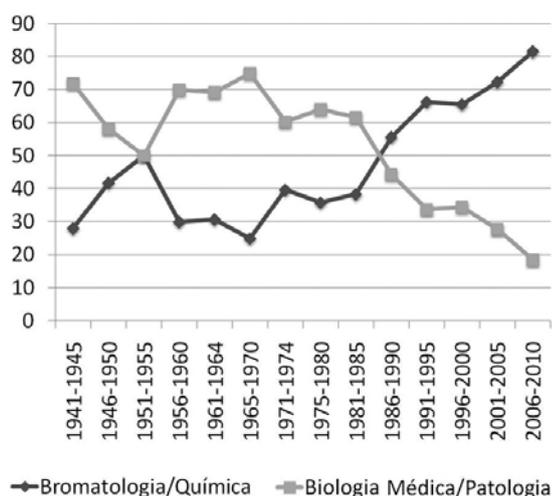


Figura 1. Distribuição do percentual de artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz, por área de especialidade, no período de 1941 a 2010

Na Figura 1, há de se ressaltar a impossibilidade de se efetuar uma análise quinzenal de todas as publicações da RIAL. Houve necessidade de se computarem os dados das publicações de quatro anos (1961-1964 e 1971-1974) e de seis anos (1965-1970 e 1975-1980), pois nos anos de 1965, 1966 e 1967 houve apenas o volume 25/27 e nos anos de 1975 e 1976, o volume 35/36.

Para melhorar a qualidade da RIAL, em 1995 ela passou por uma reformulação e foram criadas seções³⁰. Em 2000, passou a ser editada na versão eletrônica (ISSN 1983-3814) e, em 2009, em CD-ROM (ISSN 2176-3844). Desde 2007, conta com um site próprio, cujo endereço eletrônico é: <http://revista.ial.sp.gov.br/> e <http://www.ial.sp.gov.br/>.

Sua publicação até 2003 foi garantida integralmente pelo próprio IAL e a partir de 2004 têm contado com o auxílio suplementar do CNPq. Esse auxílio tem sido fundamental para garantir a periodicidade, pontualidade da publicação, qualidade do material impresso e a diagramação da revista. O único ano em que não houve edição da Revista foi 1997.

No período compreendido entre 2001 e 2006, foram editados mais oito suplementos da RIAL que se referem aos Anais dos Encontros do Instituto Adolfo Lutz e da Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo³¹⁻³⁸. No ano de 2004 houve apoio para publicações de artigos de revisão na RIAL³⁹. Em 2007, foi criado o Conselho Editorial e ampliado o Corpo de Revisores com a participação de pesquisadores do Brasil e do exterior na tentativa de se adequar às exigências da

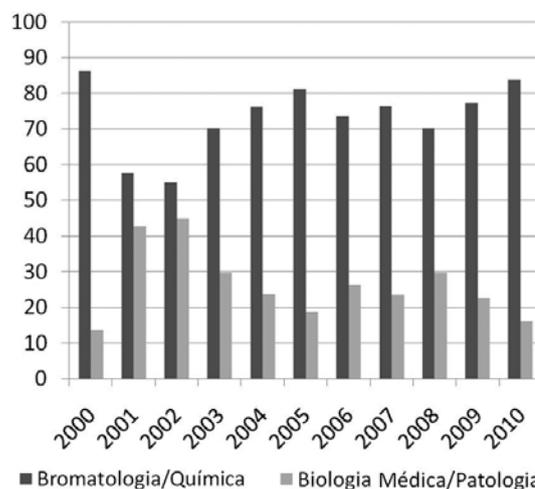


Figura 2. Distribuição anual do percentual de artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz, por área de especialidade, no período de 2000 a 2010

CAPES, para posterior pedido de indexação no SciELO-Brasil⁴⁰. Além disso, houve incentivo à publicação de artigos de autores externos à Instituição e no idioma inglês, uma vez que até o ano de 1999, apenas 12 artigos haviam sido publicados nesse idioma.

Vale ressaltar que o processo de revisão dos manuscritos encaminhados à publicação na RIAL é feito inicialmente pelo seu Corpo Editorial, que em reunião ordinária faz uma análise dos textos e, quando de acordo com o escopo e as normas da revista, indicam dois pareceristas de instituições distintas daquela de origem do artigo, para avaliação. O encaminhamento aos pareceristas é feito às cegas quanto à identidade e vínculo institucional dos autores, e quando há rejeição de um deles, o artigo é enviado a um terceiro para reavaliação.

Uma análise mais detalhada do número de publicações, tipo de artigo (área e subárea), autoria (interna ou externa) e idioma (português e inglês) foi realizada na versão on-line (2000-2010). A Figura 2 apresenta os dados que comprovam o aumento do número de publicações da BQ no período, atingindo-se índice de mais de 80% nos anos de 2000, 2005 e 2010. Quanto à afiliação de seus autores, verificou-se que mais de 90% das publicações são de autores externos à Instituição, com representatividade de 22 dos 27 Estados da Federação. A Figura 3 apresenta a distribuição de artigos no período compreendido entre 2000-2010, com maior percentual de publicações do Estado de São Paulo, seguido dos Estados de Minas Gerais (MG), Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR) e Paraíba (PB).

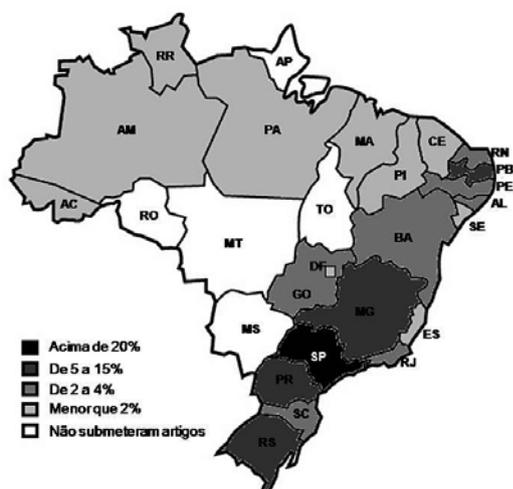


Figura 3. Representação dos Estados da federação com publicações na Revista do Instituto Adolfo Lutz, no período de 2000 a 2010

Quanto às subáreas da BQ, verificou-se que a maioria das publicações se refere à Ciência de Alimentos (75,2%) (Figura 4). O aumento do número de artigos científicos desta especialidade pode ser atribuído como uma consequência da maior atuação dos órgãos de Vigilância Sanitária em função da preocupação das autoridades sanitárias e da população com os surtos de intoxicação alimentar e fraudes; do aumento da produção e consumo de produtos industrializados e da implantação de programas de monitoramento e de controle de qualidade, entre outros.

Nesse contexto, a RIAL foi mais procurada por sua qualidade e também devido à escassez de revistas científicas especializadas nesse campo do conhecimento. A soma de tais fatores pode contribuir para o maior número de artigos publicados nessa área e para a melhor avaliação da RIAL pela CAPES (último triênio) nos campos da Ciência de Alimentos e Medicina Veterinária. Em conjunto, estes dados confirmam a singularidade e multidisciplinaridade da revista.

Em relação às subáreas da BM, confirmou-se o já observado desde a sua criação: que a RIAL continua com maior número de publicações nas áreas de Parasitologia (25,44%) e Bacteriologia (21,93%), como apresentado na Figura 5.

Embora a queda do número de artigos publicados da BM tenha sido observada, a RIAL continua como importante veículo de comunicação científica sobre as doenças consideradas negligenciadas. Nesse sentido, haverá em 2011 uma edição especial da RIAL sobre o

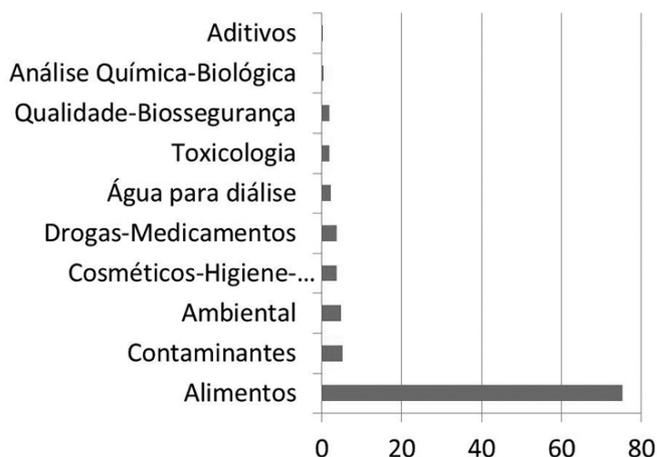


Figura 4. Distribuição do percentual de artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz, por subárea de especialidade na Bromatologia-Química, no período de 2000 a 2010

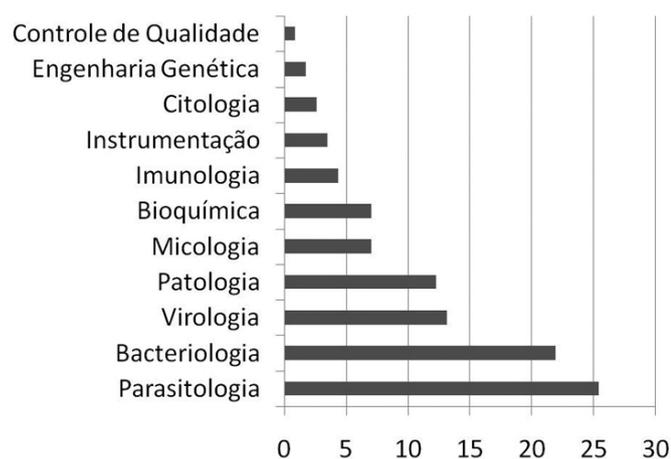


Figura 5. Distribuição do percentual de artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz, por subárea de especialidade na Biologia Médica-Patologia, no período de 2000 a 2010

Centenário da descoberta da Doença de Chagas e da descrição da Leishmaniose Tegumentar Americana.

Quanto ao idioma de publicação, no período de 2000 a 2010 foram publicados 33 artigos e 34 resumos de tese em inglês, representado 12,29% dos artigos.

Completando, uma avaliação crítica dos profissionais da “Casa de Lutz” deve ser feita para que a RIAL continue a fornecer ao Brasil e ao mundo informações importantes em Saúde Pública. Para tanto se faz necessário que algumas metas sejam traçadas e alcançadas como, por exemplo: firmar compromisso com a modernização dos processos de editoração; tornar o periódico ainda mais dinâmico e abrangente; divulgar o conhecimento científico produzido em todo o território nacional; ampliar sua visibilidade internacional, em especial para América Latina e países lusofônicos; publicar todos os artigos na língua inglesa com elevada qualidade; e implantar a avaliação on-line dos artigos, possibilitando a redução do tempo de submissão e publicação do artigo.

Algumas conquistas foram concretizadas e assim, a RIAL já integra o Portal de Revista Saúde SP, cuja coleção está em processo de publicação eletrônica. E mais recentemente a RIAL (volume 69 número 4), foi indexada nas bases de dados da BVS Rede de Informação e Conhecimento. Todos os fascículos publicados em 2010 já estão disponíveis para acesso, inclusive com texto completo⁴¹. Digno de nota, a Biblioteca Virtual em Saúde da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES - SP) disponível em <http://ses.sp.bvs.br/> foi certificada em 18 de outubro de 2010, considerando os

princípios que fundamentam o modelo BVS de prover e permitir o acesso equitativo a informação em saúde. Tal indexação pressupõe um compromisso da RIAL de garantir a qualidade de seu conteúdo, a continuidade e a atualização de suas fontes de informação.

Por fim, a retrospectiva dos 70 anos da RIAL contribui para o resgate da memória das pesquisas em Saúde Pública no Estado de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. Rev Inst Adolfo Lutz. 1941;1(1):202p.
2. Carvalho-Lima JP. Instituto Adolfo Lutz. Rev Inst Adolfo Lutz. 1941;1(1):5-20.
3. França-Martins A. Sobre o padrão bacteriológico do leite em São Paulo. Rev Inst Adolfo Lutz. 1941;1(2):304-56.
4. Fonseca-Ribeiro R, Aché R, Ferraz-de-Menezes-Jr JB. Da conveniência de uma legislação sobre fiscalização do tabaco e de sua inclusão no Código Sanitário. Rev Inst Adolfo Lutz. 1941;2(2):433-4.
5. Guimarães CC, Valente MAC. Carbonato ácido de sódio – carbonato monossódico – bicarbonato de sódio – sal de Vichi. Sugestão para a revisão da farmacopeia brasileira. Rev Inst Adolfo Lutz. 1943;3(2):281-3.
6. Souto AB. Antiprojeto na nova Farmacopéia Brasileira. Rev Inst Adolfo Lutz. 1954;14(1):65-80.
7. Pestana BR. Cinquentenário do Instituto Adolfo Lutz. Rev Inst Adolfo Lutz. 1942;2(2):181-90.
8. Relação das Publicações Periódicas existentes na Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz. Rev Inst Adolfo Lutz. 1944;4(supl 1):133p.
9. História do Instituto Bacteriológico. Rev Inst Adolfo Lutz. 1954;14(supl 1):161p.
10. Souto AB. Adolfo Lutz. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:7-32.
11. Fávero F. Adolfo Lutz, Sábio. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:108-13.
12. Lane J. Adolfo Lutz, entomologista. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:33-8.
13. Corrêa MOA. Adolfo Lutz, protozoologista. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:39-56.
14. Taunay AE. Adolfo Lutz, bacteriologista. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:57-62.
15. Ashcar H. Adolfo Lutz, micologista. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:63-72.
16. Deane MP. Adolfo Lutz, helmintologista. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:73-85.
17. Amaral A. Adolfo Lutz, zoólogo. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:86-99.
18. Piza JT. Adolfo Lutz, sanitaria. Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:100-7.
19. Neiva C. Adolfo Lutz e a Medicina Veterinária Rev Inst Adolfo Lutz. 1955;15:114-9.

20. Calazans SC. Laboratórios de Saúde Pública. Sua criação e desenvolvimento em São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1956;16:85-135.
21. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1961;21:194p.
22. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1962/63;22/23:101p.
23. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1973;33:117p.
24. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1978; 38(1):69p.
25. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1981;41(1):74p.
26. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1987;47(1/2):119p.
27. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1990;50(1/2):323p.
28. Eles ajudaram a construir. Bandeiras PositHIVas - uma revista do Programa Estadual de DST/Aids - SP. ano I. nº 1, nov. 2008. p.10-5.
29. Caterino-de-Araujo A. Avaliação in vitro da resposta imune mediada por células na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Departamento de Microbiologia e Imunologia da Escola Paulista de Medicina; 1985. 136p.
30. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1995;55(1):55p.
31. IV Encontro do Instituto Adolfo Lutz. Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. "Laboratório de Saúde Pública: Sistema de Vigilância, Ética e Cidadania". *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2001;60 (supl 1):184p.
32. I Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2002;61 (supl 1):58p.
33. II Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003;62 (supl 1):70p.
34. V Encontro do Instituto Adolfo Lutz. Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. "Desafios da Implementação da Qualidade no Laboratório de Saúde Pública". *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003;62 (supl 2):198p.
35. III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2004;63 (supl 1):60p.
36. IV Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2005;64 (supl 1):42p.
37. VI Encontro do Instituto Adolfo Lutz. Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. "Saúde Pública, Pesquisa e Responsabilidade Social" *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2005;64 (supl 2):344p.
38. V Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2006;65 (supl 1):35p.
39. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2004;63(1):127p.
40. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007;66(1):88p.
41. Biblioteca Virtual em Saúde – BVS. BVS Certificada. [acesso 2011 Set 02]. Disponível em: [http://cert.bvsalud.org/certification.php?bvs_url=http://ses.sp.bvs.br&lang=pt].

Efeito da utilização de substitutos de gordura em queijos *light*

Effect of the fat substitutes used in light cheeses production

RIALA6/1372

Iris Martins DIAMANTINO, Ana Lúcia Barretto PENNA*

* Endereço para correspondência: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual de São Paulo - UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2.265, São José do Rio Preto, SP, Brasil, CEP: 15054-000, e-mail: analucia@ibilce.unesp.br
Recebido: 02.06.2011 - Aceito para publicação: 10.08.2011

RESUMO

Os queijos são alimentos reconhecidos como fontes de cálcio, fósforo e proteína, importantes na alimentação adequada. Contudo, certos queijos também estão associados à ingestão de alta quantidade de gorduras, que podem causar doenças coronarianas e carcinogênicas. Embora os consumidores estejam conscientes quanto à necessidade de redução da ingestão de gorduras, ainda não estão satisfeitos com a qualidade dos queijos *light* disponíveis no mercado, pois a retirada parcial ou total da gordura promove algumas alterações indesejáveis, principalmente em relação à textura e ao sabor. Com o propósito de oferecer produtos adequados sob o ponto de vista nutricional e agradáveis ao paladar, foram desenvolvidas alternativas de melhoria nas características dos queijos *light*. Uma das alternativas consiste no uso de substitutos de gordura, aditivos que atuam na melhoria das características sensoriais e funcionais dos queijos com reduzido teor de gordura. Esses substitutos de gordura podem ser compostos de proteínas, carboidratos e lipídios, ou de sua combinação, que auxiliam principalmente na retenção de umidade, e melhoram as características de queijos com reduzido teor de gordura. Nesse contexto, esta revisão tem como objetivo demonstrar as inovações e tendências do uso de substitutos de gordura para a produção de queijos *light*.

Palavras-chave. queijos com teor reduzido de gordura, imitadores de gordura, alimentos de baixas calorias.

ABSTRACT

Cheeses are known to be sources of calcium, phosphorus and protein, important nutrients for a suitable nutrition. However, certain cheeses imply the ingestion of large amounts of fats, which can cause the development of coronary heart and carcinogenic diseases. Although consumers are aware of the necessity of reducing the fats intake, they are still not pleased with the quality of light cheeses available on the market, because the partial or total fat removal provides some undesirable changes, especially regarding to the product texture and flavor. In order to offer products nutritionally adequate and palatable, alternatives have been developed to improve the characteristics of light cheeses. Such alternatives include the use of fat substitutes, those additives that improve the functional and sensory characteristics of cheeses with reduced fat. Fat substitutes composed of proteins, carbohydrates and lipids, or a combination of them, help the retention of moisture and eliminate the undesirable characteristics of fat reduced-cheeses. In this context, this review aims at reporting the innovations and trends on the use of fat substitutes to produce light cheeses.

Keywords. reduced fat cheeses, fat mimetics, low calorie food.

INTRODUÇÃO

O consumo de produtos lácteos é incentivado principalmente devido à presença de cálcio, fósforo e de proteínas, essenciais ao desenvolvimento físico e manutenção da saúde.

No caso dos queijos, devido à sua composição, há paralelamente, um consumo significativo de gordura¹.

A gordura atua de diferentes formas nos alimentos, contribuindo no sabor, aroma, suculência, maciez e cremosidade. Contudo, a ingestão de altas quantidades desse componente está associada ao desenvolvimento de doenças coronarianas, à obesidade e a alguns tipos de câncer. Nesse contexto, há um incentivo para que as pessoas tenham uma alimentação mais saudável, resultando na necessidade de produção de alimentos com redução do teor de gordura, incluindo os queijos^{2,3,4}.

No entanto, a redução do teor de gordura nos queijos geralmente promove alterações indesejáveis de sabor e textura. Dessa maneira, os queijos com reduzido teor de gordura não se assemelham à versão integral, dificultando sua aceitabilidade pelos consumidores^{1,3,5}.

Várias alternativas têm sido apresentadas para melhorar a qualidade dos queijos com reduzido teor de gordura. As principais estratégias utilizadas são as modificações tecnológicas do processo de fabricação, o uso de culturas adjuntas, de enzimas e de substitutos de gordura^{3,5,6}.

QUEIJOS LIGHT

Conceito e características

O termo queijo *light* geralmente refere-se a queijos cujo teor de gordura é menor em relação às versões integrais. Nos Estados Unidos esses queijos receberam uma classificação: livres de gordura (*fat free*), com menos de 0,5 g de gordura por porção; baixo teor de gordura (*low fat*), com no máximo 3 g de gordura por porção; *light*, quando menos que 50% das calorias são provenientes da gordura; teor de gordura reduzido (*reduced fat*), mínimo de 25% de redução no teor de gordura total por amostra⁵.

No Brasil, a redução do teor de gordura (G), para alimentos em geral é citada na Portaria nº 27 de janeiro de 1998. Essa legislação aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar, incluindo informações em relação ao teor de gordura para qualquer tipo de alimento.

Especificamente para queijos, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos faz classificação quanto ao teor de gordura no extrato seco. Assim, na versão tradicional, os queijos são classificados como: extra gordo ou duplo creme: mínimo de 60% G; gordos: entre 45,0% e 59,9% G; semi-gordo: entre 25,0% e 44,9% G; magros: entre 10,0% e 24,9% G e desnatados: menos de 10,0% G^{7,8}.

De maneira comparativa, um produto *light* é aquele que tem redução de pelo menos 25% no teor de gordura em relação à versão integral e diferença de 3 g/100 g de produto.

A legislação também faz referência aos termos em inglês, esclarecendo que o termo *light* corresponde em português aos termos reduzido e baixo⁸.

A retirada parcial ou total da gordura promove uma alteração no balanço dos componentes do queijo, em relação ao balanço da versão integral. A redução do teor de gordura é compensada, de maneira geral, pelo aumento da umidade e do teor proteico. Nessas condições, os queijos com reduzido teor de gordura geralmente têm menor aceitação quando comparados às versões integrais, devido aos defeitos de textura e sabor. Os defeitos de textura mais comuns são o aumento da dureza e elasticidade, enquanto que os problemas de sabor compreendem a sua baixa intensidade, redução do aroma, presença de adstringência e amargor^{1,3,5,9}.

Na estrutura da matriz do queijo os glóbulos de gordura estão aprisionados fisicamente em uma rede de proteína com ligações cruzadas de fosfato de cálcio. A matriz é elástica quando a caseína está intacta, mas diminui com a evolução da proteólise durante a maturação do queijo. Os glóbulos de gordura aprisionados servem para limitar a deformação da matriz do queijo e sua distribuição determina a uniformidade e o grau de ligações cruzadas da matriz de caseína. Quando parte da gordura é removida, a caseína passa a desempenhar uma função maior na textura do queijo. Além disso, com essa remoção também ocorre insuficiente quebra da caseína, especialmente na hidrólise da α_{s1} -caseína. Assim a textura de um queijo com reduzido teor de gordura é caracterizada como dura e elástica^{3,10,11}.

A interferência da gordura no sabor característico do queijo está relacionada à sua hidrólise. Esse sabor pode ser obtido diretamente pela presença de ácidos graxos, de acordo com o tipo, concentração

e proporção definida, ou indiretamente, após transformações bioquímicas, resultando na formação de outros compostos aromatizantes, tais como cetonas, metil-cetonas e lactonas¹², que podem contribuir com o desenvolvimento de sabor do queijo pela hidrólise da gordura ou da proteína. A gordura também é benéfica para mascarar o gosto amargo. A composição de muitos peptídios amargos compreende aminoácidos carregados negativamente em uma extremidade e, principalmente, aminoácidos hidrofóbicos na outra e essa disposição na interface entre a gordura e a água pode mascarar o amargor. Isso explica porque a redução da gordura aumenta a tendência do queijo apresentar gosto amargo¹¹. Dessa forma, os defeitos de sabor em queijos com reduzido teor de gordura incluem a baixa intensidade do gosto e aroma típico em relação à versão integral, além de amargor e adstringência. Esses defeitos relacionam-se com a alteração do balanço entre gordura, proteína e umidade na produção do queijo, resultando em deficiências não apenas dos compostos de sabor da gordura do leite, mas também nos compostos gerados pela interação dos produtos da degradação da lipólise e da proteólise. Além disso, a maior umidade também favorece uma menor quantidade proporcional de sal, interferindo no sabor do produto^{1, 11, 13}.

Comparando-se queijos Cheddar, na versão integral com formulações que apresentavam diferentes níveis de redução do teor de gordura, foram detectadas alterações de sabor durante a maturação. Os queijos com redução de gordura apresentaram gosto amargo mais pronunciado em relação à versão integral. Essas diferenças de sabor, não foram somente devido às diferenças na matriz dos queijos, mas também diferenças nas reações bioquímicas durante a maturação, que levou a um desequilíbrio entre muitos compostos que contribuem com as características de sabor^{1, 13}.

Outro problema relacionado à redução da gordura em queijos é a redução no rendimento. Essa alteração ocorre, pois o teor de gordura pode constituir 50% ou mais do peso seco de um queijo. O rendimento em queijo é importante devido aos aspectos econômicos e do controle de processamento^{3, 5, 9}.

Mercado e tendências

O maior mercado para alimentos com reduzido teor de gordura é os Estados Unidos. Em 1998, a venda de queijos com reduzido teor de gordura correspondeu a

20% da venda total de queijos. Na Europa o mercado para esse tipo de produto é pequeno e pouco desenvolvido, sendo que no Reino Unido estão os principais consumidores de queijos com reduzido teor de gordura, correspondendo a 8% do total de vendas de queijos. Nos países mediterrâneos, como França, Itália e Espanha, o consumo de queijos integrais continua a ter uma forte influência no mercado, pois é priorizado o sabor e a autenticidade em detrimento ao conteúdo de gordura desses produtos^{3, 5, 14}.

Em 2009, o mercado varejista nos Estados Unidos era similar ao da Europa. Em comparação com os queijos de teor integral de gordura a oferta de queijos com reduzido teor de gordura ainda é restrita, menos de 25% do volume total, com crescimento bastante pequeno nos últimos anos⁶.

Atualmente 15% dos adultos americanos restringem o consumo de queijo e 29% desses consumidores retomariam o consumo normal de queijos se o sabor e a textura dos queijos com teor reduzido de gordura fossem comparáveis às versões integrais. No entanto, nos últimos anos, o desenvolvimento de novos produtos para atender essa demanda tem sido bastante lento^{6, 15}.

Childs e Drake¹⁶ avaliaram a aceitabilidade de queijo Mussarella e Cheddar com diferentes níveis de redução de gordura, concluindo que os consumidores ainda não estão satisfeitos com esses queijos *light*, principalmente se a redução for maior que 50% do teor de gordura, devido às maiores alterações de sabor e textura, em relação ao queijo integral. Os autores afirmam ainda que a maioria dos consumidores não está disposta a sacrificar sabor e textura para obter redução de gordura em queijos.

Nesse contexto, mudanças significativas no sabor e textura são necessárias para que os queijos sejam comparáveis às versões integrais e bem aceitos pelos consumidores. Embora a indústria tenha alcançado avanços significativos na melhoria da qualidade de queijos com reduzido teor de gordura, os consumidores continuam a não aceitar as perdas na qualidade desses produtos em relação às versões integrais^{5, 6}.

No Brasil, o consumo de produtos lácteos em geral é menor, quando comparado aos países desenvolvidos. O consumo per capita anual de leite no Brasil está próximo de 140 kg, enquanto em países como Suécia e Suíça, o consumo chega a mais de 330 kg.

No caso dos queijos foi observado um crescimento de produção e consumo ao longo dos anos. Os queijos mais consumidos no país, Mussarela, Prato e Requeijão culinário, tiveram juntos um crescimento de 6,25% em 2009. No entanto, o consumo de queijos com reduzido teor de gordura ainda não é expressivo, não aparecendo como uma categoria separada nas últimas tabelas fornecidas pela Associação Brasileira da Indústria de Queijos (ABIQ)^{17,18}.

ALTERNATIVAS DE MELHORIA PARA OS QUEIJOS *LIGHT*

Alteração das técnicas de processamento

Alterar o processo de fabricação é a alternativa de melhoria mais antiga, que se iniciou há mais de 50 anos, e também a mais econômica. Por meio de estudos foram estabelecidos alguns parâmetros para a produção de queijos com reduzido teor de gordura. Esses parâmetros incluem: baixa temperatura de cozimento da massa, alto pH durante o corte, lavagem da massa com água fria e uso de leite homogeneizado^{5,9}.

A redução da temperatura de cozimento, o aumento do valor de pH para a deadora e o corte proporcionam uma menor sinérese, resultando em uma maior retenção de umidade na coalhada. Essas alterações podem promover melhorias nos queijos com reduzido teor de gordura^{5,9}.

A lavagem da massa com água fria também auxilia na retenção de umidade e, além disso, remove a lactose e solubiliza o cálcio, favorecendo o desenvolvimento de uma textura mais macia. Essa alternativa também contribui para prevenir a acidez excessiva durante a maturação^{3,5,9}.

A homogeneização da gordura do leite utilizado para a fabricação de queijos com reduzido teor de gordura é uma opção de processo que possibilita a retenção de umidade na massa e melhora o aspecto sensorial do queijo. O aumento da superfície dos glóbulos de gordura melhora sua distribuição na matriz do queijo, melhorando consequentemente a textura, o corpo e o rendimento. Essa alternativa demonstrou melhorias na textura e rendimento de queijos com reduzido teor de gordura como Cheddar e Chanco^{19,20}.

Outra alternativa utilizada para melhorar a textura dos queijos produzidos a partir de leite desnatado é a pré-concentração do leite para obter um alto teor de sólidos totais, por meio da ultrafiltração.

Teoricamente esse processo resulta na melhoria da textura do queijo, comparada com a produzida por métodos convencionais, devido à incorporação de proteínas do soro, que aumentam a capacidade de retenção de água do queijo, tornando-o mais macio²¹.

O uso de retentados com baixo fator de concentração tem sido testado em vários tipos de queijo com reduzido teor de gordura, incluindo o queijo Minas Frescal, Mussarela e Prato. Nesses três tipos de queijo, essa alternativa demonstrou aumento do rendimento, por meio do aumento na umidade. Além disso, para os queijos Minas Frescal e Mussarela foi observada uma melhoria na textura, sendo que no primeiro também não foi verificada interferências na proteólise²²⁻²⁴.

Uso de culturas adjuntas e enzimas

Culturas adjuntas têm sido tradicionalmente utilizadas para promover e acelerar o desenvolvimento de sabor em queijos com teor normal de gordura. Essas culturas também têm sido importantes para os queijos com reduzido teor de gordura podendo melhorar ou acelerar o desenvolvimento do sabor, pelo aumento da proteólise, mais especificamente a atividade aminopeptidase, a qual reduz o gosto amargo e aumenta a concentração de peptídeos de sabor desejável e precursores voláteis de sabor. Dois tipos de culturas podem ser utilizadas: culturas adjuntas não viáveis, atenuadas e culturas adjuntas viáveis, não atenuadas^{9,24}.

As culturas adjuntas mais comumente utilizadas são de *Lactobacillus* spp. *Lactobacillus helveticus* foi usado como cultura adjunta na produção de queijos semi-duros com reduzido teor de gordura, resultando em um aumento de proteólise, redução do gosto amargo e intensificação do sabor típico⁹.

O uso de culturas adjuntas (CR-213), contendo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, foi avaliado em queijo Feta com baixo teor de gordura. O queijo foi comparado com dois controles: queijo Feta com baixo teor de gordura e queijo Feta com teor integral de gordura. Não foram observadas diferenças na composição centesimal e na textura entre os dois tipos de queijo Feta *light* produzidos. Contudo, a adição da cultura adjunta promoveu melhorias no sabor, recebendo classificações próximas ao queijo integral na análise sensorial²⁵.

O uso de cultura adjunta em queijo Chanco com reduzido teor de gordura apresentou resultados

promissores. Não foram observadas diferenças nas características físico-químicas entre o queijo *light* e o tradicional. Além disso, na análise sensorial não foram observadas diferenças na cor, no aroma e nos aspectos gerais, comparando-se as amostras dos queijos na versão integral e *light*²⁶.

Em queijo Prato com reduzido teor de gordura a utilização de culturas adjuntas tem demonstrado resultados favoráveis. O uso de culturas adjuntas como *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus casei* promoveram aumento da proteólise melhorando as características de textura do queijo^{24, 27, 28}.

Além do uso de culturas adjuntas, o uso de enzimas também pode colaborar no desenvolvimento da proteólise e na qualidade de queijos com baixo teor de gordura. As enzimas podem ser usadas na forma livre ou microencapsulada¹¹. O uso de enzima proteolítica fastuosaina, extraída do fruto gravatá (*Bromelia fastuosa*), foi avaliado na maturação de queijo Prato com reduzido teor de gordura. A adição de enzima promoveu, desde o primeiro dia, aceleração da maturação. O uso de enzimas com baixa atividade resultou em maior proteólise e na melhoria das características físico-químicas dos queijos modificados. Além disso, os queijos com teor reduzido de gordura adicionados de enzimas proteolíticas não apresentaram amargor, defeito comum em queijos *light*²⁹.

Uso de substitutos de gordura

Vários aditivos têm sido investigados para promover melhorias na produção de queijos com reduzido teor de gordura, substituindo o vazio deixado pela retirada parcial ou total da gordura. Esses aditivos melhoram as características sensoriais e funcionais dos queijos com reduzido teor de gordura e incluem vários tipos de substitutos de gordura e estabilizantes, a base de proteínas, de carboidratos e de gorduras, que atuam principalmente na retenção de umidade. As aplicações desses substitutos de gordura são bastante variadas, incluindo queijos macios, semi-duros, duros, e queijos de massa filada ou fundida, como os queijos Mussarela, os processados e o Requeijão^{3, 5, 6}. Assim, devido às modificações positivas no aspecto sensorial e por não necessitar de modificações no processamento, o uso de substitutos de gordura têm sido caracterizado como uma maneira simples e viável para promover melhorias em queijos *light*.

SUBSTITUTOS DE GORDURA: DEFINIÇÕES E TIPOS

Definições

Nesta revisão o termo substituto de gordura será empregado de maneira genérica, considerando o substituto como um aditivo que tem a capacidade de promover melhorias sensoriais e funcionais em queijos *light*⁵.

Os termos relacionados aos substitutos de gordura são bastante diversificados em inglês, contudo na legislação brasileira não tem uma definição exata para todos esses termos. Para esclarecimentos será apresentada uma adaptação sistemática dos termos utilizados em inglês^{2, 30, 31}:

- repositor ou substituto de gordura (*fat replacer*) – um termo coletivo para descrever qualquer ingrediente para repor a gordura;
- substitutos de gordura (*fat substitute*) – composto sintético desenvolvido para repor a gordura na base peso por peso, usualmente tendo uma estrutura química similar a da gordura, mas resistente à hidrólise pelas enzimas digestivas;
- imitadores de gordura (*fat mimetic*) – um repositor de gordura que necessita de elevado conteúdo de umidade para alcançar sua funcionalidade e resiste à hidrólise por enzimas digestivas;
- gorduras de baixas calorias (*low calorie fat*) – triglicerídeos sintéticos combinando ácidos graxos não convencionais na cadeia de glicerol, que resulta em reduzido valor calórico;
- extensores de gordura (*fat extender*) um sistema de gorduras contendo uma proporção de gorduras padrões ou óleos combinados com outros ingredientes.

Tipos de substitutos

Considerando o termo substituto de gordura de maneira genérica, sua classificação está baseada principalmente, na natureza química e na origem do produto, juntamente com seu valor energético. Eles são tecnicamente divididos em carboidratos, incluindo produtos a base de fibras; proteínas modificadas, que possuam boas propriedades emulsificantes ou gelificantes, aliadas ao baixo valor energético. Também são usadas as gorduras naturais menos calóricas e as sintéticas^{30, 31}.

Um melhor resultado com o uso dos substitutos de gordura pode ser obtido por meio da utilização de misturas, sejam elas fornecidas em produtos comerciais

ou não. Essas misturas podem proporcionar maior funcionalidade para aplicações específicas. A escolha é determinada pelo custo, qualidade, inocuidade e pelo desempenho dos substitutos de gordura².

Substitutos à base de carboidratos

Os substitutos de gordura à base de carboidratos tem sido bastante usados em diversos tipos de alimentos. Esses carboidratos atuam proporcionando propriedades de corpo e espessamento, produzindo assim uma percepção sensorial similar à da gordura. Entre os carboidratos utilizados como substitutos de gordura encontram-se as gomas, dextrinas, maltodextrinas, celulose, inulina, amidos, fibras e polidextrose^{2,32}.

No entanto, o uso dos carboidratos como substituto de gordura apresenta algumas limitações funcionais e sensoriais. Uma importante limitação funcional é a redução da vida de prateleira do produto, devido à alta associação com a água, aumentando consequentemente, a atividade da água. A possível interferência dos carboidratos nos atributos sensoriais refere-se principalmente ao sabor. Os substitutos à base de amido e celulose podem diminuir a intensidade do sabor e contribuir para a formação de sabores próprios. Por outro lado, as gomas geralmente não interferem no sabor dos produtos nos quais são adicionadas^{32,33}.

Em geral, os substitutos à base de carboidratos são classificados como seguros - GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pela FDA (Food and Drug Administration). No entanto, o uso da polidextrose e da goma xantana estão aprovados para aplicações específicas³². No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos permite o uso de carboidratos em queijos de muita alta umidade tratados termicamente. Os substitutos citados são carboximetilcelulose, carragenina, goma guar, goma de algaroba ou jataí, goma xantana, goma karaya, goma arábica, agar, pectina ou pectina amidada, alginato de potássio e amidos modificados. Esses substitutos, à base de carboidratos, podem ser aplicados com a função de espessante ou estabilizante⁷.

Alguns exemplos de carboidratos aplicados como substituto de gordura em produtos lácteos estão apresentados na Tabela 1.

Substitutos à base de proteínas

As proteínas podem atuar como importantes substitutos de gordura promovendo principalmente a incorporação de água na matriz do queijo. O uso desses

substitutos tem a vantagem das proteínas se ligarem bem aos componentes aromáticos, o que pode contribuir para melhorar o sabor dos queijos com teor reduzido de gordura^{2,32}.

As fontes proteicas utilizadas para a produção desses substitutos são variadas, como as proteínas do soro de leite, de ovo, de soja e o colágeno^{6,30}.

Entre os vegetais, as proteínas de soja (concentrado proteico de soja e isolado proteico de soja) destacam-se como substituto de gordura devido ao seu alto teor de proteína, além de fornecer fibras de potencial prebiótico. Outra proteína importante é o colágeno, que após hidrólise parcial, têm demonstrado aplicações como emulsionante, estabilizante e texturizante^{34,35}.

Uma característica importante das proteínas para a utilização como substituto de gordura é a capacidade de formar micropartículas. O tamanho dessas partículas, o volume na hidratação e as propriedades de superfície afetam a habilidade das proteínas de simular o efeito da gordura. Além disso, ocorre um sinergismo entre as proteínas microparticuladas e os outros ingredientes do alimento, necessários para completar a ilusão de consumir um alimento com baixo teor de gordura, mas muito próximo da sua versão integral^{30,36,36}.

Diversos tipos de proteína podem ser microparticuladas e as mais comuns são as proteínas de leite e ovos. Se o substituto de gordura é constituído somente pela proteína microparticulada, que é uma simples modificação física de sua estrutura, esse substituto é considerado GRAS pela FDA³³.

No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos não cita aditivos de base protéica para queijos, contudo determina que a denominação “queijo” está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea. Assim, para os substitutos de gordura de base láctea, como o concentrado proteico de soro, o uso é permitido. Alguns exemplos de substitutos de gordura de base proteica que tem aplicação na produção de produtos lácteos com reduzido teor de gordura estão presentes na Tabela 1.

Gorduras sintéticas

As gorduras sintéticas são compostos visualmente parecidos com a gordura e apresentam propriedades físicas semelhantes a da gordura. No entanto, geralmente, as gorduras sintéticas não são metabolizadas pelo organismo, não contribuindo, portanto, para o valor calórico dos alimentos³².

Tabela 1. Substitutos de gordura aplicados em queijos *light*

Tipo de substituto	Marca comercial	Propriedade funcional
À base de proteínas		
Leite	Dairy-Lo	Melhora a textura
Ovos	Simplese	Melhora a textura
Leite e Ovos	Trailblazer	Inibe a sinérese e melhora a textura
Milho	LITA	Melhora a textura e a estabilidade térmica
À base de carboidratos		
Maltodextrina	Maltrin	Melhora a textura
CMC	-	Melhora a textura
Carragena	-	Melhora a textura
β -glucana	Nutrim	Melhora a textura
Amido modificado	Stellar	Melhora a textura, imitando a sensação de gordura na boca
Gel de celulose, goma guar	Novagel	Melhora a textura, imitando a sensação de gordura na boca
À base de gorduras sintéticas		
Poliéster de sacarose	Olestra, Olean, Benefat, Dur-Em	Melhora a textura
Dialquil di hexadecil malonato	DDM	Melhora a textura

Adaptado de Tamime et al.³¹; Lima e Nassu³³

Essas gorduras sintéticas podem ser produzidas por meio da esterificação de alguns álcoois e ácidos ou utilizando-se polímeros ou óleos naturais, cujas propriedades químicas não estejam relacionadas com a estrutura triglicéridica^{32,33}. Alguns exemplos de gordura sintética que têm aplicação na produção de produtos lácteos com reduzido teor de gordura estão presentes na Tabela 1.

Aplicações de substitutos de gordura em queijos *light*

Diversos tipos de substitutos de gordura, à base de carboidrato, de proteínas ou gordura sintética, isolados ou combinados, têm sido utilizados na produção de vários tipos de queijo. Em função das características desejáveis em cada produto é possível definir qual o melhor substituto ou qual a melhor combinação que possa fornecer melhorias específicas ao queijo *light*.

A combinação de celulose microcristalina, carragena e leite com reduzido teor de gordura na fabricação de queijo Cheddar foi analisada. A carragena e a celulose microcristalina interferiram na interação caseína-caseína, produzindo um queijo de estrutura tenra e macia³⁷.

A incorporação de poliéster de sacarose em substituição à gordura de leite em queijos com reduzido teor de gordura apresentou resultados promissores. As características de firmeza dos queijos *light*, contendo a gordura sintética, não diferiram do queijo integral.

No entanto, queijos contendo poliéster de sacarose apresentaram problemas de sabor⁹.

Stevens e Shah³⁸ analisaram a textura e o derretimento de Mussarela fabricada com dois níveis do substituto de gordura Maltrin[®] M100 (Maltodextrina). Valores de dureza e elasticidade foram significativamente maiores nos queijos sem gordura comparados com os integrais, com decréscimo durante a estocagem. Houve uma melhora nas propriedades de derretimento em todos os queijos durante a estocagem. Os queijos contendo 2,5% de Maltrin[®] apresentaram as melhores propriedades de derretimento entre os queijos sem gordura, sugerindo que a adição de substitutos de gordura pode melhorar as características de textura desses queijos.

O efeito do uso de diversas fontes de amido pré-gelatinizado foi avaliado na produção de imitações de queijo. Os queijos produzidos com aditivos apresentaram-se mais macios, menos coesivos e com menor rendimento, quando comparados ao controle. Também foi observado que o uso de amido pré-gelatinizado com reduzido nível de amilose, como aqueles derivados de arroz e milho, resultou em imitações de queijo com maior maciez³⁹.

O substituto de gordura Nutrim (hidrocolóide β -glucana) foi utilizado para fabricar queijos Cheddar com baixo teor de gordura⁴⁰. Os queijos controle (11,2% de gordura) foram comparados com os modificados que continham Nutrim-I (6,8% de gordura) e

Nutrim-II (3,47% de gordura). Os queijos modificados demonstraram menores valores de dureza, rachaduras e menor tempo de derretimento quando comparados com o controle.

O uso dos substitutos de gordura à base de proteínas (Dairy Lo™ e Simplese) e à base de carboidratos (Novagel e Stellar) foi avaliado na estrutura de queijos Cheddar. Queijos elaborados com os substitutos amoleceram os queijos Cheddar com baixos teores de gordura pela descontinuidade na matriz de caseína e também pelo menor número de camadas que conferem resistência ao esmagamento na interface proteína-gordura. A análise de microestrutura demonstrou que o queijo cheddar com reduzido teor de gordura adicionado do substituto Dairy Lo foi o tratamento que mais se aproximou da microestrutura de um queijo Cheddar tradicional^{41, 42}.

O uso de leite com baixo teor de gordura incorporado de concentrado proteico de soro (CPS) como substituto de gordura permitiu a produção de um queijo Manchego com características estruturais similares ao queijo produzido com leite integral. Os resultados satisfatórios na estrutura dos queijos foram atribuídos às interações da proteína do soro com a caseína e com a água⁴³.

O concentrado proteico de soro, em conjunto com óleo de canola emulsificado, foi utilizado como substituto de gordura na produção de queijo fresco, resultando em queijos com estrutura diferente quando comparado ao queijo fresco integral. Quando o CPS predominou, foi produzido um queijo mais denso, compacto e com uma matriz proteica contínua. Diferentemente, quando o óleo de canola emulsificado predominou, foi formada uma matriz protéica mais frouxa⁴⁴.

Sahan et al.⁴⁵ avaliaram o uso do substituto de gordura comercial Simplese® D - 100, constituído de concentrado proteico de soro, na maturação do queijo Kashar com teor reduzido de gordura. Houve um aumento do teor de proteína total, da proteólise e uma maior capacidade de retenção da umidade, elevando o rendimento, em relação ao controle. Os atributos sensoriais também foram melhores para o queijo Kashar adicionado do substituto.

Ghisleni⁴⁶ avaliou o uso de gelatina (0 - 10g/L) como substituto de gordura na produção de queijo Prato com teor reduzido de gordura. Nos queijos também foi adicionado uma cultura de micro-organismo probiótico (0 - 0,014 g/L) e fibra de trigo (0 - 10 g/L). De maneira

geral, a presença da gelatina e do probiótico no queijo favoreceu a retenção de umidade. Na análise sensorial os queijos demonstraram boa aceitação.

O uso de farinha de trigo e de soja extrusada, na proporção de 80:20, foi avaliado sensorialmente na produção de requeijão com baixo teor de gordura. A análise sensorial demonstrou que o requeijão obtido teve melhor aceitação em comparação aos comerciais, *light* (com amido) e tradicional⁴⁷.

O uso de isolado proteico de soja e de inulina promoveu melhorias nas características de requeijão cremoso com reduzido teor de gordura, além de conferir características funcionais ao produto, devido à ação desses substitutos como prebióticos. Ambos aditivos resultaram em um requeijão de consistência mais firme. Além disso, a presença da inulina originou um requeijão com brilho intensificado, semelhante aos produtos comerciais³⁴.

Diamantino et al.⁴⁸ avaliaram a utilização do colágeno hidrolisado e do concentrado proteico de soro como substitutos de gordura para queijo Prato com reduzido teor de gordura. A adição dos substitutos resultou em maior retenção de umidade e esta, por sua vez, intensificou a proteólise, resultando em queijos com melhor textura.

A adição de 0,5% ou 1,0% de proteína do soro desnaturada em queijo Mussarella com reduzido teor de gordura promoveu melhorias nas características sensoriais do produto. Além disso, o substituto de gordura aumentou a acidez, sólidos totais, cinzas, sal, sal na umidade e algumas frações nitrogenadas⁴⁹.

Lobato-Calleros et al.⁵⁰ demonstram a possibilidade de uso de uma emulsão água-óleo para modificar as propriedades de textura de queijos. A goma arábica ou a pectina de baixa metoxilação foram utilizadas para produzir uma emulsão aplicada em queijo branco fresco com reduzido teor de gordura, resultando em uma textura similar ao queijo com o teor integral de gordura.

Considerações Finais

A utilização de substitutos de gordura tem demonstrado resultados promissores na produção de queijos *light*. Assim, essa alternativa de melhoria de queijos com reduzido teor de gordura pode ser de grande importância para auxiliar a produzir queijos nutricionalmente saudáveis e sensorialmente agradáveis para os consumidores.

REFERÊNCIAS

1. McMahon DJ. Issues with lower fat and lower salt cheeses. *Aust J Dairy Tech*. 2010;65(3):200-5.
2. Pinheiro MVS, Penna ALB. Substitutos de gordura: tipos e aplicações em produtos lácteos. *Alim Nutr*. 2004;15(2):175-86.
3. Banks JM. The technology of low-fat cheese manufacture. *Int J Dairy Technol*. 2004;57(4):199-207.
4. Casarotti SN, Jorge N. Aspectos tecnológicos dos substitutos de gordura e suas aplicações em produtos lácteos. *J Braz Soc Food Nutr*. 2010;35(3):163-81.
5. Mistry VV. Low fat cheese technology. *Int Dairy J*. 2001;11(4):413-22.
6. Johnson ME, Kapoor R, McMahon DJ, McCoy DR, Narasimmon RG. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed cheeses: scientific and technological aspects. *Compr Rev Food Sci Food Safety*. 2009;8:252-68.
7. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Poder Executivo, Brasília, DF, 7 mar. 1996. Seção 1, p. 3.877.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 1998. Seção 1, parte 1, p. 1-3.
9. Drake MA, Swanson BG. Reduced and low-fat cheese technology: a review. *Trends Food Sci Tech*. 1995;6(11):366-9.
10. Jameson GW. Cheese with less fat. *Aust J Dairy Tech*. 1990;45(2):93-8.
11. Ardö Y. Flavor and texture in low-fat cheese. In: Law BA. (Ed.). *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*. London: Chapman & Hall, 1997; p.181-207.
12. Sabioni JG. Contribuição da atividade lipolítica e proteolítica na formação de flavor em queijos e no desenvolvimento de produtos aromatizantes de origem láctea. *Rev Inst Lat Candido Tostes*. 2000;54(312):30-9.
13. Drake MA, Miracle RE, McMahon DJ. Impact of fat reduction on flavor and chemistry of cheddar cheeses. *J Dairy Sci*. 2010;93:5069-81.
14. Hilliam, M. Fat substitutes in Europe. The world of food ingredients, 15-19, 1996 apud BANKS JM. The technology of low-fat cheese manufacture. *Int J Dairy Technol*. 2004;57(4):199-207.
15. Narasimmon RG. Putting the phat in low-fat cheese. *Dairy Foods*. 2008;109(10):60.
16. Childs JL, Drake M. Consumer perception of fat reduction in cheese. *J Sensory Stud*. 2009;24(6):902-21.
17. Carvalho MP. O aumento de consumo de lácteos no Brasil: desafios e oportunidades. [acesso 2010 Jun 27]. Disponível em: [http://www.ital.sp.gov.br/fispal_2007/14_06.../fispal_14-07-16_30.pdf].
18. Associação Brasileira das Indústrias de Queijos – ABIQ. Mercado total de queijos no Brasil, 2009.
19. Brito C, Méndez P, Molina LH, Pinto M. Desarrollo de queso chanco de reducido tenor graso utilizando proceso de homogeneización en la leche. *Agro Sur*. 2002;30:68-79.
20. Metzger LE, Mistry VV. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. 2. Microstructure, fat globule distribution, and free oil. *J Dairy Sci*. 1995;78:1883-95.
21. McGregor JU, White CH. Effect of enzyme treatment and ultrafiltration on the quality of low-fat cheddar cheese. *J Dairy Sci*. 1990;73(3):571-8.
22. Cunha CR, Viotto WH, Viotto LA. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. *Int Dairy J*. 2006;16:215-24.
23. Ferreira DN, Moura DB, Cunha CR, Viotto WH. Rheological properties of reduced fat mozzarella cheese made by direct acidification using low concentration factor ultrafiltration retentates. *Desalination*. 2006;200:552-4.
24. Barros CMV. Uso de culturas adjuntas e ultrafiltração para melhoria de sabor e textura de queijo prato com reduzido teor de gordura [tese de doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2005.
25. Katsiari MC. Flavour enhancement of low-fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture. *Food Chem*. 2002;79:193-8.
26. Brito C, Uribe P, Molina LH, Molina I, Pinto M. Production of low-fat Chanco cheese using homogenized milk and adjunct lactic culture. *Int J Dairy Technol*. 2006;59(4):242-9.
27. Barros CMV, Ribeiro ACO, Viotto WH. Impact of low concentration factor ultrafiltration on the composition and yield of reduced fat prato cheese. *Desalination*. 2006; 200:555-6.
28. Silva CRB. Efeito do uso de *Lactobacillus casei* como cultura adjunta na qualidade tecnológica de queijo prato com reduzido teor de gordura [dissertação de mestrado]. São José do Rio Preto (SP): Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista; 2006.
29. Garcia GAC, Penna ALB. Queijo prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica: características físicas e sensoriais. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(3):346-57.
30. Roller S, Jones SA. *Handbook of fat replacers*. Boca Raton: CRC; 1996. 325 p.
31. Tamime AY. Qualidade de iogurte elaborado com substitutos de gordura. In: Lerayer ALS, Salva TJG. (Coord.). *Leites fermentados e bebidas lácticas*. Campinas: ITAL, 1997; p. 11-32.
32. Lucca PA, Tepper BJ. Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends Food Sci Tech*. 1994;5(1):12-9.
33. Lima RJ, Nassu TR. Substitutos de gorduras em alimentos: características e aplicações. *Quim Nova*. 1996;19(2):127-34.
34. Gomes RG, Penna ALB. Caracterização de requeijão cremoso potencialmente prebiótico pela adição de inulina e proteínas de soja. *Bol CEPPA*. 2010;28(2):290-302.
35. Schrieber R, Gareis H. *Gelatine handbook*. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co; 2007.
36. Singer NS. Microparticulated proteins as fat mimetics. In: Roller S, Jones SA. *Handbook of fat replacers*. Boca Raton: CRC; 1996. p. 175-190.

37. Bullens C, Krawczyk G, Geithman L. Reduced-fat cheese products using carrageenan and microcrystalline cellulose products. *Food Technol*. 1994;48(1):79-81.
38. Stevens A, Shan NP. Textural and melting properties of Mozzarella cheese made with fat replacers. *Milchwissenschaft*. 2002;57(7):387-90.
39. Monsey JS, O'Riordan EDO. Modification of imitation cheese structure and rheology using pre-gelatinised starches. *Eur Food Res Technol*. 2008;226(5):1039-46.
40. Konuklar G, Inglett GE, Warner K, Carriere CJ. Use of a β -glucan hydrocolloidal suspension in the manufacture of low-fat Cheddar cheeses: textural properties by instrumental methods and sensory panels. *Food Hydrocoll*. 2004;18(4):535-45.
41. Haque ZU, Aryana KJ. Volatiles in lowfat Cheddar cheese containing commercial fat replacers. *Food Sci Tech Res*. 2002;8(2):188-90.
42. Haque ZU, Kuçukoner E, Aryana KJ. Influence of fat-replacing ingredients on process and age induced soluble nitrogen content and ultrastructure of low-fat cheddar cheese. *Food Sci Tech Res*. 2007;13(4):338-44.
43. Lobato-Calleros C, Lobato-Calleros C, Robles-Martínez JC, Caballero-Pérez JF, Aguirre-Mandujano E, Vernon-Carter EJ. Fat replacers in low-fat mexican Manchego cheese. *J Texture Stud*. 2001;32(1):1-14.
44. Lobato-Calleros C, Reyes-Hernández J, Beristain CI, Hornelas-Uribe Y, Sánchez-García JE, Vernon-Carter EJ. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Res Int*. 2007;40(4):529-37.
45. Sahan N, Yasar K, Hayaloglu AA, Karaca BO, Kaya A. Influence of fat replacers on chemical composition, proteolysis, texture profiles, meltability and sensory properties of low-fat Kashar cheese. *J Dairy Res*. 2008;75(1):1-7.
46. Ghisleni CP. Influência da adição de probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*), fibra de trigo e gelatina nas características físico-químicas e sensoriais do queijo prato durante a maturação [dissertação de mestrado]. Erechim (RS): Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões; 2008.
47. Nascimento MRF, Wang SH, Nascimento KO. Uso de farinha de trigo e soja (80:20) extrusada na elaboração de requeijão cremoso contendo trigo-soja com baixo teor de gordura. *Aliment Nutr*. 2009;20(1):25-33.
48. Diamantino IM, Penna ALB, Menis MEC, Garcia GAC, Silva TF. Efeito da adição de substitutos de gordura em queijo Prato *light*. Efeito da adição de substitutos de gordura em queijo Prato *light*. XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; novembro de 2010. Salvador: Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos; 2010. 1 CD –ROM.
49. Ismail M, Ammar ET, El-Metwally R. Improvement of low fat mozzarella cheese properties using denatured whey protein. *Int J Dairy Technol*. 2010;64(2):207-17.
50. Lobato-Calleros C, Sosa-Pérez A, Rodríguez-Tafoya J, Sandoval-Castilla O, Pérez-Alonso C, Vernon-Carter EJ. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W1/O/W2 emulsions and skim milk. *Food Sci Technol*. 2008;41:1847-56.

Bolo *light*, *diet* e com alto teor de fibras: elaboração do produto utilizando polidextrose e inulina

Preparing a light, diet and high fiber contents-containing cake formulation adding polydextrose and inulin

RIALA6/1373

Maria Carliana MOTA¹, Silvia Silveira CLARETO², Eveline Monteiro Cordeiro DE AZEREDO¹, Dione Moreira DE ALMEIDA¹, Ana Lúcia Leite MORAES^{2*}

* Endereço para correspondência: ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Campus Alfenas, Rua Gabriel Monteiro, 700, Centro, Alfenas, MG, Brasil, CEP: 37130000, E-mail: aleitemoraes@unifal-mg.edu.br

¹Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alfenas

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas-MG, em 30/06/2008, número de protocolo: 23087.001035/2007-33.

Recebido: 24.11.2010 – Aceito para publicação: 29.06.2011

RESUMO

Neste estudo foi desenvolvida uma formulação para bolos com baixo conteúdo calórico, isento de açúcar e com alto teor de fibras, para obter alimento *light*, *diet* e com propriedades funcionais. Os percentuais de polidextrose e emulsificante adicionados em substituição à gordura foram estabelecidos pela Metodologia de Superfície de Resposta. A inulina foi adicionada como fonte de fibras nas proporções de 6%, 12%, 18% e 24%. Os parâmetros avaliados foram densidade específica da massa crua, volume específico, aceitação e aparência dos bolos. A formulação com 100% de substituição por polidextrose e adição de 1,5% de emulsificante obteve as melhores notas nos atributos avaliados e apresentou redução calórica de 30%, o que possibilita sua classificação como alimento *light*. Essa formulação pode ainda ser classificada como: “alimento com baixo teor de gorduras”, pois o teor de gordura total foi menor do que 3 g/100 g do produto; e, ainda, como alimento *diet*, pela isenção de sacarose em sua preparação. A adição de 18% de inulina na formulação *light/diet* resultou em produto com alto teor de fibras (7,44 g/100 g). A formulação de bolo obtida é alimento saudável e saboroso que pode ser incluído na alimentação dos consumidores com necessidades especiais e daqueles preocupados com a saúde.

Palavras-chave. inulina, polidextrose, fibras da dieta, alimentos funcionais, bolo.

ABSTRACT

The purpose of this study was to develop a formulation for preparing low-caloric, sugar-free and high fiber contents-containing cakes, in order to obtain a light, diet food and with functional properties. The percentages of added polydextrose and emulsifier for replacing the fat were established by Response Surface Methodology. Inulin was added as a source of fiber in the proportions of 6, 12, 18 and 24%. The products were evaluated on raw dough specific density, specific volume, cakes acceptance and appearance. The formulation with 100% fat replacement and 1.5% emulsifier addition showed the highest attributes ranks and calorie reduction was around 30% and being classified as light food. This formulation can be further classified as “food with low fat” because the total fat contents was lower than 3 g/100 g of product and as “diet” food due to the absence of sucrose in its preparation. Enrichment of light/diet formulation with 18% inulin resulted in a product containing high fiber contents (7.44 g/100 g). The final cake product is a healthy and tasty food which might be included in diet of consumers with special needs and those who care for health.

Keywords. inulin, polydextrose, dietary fiber, functional food, cake.

INTRODUÇÃO

A demanda e o consumo de alimentos com baixo teor de gorduras e de baixa caloria são cada vez maiores¹. Isso ocorre porque os consumidores estão mais conscientes da relação existente entre alimentação e saúde². Essa também é uma tendência em relação aos alimentos funcionais, que desempenham importante papel metabólico ou fisiológico nas funções do organismo, prevenindo agravos à saúde³.

Para satisfazer às expectativas desse mercado consumidor cada vez mais exigente, a indústria alimentícia tem empregado em seus produtos, ingredientes capazes de manter as características sensoriais das versões tradicionais, mas que apresentem um menor teor de gorduras e calorias⁴. Dentre esses ingredientes destacam-se os substitutos de gorduras e a inulina.

Segundo a American Dietetic Association (ADA)⁵ os substitutos de gorduras podem ser utilizados nos alimentos para desempenhar as mesmas funções da gordura, garantindo suas propriedades funcionais e sensoriais, mas com teor calórico significativamente reduzido. A polidextrose é um substituto de gorduras à base de carboidratos e tem sido utilizada para a substituição do açúcar ou gorduras nos produtos alimentícios da área de panificados⁶.

A inulina é um polímero de frutose encontrada em plantas sob a forma de carboidratos de reserva e apresenta propriedades funcionais de grande importância para a indústria de alimentos e para a saúde dos consumidores⁷. A inulina tem sido utilizada para enriquecer com fibras diversos produtos alimentícios^{8,9}. Diferentemente de outras fibras, a inulina não tem sabores adicionais, podendo enriquecer os alimentos sem alterar muito a viscosidade, a aparência e o sabor¹⁰. Além disso, ela é considerada um ingrediente funcional, uma vez que exerce influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos do organismo, resultando em melhoria da saúde e na redução do risco de aparecimento de diversas doenças¹¹.

As pesquisas para o desenvolvimento de bolos com menor conteúdo calórico associam a substituição da gordura com a adição de emulsificantes¹²⁻¹⁵. Além da própria formação de emulsões, os emulsificantes exercem outras funções importantes na massa de produtos assados como o bolo, como a formação de complexos com amido, interação com proteínas e principalmente a aeração, favorecendo o volume final da preparação¹².

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi elaborar uma formulação para bolos com menor conteúdo energético e isento de açúcar, possibilitando classificá-la como *light* e *diet*. Além disso, procurou-se aumentar seu teor de fibra alimentar para caracterizá-la como “alto teor de fibras”, conferindo-o uma propriedade funcional.

MATERIAL E MÉTODOS

Aspectos éticos

Este estudo foi previamente submetido para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alenas (UNIFAL-MG), tendo sido aprovado em 30 de junho de 2008, sob o número de protocolo 23087.001035/2007-33.

Seleção dos ingredientes

Inicialmente foram realizados testes preliminares para seleção do substituto de gorduras, emulsificante e edulcorantes. Nessa fase selecionou-se a polidextrose (Tovani Benzaquen) como substituto de gorduras, o emulsificante Glintex - do tipo mono e diglicerídeos (Lida Mercantil Ltda) - e os edulcorantes isomalte e sucralose (Dumondo Ingredientes). Também determinou-se a quantidade de cada edulcorante (isomalte e sucralose), necessária para substituição do açúcar nas formulações do ensaio experimental.

Os ingredientes utilizados na formulação do bolo padrão foram: 100 g de farinha de trigo (Sol[®]); 3 g de fermento químico (Dr. Oetker[®]); 1 g sal (Cisne[®]); 7 g de leite em pó desnatado (Molico[®]); 75 mL de água mineral (Lindóia[®]); 1 unidade de ovo *in natura*; 80 g açúcar refinado (União[®]); e 24 g de gordura vegetal hidrogenada (Saúde[®]). Nas formulações elaboradas para os ensaios experimentais foram utilizados os mesmos ingredientes com as mesmas quantidades do bolo padrão, com exceção do açúcar refinado e da gordura vegetal hidrogenada. O açúcar refinado foi substituído por 60 g de isomalte e por 0,06 g de sucralose. A substituição da gordura vegetal hidrogenada por polidextrose e a adição de emulsificante (em relação ao peso final da massa crua do bolo padrão) foram determinadas de acordo com o delineamento experimental.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi realizado seguindo-se um planejamento estatístico fatorial

completo do tipo 2², com três pontos centrais e quatro axiais, totalizando 11 ensaios, conforme apresentado na Tabela 1. O nível de substituição utilizado para a variável independente porcentagem de polidextrose, variou de 80 a 100%. Para a variável independente porcentagem de emulsificante, o nível de adição variou de 1,0% a 2,0%. Como variáveis dependentes foram avaliadas: o volume específico dos bolos; a densidade específica da massa crua e as notas obtidas na análise sensorial para os atributos aceitação e aparência.

Os resultados obtidos foram avaliados por meio da verificação dos efeitos significativos ($p < 0,05$), da análise de variância (ANOVA) e da Metodologia de Superfície de Resposta, utilizando-se o programa *Statistica*, versão 5.0¹⁶.

Preparo dos bolos

Em uma batedeira (marca ARNO, modelo Ciranda) foram batidas as claras até o ponto “de neve” por cinco minutos. Posteriormente adicionaram-se as gemas, a gordura hidrogenada e o emulsificante, batendo-se por mais dois minutos. Desligou-se a batedeira e foram colocados os ingredientes sólidos, previamente misturados: farinha de trigo, sal, fermento, leite em pó, isomalte e sucralose e adicionou-se a água. A massa foi homogeneizada manualmente e batida por mais um minuto na batedeira. Em seguida foram pesados 46 g de massa crua em forminha metálica individual do tipo “pão-de-mel”, revestida com forminha de papel n° 0. Os bolos foram assados durante 15 minutos a 180 °C em forno pré-aquecido durante 10 minutos.

O rendimento final de cada formulação foi de seis unidades com 40 g cada, o que corresponde a uma porção individual.

Características físicas

Para a determinação do volume específico, foram cortadas e pesadas fatias cilíndricas de 3 cm de diâmetro de cada formulação elaborada. Em uma proveta graduada contendo sementes de painço, foi determinado o volume ocupado por cada pedaço de bolo por meio do deslocamento das sementes¹⁷.

As medições foram feitas em triplicata e o resultado foi calculado em mL/g. A densidade específica da massa crua foi determinada através da divisão da quantidade de massa (g), presente em um béquer pelo volume do mesmo (mL)¹⁴.

Tabela 1. Delineamento experimental completo (2²) para a obtenção do bolo *light* e *diet*

Ensaios	% de polidextrose	% de emulsificante do tipo mono e diglicerídeos
1	-1 (82,91)	-1 (1,15)
2	+1 (97,09)	-1 (1,15)
3	-1 (82,91)	+1 (1,85)
4	+1 (97,09)	+1 (1,85)
5	0 (90,00)	0 (1,50)
6	0 (90,00)	0 (1,50)
7	0 (90,00)	0 (1,50)
8	-1,414 (80,00)	0 (1,50)
9	+1,414 (100,00)	0 (1,50)
10	0 (90,00)	-1,414 (1,00)
11	0 (90,00)	+1,414 (2,00)

Análise sensorial

Durante o decorrer do estudo foram realizadas três análises sensoriais, sendo: 1) avaliação da substituição da gordura por polidextrose e adição de emulsificante; 2) avaliação da adição de inulina e 3) escolha de potenciais sabores para a formulação, com a participação voluntária de 36, 40 e 38 avaliadores não treinados, respectivamente. Todos os voluntários que concordaram em participar das análises sensoriais assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Devido ao grande número de amostras (11 ensaios) para avaliação na primeira análise, optou-se por dividir essa avaliação em três dias consecutivos. No primeiro dia foram avaliados os ensaios: 1, 2, 3 e 4; no segundo dia os ensaios: 5, 6, 7 e 8 e no terceiro dia ensaios: 9, 10 e 11. Foram excluídas as opiniões dos julgadores que não compareceram em todos os três dias.

O julgamento das amostras foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alfenas-MG. As avaliações foram conduzidas em cabines individuais e sob luz fluorescente. Na primeira e na segunda análise sensorial, foram utilizadas fichas de avaliação para julgar o grau de aceitação e aparência das formulações, por meio de uma escala hedônica de 9 pontos, em que 9 corresponde ao “gostei extremamente”, 5 corresponde a “indiferente” e o ponto 1 ao “desgostei extremamente”¹⁸.

Na terceira análise sensorial os julgadores expressaram sua preferência entre potenciais sabores para o bolo. Foi utilizada uma ficha contendo os sabores devidamente codificados com três dígitos, na qual os julgadores deveriam assinalar o sabor de maior

preferência. Também foi utilizada uma escala para expressar a atitude de compra em relação ao produto selecionado. Esta escala variou entre: “certamente compraria”, “possivelmente compraria”, “talvez comprasse/talvez não comprasse”, “possivelmente não compraria” e “certamente não compraria”¹⁸.

Todas as análises foram realizadas seguindo o delineamento de blocos completos casualizados. Nesse delineamento cada provador degusta e avalia todas as amostras formuladas. Durante as análises cada julgador recebeu simultaneamente amostras das formulações com cerca de 15 g cada e codificadas com três dígitos. Também foi entregue um copo com água à temperatura ambiente, para enxaguar a boca antes de cada avaliação.

Caracterização nutricional

As formulações foram submetidas às seguintes análises para determinação da composição centesimal¹⁹: umidade pelo método de secagem à vácuo; proteínas pelo método de micro Kjeldahl; lipídios pelo método de Soxhlet; cinzas pelo método via seca; fibra alimentar total (solúvel e insolúvel) pelo método enzimático gravimétrico; amido pelo método Somogyi-Nelson²⁰; e açúcares por diferença. As análises de composição química foram realizadas em triplicata e os valores expressos em porcentagem. A formulação padrão também foi submetida às análises para posterior comparação e definição da redução do teor calórico.

O valor calórico das amostras foi determinado conforme a Portaria nº 41, de 14 de janeiro de 1998²¹, sendo considerados para cálculo de valor energético os seguintes fatores de conversão: amido e proteínas - 4 kcal/g ou 17 kJ/g; e lipídios - 9 kcal/g ou 37 kJ. Para o cálculo do valor calórico referente aos açúcares, a quantidade em gramas encontrada foi multiplicada por 2, devido ao fato de que o edulcorante utilizado nas formulações (isomalte) possui 2 kcal/g²².

Adição de inulina

Uma vez definida a melhor formulação *diet/light*, ou seja, aquela que apresentou maior aceitação entre os consumidores em função das características sensoriais e melhor desempenho nos atributos físico-químicos, procedeu-se a adição de inulina (Clariant S/A) à formulação nas proporções 6%, 12%, 18% e 24%, em relação à quantidade de farinha de trigo. Essas formulações foram avaliadas quantos às características

físico-químicas, à análise sensorial dos atributos aparência e a aceitação e a composição nutricional.

Seleção de sabores e atitude de compra

Na formulação *diet/light* com inulina que recebeu as melhores notas na etapa anterior aplicou-se essências de: baunilha, côco, chocolate e laranja; sendo submetida à análise sensorial com provadores não treinados para definição de potenciais sabores para a formulação de bolo e a atitude de compra.

RESULTADOS

As variáveis independentes (porcentagem de polidextrose e emulsificante) não apresentaram influência significativa ($p < 0,05$) sobre a aceitação, aparência, volume e densidade dos bolos. Apesar de os coeficientes de determinação (R^2) obtidos apresentarem valores muito baixos, eles diferiram do valor zero. Os resultados portanto foram utilizados para se construir, de forma exploratória, “superfícies de resposta” (Figura 1). As análises exploratórias das superfícies de resposta obtidas foram condizentes com o teste de média das variáveis avaliadas (Tabela 2).

Após analisar os resultados das características físicas e as notas da análise sensorial, selecionou-se a formulação 9 (substituição de 100% da gordura por polidextrose e adição de 1,5% de emulsificante) para adição de inulina, pois a mesma apresentou notas satisfatórias nos atributos aparência e aceitação, volume específico alto e densidade específica da massa crua baixa (Tabela 2). Os resultados obtidos na análise sensorial e a determinação das características físicas do bolo *light/diet* adicionado de inulina estão apresentados na Tabela 3.

Devido ao fato da formulação com adição de 24% de inulina ter apresentado a maior densidade específica da massa crua e a menor nota de aceitação, escolheu-se a formulação com 18% de inulina para determinação da composição centesimal e aplicação de essências, pois a mesma recebeu notas satisfatórias nos atributos aparência, aceitação, volume específico e densidade específica da massa crua.

A caracterização nutricional das formulações: 1) padrão, elaborada com sacarose e gordura hidrogenada; 2) *light/diet* (LD) elaborada com polidextrose, emulsificante e edulcorantes; e 3) *light/diet* acrescida de inulina (LDI) estão apresentadas na Tabela 4. Houve uma diminuição de 31,82 e 33,95% do teor calórico nas formulações LD e LDI respectivamente, em relação à formulação padrão.

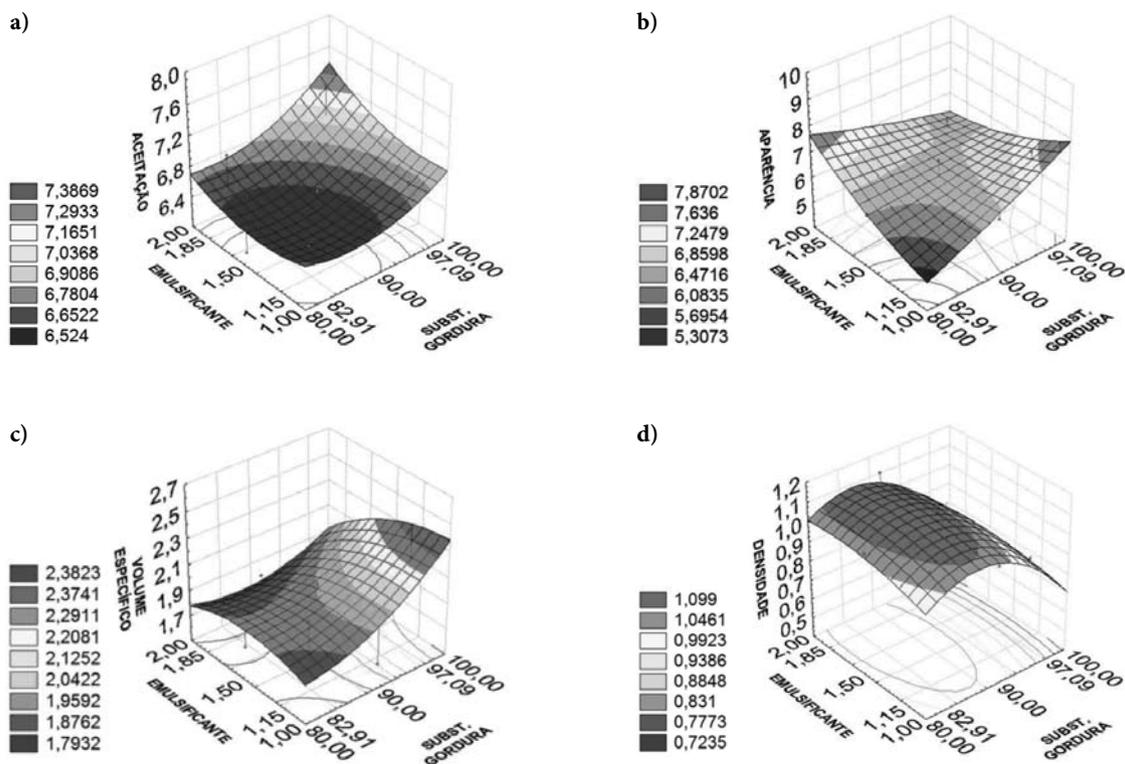


Figura 1. Superfícies de resposta para a substituição da gordura do bolo por polidextrose e emulsificante. (a) atributo aceitação, (b) atributo aparência, (c) atributo volume específico, (d) atributo densidade específica da massa crua

A análise sensorial para escolha de potenciais sabores revelou o sabor “laranja” como preferido por 15 julgadores (39,5%), seguido do sabor de “coco” por 13 (34,2%), sabor chocolate por 6 (15,8%) e por último o sabor “baunilha” por 4 (10,5%). A atitude de compra para o sabor “laranja” foi de 60% para “certamente compraria” e 40% para “possivelmente compraria” indicando bom potencial de comercialização do produto

DISCUSSÃO

Para a característica física volume específico as maiores médias foram atribuídas às formulações 2, 9 e 1, nas quais foram adicionadas 1,15% (1 e 2) e 1,5% (9) de emulsificante. Em um estudo no qual foram utilizadas gomas guar e xantana como substitutos de gorduras e com adição de um agente emulsificador, Zambrano et al.¹⁴ relataram que o uso de emulsificante está relacionado com a qualidade sensorial dos bolos no que se refere ao volume. Verificou-se também que o menor volume do bolo pronto está relacionado com a maior quantidade de goma utilizada e o maior volume, com a maior quantidade de emulsificante. Esse resultado condiz com o efeito mais conhecido dos emulsificantes, que é a propriedade de promover a

Tabela 2. Resultados da análise sensorial e características físicas das diferentes formulações dos bolos

Formulações	**Dens. (g/mL)	**Vol. (mL/g)	Aceitação	Aparência
1	1,03 ^{bc}	2,08 ^{ab}	6,53 ^{bc}	5,71 ^c
2	0,87 ^d	2,47 ^a	6,72 ^{abc}	7,44 ^a
3	1,03 ^{bc}	1,81 ^{bcd}	6,97 ^{ab}	6,97 ^{ab}
4	0,83 ^d	1,96 ^{bcd}	7,33 ^a	6,59 ^{abc}
5	1,05 ^{abc}	2,06 ^{bcd}	6,31 ^{bc}	6,91 ^{ab}
6	1,12 ^a	1,99 ^{bcd}	6,58 ^{bc}	6,24 ^{bc}
7	1,05 ^{abc}	1,89 ^{bcd}	6,56 ^{bc}	5,85 ^{bc}
8	1,03 ^{bc}	1,77 ^{bcd}	6,19 ^c	6,06 ^{bc}
9	0,75 ^d	2,14 ^{ab}	6,83 ^{abc}	6,44 ^{abc}
10	1,00 ^c	1,69 ^{bc}	6,53 ^{bc}	6,18 ^{bc}
11	1,10 ^{ab}	1,63 ^d	6,39 ^{bc}	6,79 ^{abc}

*Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente ($p < 0,05$). ** dens. = densidade específica da massa crua; vol. = volume específico

aeração da massa, o que influencia de maneira direta no volume do bolo, em razão da formação e estabilização da espuma. As massas de bolo com volume específico baixo (embatumadas), apresentam aspecto desagradável ao consumidor, associadas com alto teor de umidade, falhas

Tabela 3. Caracterização nutricional das formulações de bolo padrão, *light/diet* e *light/diet* com inulina

Adição de inulina*	** Dens. (g/mL)	** Vol. (mL/g)	Aceitação	Aparência
Ensaio 1 (6%)	0,82 ^b	2,46 ^a	7,00 ^a	5,95 ^c
Ensaio 2 (12%)	0,86 ^{ab}	2,39 ^a	6,83 ^{ab}	6,55 ^{bc}
Ensaio 3 (18%)	0,92 ^{ab}	2,59 ^a	6,58 ^{ab}	7,48 ^{ab}
Ensaio 4 (24%)	0,97 ^a	2,14 ^a	6,40 ^b	7,70 ^a

*Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna não diferem entre si significativamente ($p < 0,05$). ** dens. = densidade específica da massa crua; vol. = volume específico

Tabela 4. Caracterização nutricional das formulações de bolo padrão, *light/diet* e *light/diet* com inulina

	Padrão	Light/diet (LD)	Light/diet com inulina (LDI)
Umidade (g/100 g)	25,25 ± 0,16 ^b	26,09 ± 0,05 ^a	26,53 ± 1,02 ^a
Cinzas (g/100 g)	1,47 ± 0,13 ^b	1,36 ± 0,06 ^a	1,38 ± 0,07 ^a
Proteína (g/100 g)	9,89 ± 0,26 ^a	10,41 ± 0,17 ^a	10,75 ± 0,36 ^a
Lipídeos (g/100 g)	11,15 ± 0,72 ^a	2,03 ± 0,31 ^b	1,98 ± 0,03 ^b
Amido (g/100 g)	32,88 ± 0,52 ^a	32,87 ± 0,42 ^a	32,87 ± 0,46 ^a
** Açúcares (g/100 g)	19,35 ± 0,13 ^b	23,21 ± 0,23 ^a	19,05 ± 0,18 ^b
Fibras (g/100 g)	n.d.***	4,03 ± 0,10 ^b	7,44 ± 0,06 ^a
Calorias (kcal/100 g)	348,83 ^a	237,81 ^b	230,4 ^b
Redução kcal (%)	-	31,82 ^a	33,95 ^a

*Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma linha não diferem entre si significativamente ($p < 0,05$). ** estimado por diferença; *** n.d. = não determinado

no batimento e cocção, pouca aeração, difícil mastigação, sabor impróprio e baixa conservação. Por isso os bolos necessitam de quantidade adequada de líquidos, fermento químico, emulsificante e aeração eficiente¹⁵.

A densidade específica constitui a medida de incorporação e retenção de ar na massa de bolo. Menor densidade significa maior incorporação de ar, conforme pode ser constatado na comparação entre a densidade da massa e a medida de volume do bolo. Valores de densidade altos desfavorecem o volume do produto e provocam a formação de miolo fechado, massudo e com aspecto visual desagradável²³. A análise física das formulações demonstraram que em relação à densidade da massa crua as menores médias foram atribuídas às formulações 9, 4 e 2, que possuem a maior porcentagem

de substituto de gordura, ou seja, 100%, 97,09% e 97,09% respectivamente. Assim pode-se afirmar que a substituição da gordura hidrogenada pela polidextrose possibilitou a obtenção de uma massa mais leve.

As maiores notas para o atributo aceitação foram obtidas pelas formulações com maior nível de adição de emulsificante, ensaios 3 e 4, notas 7,33 e 6,97, respectivamente. Entretanto estes valores não diferiram significativamente das notas obtidas pelos ensaios 2 e 9, as quais tiveram o maior percentual de substituição da gordura por polidextrose. Resultado semelhante foi conseguido por Turola¹³, que em pesquisa para desenvolvimento de bolo *diet*, também obteve maior aceitação das formulações nas quais os níveis de substituição de gordura por polidextrose foram maiores.

Em relação à aparência, as maiores notas foram dadas às formulações 2, 3 e 5 (7,44; 6,97 e 6,91, respectivamente). Nesse quesito a formulação 9 não figurou entre as três primeiras, mas não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a nota atribuída para essa formulação e as que obtiveram os melhores julgamentos. A formulação 9 possui o maior teor de polidextrose, que é uma fibra dietética considerada quimicamente como carboidrato²⁴, assim, pode-se supor que a Reação de Maillard foi mais acentuada, o que ocasionou uma coloração mais escura que a ideal para bolos. Essa reação é desejável em bolos, pois possibilita a obtenção da cor e do aroma característico do alimento. No presente estudo, a aparência dessa formulação foi melhorada diminuindo-se o tempo de assamento do bolo para 14 minutos, sem comprometer as demais características desejadas para o produto.

Para a obtenção de bolo com baixo teor de açúcar, Valencia et al.²⁵ utilizaram polidextrose em substituição a 50% do teor de açúcar. Os resultados encontrados demonstraram diferença significativa para o atributo cor entre o bolo padrão sem polidextrose e o bolo proposto, que apresentou uma coloração mais escura ($p < 0,05$). Em estudo desenvolvido por Turola¹³, a cor escura da crosta externa foi citada por 50% dos consumidores para descrever o que menos gostaram em relação à aparência dos bolos *diet*, também utilizando polidextrose como substituto de gordura. A utilização de polidextrose para elaboração de bolos por Hicsamaz et al.⁶ também resultou em uma coloração mais escura devido à acentuação da reação de escurecimento.

A adição de inulina na formulação *light/diet* provocou um incremento progressivo da densidade

específica da massa crua à medida que se aumentava o teor de inulina. Resultado semelhante ocorreu no estudo de Ferreira e Chang²⁶ que, para desenvolvimento de bolo com substituição parcial da farinha de trigo por raiz de chicória como fonte de inulina, obteve uma maior densidade específica da massa crua com o aumento da quantidade de chicória empregada. Para o atributo volume específico, não houve diferença significativa entre as formulações.

A análise sensorial revelou que à medida que se acrescentava inulina nas formulações, as notas atribuídas para a aceitação decresciam. No entanto, somente as formulações com 6% e 24% de adição de inulina diferiram entre si significativamente ($p < 0,05$). A dificuldade na formulação de produtos com alta concentração de fibras se deve a seus efeitos prejudiciais sobre as propriedades estruturais de outros componentes do alimento. Torna-se evidente, portanto, a necessidade de adequar o nível de fibra no alimento com pequena mudança em suas características sensoriais e de textura, tornando o produto aceitável pelo consumidor⁸.

Embora pareça simples, não é fácil modificar a formulação dos produtos de panificação que são tecnicamente complexos, pois ingredientes como gordura e açúcar lhes conferem importantes características de textura, maciez, sabor e conservação. O desenvolvimento de formulações para panificação com redução do valor calórico, desta forma torna-se um desafio tecnológico²⁷.

A redução calórica em bolos tem sido testada por diferentes estudos, sempre buscando substituir parcialmente ou totalmente os ingredientes convencionais por opções mais saudáveis e visando não comprometer a qualidade sensorial do alimento^{6,8,13,14}. A substituição de 25% do açúcar de bolos por polidextrose realizada por Hicsasmaz et al.⁶, revelou uma redução calórica de 18,5% quando comparada ao bolo convencional. Já a substituição de 50% de farinha de trigo por inulina e farinha de yacon otimizada por Moscato et al.⁸ promoveu uma redução de 24% do teor calórico. Outra pesquisa, desenvolvida por Zambrano et al.¹⁴ na qual substituiu-se parcialmente a gordura hidrogenada por goma guar e xantana, resultou numa redução de 50% do teor de lipídeos e de 9% das calorias, em relação ao bolo padrão. No presente estudo a substituição total da gordura por polidextrose, do açúcar por isomalte e sucralose, com adição de emulsificante permitiu uma redução do conteúdo de gordura em torno de 80% e redução calórica em torno de 30%, quando comparado ao bolo padrão. Esses percentuais de redução calórica e do teor de gordura, permitem classificar a formulação como "*light*"²⁷.

A formulação elaborada pode ainda ser classificada como "alimento de baixo teor de gordura", pois apresenta menos de 3 g de gordura total por 100 g do produto²⁸. O baixo teor de gordura possibilitou uma significativa redução no valor calórico, além disso, por ser um alimento com teor lipídico baixo, poderá ser consumido de forma moderada, por pessoas portadoras de dislipidemias.

A substituição da sacarose pelos edulcorantes, isomalte e sucralose, permite também classificá-la como produto alimentício "*diet*"²⁹. Alimentos caracterizados como "*diet*" são indicados para indivíduos em condições metabólicas e fisiológicas específicas, como por exemplo: indivíduos que necessitam restringir a ingestão de determinados nutrientes em sua dieta alimentar (carboidratos, gorduras, proteínas, sódio) e aqueles que necessitam controlar a ingestão de nutrientes (praticantes de atividade física, controle do peso, entre outros)³⁰.

As características apresentadas pela formulação de bolo elaborada neste trabalho (ausência de sacarose, redução calórica, baixo teor de gordura e alimento com alto teor de fibras) possibilitam a indicação deste alimento para indivíduos portadores de diabetes, dislipidemias e/ou obesidade e para aqueles preocupados com a manutenção ou obtenção de um peso corporal dentro dos parâmetros recomendados.

CONCLUSÃO

A realização deste estudo permitiu obter uma formulação de bolo com boa aceitação sensorial e potencial de comercialização, podendo ser caracterizada como alimento "*light*", "*diet*", com "baixo teor de gorduras" e "alto teor de fibras". Os resultados obtidos indicam possibilidades de produção de um alimento funcional saboroso, que poderá ser incluído na alimentação dos consumidores com necessidades especiais e aqueles preocupados com a saúde.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao programa de bolsas PROBIC/UNIFAL-MG, pela concessão da bolsa de iniciação científica. Em adição, nossos agradecimentos à Tovani Benzaquen, pelo fornecimento da polidextrose; Lida Mercantil Ltda., pelo fornecimento do emulsificante; Domondo Ingredientes Alimentícios, pelo fornecimento do isomalte e da sucralose; e Clariant S/A, pelo fornecimento da inulina.

REFERÊNCIAS

1. Astrup A. Healthy lifestyles in Europe: prevention of obesity and type II diabetes by diet and physical activity. *Public Health Nutr*. 2001;4(2B):499-515.
2. Benasi VT, Watanabe E, Lobo AR. Produtos de panificação com conteúdo calórico reduzido. *Bol CPPA*. 2001;19(2):225-42.
3. American Dietetic Association - ADA. American Dietetic Association Reports. Position of the American Dietetic Association: functional Foods. *J Am Diet Assoc*. 2009;109(4):735-45.
4. Lucchese T, Batalha MO, Lambert JL. Marketing de alimentos e o comportamento de consumo: proposição de uma tipologia do consumidor de produtos *light* e ou *diet*. *Org Rur Agroind*. 2006;8(2):227-9.
5. American Dietetic Association - ADA. Position of the American Dietetic association: fat replacers. *J Am Diet Assoc*. 2005;105(2):266-75.
6. Hicsasmaz Z, Yazgana Y, Bozoglu F, Katnas Z. Effect of polidextrose substitution on the cell structure of the high-ratio cake system. *Lebensm Wiss U Technol*. 2003;36(4):441-50.
7. Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. *Braz J Nutr*. 2005;93(Suppl 1):S13-25.
8. Moscato JA, Prudêncio-Ferreira SH, Haully MCO. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. *Cienc Tecnol Aliment*. 2004;24(4):634-40.
9. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Arch Latinoam Nutr*. 2007;57(4):387-96.
10. Haully MCO, Moscatto JA. Inulina e Oligofruktoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. *Semina*. 2002;23(1):105-18.
11. Saad SMI. Probiotics and Prebiotics: the state of the art. *Rev Bras Ciênc Farm*. 2006; 42(1):1-16.
12. Seyhun N, Sumnu G, Sahin S. Effects of different emulsifier types, fat contents, and gum type on retardation of staling of microwave-baked cakes. *Nahrung*. 2003;47(4):248-51.
13. Turola LN. Desenvolvimento de bolo *diet* enriquecido com fibras: otimização do produto por meio de testes sensoriais afetivos [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas; 2002.
14. Zambrano F, Hikage A, Ormenese RCC, Montenegro FM, Raunmiguél AM. Efeito das gomas guar e xantana em bolos com substitutos de gorduras. *Braz J Food Technol*. 2005;8(1):63-71.
15. Pavanelli AP, Cichello MS, Palma EJ. Emulsificantes como agentes de aeração em bolos. [acesso 2010 Mar 2003]. Disponível em: [http://www.oxiteno.com.br/mercados/doc/documentos].
16. STATSOFT. Statistica for Windows: computer program manual. Tulsa: StatSoft; 1995.
17. Karaoglu MM, Kotancilar HG, Celik I. Effects of utilization of modified starches on the cake quality. *Starch*. 2001;53(34):162-9.
18. Minim VPR. Análise sensorial: estudos com consumidores. Viçosa: UFV; 2006.
19. Association of Official Analytical Chemistry - AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 18ª ed. Gaithersburg; 2005.
20. Nelson NA. A photometric adaptation of the somogy method for the determination of glucose. *J Biol Chem*. 1944;153:375-80.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. Portaria nº41, 14 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à rotulagem nutricional de alimentos embalados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 21 jan. 1998.
22. Candido LMB, Campos AM. Alimentos para fins especiais e dietéticos. São Paulo: Varela; 1996.
23. Borges JTS, Pirozi MR, Della Lucia SM, Pereira PC, Fialho e Moraes AR, Castro VC. Utilização de farinha mista de aveia e trigo na elaboração de bolos. *Bol CPPA*. 2006;24(1):145-52.
24. Raninen K, Lappi J, Mykkänen H, Poutanen K. Dietary fiber type reflects physiological functionality: comparison of grain fiber, inulin and polydextrose. *Nutr Rev*. 2011;69(1):9-21.
25. Valencia GFE, Millán CLS, Estepa ECM, Botero TS. Efecto de la sustitución con polydextrosa y CMC en la calidad sensorial de tortas con bajo contenido de sacarosa. *Rev. Lasallista Investig*. 2008;5(2):62-7.
26. Ferreira EF, Chang YK. Bolo funcional com raiz de chicória como fonte de fibras e inulina. Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA e Faculdade de Engenharia Agrícola - FEAGRI, UNICAMP. X Congresso interno de iniciação científica da UNICAMP. Set.,2002. [acesso 2009 Ago 18]. Disponível em: [http://www.prp.unicamp.br/pibic/congressos/xcongresso/pdfN/278.pdf].
27. Benasi VT, Watanabe E, Lobo AR. Produtos de panificação com conteúdo calórico reduzido. *Bol CPPA*. 2001;19(2):225-42.
28. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 16 jan. 1998.
29. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 29, 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos para fins especiais. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 jan.1998.
30. Pereira CA, Lopes MLM, Coelho, AIM, Campos MTFS. Alimentos *light* e *diet*: informação nutricional. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa - UFV; 2003.

Elevação dos níveis de amido resistente: efeito sobre a glicemia e na aceitabilidade do alimento

Effect of elevated contents of resistant starch: on the blood glucose and on the food acceptability

RIALA6/1374

Cristiana BASSO¹, Leila Picolli da SILVA², Ana Betine Beutinger BENDER³, Fernanda da SILVEIRA^{3*}

* Endereço para correspondência: ³Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) e Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. Rua Silva Jardim, 1.480/apto 202, Passo D'Areia, CEP: 97010-490, Santa Maria, RS, Brasil, tel: 55 32176786, e-mail: fernanda-da-silveira@hotmail.com

¹ Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria

² Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria

Recebido: 19.04.2011 - Aceito para publicação: 27.07.2011

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito do aumento dos níveis de amido resistente na glicemia e a influência do congelamento usado para aumentar estes níveis, sobre a aceitabilidade de alimentos usualmente consumidos na dieta. Foram preparadas refeições compostas por arroz, feijão e massa contendo, respectivamente, 4,36%; 2,10% e 2,50% de amido resistente, e processadas por cocção. As refeições contendo, respectivamente, 7,25%; 4,77% e 5,45% de amido resistente foram submetidas a cocção-armazenamento a -18 °C durante sessenta dias. Os preparados foram analisados quanto à resposta glicêmica e análise sensorial. O aumento glicêmico médio foi observado aos trinta minutos após ingestão, sendo superior em relação aos noventa minutos para as refeições compostas por alimentos cozidos e armazenados e recém-cozidos. Em ambos os tempos avaliados não ocorreram diferenças significativas. Entre as amostras de arroz não houve diferença significativa na aparência, odor, textura e sabor. Para a massa, a diferença não ocorreu somente no odor e para o feijão houve diferença na aparência da amostra armazenada. A elevação dos teores de amido resistente pelo processo de congelamento não refletiu na resposta glicêmica e os alimentos congelados apresentaram aceitabilidade após descongelamento e aquecimento.

Palavras-chave. amido, resposta glicêmica, armazenamento de alimentos, análise sensorial.

ABSTRACT

This study assessed the effect of resistant starch contents increase on blood glucose rate and the influence of freezing procedure, used for increasing these contents, on the acceptability of foods consumed on diet. Meals consisted of rice, beans and pasta containing 4.36%, 2.10% and 2.50% of resistant starch, respectively, were cooked and meals containing 7.25%, 4.77% and 5.45% of resistant starch, respectively, were cooked and stored at -18 °C for sixty days. These meals were assessed on glycemic response and sensory analysis. As for glycemic response, the glucose medium increase occurred at thirty minutes after ingestion, which was higher comparing to ninety minutes for meals consisted of cooked and stored food and the freshly cooked one; no significant differences were found at the both times evaluated. Among the rice samples no significant difference was found in appearance, smell, texture and flavor; for mass sample, this difference was not found in odor only. As for beans, the difference was detected in the appearance of stored sample. Increasing resistant starch contents due to the freezing process did not reflect on the glycemic response and the foods subjected to freezing and thawing procedure were well accepted after being thawed and heating.

Keywords. starch, glycemic response, food storage, sensory analysis.

INTRODUÇÃO

O amido é a principal fonte de energia provinda dos alimentos. No entanto, foi observado, a partir da década de 1980, no Japão, que uma fração dele não era digerida pelas enzimas humanas, escapando da digestão no intestino delgado e chegando direto ao cólon, onde servia como substrato para a flora bacteriana. A essa fração, com comportamento similar ao das fibras alimentares, inclusive no que diz respeito à ação benéfica à saúde, recebeu a denominação de amido resistente (AR)¹.

Assim como as fibras, o AR contribui para a queda do índice glicêmico (IG) dos alimentos, proporcionando menor resposta glicêmica e, conseqüentemente, menor resposta insulínica, auxiliando no tratamento de diabetes, principalmente do tipo 2². Vários autores concordam que, em indivíduos diabéticos, o consumo de carboidratos digestíveis não pode exacerbar a hiperglicemia pós-prandial e deve prevenir eventos hipoglicêmicos. No entanto, as diferenças nas respostas glicêmicas e insulinêmicas ao amido da dieta estão diretamente relacionadas à sua respectiva taxa de digestão³. Assim alimentos lentamente digeridos ou com baixo IG têm sido associados ao melhor controle do diabetes, e, em longo prazo, podem até mesmo diminuir o risco de desenvolver a doença⁴.

O conteúdo de AR dos alimentos e a resposta glicêmica têm sido relacionados como importantes indicadores da digestibilidade do amido, entretanto ainda não está totalmente elucidada essa relação tanto em diabetes humano quanto em modelos animais, pois estudos realizados mostram resultados bastante conflitantes. Mas, segundo Helbig⁵, acredita-se que o AR seja um candidato ideal para o controle glicêmico em condições de diabetes. Também a amilose interfere na taxa de digestão do amido, sendo que, quanto maior seu teor, menor a digestão e, conseqüentemente, menores as respostas glicêmicas⁶.

Conforme proposto por Thompson et al.⁷ e Tovar et al.⁸, cabe ressaltar que alimentos com quantidades significativas de amido os quais são cozidos com adequadas proporções de água e, em um próximo momento, são resfriados, ou seja, alimentos que passam por um processo de gelatinização, acabam sofrendo a retrogradação do amido. Por sua vez, esse amido retrogradado torna-se menos disponível para a digestão. Ao mesmo tempo, o elevado teor de amilose, a baixa temperatura de armazenamento, a baixa umidade de gel de amido, entre outras condições, podem influenciar a

retrogradação do amido e conseqüentemente esse amido retrogradado passa a representar uma fonte de amido resistente. Esses fatores precedentes podem sugerir como o resfriamento e o congelamento aumentariam os teores de AR dos alimentos.

No entanto, para um produto modificado, há necessidade de pesquisas em relação à aceitabilidade do consumidor. A importância de se avaliarem os alimentos sensorialmente consiste em proporcionar ao consumidor prazer em consumir o produto, para ser aceito no mercado e se tornar um hábito alimentar. Sendo assim, a avaliação sensorial se torna um suporte técnico tanto para a pesquisa, quanto para a indústria e o marketing⁹.

Diante do exposto, o presente estudo foi conduzido com os objetivos de verificar o efeito do aumento dos níveis de amido resistente na glicemia e a influência do congelamento usado para aumentar os respectivos níveis, sobre a aceitabilidade de alimentos usualmente consumidos na dieta.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram testadas duas refeições (recém-feita e congelada) compostas por três alimentos usualmente consumidos pela população brasileira: uma marca de arroz polido tipo 1, uma marca de feijão preto tipo 1 e uma marca de massa parafuso com ovos, obtidos de mercado local.

Preparo das amostras

O arroz foi submetido à cocção, com uma medida de arroz para duas medidas de água, durante 20 minutos. À medida de feijão foram acrescidas quatro medidas de água, ficando em cocção sob pressão por quarenta minutos e a massa foi coccionada com seis medidas de água para cada medida de massa, por um período de oito minutos. Foi acrescido o mínimo de temperos e condimentos como óleo e sal para cocção do arroz e massa; tempero verde, alho, sal e pimentão para cocção do feijão, perfazendo percentagem mínima (em torno de 2%) em relação a cada alimento.

A determinação do amido resistente do arroz, feijão e massa cozidos foi realizada no dia do preparo e, após períodos de dez em dez dias, dos alimentos que ficaram sob armazenamento à baixa temperatura, segundo método proposto por Walter et al.¹⁰.

Observou-se que os alimentos que ficaram submetidos pelo período máximo de sessenta dias, sob

temperatura de -18 °C, obtiveram maiores teores de AR. Por esse motivo fez-se a avaliação da resposta glicêmica em humanos e o teste de aceitabilidade, com alimentos preparados no dia e com alimentos armazenados por sessenta dias. Para fins comparativos e também para uma melhor sustentação dos resultados, a análise de amilose foi determinada pelo mesmo modo de preparo empregado para a determinação do amido resistente, porém, pelo método iodométrico, seguindo técnica proposta por Gilbert e Spragg¹¹.

Antes de serem ofertados aos participantes, os alimentos foram aquecidos em forno microondas na potência máxima, por aproximadamente um minuto e trinta segundos, atingindo temperatura interna de aproximadamente 70 °C.

Resposta glicêmica

Fizeram parte do estudo da resposta glicêmica trinta e quatro indivíduos adultos saudáveis, de ambos os sexos (29% masculino e 71% feminino), com média de idade de 26 anos (variação de 20-46 anos). Os participantes não estavam ingerindo medicação, não eram fumantes e apresentavam índice de massa corporal normal (média de 22,4 kg/m²), sendo 65% (n=22) não praticantes de atividade física e 35% (n=12) praticantes de atividade.

Os trinta e quatro participantes foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais:

- Tratamento refeição recém-feita: esse grupo recebeu refeição composta de alimentos (arroz, feijão e massa) preparados no mesmo dia. Foram oferecidas de cada amostra duas colheres de sopa, apresentando em média 25 g de arroz, 40 g de feijão e 20 g de massa com teores de amido resistente de 4,36%; 2,10% e 2,50% na matéria seca, respectivamente para arroz, feijão e massa.

- Tratamento refeição congelada: esse grupo recebeu refeição com os mesmos alimentos, nas mesmas quantidades, porém, submetidos a congelamento por sessenta dias e com teores de amido resistente de 7,25%; 4,77% e 5,45% na matéria seca, respectivamente para arroz, feijão e massa.

Antes da ingestão, foi verificada a glicemia capilar (HGT) de jejum de oito horas dos indivíduos, através do Kit Accu-Check Active® (Roche) com lancetas e fitas reagentes descartáveis. Usando o mesmo procedimento, foram obtidas as respostas glicêmicas após trinta e noventa minutos de realizadas as respectivas refeições, não havendo continuidade porque os níveis de glicemia já se encontravam normais nesse período.

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa conforme prevê a Resolução nº 196/96 que prescreve a ética na pesquisa com seres humanos (Brasil, 1996) e aprovado conforme o Processo nº 23.081.005393/2009-37.

Análise sensorial

Foi realizada a análise sensorial por meio do teste afetivo de aceitabilidade, da qual participaram quarenta e dois indivíduos adultos não treinados. Todos foram voluntários, que se dispuseram a participar das pesquisas e concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os voluntários foram encaminhados ao Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (DTCA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no turno da manhã, para realizar a análise sensorial dos alimentos recém preparados e dos armazenados há sessenta dias, em relação à aparência, textura, odor e sabor.

Os indivíduos ficaram em cabines individuais, onde receberam as amostras codificadas com números de três dígitos; uma ficha de escala hedônica de sete pontos, cujos extremos se referiram a 1- “desgostei muitíssimo” até 7- “gostei muitíssimo”, segundo metodologia descrita por Dutcosky¹² e um copo com água para limpar as papilas gustativas entre a prova de um e outro alimento.

Antes de serem ofertados aos participantes, os alimentos foram aquecidos em forno micro-ondas e oferecidos nas mesmas quantidades relatadas para a verificação da resposta glicêmica.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos a teste T a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), com o auxílio do programa estatístico SPSS 13.0 for Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é possível observar que o consumo do AR no tratamento refeição recém-feita (0,65 g) e no tratamento refeição congelada (1,27 g) não causou diferença significativa na resposta glicêmica após ingestão das refeições, sendo observado acréscimo glicêmico médio em relação ao jejum de 24,5% aos 30 minutos, decaindo para 3% aos 90 minutos pós-ingestão.

As porções ofertadas foram pequenas e foram ofertadas da mesma forma: em uma única refeição.

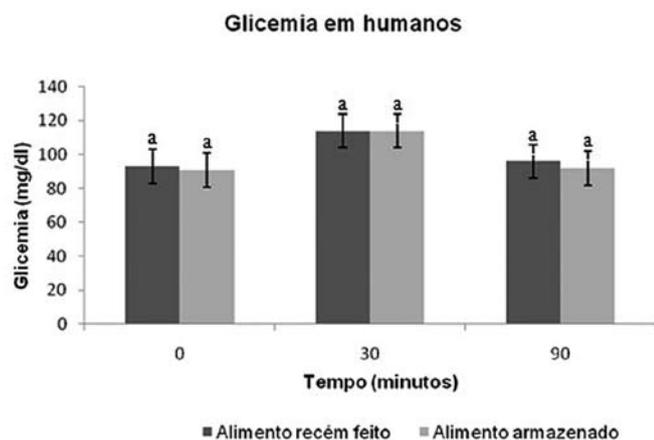


Figura 1. Resposta glicêmica de alimentos recém preparados e alimentos armazenados a -18 °C por sessenta dias (média \pm DP). Valores com letras iguais não diferem significativamente a $p \leq 0,05$

No entanto, percebeu-se que independentemente de ser em matéria seca ou integral, a quantidade de AR duplicou na refeição congelada.

Segundo Salgado et al.¹³, os efeitos do AR sobre a resposta glicêmica são conflitantes, fato comprovado por Caruso¹⁴, o qual demonstrou que flocos de milho produziram elevada resposta glicêmica, embora contivessem elevado teor de AR e amido rapidamente digerido. Da mesma forma Luz et al.¹⁵ observaram glicemia pós-prandial elevada após ingestão de batatas e flocos de milho com alto teor de AR e justificaram esse fato pelo alto percentual de área amorfa, menos densa, que absorve água mais rapidamente, tornando-a mais susceptível à hidrólise enzimática. Outra explicação dos mesmos autores refere-se ao padrão de cristalinidade do amido tipo A presente nos cereais, sensível à hidrólise pela α -amilase, o que também pode justificar os resultados obtidos no presente trabalho, pois foram usados arroz e massa.

Também Englyst et al.¹⁶ concluíram que, embora o amido presente nos alimentos se divida em rapidamente digerido, lentamente digerido e resistente, o rapidamente digerido é que irá definir a resposta glicêmica a ser produzida pelo alimento e não o teor de AR, comprovando, por meio do exemplo anterior, que flocos de milho com elevados teores de amido rapidamente digerido e de AR produzem elevada resposta glicêmica.

Carreira et al.¹⁷ realizaram estudo com dez indivíduos sadios para avaliar a influência da armazenagem de alimentos sob baixa temperatura e a formação de amido resistente sobre o IG; perceberam que

os alimentos submetidos à baixa temperatura diminuíram o IG de feijões e grão de bico, permanecendo o mesmo para a massa e aumentando para a polenta. Esses autores concluíram que a formação de AR demonstrou reduzida influência sob o IG, ressaltando que a armazenagem de alimentos amiláceos sob baixa temperatura pode colaborar para a ingestão do AR, mas seu efeito no IG dependerá das características dos carboidratos de cada alimento. No entanto, na presente pesquisa, a resposta glicêmica foi avaliada por meio da mistura dos três alimentos. Assim, provavelmente, um tenha influenciado na resposta do outro, pois as respostas glicêmicas são diferentes para o arroz, o feijão e a massa.

Carreira et al.¹⁷ ainda inferem que, quando os alimentos estão resfriando, a retrogradação do amido e a formação do AR são ativadas e dessa forma menos amido fica disponível para digestão. No caso das leguminosas (feijão e grão de bico), esse evento interfere na resposta glicêmica, resultando em fontes alimentares de baixo IG e alto conteúdo de AR. Já em relação à polenta e massa, como são compostos de grãos que têm suas estruturas quebradas para elaborar a refeição, esse procedimento rompe a parede celular, tornando o amido mais disponível. Novamente pode-se perceber que, como os alimentos foram oferecidos em conjunto, um influenciou na absorção do outro, e provavelmente, a cristalinidade do amido tipo A presente nos cereais tornou o arroz mais sensível à hidrólise pela α -amilase. Isso ocorreu pelo fato de a estrutura ser rompida durante o processamento, tornando o amido da massa mais disponível. Já no caso do feijão, o aumento do AR provavelmente diminuiu o IG dessa leguminosa. Assim, em conjunto, esses alimentos não alteraram a resposta glicêmica dos indivíduos.

Menezes e Lajolo¹⁸ observaram que o armazenamento de alimentos cozidos induziu à formação de AR, porém produziu diferenciados IG em humanos, aumentando para alguns alimentos e reduzindo para outros. Da mesma forma, verificaram que as diferentes frações de carboidratos presentes nos alimentos, como AR, fibra alimentar, amido total e amilose não representam parâmetros alternativos para predizerem as respostas glicêmicas que os alimentos fontes de amido irão produzir, diferentemente do amido rapidamente digerido, que representa bom marcador para a avaliação do IG em função da elevada e significativa correlação observada.

Outro estudo utilizando alimentos contendo 0% e 54% de AR, segundo os autores comprovou a habilidade

da refeição contendo alto nível de AR para diminuir significativamente a concentração pós-prandial da glicose sanguínea, insulina e epinefrina¹⁹, contrastando com esse estudo. Já Englyst et al.¹⁶ afirmam não haver evidenciada correlação entre o conteúdo de AR e a resposta glicêmica.

Percebe-se que vários fatores podem influenciar na hidrólise e absorção do amido, tais como origem botânica, características do próprio amido, relação amilose/amilopectina, grau de cristalinidade, forma física, quantidade de água, tempo e temperatura de armazenamento, condições de processamento a que são submetidos os produtos amiláceos, assim como interações ocorridas entre esta substância e outros constituintes do alimento²⁰. Também o AR tipo III, amido retrogradado, formado nesse caso pelo cozimento dos alimentos seguido pelo congelamento, pode ter sido afetado pelo conteúdo de amilose, temperatura, forma física, grau de gelatinização, resfriamento e armazenamento²¹⁻²³. Tudo isso influi diretamente sobre a digestão e absorção do amido, influenciando nas respostas glicêmicas e nas propriedades fisiológicas dos alimentos¹⁸.

Em se tratando do IG dos alimentos, embora o arroz seja classificado como um alimento de alto IG (64 a 93% para arroz branco) quando comparado com outros produtos amiláceos, existem variações nesses resultados que podem ser devidas a diferenças na proporção amilose/amilopectina. A maioria do arroz comercializado no país contém em torno de 25% de amilose, mas entre cultivares esse teor pode variar de menos de 1% até 33%, sendo atribuída àqueles com maior teor de amilose, menor taxa de digestão do amido e, dessa forma, menores respostas glicêmica e insulinêmica¹⁸. Na pesquisa em questão os valores encontrados para amilose foram de 25% para o arroz, 20% para a massa e 33% para o feijão, apresentando, portanto, variação entre teor intermediário e alto de amilose.

Pesquisa realizada por Helbig et al.²⁴ com arroz de alto (31,57%), médio (21,84%) e baixo (6,31%) teor de amilose, mostrou que os maiores teores de AR foram obtidos para a amostra com médio teor de amilose. Em ensaio biológico com ratos, os resultados demonstraram que essa amostra ofertada na forma convencional ou parboilizada não afetou significativamente os níveis glicêmicos dos animais. Independentemente do tipo de processo a que foi submetido e do teor de amilose, esse alimento foi capaz de manter a glicemia, e ao longo de noventa minutos comportou-se igual ao controle (amostra ofertada sem substituição da fonte de carboidratos por

arroz convencional e parboilizado). Ou seja, o teor de AR não interferiu na glicemia.

Contrastando com o exposto acima, Denardin et al.²⁵ mostraram que ratos submetidos ao tratamento com arroz com baixo teor de amilose apresentaram maior concentração plasmática pós-prandial de glicose do que os animais dos tratamentos com teores de amilose intermediário e alto. Justificaram esses resultados pelo fato de que a amilose, por possuir cadeia essencialmente linear, apresenta-se mais compacta no grânulo, dificultando o acesso das enzimas digestivas. Dessa forma, sendo mais lentamente digerida e absorvida pelo organismo, resultando em menor concentração plasmática de glicose. Diferentemente da amilopectina, que, por apresentar cadeia ramificada, permite maior acesso das enzimas, sendo digerida e absorvida mais rapidamente, resultando em maior concentração de glicose.

Portanto a relação entre o conteúdo de AR e a resposta glicêmica de alimentos não é simples de ser estabelecida, pois poderia se presumir que alimentos com alto conteúdo de AR levariam as respostas glicêmicas mais tênues. No entanto, percebe-se que isso não é uma regra, por exemplo: batata assada e flocos de milho, mesmo tendo alta quantidade de AR, conduziram à elevada resposta glicêmica, já cevada e legumes produziram baixo índice associado ao alto percentual de AR²⁶.

Embora o presente estudo não tenha revelado influência da elevação dos níveis de consumo de amido resistente sobre a glicemia, deve-se ponderar que vários outros efeitos benéficos ao organismo podem ser obtidos a partir de seu consumo periódico.

No presente trabalho, com relação à influência do congelamento sobre a aceitabilidade dos alimentos, foi possível observar que o congelamento por 60 dias não afetou a aceitabilidade do arroz em nenhum dos parâmetros sensoriais avaliados. Para o feijão apenas a aparência apresentou diferença significativa. Já para a massa, os julgadores apresentaram maior aceitabilidade pela recém-feita em relação à aparência, textura e sabor (Figura 2). No entanto, a elevação do AR pelo uso de congelamento pode provocar alterações não só na molécula do amido, mas também interações e modificações físicas e bioquímicas que podem levar as alterações nas características sensoriais dos alimentos.

No que se refere ao AR comercial, vários são os trabalhos comprovando sua eficiência de uso e ampla aceitabilidade em produtos formulados, ao contrário do AR estimulado pelo congelamento a respeito do

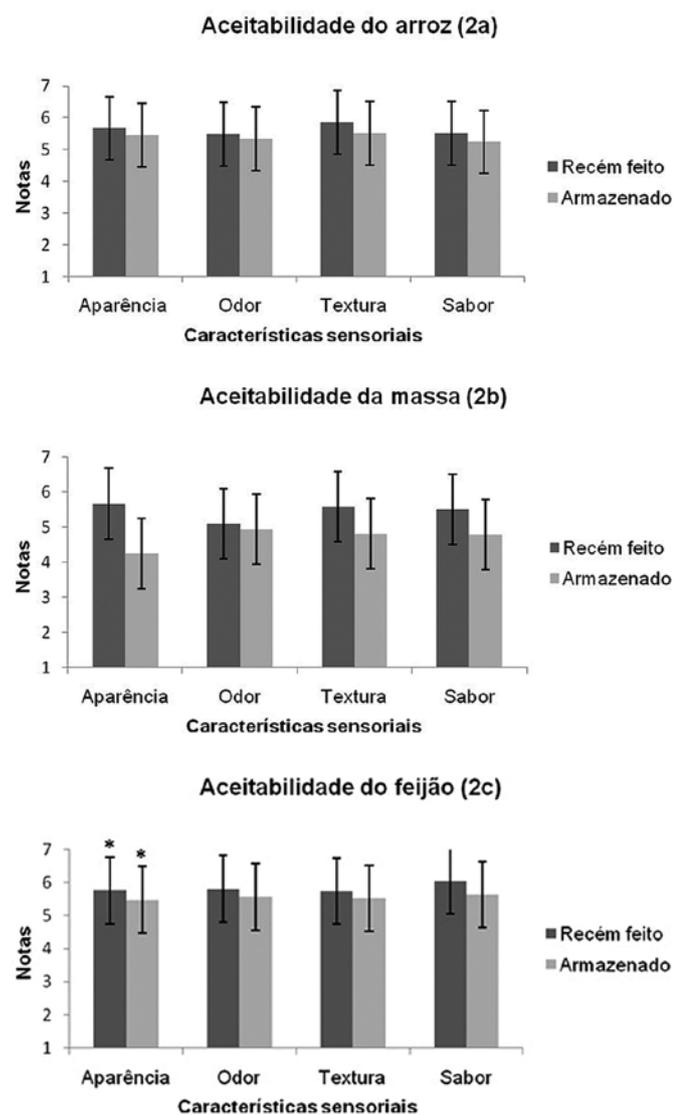


Figura 2. Aceitabilidade dos alimentos recém-feitos e alimentos armazenados (média \pm DP). Valores com * apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$

qual quase nada se encontra na literatura. Pimentel²⁷ desenvolveu biscoitos de polvilho com apelo funcional por meio da adição de AR comercial e obteve boa aprovação entre os participantes; da mesma forma, Aparício et al.²⁸ desenvolveram *cookies* adicionados de 19,34% de AR do amido da banana e por meio da análise sensorial não encontraram diferença significativa entre os *cookies* com e sem adição de AR. Aplicações de AR são apropriadas para a maioria dos produtos de baixa umidade. Estudos têm mostrado que o AR propicia melhor aparência, textura e sabor do que algumas fontes convencionais de fibras, além de melhorar a expansão e crocância em certos alimentos. Como fibra funcional, por possuir cor

branca, sabor neutro e pequeno tamanho de partículas, possibilita formular produtos com maior apelo e maior palatabilidade². Devido a tais características, pode ser usado substituindo a farinha, em uma proporção de 1:1, sem afetar o manuseio e a reologia da massa²⁹. Também pelo reduzido valor calórico, pode ser usado em produtos com apelos *light*².

Em se tratando de métodos de conservação, estudo realizado por Lima et al.³⁰ mostrou que o armazenamento do feijão macassar sob refrigeração dos grãos verdes *in natura*, pré-cozidos e cozidos, só foi satisfatório por um período de trinta e cinco dias. Das três variedades estudadas, duas delas, quando *in natura*, começaram a perder o sabor paulatinamente, expressando essa característica a partir dos trinta e cinco dias de armazenamento sob congelamento. O armazenamento sob congelamento dos grãos verdes pré-cozidos e cozidos apresentou resultados satisfatórios até o período máximo de cinquenta dias (máximo de tempo estipulado na pesquisa). Recomenda-se armazenar cozidos grãos de feijão macassar verde na temperatura de congelamento. Em relação à textura dos grãos cozidos congelados por cinquenta dias, não houve alterações, permanecendo macios; a refrigeração e o congelamento provocaram mudanças nas cores dos grãos armazenados, com menor intensidade para os grãos congelados. Esses resultados foram bem próximos aos encontrados no presente estudo, sendo que a única diferença significativa foi em relação à aparência do feijão armazenado por mais tempo, que ficou um pouco prejudicada.

CONCLUSÃO

Embora o congelamento das amostras tenha elevado os teores de AR, esse acréscimo não foi suficiente para interferir na glicemia dos indivíduos, visto que vários outros fatores podem estar envolvidos na hidrólise e absorção do mesmo.

Em relação à aceitabilidade dos alimentos congelados, independentemente dos resultados glicêmicos, a massa parafuso cozida e armazenada por sessenta dias apresentou menor aceitabilidade na maioria dos atributos, levantando-se a hipótese de usar outro tipo de massa, por exemplo, espaguete, para pesquisas posteriores. Já os outros alimentos foram aceitos em praticamente todos os atributos abordados, mostrando, portanto, que é possível aumentar o teor de AR sem interferir na qualidade sensorial dos produtos.

REFERÊNCIAS

1. Lobo AR, Silva GML. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. *Rev Nutr*. 2003;16(2):219-26.
2. Pereira KD. Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(supl):88-92.
3. O'dea K et al. Rate of starch hydrolysis in vitro as a predictor of metabolic responses to complex carbohydrate in vivo. *Am J Clin Nutr*. 1981;1991-3.
4. Jenkins DJA, Vuksan V, Kendall CWC, Würsch P, Jeffcoat R, Waring S, et al. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr*. 1998;17(6):609-16.
5. Helbig E. Efeitos do teor de amilose e da parboilização do arroz na formação de amido resistente e nos níveis glicêmico e lipêmico de ratos wistar [tese de doutorado]. Pelotas (RS): Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/Universidade Federal de Pelotas - UFPel; 2007.
6. Hu P. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents. *J Cereal Sci*. 2004;40:231-7.
7. Thompson DB. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Sci Technol*. 2000;11:245-53.
8. Tovar J, Melito C, Herrera E, Rascón A, Pérez E. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. *Food Chem*. 2002;76:455-9.
9. Della Torre JCM, Rodas MAB, Badolato GG, Tadini CC. Sensory evolution and consumer test of minimally processed orange juice. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2003;23(2):105-11.
10. Walter M, Silva LP, Perdomo DMX. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. *Alim Nutr*. 2005;16(1):39-43.
11. Gilbert GA, Spragg SP. Iodine Sorption: "Blue Value". In: Whistler, R.L. et al. *Methods in carbohydrate chemistry*, v. IV - starch. London: Academic Press; 1964. p. 168-9.
12. Dutcosky SD. *Análise sensorial de alimentos*. 2ª. ed. Curitiba: Editora Universitária Champagnat; 2007.
13. Salgado SM, Faro ZP, Guerra NB, Livera AVS. Aspectos físico-químicos do amido resistente. *Bol CEPPA*. 2004;23(1):109-22.
14. Caruso L, Menezes EW. Índice glicêmico dos alimentos. *Nutrire*. 2000;19/20: 49-63.
15. Luz SS, Campos PL, Ribeiro SML, Tirapegui J. Aspecto atual da digestão e absorção de carboidratos. *Arq Gastroenterol*. 1997;34(3):175-85.
16. Englyst KN, Englyst HN, Hudson GJ, Cole TJ, Cummings JH. Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:448-54.
17. Carreira MC, Lajolo FM, Menezes EW. Glycemic index: effect of food storage under low temperature. *Braz Arch Biol Technol*. 2004;47(4):569-74
18. Menezes EW, Lajolo F. Métodos in vivo e in vitro para determinar o IG: experiências em alimentos brasileiros. In: Seminário "Índice glicêmico en salud y alimentación humana". Inciensa: Costa Rica, set. 2002.
19. Raben A, Tagliabue A, Christensen NJ, Madson NJ, Holst JJ, Astrup A. Resistant Starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety. *Am J Clin Nutr*. 1994;60:544-51.
20. Hoover R, Zhou Y. In vitro and in vivo hydrolysis of legume starches by alpha-amylase and resistant starch formation in legumes - a review. *Carbohydr Polym*. 2003;54:401-17.
21. Berry CS. Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *J Cereal Sci*. 1986;4:301-14.
22. Eggum BO, Juliano BO, Perez CM, Acedo EF. The resistant starch, undigestible energy and undigestible protein contents of raw and cooked milled rice. *J Cereal Sci*. 1993;18(2):159-70.
23. Goñi I, Garcia-Diz EM, Saura-Calixto F. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chem*. 1996;56:445-9.
24. Helbig E, Dias ARG, Tavares RA, Schirmer MA, Elias MC. Arroz parboilizado efeito na glicemia de ratos wistar. *Arch Latinoam Nutr*. 2008;58(2):149-55.
25. Dernardin CC, Walter M, Silva LP, Souto GD, Bertocello GS, Fagundes CAA. Efeito dos teores de amilose de cultivares de arroz no metabolismo glicêmico em ratos. IV CBAI, Santa Maria; 2005.
26. Truswell AS. Glycemic index of foods. *Eur J Clin Nutr*. 1992;46:91-101.
27. Pimentel NLM. Biscoito de polvilho suplementado com amido resistente: um novo alimento funcional [dissertação de mestrado]. Londrina (PR): Universidade Estadual de Londrina; 2007.
28. Aparício SA et al. Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *J Food Comp Anal*. 2007;20(3-4):175-81.
29. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. Resistant starch - a review. *Inst Food Technol*. 2006;5:1-17.
30. Lima NL, Emanuelle C, Silva CL, Diniz MC, Oliveira MRT, Gadelha TS. Efeito sobre a conservação de quatro variedades de feijão macassar verde (*Vigna unguiculata L. WALP.*): submetidos a temperaturas de refrigeração e congelamento. *Rev Bras Prod Agroindustr*. 2000;2(2):57-69.

Aceitação e intenção de consumo de pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio

Consumer acceptance and purchase intention of bread enriched with milk serum and calcium carbonate

RIALA6/1375

Cristiane Santos Sânzio GURGEL^{1*}, Janeeyre Ferreira MACIEL¹, Larissa Raphaela Gonçalves de FARIAS¹, Maria José de Carvalho COSTA², Ricardo Targino MOREIRA²

*Endereço para correspondência: ¹ Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil, CEP: 58059-900, tel: 83 3216-7269, e-mail: cristianesantos_nutri@hotmail.com

² Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Recebido: 18.08.2010 - Aceito para publicação: 21.07.2011

RESUMO

Neste trabalho foram avaliados sensorialmente um pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio, em comparação com uma amostra comercial, por indivíduos de diferentes idades. Os pães enriquecidos apresentaram teores de 783 mg de cálcio/100 g. Participaram grupos pertencentes a quatro diferentes estágios de vida (G1=crianças, G2=adolescentes, G3=adultos e G4=idosos). Para G1 aplicou-se teste de aceitação global por escala hedônica facial (cinco pontos) e para G2, G3 e G4 aplicou-se questionário para caracterizar hábitos de consumo, teste de aceitação (escala hedônica nove pontos) e intenção de consumo (escala hedônica cinco pontos). Os resultados dos testes sensoriais foram analisados pelo teste t-Student em nível de significância de 5%. Para G1, o pão enriquecido foi tão bem aceito quanto à amostra comercial ($p>0,05$). O G2 demonstrou melhor aceitação e atitude de consumo do pão enriquecido, para todos os atributos sensoriais. Para G3, o sabor teve melhor aceitação do que o pão comercial, sem diferenças nos demais atributos e na atitude de consumo ($p>0,05$). O G4 não diferiu na aceitação e na atitude de consumo dos pães ($p>0,05$). O pão de forma enriquecido analisado neste estudo demonstra ter elevado potencial de comercialização.

Palavras-chave. cálcio, alimento enriquecido, grupos populacionais.

ABSTRACT

This study evaluated the acceptability and purchase intention of milk serum and calcium carbonate-enriched bread by consumers groups, comparing with a commercial bread. Enriched-bread showed 783 mg of calcium/100 g. Sensory evaluation was performed by four groups at different ages (G1=children, G2=adolescents, G3=adults, G4=elderly). Global acceptance test by facial hedonic scale (five points) was applied for G1, and a questionnaire for G2, G3 and G4 for characterizing consuming habits, acceptance testing by nine points-hedonic scale and consumption intention by five points-hedonic scale. Sensory tests results were analyzed by variance and t- Student test at a significance level of 5%. For G1 the calcium-fortified bread was so much accepted as the commercial one, and no statistical difference ($p>0.05$) was found. G2 stated the best acceptance for all sensory attributes of enriched-bread comparing to commercial product, showing highest consumption intention by the hedonic scale as "I would often eat it." For G3 the flavor only was more accepted than commercial bread and no difference was observed in the other features and in purchase attitude ($p>0.05$). G4 did not differ in the product acceptance and consumption intention ($p>0.05$). Milk serum and calcium carbonate-enriched bread demonstrated a high potential for being commercialized.

Keywords. calcium, enriched food, population groups.

INTRODUÇÃO

O cálcio é um nutriente essencial necessário em diversas funções biológicas. Sua deficiência pode contribuir para o surgimento de várias doenças crônicas como a osteoporose. Essa pode resultar em fraturas que atualmente tem elevada prevalência e representa importante problema de saúde pública no Brasil, especialmente a de quadril, cuja incidência aumenta com a idade e está associada à deterioração da qualidade de vida e à maior mortalidade¹. Além da perda da massa óssea, a falta de cálcio pode acarretar câibras e irritabilidade, por ser um mineral necessário na transmissão nervosa e na regulação dos batimentos cardíacos. Sua deficiência também pode contribuir para o surgimento de várias doenças crônicas, tais como câncer de cólon e hipertensão, que ocorrem comumente nas sociedades ocidentais^{2,3}.

Os resultados de uma pesquisa conduzida com 2.420 pessoas acima de 40 anos, em 150 municípios das cinco regiões do país revelaram que 90% dos entrevistados ingeriam, em média, 400 mg de cálcio, estando esse valor abaixo do preconizado pela IDR - Ingestão Diária Recomendada⁴. As atuais recomendações de cálcio são de 1.000 mg para adultos, 1.200 mg para idosos e para crianças são de 500 mg a 700 mg no Brasil e na ordem de 500 mg a 800 mg internacionalmente^{5,6}.

O pão é um alimento amplamente consumido por indivíduos de diferentes classes sociais, porém este alimento normalmente possui baixa concentração em minerais, especialmente o cálcio e por isso vem sendo alvo de muitos estudos de enriquecimento com este mineral⁷⁻⁹.

Para que o pão seja considerado rico em cálcio este deve conter, no mínimo, 300 mg desse mineral por 100 g do produto, o que corresponde a 30% da IDR de adultos¹⁰.

Uma das formas de enriquecer pães com cálcio é adicionar leite e derivados às formulações. O soro de leite em pó pode ser usado como substituto de leite, oferecendo vantagens econômicas¹¹. O soro de leite é um líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína¹². Do ponto de vista industrial, existem dois tipos de soro de leite: o soro ácido (pH < 5,1) e o soro doce (pH > 5,6). O soro ácido é o subproduto do fabrico de caseína alimentar ou queijo fresco, resultado da acidificação do leite com adição direta de ácido, ou por produção *in situ* de ácido pela fermentação láctica, respectivamente. O soro doce, subproduto da

produção de queijo, é obtido após o tratamento do leite com quimosina, que após desidratação resulta em soro de leite em pó, sendo constituído, em média, por 69% de lactose, 12,7% de proteínas, 4% de lipídios, 8,4% de minerais e 3,8% de umidade^{12,13}. As proteínas do soro são excelentes ingredientes para elaboração de produtos de panificação, podendo melhorar o aroma, sabor, textura, vida-de-prateleira e o valor nutritivo desses produtos^{12,14,15}. No entanto, apenas a utilização do soro de leite não é suficiente para classificar o produto como alimento rico em cálcio^{16,17}, sendo necessária a adição de sal de cálcio para fins de complementação.

Pesquisas demonstram que a adição de sais inorgânicos é tão satisfatória, em termos de absorção de cálcio, quanto a de sais orgânicos⁷, sendo o carbonato de cálcio amplamente recomendado, por conter esse mineral na concentração de 40%. Também apresenta baixa interferência na reologia das massas e nas características do produto final, além de ser economicamente mais barato^{8,18}.

Neste trabalho o objetivo foi avaliar a aceitação e a intenção de consumo de um pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio por diferentes grupos populacionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Os pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó e carbonato de cálcio utilizados neste estudo foram elaborados segundo o método de Gurgel et al.¹⁹, os quais elaboraram pães de forma com várias concentrações de carbonato de cálcio, verificando que a melhor concentração a ser utilizada em pães não deve ultrapassar 2,38%, a fim de manter o volume específico dos pães acima de 4,0 cm³/g, evitando assim rejeição por parte de consumidores. De acordo com Lima et al.¹⁷, a melhor concentração de soro de leite em pó para ser acrescentada em pães é 7,5%, conferindo-lhes boas características físico-químicas e sensoriais.

Elaboração dos pães de forma

Os ingredientes usados para produzir os pães de forma foram: farinha de trigo especial (1.500 g = 100%), água (825 g = 55%), fermento biológico seco instantâneo (15 g = 1%), sal (25,5 g = 1,7%), açúcar cristal (90 g = 6%), gordura vegetal hidrogenada (45 g = 3%), soro de leite em pó (112,5 g = 7,5%) e carbonato de cálcio (35,70 g = 2,38%).

Todos os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador tipo espiral, na velocidade lenta por ± 15 minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição da água refrigerada a 10 °C. Em seguida, a massa que se encontrava com temperatura de aproximadamente 24 °C foi boleada e submetida a descanso de 10 minutos, sendo posteriormente, dividida em unidades de 750 g. Após a modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 cm de comprimento x 11 cm de largura x 7 cm de altura) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação, permanecendo por, aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35 °C. Os pães foram assados a 200 °C por 20 minutos e após três horas de resfriamento foram fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente até a realização das análises.

Análise sensorial

Testes sensoriais foram conduzidos com consumidores em diferentes estágios de vida, G1= crianças, G2= adolescentes, G3= adultos e G4= idosos, com o objetivo de comparar a aceitação e a atitude pelo consumo de um pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio com a de um pão de forma de marca comercial do tipo “tradicional”, contendo os seguintes ingredientes: farinha de trigo fortificada com ferro e ácido fólico, açúcar, glúten, gordura vegetal, sal, manteiga, conservador propionato de cálcio, emulsificantes monoglicerídeos de ácidos graxos, estearoil-2-lactil lactato de cálcio e polisorbato 80). A avaliação realizou-se em quatro etapas.

Teste de aceitação sensorial com crianças (Grupo 1= G1)

Aplicou-se um teste de aceitação com 50 provadores em idade escolar (6 a 10 anos), sendo 23 meninos e 27 meninas, matriculados nas 3ª e 4ª séries do ensino fundamental, cujo critério de seleção foi a capacidade de leitura, expressão, participação em treinamento prévio realizado com auxílio das professoras, estagiária e material de apoio (cartaz com expressões faciais). A equipe que conduziu o estudo foi previamente treinada para não induzir ou interferir nas respostas das crianças, pois estudos com crianças devem ser apropriados e as expressões e os movimentos do pesquisador não devem influenciar nas respostas.

A análise sensorial ocorreu em uma escola do município de Santa Rita (PB), a qual aderiu à proposta

para a colaboração com o estudo. Para a realização do teste foram utilizadas fichas com escala hedônica de expressão facial, atribuídos a essa os seguintes valores: 1 - “Desgostei MUITÍSSIMO”; 2 - “Desgostei muito”; 3 - “Indiferente”; 4 - “Gostei muito”; 5 - “Gostei MUITÍSSIMO”²⁰.

As amostras foram apresentadas de forma monádica e aleatoriamente. Após a ingestão das mesmas, cada criança marcava na escala hedônica a expressão facial que melhor representava a sua opinião em relação aos pães. Entre a degustação das duas amostras, pediu-se para cada criança ingerir, aproximadamente 50 mL de água. O critério adotado para aceitação dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 4,0 equivalente ao termo hedônico “gostei muito”.

Para a realização da pesquisa, os responsáveis legais pelos participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, respeitando-se as questões éticas.

Teste de aceitação e intenção de consumo com adolescentes (Grupo 2= G2)

Nesta etapa foram realizados testes de aceitação e intenção de consumo com 45 adolescentes de 15 a 19 anos, sendo 22 meninos e 23 meninas regularmente matriculados em uma escola privada do município de Santa Rita (PB).

Para avaliar a frequência média diária e semanal do consumo de pão de forma, os tipos de acompanhamentos mais consumidos com esse tipo de pão, bem como os fatores que influenciam na compra ou consumo do pão de forma, aplicou-se um questionário de caracterização dos hábitos de consumo, cujo objetivo foi verificar se o pão pode ser um veículo adequado para enriquecimento com cálcio.

As amostras foram oferecidas de forma monádica, em ordem aleatória de apresentação, codificadas com três dígitos diferentes. Cada amostra estava acompanhada de ficha, utilizando escala hedônica de 9 pontos para sua avaliação. Foi aplicado um teste afetivo considerando os atributos, aroma, sabor, cor, textura e impressão global. Entre a degustação das duas amostras, pediu-se para cada provador ingerir, aproximadamente 50 mL de água^{21,22}. O critério adotado para aceitação dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 6,0, equivalente ao termo hedônico “gostei ligeiramente”²³.

A atitude dos provadores com relação ao consumo do produto também foi avaliada, por meio de escala de

intenção de consumo de cinco pontos²⁴, que varia de “comeria sempre” e “nunca comeria”²⁵. Esse teste foi aplicado conforme citado no teste de aceitação. O critério adotado para atitude de consumo dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 4,0, equivalente ao termo hedônico “comeria frequentemente”.

Para a realização dessa etapa da pesquisa, os responsáveis legais pelos participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, respeitando-se as questões éticas.

Teste de aceitação e intenção de consumo com adultos (Grupo 3= G3)

Nessa etapa também foi aplicado o questionário de caracterização dos hábitos de consumo dos julgadores, conforme descrito para G2.

Foi avaliado um grupo de 50 indivíduos entre 21 e 59 anos, não treinados, constituído de alunos, professores e servidores públicos da Universidade Federal de Paraíba (UFPB), sendo que destes, 8 eram homens e 42 eram mulheres.

A aplicação dos questionários e os testes de aceitação e intenção de consumo foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da UFPB, em cabines individuais. A aplicação dos testes, os atributos avaliados e os critérios foram os mesmos utilizados para os adolescentes.

Teste de aceitação e intenção de consumo com idosos (Grupo 4 = G4)

Para a realização desses testes foram selecionados 40 idosos com idade entre 60 e 72 anos, compensadas com relação às patologias crônicas degenerativas relativas à idade e participantes do grupo de ginástica da melhor idade, do município de Santa Rita-PB.

Inicialmente foi solicitado a essas consumidoras que preenchessem o questionário de caracterização dos hábitos de consumo. Em seguida, foram aplicados os testes de aceitação e intenção de consumo, no mesmo local em que o grupo realizava suas atividades físicas, tendo sido disponibilizadas mesas e cadeiras individuais. Para esse grupo, o número de atributos avaliados no teste de aceitação foi reduzido, a fim de tornar mais acessível à aplicação do teste. Foram avaliados somente os atributos sabor e textura.

O critério adotado para aceitação dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 6,0, equivalente ao termo hedônico “gostei ligeiramente”²³.

A atitude dos idosos com relação ao consumo do produto também foi avaliada, por meio de escala de intenção de consumo de cinco pontos²⁴ e o critério adotado para aceitação dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 4,0, equivalente ao termo “comeria frequentemente”.

Análise Estatística

Os resultados dos testes de aceitação e atitude de consumo dos pães foram submetidos ao teste t-Student a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química do pão elaborado

Na Tabela 1 está explicitada a composição química do pão de forma enriquecido com carbonato de cálcio e soro de leite em pó.

Tabela 1. Composição nutricional do pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio

Nutrientes	Pão com soro de leite em pó e CaCO ₃
Umidade (%)	31,20 ± 1,12
Proteínas (g/100 g)	8,00 ± 0,05
Lipídios (g/100 g)	2,18 ± 0,06
Amido (g/ 100 g)	41,4 ± 0,22
Outros Carboidratos* (g/100 g)	15,49
Cinzas (g/100 g)	2,65 ± 0,22
Cloretos** (mg/100 g)	162,69 ± 0,36
Cálcio (mg/100 g)	782,77 ± 8,16

* Obtidos por diferença; **Cloretos em Cloreto de Sódio
Fonte: Gurgel et al.¹⁹

Análise sensorial

Caracterização dos hábitos de consumo

Os adolescentes formaram o grupo populacional de maior consumo de pão de forma com 50% do total dos provadores, relatando que consomem pão de forma “uma vez ao dia”, segundo questionários da caracterização dos hábitos de consumo. O grupo dos idosos formou 40% da frequência de consumo de pão de forma, ficando os adultos com apenas 34% do percentual de consumo desse tipo de pão, demonstrando ser menos constante que pelos adolescentes e idosos.

Esses percentuais evidenciam que o pão de forma é um produto que faz parte dos hábitos de

consumo diários da população, sendo, portanto, um alimento interessante para o enriquecimento com cálcio.

Teste de aceitação com crianças (G1)

Os escores médios atribuídos aos pães foram $3,9 \pm 2,76$ para o pão comercial e $4,2 \pm 2,7$ para o pão enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio. Esses resultados não diferiram entre si ($p > 0,05$), demonstrando que o pão elaborado nesse estudo foi tão bem aceito pelas crianças quanto o da marca comercial.

Teste de aceitação e intenção de consumo com adolescentes (G2)

Teste de aceitação com adolescentes

Considerando o ponto de corte para aceitação igual à nota seis (gostei ligeiramente) apenas o atributo “aroma” da marca comercial não teve boa aceitabilidade, conforme expresso na Tabela 2. De acordo com a análise de variância, não houve diferença significativa entre os atributos das duas amostras, porém a amostra com maior aceitação em todos os atributos foi a do pão enriquecido de cálcio com notas acima de 7,38.

Tabela 2. Resultados do teste de aceitação sensorial com adolescentes

Parâmetros	Amostras	
	Marca comercial	Pão com soro de leite em pó e CaCO_3
Sabor	$6,1^b \pm 1,93$	$7,8^a \pm 0,96$
Textura	$6,9^b \pm 1,46$	$7,4^a \pm 1,24$
Cor	$6,6^b \pm 1,68$	$7,2^a \pm 1,48$
Aroma	$5,4^b \pm 2,01$	$7,3^a \pm 1,50$
Impressão global	$6,5^b \pm 1,95$	$7,6^a \pm 1,43$

Marca comercial: pão de forma comercializado; F1: pão de forma contendo 7,5% de soro de leite em pó e 2,38% de CaCO_3

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem significativamente entre si, pelo teste t, com intervalo de confiança de 95%

Teste de atitude de consumo com adolescentes

As médias dos escores atribuídos pelos adolescentes aos pães variaram de $3,0 \pm 1,10$ a $4,2 \pm 0,80$, tendo a amostra do pão enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio apresentado melhor intenção de consumo representado pela escala hedônica “comeria frequentemente”. Já a amostra de marca comercial foi

representada pela escala hedônica “talvez comeria/talvez não comeria”.

Teste de aceitação e intenção de consumo com adultos (G3)

Teste de aceitação com adultos

Considerando o ponto de corte para aceitação igual à nota seis (gostei ligeiramente) todos os atributos das duas amostras avaliadas tiveram boa aceitabilidade (Tabela 3). Os valores hedônicos variaram de 6,6 a 7,4 (gostei ligeiramente a gostei regularmente). Esses resultados foram aproximados aos da literatura, como observado no estudo de Berno et al.²⁵, os quais avaliaram a aceitabilidade de pães enriquecidos com proteína do soro de leite bovino por 40 adultos saudáveis, cujos atributos avaliados foram cor, tamanho, maciez, crocância e sabor. A aceitabilidade variou entre os escores “nem gostei/nem desgostei” a “gostei ligeiramente a muitíssimo”, com médias de 5,55 a 7,32.

Tabela 3. Resultados do teste de aceitação sensorial com adultos

Parâmetros	Amostras	
	Marca comercial	Pão com soro de leite em pó e CaCO_3
Sabor	$6,8^b \pm 1,43$	$7,4^a \pm 1,18$
Textura	$7,0^a \pm 1,43$	$7,0^a \pm 1,81$
Cor	$7,2^a \pm 1,44$	$7,0^a \pm 1,30$
Aroma	$6,6^a \pm 1,66$	$6,8^a \pm 1,59$
Impressão global	$7,2^a \pm 1,06$	$7,3^a \pm 1,28$

Marca comercial: pão de forma comercializado; F1: pão de forma contendo 7,5% de soro de leite em pó e 2,38% de CaCO_3

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem significativamente entre si, pelo teste t, com intervalo de confiança de 95%

Teste de atitude de consumo com adultos

As médias dos escores atribuídos pelos adultos aos pães variaram de $3,6 \pm 1,05$ a $3,7 \pm 0,90$, tendo as duas amostras de pães apresentado intenção de consumo semelhante, representada pela escala hedônica “talvez comeria, talvez não comeria”.

A atitude de consumo por este grupo demonstrou indecisão com relação ao produto desenvolvido neste estudo, bem como o produto de marca comercial, podendo ser justificado pelo pouco hábito de consumir pão de forma, como foi visto na aplicação do questionário de caracterização dos hábitos de consumo, em que apenas 34% dos julgadores consumiam frequentemente pão de forma.

Teste de aceitação e intenção de consumo com grupo de idosos (G4)

Teste de aceitação com idosos

Os dois atributos das duas amostras de pão de forma tiveram boa aceitabilidade (Tabela 4). Os valores hedônicos foram de 7,4 a 8,5 para o pão da marca comercial e enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio, respectivamente, representados pelos escores “gostei moderadamente a gostei regularmente”.

Tabela 4. Resultados do teste de aceitação sensorial com idosos

Parâmetros	Amostras	
	Marca comercial	Pão com soro de leite em pó e CaCO ₃
Sabor	7,4 ^a ± 1,4	8,5 ^a ± 0,6
Textura	7,4 ^a ± 2,0	7,8 ^a ± 1,8

Marca comercial: pão de forma comercializado; F1: pão de forma contendo 7,5% de soro de leite em pó e 2,38% de CaCO₃.

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem significativamente entre si, pelo teste t, com intervalo de confiança de 95%

Teste de atitude de consumo com idosos

As médias dos escores atribuídos pelo grupo das idosas foram de 4,1 ± 1,4 e 4,8 ± 0,5 para os pães de marca comercial e enriquecidos com soro de leite em pó e carbonato de cálcio, respectivamente. As duas amostras de pães apresentaram intenção de consumo semelhante representado pela escala hedônica “consumiria frequentemente”, entretanto a amostra enriquecida de cálcio se aproximou mais do termo hedônico “consumiria sempre”.

CONCLUSÃO

O pão de forma enriquecido com carbonato de cálcio e soro de leite em pó teve boa aceitação sensorial e intenção de consumo por diferentes grupos populacionais, demonstrando ter um elevado potencial para comercialização.

REFERÊNCIAS

1. Pinheiro MM, Ciconelli RM, Jacques NO, Genaro OS, Martini LA, Ferraz MB. O impacto da osteoporose no Brasil: dados regionais de fraturas em homens e mulheres adultos - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Rev Bras Reumatol*. 2010; 50(2):113-27.
2. Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de Nutrientes. Barueri (SP): Manole; 2005. p.878.
3. Mahan LK, Escott-Stump S. Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 12^a ed. Roca; 2010.
4. Pinheiro MM, Schuch NJ, Genaro PS, Ciconelli RM, Ferraz MB, Martini LA. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Nutr J*. 2009; 8:6.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento Técnico sobre Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 set. 2005.
6. Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. Washington (DC): National Academy Press; 2006.
7. Ranhotra GS, Gelroth JA, Leinen SD. Utilization of Calcium in Breads Highly Fortified with Calcium as Calcium Carbonate or as Dairy Calcium. *Cereal Chem*. 2000; 77(3): 293-6.
8. Kajishima S, Pumar M, Germani R. Elaboração de pão francês com farinha enriquecida de sulfato de cálcio. *Bol CEPPA*. 2001; 19(2): 157-68.
9. Kajishima S, Pumar M, Germani R. Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2003; 23(2): 222-5.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan.1998.
11. USDEC NEWS. Aspectos Nutricionais de Ingredientes Lácteos: Soro de Leite e Concentrados Protéicos. US Dairy Export Council. 2004; 8(3):1-4.
12. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 de ago. 2005. Seção 1. p.7.
13. USDEC NEWS. Uso de soro em iogurtes e produtos lácteos fermentados. US Dairy Export Council, 1999; 2(2): 1-4.
14. Zavareze ER, Morais KS, Salas-Mellado MLM. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite em pó. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010; 30(1): 100-5.
15. Valduga E, Paviani LC, Mazur SP, Finzer JRD. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. *Alim Nutr*. 2006; 17(4): 393- 400.
16. Azevedo FLAA. Elaboração de pão de forma com adição de soro de leite em pó [dissertação de mestrado]. João Pessoa (PB): Universidade Federal da Paraíba (UFPB); 2007.
17. Lima AS, Maciel JF, Queiroga RCRE, Neto EAL, Anjos UU, Farias LRG. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(3): 366-72.
18. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4^a ed. Brasília (DF): ANVISA; 2005.
19. Gurgel CSS, Maciel JF, Farias LRG. Aumento do teor de cálcio em pães adicionados de soro de leite e carbonato de cálcio. *Alim Nutr*. 2010; 21(4): 563-71.

20. Cardello HMAB, Cerdeira K, Cipriane D. Flocos de milho açucarados de diferentes sabores: comparação entre equipes de consumidores adultos e crianças. *Alim Nutr*. 2003; 14(1):103-8.
21. Rocha LS, Cardoso Santiago RA. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata* vog.) na elaboração de pães. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2009; 29(4): 820-5.
22. Meilgaard M, Civille C. *Sensory Evaluation Techniques*. 3ª ed. New York: Boca Raton; 1999.
23. Faria EV, Yotsuyanagi K. *Técnicas de Análise Sensorial*. Campinas (SP): ITAL-LAFISE; 2002. p 116.
24. Oliveira TM, Pirose MR, Borges JTS. Elaboração de pão de sal utilizando farinha mista de trigo e linhaça. *Alim Nutr*. 2007; 18(2): 141-50.
25. Berno LI, Spoto MHF, Canniatti-Brazaca SG. Avaliação química e aceitabilidade de pão enriquecido com proteína concentrada do soro de leite bovino (whey protein). *Alim Nutr*. 2007; 18(1): 41-9.

Farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): produção e caracterização química

Production and chemical characterization of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour

RIALA6/1376

Fabiana Carvalho RODRIGUES^{1*}, Adriano Simões Barbosa CASTRO², Hércia Stampini Duarte MARTINO¹, Célia Lúcia de Lucas Fortes FERREIRA³

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Nutrição Experimental, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 6º andar, sala 44, Av. P.H. Rolfs s/n, CEP: 3657-0000, Viçosa, MG/Brasil, tel.: 55 31 3899-1276, e-mail: fabianacro@yahoo.com.br

²Laboratório de Biofármacos, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa - UFV

³Laboratório de Culturas Láticas, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa - UFV

Recebido: 17.03.2011 - Aceito para publicação: 02.09.2011

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram produzir farinha da polpa de yacon, avaliar a viabilidade do processo e caracterizar sua composição química. As análises da composição centesimal foram realizadas de acordo com a metodologia da Associação Científica Dedicada à Excelência Analítica (AOAC). Os teores de fibras alimentares foram analisados pela técnica enzimático-gravimétrica, os açúcares e frutooligosacarídeos - FOS por cromatografia líquida de alta eficiência, e os minerais por espectrofotometria de emissão de plasma. De 115,5 kg de yacon *in natura* foram produzidas 9,6 kg de farinha com a seguinte composição química: 6,9 g.100 g⁻¹ de umidade; 2,7 g.100 g⁻¹ de proteínas; 0,15 g.100 g⁻¹ de lipídios; 5,4 g.100 g⁻¹ de cinzas; 25,7 g.100 g⁻¹ de oligofrutanos; 38,95 g.100 g⁻¹ de carboidratos totais; 0,05 g.100 g⁻¹ de cálcio; 0,21 g.100 g⁻¹ de fósforo e 0,18 g.100 g⁻¹ de magnésio. O processo de produção da farinha favoreceu o aumento da vida útil do yacon. Torna-se também importante a disponibilidade de yacon no mercado na forma de farinha para facilitar sua utilização no preparo de produtos de panificação e, ainda, para que esse produto seja encontrado em qualquer época do ano.

Palavras-chave. processamento de yacon, oligofrutanos, prebiótico, análise centesimal.

ABSTRACT

This study aimed at producing flour from yacon root pulp and assessing the process viability, and to characterize the chemical composition. The chemical composition analyses were performed according to the The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence (AOAC). The dietary fiber contents were analyzed by enzymatic-gravimetric methodology, the sugars and fructooligosaccharides (FOS) by high performance liquid chromatography and the minerals by spectrophotometry for emission of plasma. From 115.5 kg of yacon *in natura*, 9.6 kg of flour were produced with the following composition: 6.9 g.100 g⁻¹ of moisture, 2.7 g.100 g⁻¹ of protein, 0.15 g.100 g⁻¹ of lipid, 5.4 g.100 g⁻¹ of ash, 25.7 g.100 g⁻¹ of oligofrutans, 38.95 g.100 g⁻¹ of total carbohydrates, 0.05 g.100 g⁻¹ of calcium, 0.21 g.100 g⁻¹ of phosphorus and 0.18 g.100 g⁻¹ of magnesium. The process for preparing the flour improved to lengthen the yacon life. In addition, it is also essential the availability of yacon in flour format on the market to facilitate its use for preparing bakery products, and allow it to be on sale at any period the year.

Keywords. processing of yacon, oligofrutans, prebiotic, chemical analysis.

INTRODUÇÃO

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é um tubérculo pertencente à família da *Asteraceae*, apresentando um sistema de raiz composto de quatro a 20 tubérculos. Ele é considerado um fruto de sabor doce e conhecido por suas propriedades medicinais por contribuir na redução dos níveis de glicose sanguínea, podendo ser consumido *in natura* (cru e em saladas) ou na forma industrializada como suco, *chips* desidratados, farinha, xaropes, entre outros^{1,2}. Seu cultivo tem expandido em diversas regiões do mundo (Nova Zelândia, Japão, República Checa, Coreia do Sul, Tailândia, Filipinas, Rússia, Estônia, etc.) e inclusive no Brasil, por ser de fácil manejo e processamento e principalmente porque é fonte de componentes bioativos como frutooligosacarídeos (FOS) e compostos fenólicos^{3,4}.

Embora seja considerado um alimento tradicional na América do Sul, para a União Europeia o yacon é um alimento novo, e portanto, deve ser avaliado quanto à segurança antes de ser introduzido no mercado⁴. Isso tem estimulado o interesse da comunidade científica na realização de estudos que vão desde a caracterização da composição química, propriedades tecnológicas, funcionais até a realização de estudos clínicos e toxicológicos que comprovem a segurança quanto ao uso.

Entre os componentes bioativos, o yacon apresenta cerca de 40% a 70% de FOS em base seca⁵. Essa variação ocorre em função do período em que o yacon é colhido, da sazonalidade, clima, altitude, solo e o tratamento pós-colheita⁶. Os FOS pertencem à classe dos frutanos e são carboidratos de origem vegetal não digeríveis pelo organismo humano e, portanto, são compostos bioativos classificados como fibras solúveis⁷ e atuam como prebióticos, ou seja, como ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo do crescimento e/ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon⁸.

Relatos na literatura científica evidenciam que a ingestão de prebióticos tanto em modelos animais quanto em humanos exercem um efeito bifidogênico por favorecer o crescimento de bactérias benéficas no trato digestório, especialmente as do gênero *Bifidobacterium*^{9,10}. Outros benefícios à saúde têm sido atribuídos aos prebióticos como o favorecimento do metabolismo ósseo em animais¹¹; redução dos níveis de triacilglicerídios, insulina e glicose séricos em ratos¹² e modulação do sistema imune¹³.

A umidade do yacon *in natura* é elevada, variando 69,5% a 92,7%¹⁴, o que contribui para sua rápida deterioração que advém da ação de enzimas polifenoloxidasas que catalisam reações, resultando no escurecimento do yacon e de seus produtos¹⁵.

Entre esses produtos, um dos principais é a farinha que tem se mostrado bastante promissora não só por aumentar a vida útil do yacon, mas também pela possibilidade de ser utilizada como ingrediente funcional na formulação de diversos alimentos processados como bolos, biscoitos, doces, pães e outros.

Diferentes metodologias têm sido utilizadas na produção da farinha yacon^{16,17}. No entanto, ainda não há uma padronização do processo que permita a produção em larga escala, o que é importante para viabilizar sua inserção na agroindústria uma vez que o yacon apresenta um maior valor agregado no mercado que outros tipos de plantas como milho e mandioca. Diante disso, este estudo teve como objetivos produzir uma farinha a partir da polpa de yacon, avaliar a viabilidade do processo e caracterizar sua composição química.

MATERIAL E MÉTODOS

O yacon foi obtido no mercado local da cidade de Viçosa (MG) no mês de agosto de 2009. Imediatamente após sua aquisição as raízes foram selecionadas, pesadas e submetidas ao processo de elaboração da farinha conforme a metodologia de Marangoni¹⁸, com adaptações. Após lavagem e sanitização em água clorada a 200 ppm por 15 minutos, o descascamento foi realizado com descascador de vegetais e iniciou-se o tratamento com solução de citrato de sódio 0,5% por 15 minutos. Em seguida, foi fatiado em multiprocessador (Walita-RI7625) e imerso em uma solução de bissulfito de sódio 0,5% por 15 minutos. O líquido foi drenado com auxílio de um escorredor e a secagem foi realizada a 55 °C/48 horas em secador de circulação de ar (Polidryer-DP) com capacidade média para 60 kg de produto.

A produção ocorreu em duas bateladas, sendo utilizado no total 115,5 kg de yacon *in natura*. Ao final do processo de secagem o yacon foi triturado em moedor do tipo cutter e depois em multiprocessador (Arno-PRC). A farinha foi peneirada obtendo-se a granulometria máxima de 425 µm em peneira de 40 mesh (Abronzinox-PGB 97891). Pesou-se a quantidade de farinha obtida para cálculo do percentual de rendimento, sendo % R = (massa da farinha x 100)/peso líquido. A farinha

foi embalada em sacos plásticos de 2 kg a 5 kg que foram vedados e armazenados sob refrigeração.

Determinação da composição química

As farinhas obtidas nas duas bateladas de processamento foram homogeneizadas para obtenção de uma única amostra para realização das análises químicas, conforme metodologias indicadas pela AOAC¹⁹. A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105 °C até peso constante; a proteína pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25; os lipídios totais foram analisados pelo método de extração com éter etílico em equipamento Soxhlet e o teor de cinzas (resíduo mineral fixo) pelo método de incineração em mufla a 550 °C. A fibra alimentar solúvel e insolúvel foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico da AOAC¹⁹, utilizando-se *kit dietary fiber total* (Sigma). Os carboidratos não digeríveis foram calculados pela somatória da fração de fibra solúvel, insolúvel e FOS. O valor calórico foi calculado pela soma das calorias fornecidas pelas proteínas, lipídios e carboidratos totais, descontando os carboidratos não digeríveis, utilizando os fatores de conversão 4 Kcal.g⁻¹, 9 Kcal.g⁻¹ e 9 Kcal.g⁻¹, respectivamente²⁰.

Oligofrutanos e os açúcares (glicose, frutose e sacarose) foram determinados por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) em cromatógrafo (Varian, Pro-Star 410) com duas bombas binárias e injetor automático (*auto sampler* 410), detector IR (índice de refração) e água desionizada ultrapura Milli-Q na fase móvel, seguindo-se metodologia descrita por Kaneko et al.²¹. A coluna utilizada foi HPX 87P (BIO-RAD), fase estacionária de chumbo, com temperatura da coluna a 85 °C e fluxo de 0,6 mL.min⁻¹. Os padrões utilizados foram frutose (Sigma), glicose e sacarose (Acros Organics); oligofrutano comercial (85% de pureza). Para o preparo da amostra pesou-se 1 g e diluiu-se em 100 mL de água destilada. Realizou-se a centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos e filtração em membrana de decafluoreto de polivinil (PVDF) da Millipore com 0,22 µm de porosidade e 13 mm de diâmetro, e em seguida, a amostra foi injetada no cromatógrafo. A identificação de cada açúcar foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões e para a amostra, analisados sob as mesmas condições cromatográficas. Para a quantificação dos compostos utilizou-se curvas analíticas construídas a partir de concentrações crescentes de soluções padrão para cada açúcar. Desse modo, foi feita uma correlação

linear entre as áreas dos picos e as concentrações injetadas de cada composto. A equação de regressão linear obtida para cada padrão foi utilizada para quantificar o conteúdo dos açúcares e oligofrutanos na amostra.

Os teores dos minerais (cálcio, fósforo e magnésio) foram determinados por espectrofotometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (Perkin Elmer-Optima 3.300 DV), com limite de detecção de 0,02 ppb para cálcio; 0,1 ppb para magnésio e 30 ppb para fósforo. O preparo da amostra foi realizado conforme metodologia da AOAC¹⁹. Após pesagem de 1g da amostra em tubo de ensaio, iniciou-se o processo de digestão em ácido nítrico concentrado por 16 horas. O conteúdo do tubo, uma vez resfriado a temperatura ambiente, foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água deionizada e procedeu-se a determinação dos minerais no espectrofotômetro.

Os resultados da composição centesimal e minerais foram expressos como média de três replicatas e fibra alimentar como média de duas replicatas. De acordo com o conteúdo do mineral encontrado a farinha foi classificada como fonte deste nutriente. Isto foi realizado segundo os critérios estabelecidos pela Portaria nº 27/1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)²², sendo considerados como fonte os alimentos que contêm no mínimo 15% do valor da ingestão diária recomendada (IDR) para adultos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade do processamento da farinha

Durante o processamento do yacon, verificou-se um índice de perda de 7,5% (Tabela 1), sendo esta maior na segunda repetição. As perdas durante o descascamento variam em função do tamanho e morfologia das raízes tuberosas, uma vez que no mercado essas são comercializadas sem nenhuma padronização. O processamento para produção da farinha de yacon foi eficiente para inibir o escurecimento enzimático do produto, mesmo após 6 meses de armazenamento sob refrigeração de 8 °C a 10 °C.

O teor de umidade de 6,9% obtido após a secagem (55 °C/48 horas) está de acordo com a Portaria nº 354/96 do Ministério da Saúde que estabelece no máximo 15% de umidade para farinhas.²³ Valores mais elevados foram encontrados por Marangoni¹⁸ (15,4% de umidade; secagem a 60 °C/72 horas) e Rolim¹⁷ (13,2% de umidade; secagem a 55 °C/24 horas). A variação do

Tabela 1. Processamento da polpa do yacon para obtenção da farinha

	Batelada 1 (kg)	Batelada 2 (kg)	Total (kg)	Índice de perdas*
Yacon <i>in natura</i>	52,7	62,8	115,5	
Perdas durante o descascamento	3,1	5,6	8,7	7,5%
Quantidade processada	49,6	57,2	106,8	
Quantidade de farinha obtida	4,4	5,2	9,6	

* Índice de perdas em relação à quantidade total processada

binômio tempo/temperatura usada na secagem do yacon influencia o teor de umidade da farinha.

As condições de processamento empregadas neste estudo proporcionaram um percentual de rendimento de 9,0%, sendo esse maior do que o encontrado por Ribeiro²⁴ e Moscatto et al.¹⁶ que obtiveram 7,9% e 7,5%, respectivamente. Apesar de ser maior que de outros estudos, o rendimento obtido ainda é baixo, provavelmente em função do elevado conteúdo de água e baixo teor de sólidos totais do yacon.

Para viabilizar o processo de produção da farinha de yacon e inseri-lo na agroindústria tornam-se necessários mais estudos para melhorar o sistema de fabricação. Isso se justifica pelo fato do yacon atualmente ter um valor agregado no mercado maior que outros tipos de plantas como milho e mandioca, devido ao apelo de funcionalidade (prebiótico). Além disso, a farinha apresenta como vantagem a praticidade, facilidade para consumo e uso na elaboração de diversos alimentos tais como produtos de panificação, barra de cereal, entre outros, uma vez que essa poderá ser, no caso, encontrada em qualquer época do ano, independente do período de safra.

Composição química

A composição química da farinha de yacon é apresentada na Tabela 2. Os teores de proteínas e umidade obtidos foram próximos aos de Vasconcelos et al.²⁵, cuja matéria-prima usada na produção da farinha foi adquirida no mesmo mercado do presente estudo. Rolim¹⁷ obteve valores diferentes na composição química da farinha: 4,2 g.100 g⁻¹ de cinzas; 3,4 g.100 g⁻¹ de proteínas; 0,19 g.100 g⁻¹ de lipídios e 13,2% de umidade.

Segundo a Anvisa,²² um alimento é fonte de um determinado nutriente quando contribui no mínimo com 15% da IDR. De acordo com nossos resultados a farinha pode ser considerada fonte de fósforo e magnésio, por fornecer 30% e 69,2% da IDR para adultos,

Tabela 2. Composição química da farinha de yacon (g.100g-1)

Componentes	
Umidade	6,9
Cinzas	5,4
Proteínas	2,7
Lipídios	0,15
Fibra alimentar solúvel (FS)*	2,72
Fibra alimentar insolúvel (FI)	10,53
Carboidratos não digeríveis ¹	38,95
Valor calórico (kcal.g-1)	142,75
Glicose	8,6
Frutose	21,1
Sacarose	16,3
Oligofrutanos (FOS)**	25,7
Cálcio	0,05
Fósforo	0,21
Magnésio	0,18

*Fração solúvel de fibra determinado pelo método enzimático-gravimétrico

**Fração solúvel de fibra determinado pelo método HPLC

¹Carboidratos não digeríveis = FS+FI+FOS

respectivamente. Ribeiro²⁴ obteve menor concentração desses nutrientes. As diferenças nas concentrações da composição centesimal e de minerais entre os estudos podem ocorrer em função das condições de cultivo como clima, altitude, região e tipo de solo.

No presente estudo, o valor de fibra alimentar insolúvel (Tabela 2) foi próximo ao encontrado por Ribeiro²⁴. Segundo Vasconcelos et al.²⁵, a fração solúvel é a soma do valor obtido pelo método enzimático-gravimétrico mais os oligofrutanos detectados por HPLC. Os métodos enzimático-gravimétricos determinam apenas a fração solúvel da fibra com grau de polimerização (GP) maior ou igual a 12, visto que tais fibras se solubilizam em álcool 78% e possuem baixo peso molecular, sendo perdidas na etapa de filtração. Como o yacon apresenta teor elevado de oligossacarídeos de baixo GP (3-10 monômeros), faz-se necessário empregar o método HPLC para detectar esses compostos.

A farinha de yacon desenvolvida fornece um elevado teor de fibra alimentar, especialmente a fração solúvel, podendo sugerir alegação de funcionalidade, conforme Resolução nº 359/2003 da Anvisa²⁶. Os teores de oligofrutanos encontrados no presente estudo (25,7 g.100 g⁻¹) foram superiores ao obtidos Vasconcelos et al.²⁵ (19,4 g.100 g⁻¹) e inferiores aos de Genta et al.²⁷ (44,2 g.100 g⁻¹). Essas variações podem ocorrer devido ao período de cultivo e da colheita, tempo de armazenamento e das condições de estocagem. Lobo et al.²⁸ ao produzir uma

farinha por meio do processo de liofilização, obtiveram um maior teor de oligofrutanos (55,3 g.100 g⁻¹). Embora a liofilização seja um método de secagem mais eficiente do que a secagem em estufa, sua utilização no processamento da farinha de yacon torna-se inviável na economia familiar por apresentar custo elevado.

O teor de oligofrutanos encontrado no yacon tem despertado o interesse de muitos pesquisadores pelo fato deste ser um componente bioativo com alegação de prebiótico²⁹. Além disso, Oliveira e Nishimoto³⁰ relataram que ao comparar o yacon com outras plantas freqüentemente utilizadas no processo de extração de frutanos, como *Helianthus tuberosus*, *Chichorium inthybus*, *Dália* sp.; o yacon possui a vantagem de fornecer maior produtividade (5,7 t/ha contra 4,5, 0,9 e 2,5 t/ha das espécies citadas, respectivamente).

O yacon apresentou-se como uma fonte promissora de oligofrutanos, podendo ser utilizado como ingrediente para produzir alimentos com efeitos prebióticos e/ou simbióticos, ou seja, alimentos formulados com um prebiótico e um probiótico.

CONCLUSÃO

As condições de processamento utilizadas neste estudo permitiram obter uma farinha com 6,9% de umidade e rendimento de 9%. Por ter um conteúdo considerável de oligofrutanos, a farinha de yacon apresentou-se como um ingrediente funcional que pode ser utilizada pela indústria de alimentos na formulação de produtos prebióticos e simbióticos. Além das raízes de yacon serem consumidas *in natura*, é importante também, que o yacon seja disponibilizado no mercado na forma de farinha para facilitar sua utilização no preparo de produtos de panificação e permitir que ele seja encontrado em qualquer época do ano.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Grau A, Rea J. Yacon: *Smallanthus sonchifolius* (Pop. & Endl.) [acesso 2009 Fev 7]. Disponível em: [http://www.cipotato.org].
2. Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2001;74(2):125-32.
3. Chuda Y, Suzuki M, Nagata T, Tsushida T. Contents and cooking loss of three quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J Agric Food Chem*. 1998;46(4):1437-9.
4. Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends Food Sci Technol*. 2011;22(1):40-6.
5. Santana I, Cardoso MH. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. *Ciênc Rural*. 2008;38(3):898-905.
6. Graefe S, Hermann M, Manrique I, Golombek S, Buerkert A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Res*. 2004;86:157-65.
7. Sales RL, Rodrigues FC, Costa NMB, Ferreira CLLF. Yacon: aspectos nutricionais, tecnológicos e funcionais. In: Costa NMB, Rosa COB, editores. Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. 1ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Ed. Rúbio; 2010. p. 229-39.
8. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS); 2007. [acesso 2010 Jun 26]. Disponível em: [http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/PrebioticsTechMeetingReport.pdf].
9. Ferreira CLL, Teshima E, Costa NMB. Effect of probiotic, prebiotic synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. *Int J Probiot Prebiot*. 2008;3(2):71-6.
10. Bounnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, et al. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr*. 1999;129(1):113-6.
11. Lobo AR, Colli C, Filisetti TMCC. Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr Res*. 2006;26(8):413-20.
12. Delzenne NM, Kok NN. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr*. 1999;129(7):1467.
13. Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr*. 2008;138(6):1091-5.
14. Lachman J, Fernández EC, Orsák M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. *Plant Soil Environm*. 2003;49(6):283-90.
15. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *Eur J Nutr*. 2003;42(1):61-6.
16. Moscatto JA, Borsato D, Bona E, de Oliveira AS, de Oliveira Haully MC. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. *Int J Food Sci Technol*. 2006;41(2):181-8.

17. Rolim PM. Aspectos sensoriais e funcionais de pães com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) [dissertação de mestrado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco - UFPE; 2008.
18. Marangoni AL. Potencialidade de aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas - Unicamp; 2007.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12^a ed. Washington; 1997.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 dez. 2000.
21. Kaneko T, Kudo T, Horikoshi K. Comparacion of CD composition produced by chimeric CGTases. *Agric Biol Chem*. 1990;54(1):197-201.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília; 1998.
23. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Adota o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 jul. 1996.
24. Ribeiro JA. Estudos químico e bioquímico do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) *in natura* e processado e influência do seu consumo sobre níveis glicêmicos e lipídeos fecais de ratos [dissertação de mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras - UFLA; 2008.
25. Vasconcelos CM, Silva CO, Teixeira LJQ, Chaves JBP, Martino HSD. Determinação da fração da fibra alimentar solúvel em raiz e farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) pelo método enzimático-gravimétrico e cromatografia líquida de alta eficiência. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69:188-93.
26. Brasil. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Aprova o Regulamento Técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1, p.28-9.
27. Genta SB, Cabrera WM, Grau A, Sánchez SS. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food Chem Toxicol*. 2005;43(11):1657-65.
28. Lobo A, Colli C, Alvares EP, Filisetti TMCC. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *Br J Nutr*. 2007;97:776-85.
29. Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clin Nutr*. 2004;1(2):25-31.
30. Oliveira MA, Nishimoto EK. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reservas em HPLC. *Braz J Food Technol*. 2004;7(2):215-20.

Substituição parcial de nitrito por antioxidantes e seu efeito sobre a cor de linguiça defumada

Partial replacement of nitrite by antioxidants and its effect on smoked sausage color

RIALA6/1377

Silvia BENEDETTI¹, André BRUNGERA¹, Rosiane RIZZATTI¹, Elci Lotar DICKEL², Telma Elita BERTOLIN^{1*}

* Endereço para correspondência: ¹ Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo - UPF, BR 285, Bairro São José, Caixa Postal: 611, CEP: 99052-900, Passo Fundo, RS, tel.: 54 33168193, e-mail: telma@upf.br

² Engenharia de Alimentos e Medicina Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo - UPF

Recebido: 04.11.2010 - Aceito para publicação: 05.08.2011

RESUMO

A coloração dos produtos cárneos, conferida pela mioglobina, é um fator importante para aceitabilidade do consumidor e indicativo de qualidade. Há associação entre a oxidação lipídica com esse pigmento e sua influência na coloração da carne, o que induz a realizar estudos sobre antioxidantes. Este trabalho investigou a ação da ficocianina, α -tocoferol e ácido ascórbico, em substituição parcial ao nitrito, na manutenção da cor da linguiça mista defumada. No preparo das linguiças foram utilizados seis tratamentos (0,005% nitrito de sódio + antioxidante) e um controle (0 A) contendo somente nitrito. Os tratamentos testados foram: 1 A e 1 B (ácido ascórbico), 2 A e 2 B (α -tocoferol), 3 A e 3 B (ficocianina). As linguiças foram defumadas durante oito horas a 65 °C e armazenadas a 4 °C e foram analisadas quanto a cor, pH e nitrito residual. O tratamento 2 B mostrou-se mais eficiente na manutenção da cor vermelha, pela ação do α -tocoferol. A incorporação do ácido ascórbico (tratamento 1 A) acelerou a redução da metamioglobina e a conversão do nitrito em óxido nítrico. A adição de ficocianina (tratamento 3 A) reduziu a intensidade de cor vermelha e aumentou a intensidade de coloração amarela e a luminosidade.

Palavras-chave. mioglobina, nitrito, antioxidantes, colorimetria.

ABSTRACT

The color of meat products is determined by the pigment myoglobin and this physical characteristic is a remarkable factor for consumer acceptability and as suggestive of quality evidence. There is a correlation between the lipid oxidation and this pigment, which influences on the meat color and this issue led to study the antioxidants. This study assessed the performance of phycocyanin, α -tocopherol and ascorbic acid in preserving the characteristic color of smoked sausage, when they used as partial substitute for nitrite. The sausages were prepared following six treatments (0.005% sodium nitrite + specific antioxidant) and a control (0 A) containing nitrite only. The treatments were: 1 A and 1 B (adding ascorbic acid), 2 A and 2 B (α -tocopherol), 3 A and 3 B (phycocyanin). The color, pH and residual nitrite characteristics were analyzed. The 2 B treatment was mostly effective in maintaining the red color due to α -tocopherol action. The addition of ascorbic acid (1 A treatment) accelerated the metamyoglobin reduction and the nitrite conversion to nitric oxide. The addition of phycocyanin decreased the intensity of red color (3 A treatment) and it increased the yellow color intensity and luminosity.

Keywords. myoglobin, nitrite, antioxidant, colorimetry.

INTRODUÇÃO

A qualidade da carne utilizada na fabricação de embutidos depende de um conjunto de fatores, como valor nutricional, segurança e aspectos sensoriais. A aceitabilidade do consumidor inclui atributos como atração visual, aroma, textura e sabor do produto e esses aspectos influenciam diretamente na decisão de compra¹.

A cor vermelha das carnes depende da concentração e da oxidação dos pigmentos mioglobina, oximioglobina e metamioglobina, presentes nos músculos. Fatores intrínsecos e extrínsecos podem influenciar a alteração da cor da carne, tais como: sexo, raça, idade e metabolismo do animal, antioxidantes endógenos, tipo de músculo, temperatura do meio, pH, disponibilidade de oxigênio, tipo de luz a que são expostos, embalagem utilizada e micro-organismos presentes².

O nitrato e o nitrito de sódio ou de potássio são utilizados como agente de cura em linguiças e outros produtos cárneos para inibir o crescimento de *Clostridium botulinum* e a formação da neurotoxina^{3,4}. Além disso, o nitrito também retarda a deterioração química, principalmente prevenindo a oxidação da mioglobina, estabilizando a cor característica da carne. No entanto, o nitrito, que é um agente nitrosante, reage com as aminas secundárias e aminoácidos presentes na carne, formando as nitrosaminas, que são compostos tóxicos, mutagênicos, teratogênicos, bem como carcinogênicos⁵.

A mioglobina tem relação com a oxidação lipídica, o que poderia influenciar na coloração da carne⁴. Vários antioxidantes vêm sendo estudados devido à sua atuação na prevenção da oxidação lipídica e na manutenção da cor de produtos cárneos. Entre eles, o ácido ascórbico mostrou ser eficiente na manutenção da cor de produtos cárneos. Esse antioxidante é um agente redutor que inibe a oxidação da mioglobina bem como o desenvolvimento da coloração marrom em carnes⁵. O α -tocoferol é também um importante agente antioxidante, que previne a oxidação lipídica e as variações na coloração de produtos cárneos e gorduras animais⁶. O ácido ascórbico tem se mostrado como um potente agente redutor por prevenir a formação de compostos N-nitrosos na fase polar, enquanto que o α -tocoferol atua na fase apolar. Eles são capazes de inibir a formação de compostos N-nitrosos pela redução dos agentes nitrosantes bem como do HNO_2 , formando nitrogênio ou óxido nítrico ou pela inibição do íon nitrosamínico (NO^+)³.

A ficocianina é outra substância que tem sido estudada devido à sua capacidade antioxidante. Trata-se de um pigmento azul extraído de cianobactérias como a *Spirulina platensis*, que apresenta propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e hepatoprotetoras, sendo utilizada na indústria de alimentos e farmacêutica⁷. De acordo com Farooq et al.⁸, a ficocianina pode atuar como um potente inibidor dos radicais livres hidroxil e peroxil. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência da adição dos agentes antioxidantes ficocianina e α -tocoferol e ácido ascórbico, em substituição parcial ao nitrito, na cor da linguiça mista defumada.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção da concentração de nitrito de sódio

Para a seleção da concentração de nitrito a ser utilizada nas formulações da linguiça mista defumada, realizou-se um teste microbiológico que consistiu na inoculação do microrganismo *Clostridium perfringes*, de uma cultura padrão, ATCC 13124. Foram preparadas duas formulações de linguiça, contendo diferentes concentrações de nitrito, definidas com base em testes preliminares: uma formulação contendo 0,01 % de nitrito de sódio (100 ppm) e outra formulação contendo 0,005% de nitrito de sódio (50 ppm). A suspensão de esporos de *Clostridium perfringes*, contendo aproximadamente 1×10^5 UFC/g foi adicionada em uma amostra de massa linguiça sem adição de nitrito de sódio (branco) e nas duas formulações contendo nitrito, sendo imediatamente misturada na massa. As contagens foram realizadas nos tempos 0 e após 48 horas de inoculação, segundo metodologia proposta na Instrução Normativa nº 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A partir dos resultados da contagem de *C. perfringens*, selecionou-se a formulação que demonstrou eficácia na inibição do crescimento do microrganismo, de forma a garantir a qualidade sanitária do produto. As análises foram realizadas em duplicata.

Elaboração da linguiça mista defumada

As carnes utilizadas para a elaboração da linguiça mista defumada foram paleta suína e paleta ovina e toucinho, provenientes do Centro de Extensão e Pesquisa Agropecuária (CEPAGRO), da Universidade de Passo Fundo (UPF). Para a elaboração das linguiças, as carnes e o toucinho foram pesados, moídos em moedor de carne

com disco de 12 mm. Em seguida, a massa de carne foi separada em frações para adição dos condimentos e antioxidantes de cada tratamento. Em cada fração foram adicionados os condimentos (sal, pimenta, noz moscada), o nitrito de sódio e as substâncias α -tocoferol, ácido ascórbico ou ficocianina, de acordo com cada tratamento. Cada fração de massa foi misturada e embutida separadamente em envoltório de 35 mm de diâmetro e submetida à defumação durante 8 h a 65 °C. Após essa etapa, as linguiças foram armazenadas em refrigerador na temperatura de 4 °C.

Adição de antioxidantes

A influência da adição dos antioxidantes no processo de manutenção de cor na linguiça mista defumada foi pesquisada pela elaboração de seis formulações, em duplicata, adicionadas de: ácido ascórbico, α -tocoferol e ficocianina em diferentes concentrações que foram comparadas ao controle, adicionada apenas de nitrito de sódio. Os tratamentos foram denominados conforme o tipo de antioxidante adicionado e suas respectivas concentrações, conforme apresentado na Tabela 1.

Determinações analíticas

As amostras foram analisadas no tempo zero e após 28 dias de armazenamento quanto os parâmetros $L^*a^*b^*$ de cor, nitrito residual e pH. Em cada um desses tempos foram coletadas para análise dois gomos de linguiça de cada tratamento, designadas anteriormente como: Controle, 1 A, 1 B, 2 A, 2 B, 3 A e 3 B, totalizando 14 amostras. Para cada amostra coletada em cada tempo realizaram-se análises de cor, pH e nitrito residual com três repetições.

As análises de quantificação de nitrito e pH foram realizadas de acordo com os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes⁹. Na análise de nitrito, após a

desproteínização da amostra, os filtrados obtidos foram submetidos à reação de cor com alfa-naftol e lidos em espectrofotômetro Marca Único, modelo UV 2100, a 474 nm em relação a uma curva padrão. Para a análise do pH, 50 g foram retiradas de dois gomos de linguiça, acrescidas de 20 mL de água destilada e homogeneizadas com bastão de vidro por 1 um minuto. O valor do pH foi determinado em potenciômetro digital marca Digimed, modelo DM20, previamente calibrado a pH 4 e 7.

A cor foi determinada em colorímetro ColorQUESTTM, calibrado previamente, operando com iluminante D65, ângulo 10° no modo RSIN, no espaço CIE $L^*a^*b^*$, onde L^* = luminosidade, a^* = intensidade de cor vermelha e b^* =intensidade de cor amarela¹⁰. As amostras de linguiça foram trituradas em multiprocessador de alimentos, colocadas em placas de Petry e introduzidas no aparelho para realização das medidas de cor. Para cada amostra de linguiça foram realizadas três leituras de cor, anotando-se os valores médios de $L^*a^*b^*$.

Análise estatística

Os resultados das amostras foram avaliados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 % ($p < 0,05$), utilizando o *software* Statistica 7.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seleção da concentração de nitrito de sódio

Os resultados das análises de contagem de *C. perfringens* mostraram que não houve crescimento significativo ($p > 0,05$) do micro-organismo e não houve diferença na contagem entre as duas formulações contendo diferentes concentrações de nitrito. Com isso, selecionou-se a menor concentração de nitrito (50 ppm) para ser utilizada posteriormente na formulação das linguiças.

Análise de cor

Os resultados de ANOVA da análise de cor $L^*a^*b^*$ das formulações da linguiça mista defumada (0A-controle, 1 A, 1 B, 2 A, 2 B, 3 A e 3 B) durante os tempos de estocagem (0 e 28 dias) demonstraram haver interação entre o tratamento e o tempo de estocagem e diferença significativa nos dois efeitos estudados ao nível de significância de 95%.

A Tabela 2 apresenta as medidas dos parâmetros de cor $L^*a^*b^*$ para todos os tratamentos, no tempo de armazenamento.

Tabela 1. Formulações das linguiças

Tratamento	Concentração e tipo de aditivo
0A (controle)	0,005 % nitrito de sódio
1 A	0,5% ácido ascórbico + 0,005% nitrito de sódio
1 B	0,3% ácido ascórbico + 0,005% nitrito de sódio
2 A	0,01% α -tocoferol + 0,005% nitrito de sódio
2 B	0,005% α -tocoferol + 0,005% nitrito de sódio
3 A	0,001% ficocianina + 0,005% nitrito de sódio
3 B	0,0005% ficocianina + 0,005% nitrito de sódio

Tabela 2. Resultados das análises de cor das formulações de linguiça mista defumada nos tempos 0 e 28 dias de armazenamento

Tratamentos	Tempos de armazenamento (dias)	Parâmetro de cor		
		L*	a*	b*
0 A	0	41,76±0,35 ^{bc}	6,45±0,36 ^e	5,53±0,27 ^a
	28	43,68±0,90 ^{defg}	3,96±0,47 ^{ab}	6,96±0,69 ^{bcd}
1 A	0	39,63±0,35 ^a	5,83±0,08 ^{de}	5,88±0,24 ^{ab}
	28	43,29±0,58 ^{cdef}	4,51±0,21 ^{Bc}	8,07±0,76 ^d
1 B	0	40,77±0,70 ^{ab}	5,67±0,18 ^{de}	7,65±0,36 ^{cd}
	28	45,07±0,77 ^{gh}	4,20±0,35 ^b	8,30±0,20 ^d
2 A	0	45,97±0,19 ^{hi}	5,76±0,11 ^{de}	6,61±0,33 ^{abc}
	28	47,45±0,40 ⁱ	3,85±0,20 ^{ab}	7,69±0,43 ^{cd}
2 B	0	43,68±0,55 ^{defg}	5,82±0,20 ^{de}	6,60±0,18 ^{abc}
	28	46,72±0,45 ⁱ	4,33±0,17 ^b	7,59±0,81 ^{cd}
3 A	0	43,09±0,41 ^{cde}	5,16±0,48 ^{cd}	6,50±0,23 ^{abc}
	28	44,77±0,56 ^{gh}	3,23±0,04 ^a	8,08±0,27 ^d
3 B	0	42,87±0,24 ^{cd}	5,66±0,26 ^{de}	6,20±0,38 ^{ab}
	28	44,63±0,57 ^{efgh}	4,07±0,11 ^B	6,66±0,65 ^{abc}

*Valores com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ao nível de significância de 95% ($p < 0,05$)

Os resultados mostram que no tempo zero de armazenamento, os tratamentos 1 A, 1 B, 2 A, 2 B, 3 A e 3 B não mostraram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) para o parâmetro a* quando comparados ao controle 0 A. Esses resultados comprovam que no dia da fabricação há predominância da cor característica da carne, sem interferência do nitrito e agentes antioxidantes.

No tempo de 28 dias de armazenamento, observou-se que os valores do parâmetro a* diminuíram significativamente ($p < 0,05$) em todos os tratamentos quando comparados ao tempo inicial. Os maiores valores de a* foram observados nos tratamentos 1 A (0,5% de ácido ascórbico + 0,005% de nitrito) e 2 B (0,005% de α -tocoferol + 0,005% de nitrito). A incorporação do ácido ascórbico na salmoura de cura, como no caso do tratamento 1 A, acelera a redução da metamioglobina e a conversão do nitrito em óxido nítrico, sendo que sua ação sinérgica com o nitrito ao longo do tempo é importante para a fixação da cor vermelha em produtos cárneos¹¹. No tratamento 2 B, o α -tocoferol mostrou-se potente agente antioxidante dos pigmentos¹². Com relação ao valor do parâmetro a*, indicativo de intensidade de coloração vermelha, o tratamento 1 A apresentou valor mais elevado, indicando maior eficiência na manutenção da cor característica da linguiça. No entanto, o valor de a* foi estatisticamente igual ($p < 0,05$) nos tratamentos 1 A e 2 B. Com relação ao valor do parâmetro b*,

indicativo de coloração amarela, o tratamento 1 A apresentou menor valor, porém, estatisticamente igual ao tratamento 2 B. Como os valores dos parâmetros a* e b* foram estatisticamente iguais, os tratamentos 1 A e 2 B foram considerados os mais eficientes na manutenção da cor característica da linguiça.

Também foi possível observar que após 28 dias de armazenamento, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) nos valores de a* com o aumento da concentração do antioxidante ácido ascórbico de 0,3% (tratamento 1 B) para 0,5% (tratamento 1 A) e nem com o aumento da concentração do antioxidante α -tocoferol de 0,005% (tratamento 2 B) para 0,01% (tratamento 2 A). Somente houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos 3 A e 3 B, com o aumento da concentração de ficocianina de 0,0005% (tratamento 3 B) para 0,001% (tratamento 3 A), em que houve diminuição da intensidade de cor vermelha.

Para o parâmetro de cor b*, pode-se verificar que em todos os tratamentos houve aumento do valor da intensidade de cor amarela após 28 dias de armazenamento. Em relação às diferentes concentrações de antioxidantes adicionados, apenas houve diferença significativa ($p < 0,05$) no valor de b* entre os tratamentos 3 A (0,001% ficocianina + 0,005% nitrito de sódio) e 3 B (0,0005% ficocianina + 0,005% nitrito de sódio) após 28 dias de armazenamento. A diminuição de intensidade de cor vermelha no tratamento 3 A e consequente aumento

da intensidade de coloração amarela pode ser explicada função da coloração do antioxidante, pois a ficocianina extraída da *Spirulina platensis* possui pigmentação azul que, ao ser adicionada na carne e estocada durante 28 dias, provocou uma diminuição na intensidade de coloração vermelha. Cabe salientar que até o momento nenhum estudo ainda havia sido realizado sobre adição desse antioxidante em carnes, portanto essa alteração na cor do produto não era previsível.

Para o parâmetro de luminosidade (L^*), observou-se o mesmo comportamento do que o parâmetro b^* , sendo que a intensidade da luminosidade aumentou significativamente ($p < 0,05$) após 28 dias de armazenamento para todos os tratamentos. Isso mostra que o tempo de armazenamento não provoca escurecimento da carne, ao contrário do que o observado por Ribeiro et al.¹⁶ para a carne de peixe. Esse aumento no valor de L^* em todos os tratamentos indica diminuição da coloração escura. Isso pode ter ocorrido em função da adição dos antioxidantes na linguiça, pois eles se apresentam como alternativa na prevenção da oxidação em produtos cárneos, por retardar os processos de autooxidação ou por inibir a formação dos radicais livres durante o passo de iniciação da reação de oxidação, ou ainda, pela interrupção da etapa de propagação, protegendo os lipídeos presentes na carne e estabilizando as moléculas de mioglobina¹⁴.

Análise de pH e nitrito residual

O pH é um fator determinante para a qualidade final do referido produto. A adição direta do ácido ascórbico pode provocar reações que baixam bruscamente o pH, podendo comprometer a qualidade do embutido¹³. Em relação ao α -tocoferol e à ficocianina, não há referências que evidenciam sua influência no pH juntamente com o nitrito. As análises de pH nos tempos 0 e 28 dias de armazenamento mostraram que o pH manteve-se em torno de 6,5 para todos os tratamentos, evidenciando que a adição dos antioxidantes não influenciou no pH. Em relação ao ácido ascórbico, as concentrações utilizadas foram tão pequenas que não provocaram queda brusca de pH.

A adição de nitrito em alimentos é oficialmente regulamentada na maioria dos países. As orientações quanto ao seu emprego, contudo, têm sofrido alterações nos últimos anos. No Brasil o limite máximo permitido pela Anvisa¹⁵ é de 150 mg/kg¹, valores considerados elevados se comparados a legislação de outros países.

Os resultados das análises de nitrito apresentaram-se bem inferiores ao valor máximo permitido pela legislação brasileira para todos os tratamentos e o controle. O controle apresentou um teor de 58 mg de nitrito residual/kg amostra no tempo zero e 28 dias de armazenamento e os valores dos tratamentos 1 A, 1 B, 2 A, 2 B, 3 A e 3 B apresentaram valores bem próximos entre si, em torno de 25 mg de nitrito residual/kg de amostra tanto no tempo 0 quanto após 28 dias de armazenamento das amostras.

CONCLUSÃO

A manutenção da cor vermelha da linguiça mista defumada foi mais eficiente utilizando os tratamentos 1 A (0,5% de ácido ascórbico + 0,005% de nitrito) e 2 B (0,005% α -tocoferol + 0,005% nitrito sódio), evidenciando a atuação do ácido ascórbico como agente redutor atuando na inibição da oxidação da mioglobina; e a capacidade antioxidante do α -tocoferol pela redução da oxidação dos pigmentos da carne.

A substituição parcial do nitrito por antioxidantes naturais pode ser sugerida como uma prática tecnológica viável do ponto de vista sanitário e sensorial, relativo à cor da carne.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Laura Beatriz Rodrigues e à bióloga Jucenara Soares, pela realização das análises microbiológicas. Ao Centro de Pesquisas em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo (UPF), por ceder os laboratórios para a realização dos experimentos e à professora Dra. Luciana Ruschel do Santos, pelo auxílio prestado na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Carvalho SRST, Manço MCW. Cor: Métodos de Avaliação da Qualidade de Carnes. [acesso 2005 Out 6]. Disponível em: [http://dcta.fca.unesp.br/carnes/Alunos%20PG/Zootecnia/roca306.pdf].
2. Bekhit AED, Faustman C. Metmyoglobin reducing activity-review. *Meat Sci*. 2005;71(3):408-35.
3. Pourazrang H, Moazzami AA, Fazly-Bazzaz BS. Inhibition of mutagenic N-nitroso compound formation in sausage samples by using l-ascorbic acid and a-tocopherol. *Meat Sci*. 2002;62(4):479-83.
4. Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. *Meat Sci*. 2007;77(1):63-80.
5. Ahn DU, Nam KC. Effects of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Radiat Phys Chem*. 2004;71(1/2):149-54.

6. Aksu MI, Kaya M. The effect of α -tocopherol and butylated hydroxyanisole on the colour properties and lipid oxidation of kavurma, a cooked meat product. *Meat Sci*. 2005;71(2):277-83.
7. Moraes CC, Kalil SJ. Strategy for a protein purification design using C-phycoyanin extract. *Bioresource Technol*. 2009;100(21):5312-17.
8. Farooq SM, Asokan D, Kalaiselvi P, Sakthivel R, Varalakshmi P. Prophylactic role of phycoyanin: a study of oxalate mediated renal cell injury. *Chem Biol Interact*. 2004;149(1): 1-7.
9. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). Instrução Normativa nº 20, de 20 de julho de 1999. Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - sal e salmouras. Brasília (DF); 1999.
10. Stewart MR, Zipser MW, Watts BM. The use of reflectance spectrophotometry for the assay of raw meat pigments. *J Food Sci*. 1965;30(3):464-9.
11. Lawrie RA. *Ciência da carne*. 6th ed. Porto Alegre (RS): Ed Artmed; 2005.
12. Ismail HA, Lee EJ, Ahn DU. Effects of aging time and natural antioxidants on the color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Meat Sci*. 2008;80(3):582-91.
13. Pardi MC, Santos IF, Pardi ER, Silva H. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 1ª. ed. Goiânia (GO): Editora da Universidade Federal de Goiânia - UFG; 2001.
14. Cotrim WS. Antioxidantes naturais e seus efeitos sobre a cor e nível oxidativo de carne bovina. *Rev ABCZ*. 2011; 60:52-5.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Portaria nº 1.004 de 11 dez. 1998. Dispõe sobre o Regulamento técnico de Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Carneos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 mar. 1999.
16. Ribeiro SCA, Ribeiro CFA, Park KJ, Araujo EAF. Alteração da cor da carne de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. *Rev Bras Prod Agrop*. 2007;9(2):125-35.

Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca

Quality and acceptance of goat milk coalho cheese with inclusion of cow milk

RIALA6/1378

Bárbara Melo SANTOS¹, Maria Elieidy Gomes de OLIVEIRA², Yasmim Régis Formiga de SOUSA¹, Ana Raquel Mendes Ferreira Monteiro MADUREIRA³, Maria Manuela Estevez PINTADO³, Ana Maria Pereira GOMES³, Evandro Leite de SOUZA¹, Rita de Cássia Ramos do Egypto QUEIROGA^{1*}

*Endereço para correspondência: ¹Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Campus I, João Pessoa, PB, CEP: 58091-100, e-mail: rcqueiroga@uol.com.br

²Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco

³Centro de Biotecnologia e Química Fina (CBQF), Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, Portugal.

Recebido: 31.03.2010 – Aceito para publicação: 27.07.2011

RESUMO

Nessa pesquisa objetivou-se avaliar o efeito da adição de leite bovino na fabricação de queijo coalho de leite de cabra nas características físico-químicas e sensoriais a fim de corroborar com a melhora da qualidade e aceitação do produto. Os queijos foram preparados com cinco proporções de mistura de leite caprino: bovino: Q₁ (4:0); Q₂ (3:1); Q₃ (1:1); Q₄ (1:3); Q₅ (0:4), nas quais se utilizou um modelo estatístico inteiramente casualizado constando de cinco tratamentos e três repetições. As amostras foram submetidas às análises: microbiológicas, como controle de qualidade; físico-químicas: colorimétrica, derretimento, rendimento, umidade, gordura, proteína, extrato seco total, pH, atividade de água (Aw) e sensorial: teste de aceitabilidade e ordenação da preferência. Os valores médios mostraram-se significativos (p<0,05) para as análises de umidade, Extrato Seco Total (EST), proteína, cinzas, acidez e parâmetro colorimétrico b*. A avaliação global e a preferência dos consumidores, na análise sensorial, diferiram significativamente para o queijo elaborado com 100% de leite de cabra. A elaboração de queijos coalho a partir de misturas desses leites apresenta-se viável, tanto do ponto vista nutricional, quanto sensorial, representando uma potencial alternativa para a agroindústria de produtos lácteos.

Palavras-chave. produtos lácteos, microbiologia, escala hedônica, componentes químicos.

ABSTRACT

In this research, we aimed to evaluate the effect on the physicochemical and sensory characteristics of using bovine milk in the manufacture of goat milk coalho cheese. The purpose of this evaluation was to corroborate the improvement in quality and product acceptance. The cheese was prepared by varying the proportions of the milk mixture in five groups: (caprine: bovine) Q₁ (4:0); Q₂ (3:1); Q₃ (1:1); Q₄ (1:3) and Q₅ (0:4). The completely randomized design consisted of three repetitions for each of these five ratios. The samples were subjected to microbiological analysis (such as quality control), physicochemical analysis (such as colorimetric properties, melting point, yield, pH, the activity of water - Aw and the moisture, fat, protein and total solid content) and sensory analysis (such as the acceptance test and order of preference). The mean values were significant (p<0.05) for moisture, Total Solids (TS), protein, ash, acidity and the colorimetric parameter b*. In the sensory analysis, the overall evaluation and consumer preference differed significantly for the cheese made with 100% goat's milk. The preparation of cheese curd using these mixtures of milks was found to be viable, from both nutritional and sensory standpoints and represents a potential alternative for the dairy products industry.

Keywords. dairy products, microbiology, hedonic scale, chemicals.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira revela-se como uma atividade próspera no cenário atual de desenvolvimento econômico brasileiro, cumprindo um papel socioeconômico importante nas diversas regiões, por gerar renda direta, representando uma excelente fonte alimentar. Difundindo-se segundo Ribeiro et al.¹ em áreas que apresentam as mais diferenciadas características edafoclimáticas. No entanto, somente em alguns países essa atividade apresenta expressão econômica, sendo, na maioria dos casos, desenvolvida de forma empírica e extensiva, adotando baixos níveis tecnológicos e, conseqüentemente, apresentando baixa produtividade e rentabilidade.

Do rebanho nacional caprino, a Região Nordeste concentra a maior proporção (91,04%), além de deter a maior produção de leite de cabra (66,70%). Em termos de tamanho populacional, a Paraíba é o quinto Estado nordestino, com 461.401 cabeças, o equivalente a 7% da população caprina dessa região². Essa população caprina se concentra, principalmente, na região do semiárido brasileiro. Segundo Pimenta Filho, Sarmento e Ribeiro³, apesar de numericamente expressivo, o rebanho caprino da região Nordeste mantém índices produtivos ainda baixos, principalmente em razão do baixo padrão tecnológico empregado na região e da falta de apoio governamental.

Medeiros et al.⁴ relatam que o uso de caprinos como produtores de leite, pode tornar-se um importante instrumento na política de produção de alimentos, diminuindo assim os níveis de subnutrição e taxa de mortalidade infantil de várias regiões, principalmente no Nordeste brasileiro.

Produtos como queijos, iogurtes e bebidas lácteas, podem ser obtidos a partir do leite de cabra, utilizando-se de processos simples e acessíveis aos pequenos produtores, sendo essa uma alternativa para o aumento no consumo de produtos de origem caprina e para a agregação de valores a tais produtos.

Queijo é o produto de maior interesse tecnológico e econômico produzido com leite de cabra⁵. Sabe-se que o queijo de coalho caracteriza-se por ser tipicamente brasileiro, possuir ampla difusão na Região Nordeste do Brasil e por ser um produto de grande valor comercial, devido principalmente à simplicidade da tecnologia de fabricação e ao elevado rendimento do processo.

De acordo com Sheehan et al.⁶, embora amplamente utilizados para uma variedade de queijos, a relativamente baixa produção de leite por dia de cada um dos caprinos impõe restrições à eficiência no transporte e tratamento dessa matéria prima, destacando-se também, outro possível problema, que é o odor característico da espécie que influencia fortemente no sabor do leite caprino, e, conseqüentemente, nos produtos derivados, o que pode representar um desafio para os fabricantes.

Um incremento dessa cultura deve-se, principalmente, às ações conjuntas de instituições de pesquisa, governos e associações de criadores, que procuram melhorar o potencial leiteiro do rebanho e fomentar o desempenho da indústria de laticínios⁷. No entanto, o crescimento considerável de interesse por parte dos consumidores na grande variedade de produtos lácteos caprinos tem levado, especialmente, a aumentar a investigação pelo melhoramento na produção de queijos de origem caprina⁸.

A composição do leite caprino, bem como, de seus derivados, têm sido estudados com o objetivo de obter qualidade e aceitação do produto, como também, desenvolver ou acentuar substâncias benéficas à saúde humana. Com isso, a carência de tecnologia no Brasil associado à falta de pesquisas que evidenciem a qualidade dos produtos de leite caprino têm se constituído como as principais limitações à produção sustentável, à valorização do produto e ao desenvolvimento da agroindústria de produtos lácteos caprinos. Nesse contexto, essa pesquisa objetivou fabricar e avaliar as características físico-químicas e sensoriais de queijos de coalho de leite de cabra adicionados de leite de vaca a fim de difundir informações a respeito da produção e qualidade nutricional de produtos lácteos caprinos mistos, como minimizador do “sabor caprino”, apresentando-se como contribuição na busca de alternativas para a caprinocultura leiteira nacional e para o fortalecimento da cadeia produtiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de execução e amostragem

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética, Laboratório de Bromatologia e no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Nutrição no Centro de Ciências da Saúde (CCS), Laboratório de Análises de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Química de Alimentos no Centro de Tecnologia da Universidade Federal da

Paraíba(UFPB), em João Pessoa, nos meses de novembro a março de 2010.

O leite de cabra utilizado foi coletado no Setor de Caprinocultura do Centro de Formação de Tecnólogos – Campus III (UFPB). O leite de vaca utilizado foi do tipo C sendo adquirido sob temperatura de refrigeração em pontos comerciais, transportado em recipiente isotérmico até o Laboratório de Técnica Dietética (CCS/UFPB), em que foi realizada a pasteurização e o armazenamento sob refrigeração até o momento do processamento dos queijos. Os leites utilizados na fabricação foram integrais. As culturas lácticas mesófilas (R-704 *Lactococcus lactis* subesp. *Cremoris* e *Lactococcus lactis* subesp. *Lactis*) e o coalho (coagulante líquido HA-LA® do Brasil, Força 1:3.000) utilizados na produção dos queijos coalhos foram disponibilizados pela Christian Hansen® (Valinhos, Minas Gerais, Brasil).

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (Q₁, Q₂, Q₃, Q₄, Q₅) em duplicatas e três repetições. Os resultados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) realizando-se teste de Tukey ao nível de 5% de significância (p<0,05), para comparação das médias. As análises foram realizadas pelo Programa SPSS (v. 17.5, Chicago IL, USA). O volume utilizado para elaboração dos queijos foi de oito litros por tratamento, sendo realizado aprimoramento de técnicas descritas na literatura. Os produtos lácteos foram preparados com cinco relações de mistura de leite:

- Q₁ = 100% leite de cabra (100% LC);
- Q₂ = 75% de leite de cabra + 25% de leite de vaca (75% LC);
- Q₃ = 50% de leite de cabra + 50% de leite de vaca (50% LC);
- Q₄ = 25% de leite de cabra + 75% de leite de vaca (25% LC);
- Q₅ = 100% de leite de vaca (0% LC).

Qualidade do leite

As análises microbiológicas da matéria-prima utilizada na elaboração dos queijos foram feitas com base na técnica *pour plate*, usando o meio *Plate Count Agar*, seguido de incubação a 37 °C/48 h⁹; técnica de tubos múltiplos para constatar a presença de coliformes a 35 °C e coliformes termotolerantes¹⁰ e detecção de *Salmonella* spp., sendo realizados os testes bioquímicos confirmatórios¹⁰.

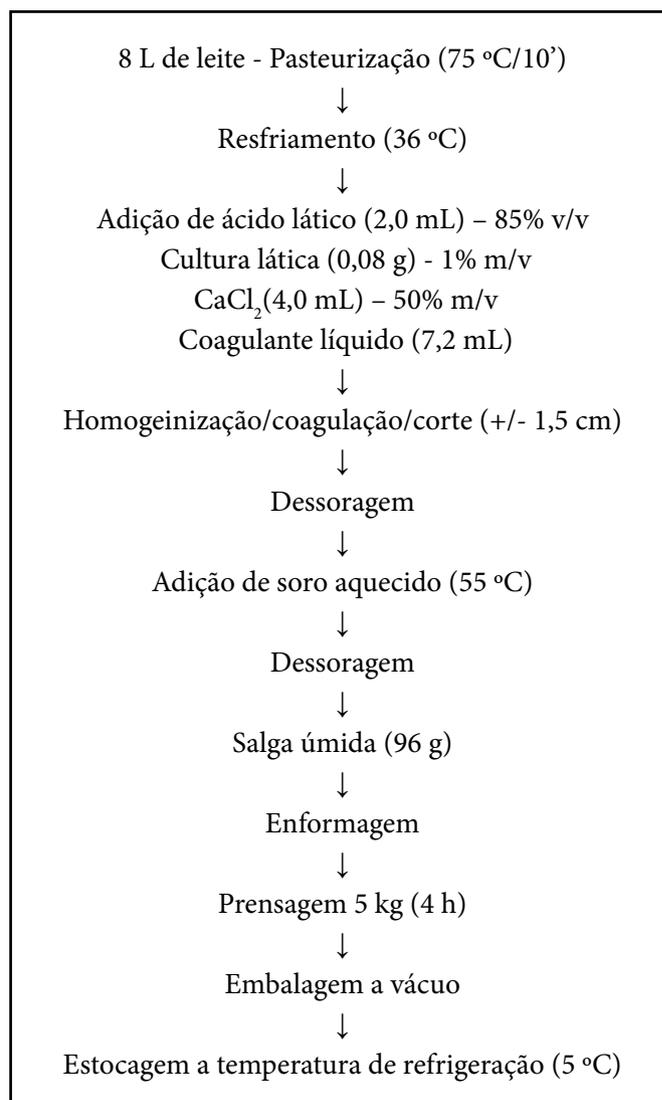


Figura 1. Fluxograma do procedimento de fabricação dos queijos coalho de leite de cabra com inclusão de leite de vaca

Protocolo de elaboração dos queijos de leite de cabra adicionados de leite de vaca

Os queijos foram fabricados de forma artesanal seguindo os procedimentos sugeridos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)¹¹ com aprimoramento dessas técnicas e encontram-se expressos na forma de fluxograma (Figura 1).

Os queijos coalho caprino foram submetidos a um período de maturação de sete dias a contar da data de sua elaboração. No dia seguinte à fabricação dos queijos, amostras foram submetidas à análise de controle microbiológico. No oitavo dia, ou seja, no dia seguinte após o fim do período de maturação citado foram realizadas as análises físicas, físico-químicas e

microbiológica. A análise sensorial foi realizada com 10 dias após a elaboração dos queijos.

Análises microbiológicas

Realizaram-se as análises microbiológicas dos queijos coalho de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)¹², que trata do Regulamento Técnico Geral para a Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijos, em que os queijos de coalho devem obedecer aos critérios estabelecidos para queijos de médio a alto teor de umidade. As análises foram feitas com base nos Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal, conforme as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*¹⁰.

Análises da funcionalidade dos queijos

Análise colorimétrica

A determinação da cor instrumental foi realizada em colorímetro Minolta, modelo CR-300, utilizando o sistema CIELAB¹³. No espaço colorimétrico CIELAB, definido por L*, a*, b*, a coordenada L* corresponde a luminosidade, a* e b* referem-se às coordenadas de cromaticidade verde(-)/vermelho(+) e azul(-)/amarelo(+), respectivamente. As medições foram realizadas em triplicata com o aparelho previamente calibrado, usando a parte interna do queijo para avaliação, imediatamente após a retirada da embalagem.

Capacidade de derretimento

Utilizou-se o método descrito por Roig et al.¹⁴, sendo realizada em duplicata. O teste foi desenvolvido por meio da retirada de amostras por um cilindro de 36 mm de diâmetro de cada peça de queijo. Em seguida com o auxílio de um fatiador, retirou-se duas fatias com 7 mm de espessura da região mais central da peça. No centro de uma placa de petri, marcada com quatro linhas gerando um ângulo de 45° entre elas, foi colocada uma fatia de cada amostra sendo medidos quatro diâmetros (D_i). As placas com as amostras foram deixadas por 30 minutos na temperatura ambiente e em seguida encaminhadas à estufa a 107 °C por sete minutos. Posteriormente as placas foram deixadas por mais 30 minutos à temperatura ambiente para leitura. Os diâmetros de cada amostra derretida foram medidos novamente (D_f). A figura a

seguir mostra o esquema da análise. A capacidade de derretimento foi calculada usando a seguinte equação:

$$CD(\%) = \frac{D_f^2 - D_i^2}{D_i^2} \times 100\%$$

Rendimento

Os cálculos do rendimento de cada tratamento foram realizados por meio da divisão da soma da massa dos queijos (em g), obtida após a salga, pelo volume de leite empregado no processamento (8 litros) de acordo com Buriti et al.¹⁵.

Análises físico-químicas

Após a elaboração dos queijos, esses foram submetidos em duplicata, as análises de acordo com cada metodologia específica: determinação de pH – de acordo com a recomendação IAL 463 IV¹⁶ e de Umidade e Extrato Seco Total (EST) – utilizou-se o processo de secagem até a obtenção de peso constante método AOAC 925.23¹⁷. Foram usadas ainda as análises de Cinzas – mediante incineração em temperatura próxima a 550 °C -570 °C¹⁶; de Gordura – utilizando o Lacto-butirômetro de Gerber pelo método IAL 465 IV¹⁶; Proteína – pelo método de Micro-Kjedahl, com o fator 6,38 multiplicando pela porcentagem de nitrogênio – métodos AOAC, 991.20 e 991.23¹⁷. Por fim, foi realizada a análise da Atividade de água determinada a uma temperatura de 25 °C (± 4 °C), utilizando-se o equipamento Aqua Lab (Aqualab, Pullman, EUA), modelo CX-2, seguindo metodologia descrita em seu manual¹⁸ e de Gordura no Extrato Seco (GES) – obtida pela seguinte relação:

$$GES = \frac{\% \text{ de gordura} \times 100}{\% \text{ EST}}$$

Análise sensorial

Para a realização da análise sensorial foram aplicados Testes de Aceitação de acordo com metodologia descrita por Faria e Yotsuyanagi¹⁹, nos quais foram oferecidas cinco amostras do queijo de leite de cabra coalho adicionado de diferentes níveis de leite de vaca sob temperatura de refrigeração acompanhadas de água e bolacha água e sal. As provas decorreram na sala de provas do Laboratório de Técnica Dietética (CCS-UFPB) composta por seis locais de degustação individualizados e climatizados.

Tabela 1. Valores médios das determinações instrumentais de cor nas amostras de queijo coalho de leite de cabra com inclusão de leite de vaca

Determinação	Tratamentos				
	Q ₁	Q ₂	Q ₃	Q ₄	Q ₅
Parâmetro L*	92,72 ^a (±1,00)	92,87 ^a (±0,22)	92,39 ^a (±2,03)	92,06 ^a (±0,92)	91,44 ^a (±1,29)
Parâmetro a*	-2,75 ^a (±0,24)	-2,67 ^a (±0,12)	-2,54 ^{ab} (±0,04)	-2,24 ^b (0,11)	-2,72 ^a (±0,18)
Parâmetro b*	10,09 ^b (±0,55)	9,99 ^b (±0,60)	10,89 ^{ab} (±0,52)	13,18 ^a (±1,76)	13,53 ^a (±0,38)

Média das 3 repetições de cada queijo. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey

Este trabalho foi submetido à avaliação e apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde (UFPB) e aprovado (Protocolo nº 104/6/2007).

Os atributos avaliados foram: aparência, cor, aroma, textura, sabor e avaliação global utilizando-se escala hedônica estruturada com nove categorias (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Além disso, ainda foi aplicado o teste de intenção de compra utilizando escala hedônica estruturada ancorada em 5 pontos (1 = certamente não compraria; 3 = talvez comprasse/ talvez não comprasse; 5 = certamente compraria) e o teste de ordenação de preferência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade microbiológica do leite e do queijo

Diante dos resultados obtidos nessa pesquisa, para a qualidade do leite de vaca tipo C e de cabra utilizados na fabricação dos queijos, os parâmetros microbiológicos observados encontravam-se em conformidade com os padrões estabelecidos segundo Brasil^{20,21}, que abrangem a qualidade microbiológica de leite de cabra, para a contagem de Padrão em placas, coliformes a 35 °C e termotolerantes e *Salmonella* spp. apresentando-se aptos para a utilização na fabricação dos queijos coalho.

Os valores registrados nas análises microbiológicas de queijos apresentavam-se de acordo com as normas vigentes com relação às análises para Coliformes a 35 °C e 45 °C (NMP/g), *Staphylococcus* coagulase positiva (log UFC/g), *Salmonella* spp./25 g e *Listeria monocytogenes*/25 g para queijos de média umidade a alta umidade (maior que 36% e menor que 54,9%) baseada na IN nº 30¹², que dispõe sobre o Regulamento Técnico Geral de Identidade de Queijo de

Coalho e Queijo de Manteiga, não representando riscos à saúde do consumidor.

A fermentação, que ocorre na maturação dos queijos, com a formação do ácido láctico é fundamental na diminuição do crescimento de micro-organismos patogênicos. De acordo com Buriti et al.²², a adição de ácido láctico, bem como a presença de culturas lácticas asseguram uma produção permanente do ácido, com consequente redução do pH, durante armazenamento, assim como a produção de outros compostos antimicrobianos.

Avaliação da funcionalidade

Avaliação da cor

Os valores médios para o parâmetro de luminosidade não demonstraram efeito significativo entre os tratamentos, de modo que, o tipo de leite não influenciou (p>0,05) na brancura do queijo, apesar de estudos indicarem que o queijo de leite de cabra pode estar associado a uma cor mais branca que queijos de leite de vaca devido à conversão do β-caroteno em vitamina A por esses animais². Segundo Andrade et al.²³, o parâmetro L* indica a luminosidade e refere-se à capacidade do objeto em refletir ou transmitir luz, variando numa escala de zero a 100. Quanto maior o valor de L*, mais claro o objeto.

Com relação ao parâmetro a* os tratamentos estudados diferiram entre si (p<0,05). Os valores da Tabela 1 confirmam os resultados encontrados por Sheehan et al.⁶ na sua avaliação colorimétrica, pois os queijos analisados na sua pesquisa apresentaram diferenças com relação a inserção do leite bovino.

As médias das determinações instrumentais divergiram significativamente entre os tratamentos para o parâmetro b* dos queijos. Verifica-se que o percentual do componente b* sofreu aumento na medida em que o

volume de leite de cabra utilizado na formulação do queijo foi decrescendo. Mostrou-se assim diferente ($p < 0,05$) no Q_1 com relação ao Q_4 e Q_5 . No entanto, apresentou similaridade ao Q_2 e Q_3 .

Os valores médios descritos na Tabela 1 para a determinação do parâmetro L^* e b^* também reafirmam os resultados mostrados por Sheehan et al.⁶

Avaliação do derretimento e rendimento

A capacidade de derretimento foi maior no Q_3 apresentando média de 5,88 explicada provavelmente devido à intensidade do processo proteolítico o qual é proporcional a capacidade de derretimento dos queijos. Nos tratamentos avaliados não houve diferenças ($p > 0,05$) entre si, apesar dos valores apresentados por Q_1 e Q_2 que demonstraram um encolhimento das amostras caracterizando-se com percentuais igualmente negativos (-0,74).

Essa situação peculiar do derretimento do queijo coalho pode ser explicada em afirmação de Cavalcante et al.²⁴ pelo baixo valor do pH e o alto teor de umidade. Baseado em Munck²⁵, com valores de pH inferiores a 5,7 o queijo coalho derrete e se deforma na presença de calor. Fundamentando-se nas informações anteriores, foi constatado nessa pesquisa que os valores de pH encontrados apresentaram-se superiores a 5,7 favorecendo ao efeito inverso ocorrido nesses tratamentos com relação ao derretimento. Os resultados encontrados para a avaliação do rendimento dos queijos elaborados não apresentaram diferenças expressivas entre os tratamentos analisados ($p > 0,05$).

Composição físico-química dos queijos

Os resultados médios registrados para a composição dos queijos encontram-se descritos na Tabela 2. Os teores de umidade observados variaram de 49,07% a 62,33%, os quais se encontram em desacordo com a Instrução Normativa nº 30¹² o qual preconiza que os queijos de coalho devem conter entre 36% a 54,9% (Tabela 2). Divergente também com dados encontrados por Silva et al.²⁶, que classificaram os queijos de coalho produzidos no Sertão de Alagoas como de média a alta umidade. O único tratamento que reafirma os resultados obtidos por Silva et al.²⁶ é o Q_5 .

O alto teor de umidade determinado nos queijos pode ser explicado pelas informações apresentadas por Roig et al.¹⁴, que possivelmente seja em decorrência da maior presença de soroproteínas desnaturadas, as quais tendem a aumentar a capacidade de retenção de água dos queijos. A elevada presença de soroproteínas desnaturadas nos queijos coalho de leite de cabra elaborados nessa pesquisa pode ser justificada pelo uso do calor no processo de pasteurização utilizado. Segundo Souza e Saad,²⁷ a concentração de íons de hidrogênio aumenta durante acidificação, ocorre diminuição das forças repulsivas, e as micelas de caseína começam a se agregar o que pode explicar a menor umidade apresentada pelo Q_5 o qual demonstrou valores maiores para acidez e menores para o pH. Outro ponto importante relacionado com o aumento do teor de umidade é a consequente redução no extrato seco. Possivelmente isso esteja relacionado à menor sinerese durante os tratamentos da água, pois a água encontra-se fortemente ligada a proteína.

Tabela 2. Valores médios das características físico-químicas dos queijos coalho elaborados com leite de cabra com inclusão de leite de vaca

Variáveis	Tratamento					Padrão (%)
	Q_1	Q_2	Q_3	Q_4	Q_5	
Umidade(%)	57,78 ^a (±1,04)	62,33 ^a (±4,31)	59,89 ^a (±2,02)	55,76 ^{ab} (±2,06)	49,07 ^c (±3,25)	36,0 - 54,9 ¹
EST (%)	42,22 ^{bc} (±1,04)	37,67 ^c (±4,31)	40,11 ^{bc} (±2,02)	44,24 ^b (±2,06)	50,93 ^a (±3,25)	-
GES (%)	41,72 ^a (±4,70)	44,38 ^a (±7,07)	42,28 ^a (±4,28)	44,26 ^a (±5,81)	47,63 ^a (±3,58)	35,0 - 60,0 ²
Proteína (%)	22,43 ^b (±1,05)	19,44 ^b (±2,68)	20,19 ^b (±2,04)	23,18 ^{ab} (±0,40)	25,66 ^a (±2,33)	-
Gordura(%)	18,00 ^b (±2,37)	16,83 ^b (±3,75)	17,00 ^b (±2,37)	19,83 ^{ab} (±3,59)	24,00 ^a (±0,84)	-
Cinzas (%)	2,96 ^{ab} (±0,15)	2,93 ^{ab} (±0,11)	3,25 ^a (±0,30)	3,06 ^a (±0,34)	2,64 ^b (±0,16)	-
Aw	0,98 ^a (±0,0,1)	0,98 ^a (±0,01)	0,97 ^a (±0,01)	0,98 ^a (±0,01)	0,98 ^a (±0,00)	-
pH	6,36 ^a (±1,11)	6,48 ^a (±0,90)	6,18 ^a (±1,13)	6,26 ^a (±1,10)	5,61 ^a (±0,42)	-

Média das 3 repetições de cada queijo. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

(1) Portaria nº 146¹²

(2) Instrução Normativa nº 30¹²

Tabela 3. Distribuição dos escores médios atribuídos pelos provadores com relação aos queijos coalho de leite de cabra com inclusão de leite de vaca

Atributos	Escore médio				
	Q ₁	Q ₂	Q ₃	Q ₄	Q ₅
Aparência	7,42 ^a (±1,84)	7,37 ^a (±1,49)	7,47 ^a (±1,40)	7,71 ^a (±1,06)	7,71 ^a (±1,25)
Cor	7,65 ^a (±2,03)	7,86 ^a (±1,47)	7,98 ^a (±1,22)	7,84 ^a (±1,22)	7,50 ^a (±1,45)
Aroma	7,18 ^a (±1,90)	7,24 ^a (1,74)	7,22 ^a (±1,57)	7,57 ^a (±1,26)	7,44 ^a (±1,53)
Textura	7,31 ^a (±1,89)	6,95 ^a (±1,93)	7,44 ^a (±1,53)	7,44 ^a (±1,61)	7,74 ^a (±1,37)
Sabor	6,16 ^b (±2,31)	6,37 ^{ab} (±2,15)	6,58 ^{ab} (±1,87)	6,90 ^{ab} (±1,91)	7,18 ^a (±1,70)
Avaliação global	7,48 ^a (±1,71)	7,29 ^{ab} (±1,83)	6,95 ^{ab} (±1,68)	6,61 ^{ab} (±1,94)	6,58 ^b (±2,01)

Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey

Os dados para umidade, demonstrados nesse estudo, não coincidiram com os encontrados por Sheehan et al.⁶. No entanto, os percentuais de gordura mostram-se com perfis similares nesta pesquisa: os teores de gordura variaram entre 16,83 a 24,00%. Sheehan et al.⁶ relatam que os valores para umidade e gordura aumentam, proporcionalmente, na medida em que o teor de leite de cabra é substituído pelo leite bovino em tratamentos iguais aos realizados nesta pesquisa. Os seus teores de umidade e gordura variaram, respectivamente, entre 43,59% a 46,05% e de 25,22% a 28,65%. Vale ressaltar, que os componentes avaliados no trabalho de Sheehan et al.⁶ foram submetidos a análises com 14 dias após o processamento, com exceção do pH que foi submetido a avaliação no 5º dia.

As médias encontradas para a gordura no extrato seco (GES) nesse estudo enquadram-se na IN nº 30¹² descrita anteriormente apresentando-se entre 41,72% a 44,38% dispondo-se dentro dos padrões estabelecidos. Os teores de GES apresentaram-se inferiores aos de Sheehan et al.⁶ e não diferiram ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Os valores verificados pela variação das proteínas nos tratamentos enquadram-se entre 19,44% a 25,66%, nas quais apresentam redução significativa com adição de leite de cabra. Resultados diferentes foram observados por Sheehan et al.⁶. O Q₅ apresentou maior percentual de proteínas, enquanto que o Q₃ apresentou menor teor desse nutriente. Sheehan et al.⁶ presumem que as proteínas do leite de cabra e de vaca apresentam-se estruturalmente diferenciadas, além de apresentarem variações percentuais.

O pH mostrou-se similar entre os tratamentos não havendo diferenças ($p > 0,05$). Ao avaliar os dados apresentados por Sheehan et al.⁶ para esse parâmetro, verifica-se uma diminuição do valor do pH com o aumento do volume de leite bovino adicionado na

fabricação dos queijos comportamento semelhante aos resultados expostos na Tabela 2. Os queijos do tratamento Q₅ apresentaram maior teor de acidez acarretando em diferença significativa quando comparado aos outros tratamentos. Acredita-se que esse resultado seja em decorrência ao menor valor de pH encontrado nesse tratamento, processo que ocorre devido à fermentação da lactose.

O teor de cinzas no Q₃ apresentou-se com maior média (3,25%), porém, houve significância somente quando comparado com o Q₅. Os valores encontrados para cinzas encontram-se menores que os valores pesquisados por Silva et al.²⁶ para queijo de coalho. Já com relação ao teor de Aw, não houve variação (0,97 e 0,98) entre os cinco tratamentos ($p > 0,05$).

Avaliação sensorial

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da avaliação sensorial nos quais se pode verificar que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos no que diz respeito aos atributos aparência, cor, aroma e textura. Apesar de não diferirem Silanikove et al.²⁸ citam que a textura do queijo caprino é mais macia que o queijo bovino resultante da maior proporção de glóbulos menores de gordura no leite de cabra.

Com relação à avaliação global, constatou-se que o queijo com 100% de leite de cabra foi o tratamento mais aceito entre os provadores, enquanto que, o queijo com 0% de leite de cabra foi mais rejeitado. Comportamento inverso foi evidenciado na análise de preferência, em que o Q₅ apresentou-se como o mais escolhido. Apesar de o atributo sabor ter sido mais bem avaliado no Q₅, segundo Yvon e Rijnen²⁹, a formação do sabor do queijo é definida como sendo um processo complexo e resultante de um equilíbrio entre

Tabela 4. Média das notas atribuídas pelos provadores quanto à intenção de compra e o teste de ordenação de preferência dos queijos coalho de leite de cabra com inclusão de leite de vaca

Atributos	Distribuição de frequência (%)				
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5
Intenção de compra	3,27b (±1,36)	3,18b (±1,40)	3,52ab (±1,38)	4,07a (±1,08)	4,08a (±1,19)
Preferência	3,55a (±1,36)	3,26a (±1,41)	3,05ab (±1,36)	2,44b (±1,15)	2,53b (±1,48)

Média das 3 repetições de cada queijo. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

todos os compostos originários do metabolismo da lactose, lipídeos e proteínas. As características do sabor do leite de cabra podem ser atribuídas à presença de lipídios, particularmente sob a forma de ácidos graxos de cadeia curta, principalmente caprílico, caproico e cáprico, quase três vezes maiores que no leite de vaca, tornando-os química e fisiologicamente distintos^{30,31,32}.

A intenção de compra dos queijos elaborados foi mais representativa para o atributo 5 (certamente compraria) com relação ao Q_5 (Tabela 4). Esse comportamento corrobora com o teste de aceitação que demonstrou a maior preferência dos provadores pelo Q_4 revelando uma menor média de ordenação de preferência quando comparado com os outros queijos avaliados.

CONCLUSÃO

A elaboração de queijos mistos “tipo coalho” a partir da combinação de leite de cabra e de vaca proporciona variações na composição físico-química e nos atributos sensoriais desses produtos. Queijos elaborados com proporções mais elevadas de leite de cabra, devido ao sabor característico do mesmo, não apresentam a mesma aceitação que aqueles com leite de vaca em maiores quantidades. No entanto, os queijos mistos na proporção 1:1, evidenciam a viabilidade no ponto vista nutricional e sensorial representando uma potencial alternativa para a agroindústria de produtos lácteos, ampliando as opções comerciais de produtos diferenciados aos consumidores.

REFERÊNCIAS

- Ribeiro MN, Cruz GRB, Costa RG, Almeida MJ de. The goat and sheep dairy sectors in South América. International Symposium the Future of the Sheep and Goat Dairy sectors. Zaragoza/Espanha, 2004.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. [Base de dados na internet] Censo Agropecuário: Banco de Dados; 2006. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/estadosat/].
- Pimenta Filho EC, Sarmento JLR, Ribeiro MN. Efeitos genéticos e ambientais que afetam a produção de leite e duração da lactação de cabras mestiças no Estado da Paraíba. *Rev Bras Zootec*. 2004;33(6):1426-31.
- Medeiros LP, Girão RN, Girão ES, Pimentel JCN. Caprinos: princípios básicos para sua exploração. Teresina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de Pesquisa do Meio-Norte (Embrapa), Brasília; 1994. 177p.
- Curi RA, Bonassi IA. Elaboração de um queijo análogo ao pecorino romano produzido com leite de cabra e coalhada congelados. *Cienc Agrotec*. 2007;1(1):171-6. (Série Agronegócios).
- Sheehan JJ, Drake MA, Mcsweeney PLH. Effect of partial or total substitution of bovine for caprine milk on the compositional, volatile, non-volatile and sensory characteristics of semi-hard cheeses. *Int Dairy J*. 2009;19:498-509.
- Oliveira MEG. De, Desenvolvimento de formulações de bebidas lácteas fermentadas a partir de soro e leite de cabra [dissertação de mestrado]. João Pessoa (PB): Universidade Federal da Paraíba - UFPB; 2009.
- Pandya AJ, Ghodke KM. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Rumin Res*. 2007;68:193-206.
- Vanderzant C, Spiltoesser DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington (DC): APHA; 1992. p. 1.219.
- Food and Drug Administration - FDA. Bacteriological Analytical Manual. 7ª ed Arlington: AOAC International; 1992.
- Laguna LE, Landim FGS. Iniciando um Pequeno Grande Negócio Agroindustrial de Leite de Cabra e Derivados. Embrapa Caprinos, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília (DF); 2003. 151p.
- Brasil. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF; 2001. Seção 1, p.13.
- CIE - Comissão International de l'Éclairage. Colorimetry. Vienna: CIE publication, 2ª ed.; 1996.
- Roig S, Narimatsu A, Dornelas JRF, Spadoti LM, Pizaia PDM. *Cienc Tecnol Aliment*. 2003;23:177-82.

15. Buriti FCA, Rocha JS, Assis EG, Saad SMI. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *LWT – Food Sci Technol*. 2005;38:173-80.
16. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. [1ª ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008.
17. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washington, 14ª ed.; 2000.
18. AQUALAB. Analisador de atividade de água para avaliar biodegradação (Alimentos e fármacos): Modelo CX-2. Decagon Devices, Inc. 950 NE Nelson Court Pullman, WA 99163, USA; 2001.
19. Faria EV, Yotsuyanagi K. Técnicas de Análise Sensorial. Campinas (SP): ITAL/LAFISE, 2002. p.116.
20. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 18 de set 2002. Seção 1, p. 13.
21. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 31 de out. 2000. Seção 1, p. 23.
22. Buriti FCA, Rocha JS da, Saad SMI. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int Dairy J*. 2005;15:1279-88.
23. Andrade AA, Rodrigues MCP, Nassu R, Souza Neto MA. Medidas instrumentais de cor e textura em queijo de coalho. 15º Congresso LatinoAmericano de Analistas de Alimentos, 2007; Fortaleza.
24. Cavalcante JFM, Andrade NJ, Furtado MM, Ferreira CLLF, Pinto CLO, Elard E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(1):205-14.
25. Munck AV. Queijo de Coalho – Princípios básicos da fabricação (Palestra). *Rev Inst Lat Cândido Tostes*. 2004;59(339):13-5.
26. Silva MCD, Ramos ACS, Moreno I, Moraes JO. Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(2): 214-21.
27. Souza CHB, Saad SMI. Viability of *lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physical-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. *LWT*. 2009;42:633–40.
28. Silanikove N, Leitner G, Merin U, Prosser CG. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Rumin Res*. 2010;89:110-24.
29. Yvon M, Rijnen L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int Dairy J*. 2001;11(4/7):185-201.
30. Chandan RC, Attaier R, Sahani KM. Nutritional aspects of goat milk and its products. In: International Conference in Goat's Proceedings. 1992;5: 1869-90.
31. Attaier R, Richter RL. Size Distribution of Fat Globules in Goat Milk. *J Dairy Sci*. 2000;83(5):940-4.
32. Haenlein GFW. Goat milk in human nutrition. *Small Rumin Res*. 2004;51:155-63.

Determination of soy proteins in *calabresa* sausage by densitometry on gel electrophoresis

Determinação de proteínas de soja em linguiça calabresa por densitometria em gel de eletroforese

RIALA6/1379

Igor Moura de PAIVA¹, Marco Antônio Moreira FURTADO^{2*}

*Endereço para correspondência: ²Laboratório de Análise de Alimentos e Águas, Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Campus Universitário, Juiz de Fora, MG, CEP: 36036-330, tel: 32 2102-3808, e-mail: marco.furtado@ufjf.edu.br.

¹Laboratório de Pesquisa em Alimentos, Universidade Federal de Juiz de Fora

Recebido: 14.04.2011 - Aceito para publicação 26.07.2011

ABSTRACT

Soy proteins are widely employed in meat products. However addition of non-meat proteins in *calabresa* sausages is not allowed according to the Brazilian legislation and in case of the non-declared addition of this foreign protein in consumed food, it may trigger allergic reactions in some consumers. Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was used for determining soy proteins in *calabresa* sausages. Fraud simulations were performed adding different concentrations (0%; 0.5%; 1%; 2%; 5%; 10%; 20% and 100%) of soy proteins in sausages. The qualitative analysis was not sensitive to detect the lowest concentrations of soy proteins. On the other hand, by using semi-quantitative analysis by means of densitometry of selected protein fractions from soy and porcine meat, the presence of soy proteins could be determined in the all of analyzed concentrations. This methodology could be implemented, without large investments, for conducting quality control of sausages.

Keywords. porcine meat, adulteration, soy proteins, SDS-PAGE, densitometry.

RESUMO

As proteínas da soja são amplamente utilizadas em produtos cárneos. No entanto, a adição de proteínas não cárneas em linguiças tipo calabresa não é permitida segundo a legislação brasileira e o consumo de alimento com o uso não declarado dessa proteína extrínseca, pode desencadear reações alérgicas em alguns consumidores. A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) foi utilizada para a determinação de proteínas de soja em linguiça calabresa. Foram realizadas simulações de fraude, adicionando-se diferentes concentrações (0%; 0,5%; 1%; 2%; 5%; 10%; 20% e 100%) de proteínas de soja nas linguiças. A análise qualitativa não apresentou sensibilidade suficiente para detectar as concentrações mais baixas de proteínas de soja. O emprego de análise semiquantitativa por densitometria de frações proteicas selecionadas de soja e de carne suína, possibilitou efetuar a detecção da presença de proteínas de soja em todas as concentrações avaliadas. Foi demonstrada que essa metodologia pode ser implantada, sem grandes investimentos, como ferramenta para realizar controle de qualidade de linguiças.

Palavras-chave: carne suína, adulteração, proteínas de soja, SDS-PAGE, densitometria.

INTRODUCTION

Meat industries have been investing in developing low fat products because of searching for current standards of beauty and prevention of diseases. Among the foreign proteins that are often added as non-meat extenders, soy proteins are the most used because they promote technological advantages and moreover, soy consumption is associated with reduction of cholesterol levels, menopausal symptoms and risk of emergence of several chronic diseases such as the cardiovascular ones, diabetes, osteoporosis and cancer^{1,2}.

According to Annex III of Normative Instruction nº 4 of 31/3/2000, which regulates the identity and quality of sausages in Brazil, the addition of foreign proteins is not allowed in *toscana*, *calabresa*, *portuguesa*, *colonial* and *blumenau* sausages. However there is no official method to assure the absence of soy proteins in these sausages³.

The manufacturing of adulterated foods is generally carried out to increase the profit and is characterized as a public health problem. This attitude affects directly the consumers who buy products with different nutrition facts from those shown on the label^{4,5}. The consumption of meat products containing soy proteins fraudulently can trigger allergic reactions in some individuals⁶.

Many methods have been described in the literature to detect soy proteins in meat products, such as the microscopic, the immunochemical, the electrophoretic and the chromatographic as well as methods DNA-based^{2,7}. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) using sodium dodecyl sulfate (SDS) is efficacious. Besides, it does not require special reagents, the presence of the analyst in some steps and it is the simplest and cheapest technique to analyze proteins. This technique promotes separation of protein fractions according to their molecular weight, without any influence of electric charges^{4,8}.

The aim of this study was to demonstrate the feasibility of using the method of polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) to detect soy protein fractions in *calabresa* sausages.

MATERIAL AND METHODS

Calabresa sausages were made from porcine *longissimus dorsi muscle* and others specific ingredients. A soy protein-based product, named Provesol PE503

(Olivebra S/A, Porto Alegre, Brazil), containing about 52% (w/w) of protein, was purchased. Then sausages were ground in a processor (Walita, model R17625, Varginha, Brazil) and some simulations of frauds were prepared consisting of different levels of Provesol PE503 (0%, 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20 % and 100%). Samples were washed with acetone in the ratio 1/10, shaken and centrifuged at 3775 x g for 15 min (Sigma centrifuge, model 2K15, Berlim, Germany) to degrease them. Then the proteins were transferred to an Eppendorff tube, dissolved in solubilizing buffer (0.0625 M Tris.HCl pH 6.8, 3% SDS, 2% β -mercaptoethanol, 0.02% bromophenol blue) to make the final protein concentration approximately 4 mg mL⁻¹, agitated for 3 min, heated in boiling water bath for 15 min and centrifuged at 12.500 x g for 20 min.

Molecular weight markers (Amersham Biosciences, calibration kit for SDS electrophoresis, Little Chalfont, UK) containing phosphorylase b (97 KDa), albumin (66 KDa), ovalbumin (45 KDa) and carbonic anhydrase (30 KDa), which were lyophilized, were resuspended in 1.0 mL of the same sample solubilizing buffer and electrophoretically resolved together to the samples.

Electrophoresis was performed under reducing conditions⁹, in vertical slab system (Sigma Chemical Co, model Z35280-2, St. Louis, USA) and the whole gel consisted of two portions: a stacking gel (2.92% acrylamide, 0.08% bis-acrylamide) and a running gel (9.73% acrylamide, 0.27% bis-acrylamide). Samples and markers (20 μ L) were applied to each well in the stacking gel with a microsyringe (Hamilton, model 710N, Reno, USA). Potential difference was promoted by power supply (Amersham Pharmacia Biotech, model EPS301, Canton, USA).

Immediately after ending electrophoresis, gels were removed from the plates and placed in a fixative solution containing 40% (v/v) methanol and 20% (w/v) trichloroacetic acid. After 30 min, the fixative solution was replaced by a staining solution containing 0.1% (w/v) coomassie blue R-250, 40% (v/v) methanol and 10% (v/v) acetic acid where gels were left for approximately 12 h. Destaining of gels was performed for 3 h (50% v/v methanol and 20% v/v acetic acid). Afterwards, they were dried using the method described by Alfenas et al.¹⁰.

Semi-quantitative analyses were performed by densitometric scanning, using 16-bit TIFF images of

the gels, produced by HP scanjet (Hewlett-Packard, model 2.400, Loveland, USA). Then they were sent to ImageQuant TL (Amersham Biosciences, version 2005, Little Chalfont, UK), which calculates retention factor (Rf), area and height of each peak in the densitograms¹¹.

RESULTS AND DISCUSSION

Typical stacking gel SDS-acrylamide of porcine meat, soy and mixtures of meat- soy were obtained. There were no significant differences of intensity between porcine meat bands protein and soy bands protein. This result contradicts those reported by Janssen et al.¹², who described it is extremely difficult to detect the presence of bands from non-meat proteins in meat products. According them, non-meat bands are always of minor intensity compared to bands originated from the meat proteins.

Molecular weight of each protein fraction in the gel was determined using the follow calibration curve: $y = 27.908 x^{-0.849}$ ($R^2 = 0.9945$), which related the retention factor with the known molecular weight of the markers. Thus, it was possible to identify some protein fractions (table 1): myosin, α -actinin and actin which are proteins from meat and α' , α , β subunits of β -conglycinin (7S) and acidic subunits of glycinin (11S) which are proteins from soy^{13,14}.

In densitograms (Picture 1), it is possible to see only three soy peaks with different retention factor comparing to meat peaks. These peaks were named

Table 1. Estimated molecular weights for the major meat and soy proteins from SDS-PAGE technique, compared with the reported molecular weights in literature

Protein	Estimated molecular weight by SDS-PAGE (kDa) ^a	Reported molecular weight (kDa) ^b
Myosin	213.25 ± 6.52	205
α -actinin	98.13 ± 1.73	100
α' - subunit β -conglycinin	76.80 ± 1.10	72
α - subunit β -conglycinin	69.12 ± 1.28	68
β - subunit β -conglycinin	48.32 ± 0.40	52
Actin	43.76 ± 0.22	45
Acidic subunits glycinin	36.83 ± 0.15	35

^aAverage ± standard deviation for 8 identical protein fractions

^bReported molecular weights from: Mccord et al.¹⁵ and Mujoo et al.¹⁴

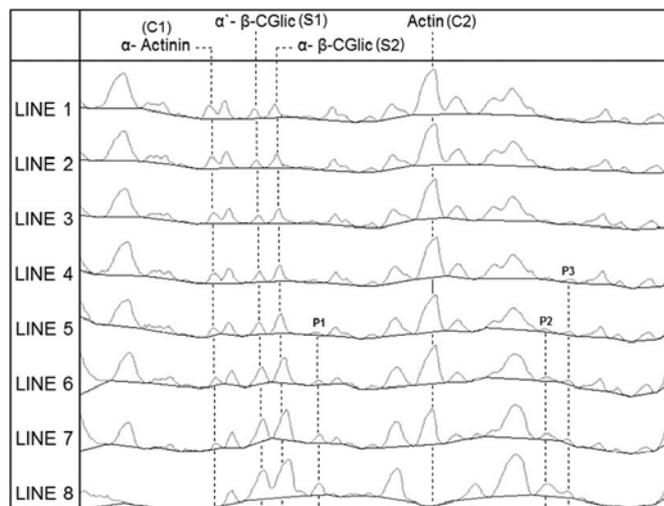


Figure 1. Densitograms of samples: (Line 1) – *calabresa* sausage; (Line 2-7) – *calabresa* sausage with 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10% and 20% of Provesol PE503 respectively; (Line 8) – Provesol PE503

of P_1 (~60.7 KDa), P_2 (~34.8 KDa) and P_3 (~33.7 KDa). Although they were not expressive, they can be used in qualitative detection from frauds between 2% to 5% adding of Provesol PE503. Daguer et al.¹⁶ used the basic subunits of glycinin (19 kDa) and tested whether qualitative SDS-PAGE method would be sensitive to detect 1.5% of soy protein in pork loin, but their analysis did not sensitive in this concentration.

Application of this separate technique resulted in high resolution between porcine meat and soy protein components (Figure 1) allowing to carry out the semi-quantitative analysis by densitometric scanning. Two protein fractions from soy and two from meat were selected as protein markers: α' - and α - β -conglycinin (S_1 and S_2), α -actinin (C_1) and actin (C_2). Height and area of soy protein peaks are directly proportional to the increase concentration of soy proteins whereas the ones referred to meat are indirectly proportional. Therefore, different analytical signals were tested to constructed calibration curves using ratios of soy protein and meat markers (n=9): S_1 and/or S_2 (numerator) and C_1 and/or C_2 (denominator).

According to Lee et al.¹⁷, due to frequent variations in the background and in the peaks, the use of soy protein/meat protein ratio improves the linearity. This study compared two curves constructed with peak area: the first one just with basic subunits of glycinin isolated and the second one, which it was the best, with the ratio of glycinin/actin.

In the present work, the best calibration curves (in a total of 18) contained at least one sum of the

Table 2. Values of height and area of best responses obtained in the determination of soy protein in *calabresa* sausage

Concentration of Provesol PE503 (%)	Analytical signals					
	S1+S2/C1		S1+S2/C2		S1+S2/C1+C2	
	Height(a)	Area(b)	Height (c)	Area(d)	Height (e)	Area(f)
0	1,702	1,909	0,498	0,976	0,385	0,646
0,5	1,852	1,954	0,518	1,000	0,402	0,661
1	2,192	2,045	0,608	1,046	0,476	0,692
2	2,581	2,350	0,662	1,093	0,527	0,746
5	4,065	2,754	0,865	1,238	0,713	0,838
10	5,201	3,200	1,093	1,600	0,903	1,067
20	8,478	4,375	1,481	1,842	1,261	1,296

(a): $y = 0,3349x + 1,8855$, $R^2 = 0,9907$.
 (b): $y = 0,1217x + 1,9860$, $R^2 = 0,9874$.
 (c): $y = 0,0489x + 0,5492$, $R^2 = 0,979$.
 (d): $y = 0,0452x + 1,0082$, $R^2 = 0,9608$.
 (e): $y = 0,0435x + 0,4275$, $R^2 = 0,9807$.
 (f): $y = 0,0332x + 0,6668$, $R^2 = 0,9806$.

peaks. This alternative was already used previously and it also contributed to increase the correlation of the results¹⁸.

The combination S_1+S_2/C_1 , presented the highest correlations, especially the curve from the peak height: $y = 0.3349x + 1, 8855$ ($R^2 = 0.9907$). Woychik et al.¹⁹, who quantified soy proteins into German sausages, related that values height have less variation than the values area. The difficulty of establishing the beginning and the end of peaks may be one of the main causes of these bigger variations²⁰.

CONCLUSION

Bands were clearly defined and application of this SDS-PAGE slab gel procedure resulted in an enhanced degree of electrophoretic resolution. Qualitative detection just could be sensitive in concentrations above 2%-5% of soy protein and the peaks used were not expressive. Semi-quantitative analysis, using densitometry of gel bands, could determine fraud from the lowest concentration employed of 0.5% of soy protein.

This method, since it is simple, inexpensive and efficacious, can be easily introduced as a tool to assure absence of soy protein in meat products. The main way to prevent allergic reactions caused by adulterated *calabresa* sausages containing soy proteins should be to promote supervision actions.

REFERENCES

1. Castro F, García MC, Rodríguez R, Rodríguez J, Marina ML. Determination of soybean proteins in commercial heat-processed meat products prepared with chicken, beef or complex mixtures of meats from different species. *Food Chem*. 2007;100(2):468-76.
2. Espiñeira M, Herrero B, Vieites J, Santaclara F. Validation of end-point and real-time PCR methods for the rapid detection of soy allergen in processed products. *Food Addit Contam*. 2010;27(4):426-32.
3. Brasil. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha – Anexo III: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 abr. 2000. Seção 1, p. 6.
4. Andrade JM, Furtado MAM, Santos LO, Marques FM, Simões AS. Utilização de eletroforese para caracterização de leite UHT, soro de queijo e suas misturas. *Rev Inst Lat Cândido Tostes*. 2007;62:423-9.
5. Kartheek M, Smith AA, Muthu AK, Manavalan R. Determination of Adulterants in Food: A Review. *J Chem Pharm Res*. 2011;3(2):629-36.
6. Savage JH, Kaeding AJ, Matsui EC, Wood RA. The natural history of soy allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(3):683-6.
7. Belloque J, García MC, Torre M, Marina L. Analysis of soybean protein in meat products: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2002;42(5):507-32.
8. Silva JGJ. Eletroforese de Proteínas: Guia teórico e prático. Rio de Janeiro: Editora Interciência; 2001.
9. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-5.
10. Alfenas AC, Peters I, Brune W, Passador GC. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais, Universidade Federal de Viçosa - UFV: Editora Viçosa; 1991.

11. Choi H, Selpides PJI, Nowell MM, Rourke BC. Functional overload in ground squirrel plantaris muscle fails to induce myosin isoform shifts. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;297:R578-86.
12. Janssen FW, Voortman G, Baaij JA. Detection of wheat gluten, whey protein, casein, ovalbumin, and soy protein in heated meat products by electrophoresis, blotting and immunoperoxidase staining. *J Agric Food Chem*. 1987;35(4):563-7.
13. Claeys E, Uytterhaegen L, Buts B, Demeye D. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Sci*. 1995;39(2):177-93.
14. Mujoo R, Trinh DT, Ng PKW. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chem*. 2003;82(2):265-73.
15. Mccord A, Smyth AB, O'Neill EE. Heat-induced gelation properties of salt-soluble muscle proteins as affected by non-meat proteins. *J Food Sci*. 1998;63(4):580-3.
16. Daguer H, Stephan MP, Bersot LS. Perfil eletroforético de lombo suíno adicionado de proteínas não cárneas. *Cienc Rural*. 2010;40(2):434-40.
17. Lee YB, Rickansrud DA, Hagberg EC, Briskey EJ. Quantitative determination of soybean protein in fresh and cooked meat-soy blends. *J Food Sci*. 1975;40:380-3.
18. López LB, Greco CB, Ferrer PR, Valencia ME. Identificación de proteínas extrínsecas en jamones cocidos por SDS-PAGE: Nivel de detección en sistemas modelo. *Arch Latinoam Nutr*. 2006;56(3):282-7.
19. Woychik JH, Happich MC, Trinh H, Seilers R. Quantitation of soy protein in frankfurters by electrophoresis. *J Food Sci*. 1987;52(6):1532-4.
20. United States of Pharmacopeia. 30^a ed. NF 25. Rockville (MD): USP Convention; 2007.

Efeito do líquido da casca de castanha de caju sobre as características físico-químicas e sensoriais de castanhas fritas

Effect of the liquid from cashew nut skin on physicochemical and sensory characteristics of the fried nuts

RIALA6/1380

Jailane de Souza AQUINO^{1*}, Patrícia Elaine Bellini Alencar da SILVA², Robson de Jesus MASCARENHAS³, Cinthya Vivianne de Souza ROCHA², Olimpio José dos SANTOS², Hercília Maria Lins Rolim SANTOS²

* Endereço para correspondência: ¹Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Campus I, Cidade Universitária, s/n, Castelo Branco, João Pessoa, PB, CEP: 58051-900, tel: 83 3216-7499, e-mail: lalaaquino@hotmail.com

² Departamento de Nutrição, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros. Universidade Federal do Piauí - UFPI.

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus: Petrolina.

Recebido: 27.04.2011 - Aceito para publicação: 27.07.2011

RESUMO

Avaliou-se a influência do líquido da casca da castanha de caju sobre as características físico-químicas e sensoriais das castanhas fritas e salgadas. Foram determinados a composição centesimal, o valor calórico, a acidez e o pH das castanhas. A análise descritiva quantitativa estabeleceu atributos capazes de descrever com fidedignidade as características sensoriais: cor, uniformidade da cor, aroma torrado, aroma doce, aroma de ranço, aroma velho, crocância, sabor torrado, sabor doce, sabor de ranço, sabor velho, sabor salgado, sabor amargo e qualidade global. As amostras sem manchas do líquido da casca apresentaram maiores percentuais de umidade, cinzas e proteínas, o conteúdo lipídico foi superior naquelas com manchas. As amostras de castanhas manchadas apresentaram médias superiores para sabor amargo e crocância, os demais atributos não apresentaram diferenças significativas. As características que mais influenciaram positivamente na qualidade global foram: cor, crocância, sabor torrado, aroma torrado, sabor doce e sabor salgado. Todas as amostras apresentaram boa aceitação sensorial. O processo de fritura seguido da salga resulta em boa aceitabilidade; mesmo após esse processo, a presença do líquido da casca reduz a aceitação, por ocasionar sabor amargo mais intenso. A fritura e a salga minimizam, mas não mascaram o sabor residual do líquido da casca.

Palavras-chave. *Anacardium occidentale*, castanha, sensorial.

ABSTRACT

The effect of cashew nut skin liquid on physicochemical and sensory characteristics of fried and salted cashew nut was evaluated. Proximate composition, caloric value, acidity and pH of nuts were determined. The quantitative descriptive analysis established the attributes to accurately characterize the following sensory characteristics: color, color uniformity, roasted aroma, sweet aroma, rancid aroma, old aroma, crispness, roasted flavor, sweet flavor, rancid flavor, old flavor, salty flavor, bitter flavor and general quality. Samples without stains from the skin liquid showed higher percentages of moisture, ash and protein than the dyed one, whereas the lipid content was higher in stained samples. Stained samples showed highest mean values for bitter flavor and crispness, and the remaining attributes showed no significant differences. The characteristics that positively influenced most the general quality were: color, crispness, roasted flavor, toasted aroma, sweet flavor and salty flavor. All samples showed good sensory acceptance. The frying process followed by salting resulted in good acceptability, and even after this process, the presence of skin liquid reduced the acceptance by causing the most intense bitter flavor. Frying and salting minimized, but did not mask the aftertaste caused by this liquid.

Keywords. *Anacardium occidentale*, nut, sensory.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista sócio-econômico, o fruto e o pedúnculo são os produtos mais importantes obtidos do cajueiro^{1,2}; do qual o fruto ou castanha é um aquênio de comprimento e largura variáveis, casca coriácea lisa, mesocarpo alveolado, repleto de um óleo escuro que é considerado uma fonte natural de compostos de cadeia fenólica longa e insaturada³, denominado de líquido da casca da castanha do caju - LCC. Na parte mais interna da castanha está localizada a amêndoa, constituída de dois cotilédones carnosos e oleosos, que compõem a parte comestível do fruto, revestida por uma película de tons avermelhados⁴.

A contaminação excessiva das castanhas com o LCC pode comprometer a qualidade e a comercialização das mesmas⁵, por ocasionar manchas nas amêndoas, podendo interferir em seus atributos sensoriais e nutricionais. Os principais processos de extração do LCC são por imersão em óleo quente ou por cocção em calor seco, resultando no extravasamento do LCC para fora da casca⁶, sendo o método tradicional o de torrefação das amêndoas diretamente na chama, removendo o LCC por carbonização.

Na literatura são escassas as pesquisas que tratam de amêndoas de castanha de caju manchadas com LCC, provavelmente porque os atributos desejados na compra destas são a integridade, o tamanho, a cor e o sabor, assim, quanto maior, mais inteira e mais clara, maior o valor comercial. As amêndoas que apresentam manchas do LCC são comercializadas com baixo valor de mercado, sendo importante um maior controle da produção para evitar a presença do LCC ou a utilização de algum processamento tecnológico naquelas já manchadas. Os países importadores e exportadores da castanha de caju seguem os padrões estabelecidos pela American Food Institute (AFI), classificando-as em quinze classes representadas por letras abreviadas em inglês, subdividindo-as de acordo com a numeração 1, 2 e 3, ou seja, alva, marfim e creme respectivamente, conforme a intensidade da cor das amêndoas⁷.

A análise descritiva quantitativa (ADQ) tem a vantagem de fornecer o perfil sensorial completo de determinado produto⁸ e, em conjunto, com a caracterização físico-química constitui uma ferramenta de importância para a indústria de alimentos no que diz respeito ao melhoramento de produtos, ao controle de qualidade, à estabilidade

durante o armazenamento, além de permitir a seleção de novas matérias-primas^{9,10,11}.

Tendo em vista a importância sócio-econômica desse produto e a necessidade de melhor caracterização da matéria-prima disponível, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do líquido da castanha de caju (LCC) sobre as características físico-químicas e sensoriais de amêndoas fritas e salgadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram utilizados três lotes diferentes de amêndoas de castanha de caju procedentes da Central de Cooperativas de Cajucultores do Estado do Piauí (COCAJUPI), sendo amostrados 24 Kg de amêndoas cruas que foram divididas em dois grupos, perfazendo 12 kg em cada. O primeiro grupo denominado de WO foi caracterizado pela presença do LCC e o segundo designado de W3 caracterizou-se pela ausência do LCC. As amêndoas do tipo W3 são do tipo inteiras e de cor creme, enquanto que as do tipo WO não se enquadram na classificação da AFI⁷, por apresentarem manchas do LCC, sendo comercializadas na forma de farinha, xerém, entre outros derivados.

Ambas as amostras foram igualmente processadas. Assim inicialmente foram cozidas em autoclave por quinze minutos. Em seguida foram fritas em óleo de soja por oito minutos. Por fim adicionou-se o sal na proporção de 6 g /Kg de castanha frita, obtendo-se as amêndoas WOF (salgadas, fritas e com manchas de LCC) e W3F (salgadas, fritas e sem manchas de LCC).

Análises físico-químicas

As amostras foram trituradas em liquidificador doméstico até a obtenção da farinha, sendo em seguida, acondicionadas em recipientes de vidro com tampa ajustável e vedado com filme protetor⁷. Foram utilizadas três amostras de três diferentes lotes para cada um dos grupos denominados de WOF e W3F, com as determinações realizadas em três repetições.

Todas as amostras foram avaliadas quanto aos conteúdos de umidade, cinzas, proteínas e carboidratos pelo método da diferença conforme metodologia da AOAC¹². As determinações de lipídios totais, pH e a acidez titulável (% de ácido oleico) foram realizadas de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz¹³ e o valor

energético total foi calculado seguindo recomendação da Resolução nº 360/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) /MS¹⁴.

Análise descritiva quantitativa (ADQ)

Utilizou-se a ADQ de acordo com as recomendações de Kemp⁸. Inicialmente vinte provadores foram recrutados entre alunos do curso de Bacharelado em Nutrição da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus de Picos. Esses provadores foram submetidos ao teste da sensibilidade aos gostos básicos, sendo considerados aptos os que obtivessem participação em todas as sessões e o mínimo de 80% de acerto. Em seguida, desenvolveu-se a terminologia descritiva de forma individual e sob a orientação de um moderador, identificando de forma consensual os atributos mais relevantes, descrevendo os respectivos significados e estabelecendo a ordem de percepção, mediante a apresentação das amêndoas.

Todos os provadores foram aprovados no teste dos gostos básicos. Os atributos apontados para a realização da ADQ foram: cor, uniformidade, aroma torrado, aroma doce, aroma de ranço, aroma velho, crocância, sabor torrado, sabor doce, sabor ranço, sabor velho, sabor salgado, sabor amargo e a qualidade global. Para cada atributo aplicou-se uma escala de intensidade linear não estruturada com 10 centímetros de comprimento, na qual cada provador assinalou sua percepção com um traço vertical. Depois realizou-se o treinamento em três sessões, sendo uma por dia.

Após o treinamento, as amostras foram avaliadas definitivamente por mais três sessões, durante três dias utilizando-se uma ficha previamente elaborada. A cada provador, foi servida uma porção de 25 g de amostras acondicionadas em copos plásticos brancos descartáveis, devidamente codificados com números de três dígitos aleatórios, recomendando-se que entre a prova de uma amostra e outra fosse consumida água mineral. Os testes foram aplicados em ambiente com temperatura e luminosidade naturais.

Considerando os vinte provadores (P) iniciais, três repetições, quatorze atributos sensoriais e duas amostras, foram obtidas 1.680 variáveis. Estatisticamente, a partir da avaliação de desempenho dos provadores mediante expressão de fatores em componentes principais (Figura 1), observou-se que os provadores P1, P10, P14, P17 e P18 apresentaram-se em desacordo com os demais, devido às correlações negativas, em relação ao eixo de x

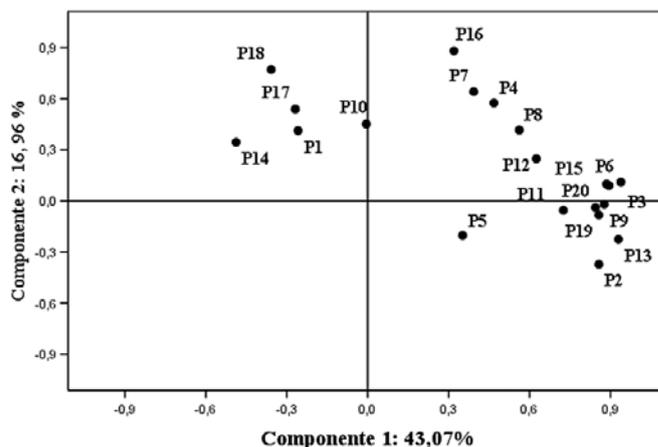


Figura 1. Análise Fatorial de Componentes Principais para avaliação do desempenho de 20 provadores (P), em teste sensorial de castanhas de caju fritas e salgadas com e sem manchas do líquido da casca produzidas no Estado do Piauí – Brasil

(Componente 1), por conter percentualmente um maior peso. Ao final dessa etapa, foram selecionados quinze provadores constituídos por 15% de homens e 85% de mulheres com faixa etária entre 18 a 25 anos.

Testes de aceitação, intenção de compra e preferência por ordenação

Participaram do teste 101 apreciadores do produto, consumidores que foram recrutados por meio de questionário de avaliação quanto à afetividade, com base na disponibilidade e interesse de participar do teste sensorial. O questionário para o recrutamento conteve perguntas referentes aos hábitos e periodicidade de consumo de castanhas. A equipe foi composta por professores, alunos e funcionários da Universidade Federal do Piauí, Campus de Picos, representados por 29,7% de homens e 70,3% de mulheres, sendo 39,6% na faixa etária de 18 a 20 anos, 40,6% entre 21 a 25 anos, 8,9% nas faixas de 26 a 30 e de 31 a 40 anos e 2% acima de 40 anos. Ambas as amostras foram avaliadas em único dia e servidas igualmente aos testes da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

Realizou-se o teste de aceitação global, referente aos atributos da aparência, aroma, textura e sabor mensurados mediante escala hedônica de sete pontos (1 = desgostei muitíssimo, 7 = gostei muitíssimo). Avaliou-se ainda a intenção de compra e a preferência por ordenação, de acordo com a metodologia preconizada por Meilgaard et al.¹⁵, por meio de uma ficha sensorial.

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA), sendo que a nota máxima (7) corresponde a 100% de aceitabilidade

e a média definiu esse índice ¹⁶.

Por se tratar de uma pesquisa envolvendo seres humanos, todos os testes sensoriais foram realizados com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o CEP/UFPI nº 0138.0.045.000-09.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos aos testes estatísticos, por meio do *software* 'SPSS INC. 14.0 for Windows Evaluation Version' (SPSS, 2005)¹⁷. Com vistas a atender às pressuposições metodológicas dos testes paramétricos e obter resultados consistentes, aplicaram-se os testes de Homogeneidade Amostral e o de Distribuição Normal - Kolmogorov - Smirnov (K-S). Aplicou-se o teste *t* de Student nas análises de variâncias entre duas amostras, considerando a margem de erro $\leq 5\%$. Utilizou-se a Análise Multivariada de Componentes Principais para estabelecer graficamente as interações dentre os atributos. No teste de Preferência por Ordenação, os dados obtidos foram analisados por meio de Valores Absolutos Críticos de Diferenças (DMS - Diferença Mínima Significativa) da Soma de Ordens para comparação entre tratamentos, considerando $p \leq 5\%$, com base no Teste de Friedman e Tabela de Newelle e Macfarlane.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises físico-químicas

Pode-se observar na Tabela 1, que as amêndoas do tipo W3F (ausência do LCC), apresentaram estatisticamente ($p \leq 5\%$) os maiores percentuais de

umidade, cinzas e proteínas. Já em relação ao conteúdo de lipídeos verificou-se valores superiores nas amêndoas do tipo WOF (presença do LCC), que também apresentaram, significativamente, o maior valor calórico médio. Isso ocorreu, provavelmente, devido à presença do óleo LCC nessas amostras, uma vez que, tanto para as W3F como para as WOF utilizou-se a mesma quantidade de óleo durante o processamento.

As amostras de castanhas fritas analisadas no presente estudo tiveram seus resultados comparados às castanhas torradas de outras pesquisas, pois não foram encontrados, na literatura, parâmetros referentes especificamente às castanhas de caju fritas. Convencionou-se essa comparação devido à similaridade entre o processamento das castanhas torradas com as fritas, uma vez que as castanhas torradas sofrem torrefação em gordura vegetal hidrogenada de soja a 100 °C, durante quatro a seis minutos e as fritas sofrem fritura por imersão em óleo vegetal a 100 °C por quatro a oito minutos¹⁸.

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)¹⁹, informa que a castanha de caju torrada com sal apresenta 3,5% de umidade, 18,5% de proteína, 46,3% de lipídios, 29,1% de carboidratos e 2,6% de cinzas e de acordo com Brufau et al.²⁰, as castanhas torradas apresentam 29,9% de carboidratos, 16,8% de proteínas e 47,8% de lipídios. Comparando-se esses resultados com as castanhas WOF e W3F avaliadas, observa-se que estas apresentam um maior conteúdo protéico, menor percentual de umidade, cinzas e carboidratos bem como um conteúdo lipídico maior para as castanhas do tipo WOF.

Tabela 1. Características físico-químicas de amêndoas de castanhas de caju fritas e salgadas com ou sem manchas do líquido da casca produzidas no Estado do Piauí – Brasil

Variáveis	Castanhas com Manchas do Líquido da Casca		Castanhas sem Manchas do Líquido da Casca	
	Média	DP (±)	Média	DP (±)
Umidade (%)	1,50 b	(0,09)	1,82 a	(0,10)
Cinzas (%)	2,30 b	(0,26)	2,81 a	(0,08)
Lipídios (%)	48,58 a	(0,29)	44,22 b	(1,80)
Proteínas (%)	25,39 b	(2,03)	27,63 a	(2,55)
Carboidratos (%)	22,23 a	(2,11)	23,86 a	(1,95)
Calorias (Kcal)	628 a	(0,10)	604 b	(0,16)
pH	5,97 a	(0,01)	6,18 a	(0,18)
Acidez (%)	0,86 a	(0,07)	1,01 a	(0,29)

Médias com letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ($p < 5\%$) entre amostras, pelo teste *t*-Student. DP = Desvio-Padrão

Tabela 2. Médias de notas sensoriais referentes à Análise Descritiva Quantitativa de amêndoas de castanhas de caju fritas e salgadas com ou sem manchas do líquido da casca produzidas no Estado do Piauí – Brasil

Atributos Sensoriais	Castanhas com Manchas do Líquido da Casca		Castanhas sem Manchas do Líquido da Casca	
	Média	DP (±)	Média	DP (±)
Cor	7,7 a	(1,9)	7,3 a	(2,1)
Uniformidade	4,4 a	(2,9)	4,8 a	(2,7)
Aroma Torrado	7,6 a	(2,5)	8,0 a	(2,1)
Aroma Doce	5,1 a	(2,7)	5,4 a	(2,7)
Aroma Ranço	1,8 a	(1,7)	2,2 a	(2,2)
Aroma Velho	1,7 a	(1,4)	2,1 a	(2,3)
Crocância	7,7 a	(2,2)	7,4 b	(2,3)
Sabor Torrado	8,0 a	(2,2)	7,9 a	(2,0)
Sabor Doce	5,0 a	(2,7)	5,0 a	(2,7)
Sabor Ranço	1,8 a	(1,8)	2,0 a	(1,8)
Sabor Velho	2,2 a	(2,0)	2,7 a	(2,6)
Sabor Salgado	5,0 a	(2,4)	4,4 a	(2,8)
Sabor Amargo	2,2 a	(2,1)	1,7 b	(1,5)
Qualidade Global	7,4 a	(1,8)	7,4 a	(1,7)

Valores representam as médias de notas em 45 julgamentos de 15 provadores treinados. Médias com letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ($p < 5\%$) entre amostras, pelo teste t-Student. DP = Desvio-Padrão

O conteúdo lipídico variou de 44% a 48% nas castanhas aqui avaliadas, valores esses próximos dos 46% a 47% encontrados por Akinhanmi et al.²¹ e Ros e Mataix²² na composição da castanha crua de caju. O ácido linoléico (ômega 3) é o principal ácido graxo na fração lipídica da castanha de caju, citam Ros e Mataix²² e, de acordo com Griel e Kris-Etherton²³, o consumo da mesma apresenta efeito hipocolesterolêmico e tem sido associado à redução da incidência de doenças cardiovasculares. No entanto, Brufau et al.²⁰, consideram as castanhas um alimento de alta densidade energética.

As amêndoas fritas avaliadas apresentaram um maior teor de umidade, de carboidratos e de proteínas do que os reportados por Melo et al.²⁴ para amêndoas tostadas. O pH das castanhas WOF apresentou-se mais ácido que o da W3F, estando bastante próximo do pH do LCC encontrado por Edoga et al.⁶

Análise descritiva quantitativa (ADQ)

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que as amêndoas WOF (manchadas com o líquido da casca) são as mais crocantes, isso ocorre, possivelmente, devido ao maior percentual lipídico, detectado na análise físico-química, em conjunto com o processo de fritura. Essas mesmas amostras foram as de sabor amargo mais intenso, provavelmente pela

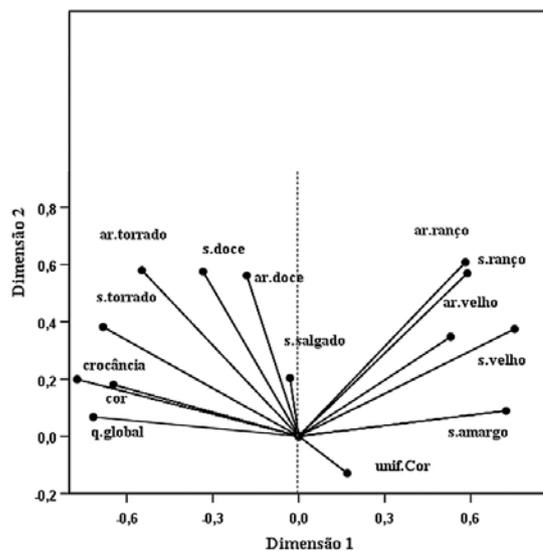


Figura 2. Análise Multivariada de Componentes Principais relativa a 45 avaliações descritivas quantitativas dentre atributos sensoriais de castanhas de caju fritas e salgadas com ou sem manchas do líquido da casca produzidas no Estado do Piauí – Brasil

presença do LCC. Quanto aos demais descritores, não foram observadas diferenças significativas.

Observa-se na Figura 2 que a qualidade global, parâmetro que abrange todos os descritores analisados, foi influenciada positivamente pela cor, crocância, sabor

Tabela 3. Médias de notas sensoriais referentes ao Teste de Aceitação de amêndoas de castanhas de caju fritas e salgadas com ou sem manchas do líquido da casca produzidas no Estado do Piauí – Brasil

Atributos Sensoriais	Castanhas com Manchas do Líquido da Casca		Castanhas sem Manchas do Líquido da Casca	
	Média	DP (\pm)	Média	DP (\pm)
Aparência	6,8 a	(1,9)	6,9 a	(2,1)
Aroma	6,5 a	(2,9)	6,3 a	(2,7)
Textura	6,7 a	(2,5)	6,0 b	(2,1)
Sabor	5,1 b	(2,7)	5,9 a	(2,7)
Aceitação Global	6,0 b	(3,0)	6,5 a	(2,8)
Intenção de Compra	5,5 b	(1,3)	6,1 a	(0,9)

Médias obtidas de 101 julgamentos com escala de 7= gostei muitíssimo a 1 = desgostei muitíssimo. Médias com letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ($p < 5\%$) entre amostras, pelo teste t-Student. DP = Desvio-Padrão

torrado, aroma torrado, sabor doce, aroma doce e sabor torrado, nessa ordem de importância, uma vez que esses descritores formaram um grupo no mesmo quadrante, mediante o eixo de x, representado pela Dimensão 1, a de maior importância nesse tipo de análise estatística. Dessa forma, detectou-se que o sabor amargo, sabor velho, aroma velho, sabor de ranço, aroma de ranço, nessa ordem foram os atributos que apresentaram influência negativa quanto à qualidade global.

Lima et al.²⁵ ao avaliarem, por meio da ADQ, castanhas de caju torradas e salgadas detectaram que os atributos relativos à cor, aroma torrado, crocância e sabor torrado apresentaram notas médias elevadas e reportaram a importância positiva desses descritores na qualidade global, enquanto que os aromas de ranço e de velho, bem como os sabores de ranço, de velho e de amargo influenciaram negativamente. Tais resultados ratificam os aqui encontrados.

Testes de aceitação, intenção de compra e preferência por ordenação

Quanto ao teste de aceitação, os atributos avaliados apresentaram-se com notas sensoriais médias (Tabela 3) entre “gostei moderadamente” e “gostei muitíssimo” e todas as amostras obtiveram índices de aceitabilidade (IA) acima de 70 %, os quais são considerados satisfatórios pelo mercado consumidor, conforme Dutcosky²⁶. Estatisticamente foi evidenciado que as amostras WOF (com manchas de LCC) possuem a melhor textura, enquanto as W3F (ausência das manchas de LCC) foram as de melhor sabor e aceitação global.

Na intenção de compra, observa-se, que as castanhas W3F (ausência de manchas de LCC)

apresentaram notas médias superiores comparadas as notas das amostras WOF (com manchas de LCC) ratificando os resultados da aceitação global e da ADQ, a qual detectou que as castanhas W3F (ausência de manchas de LCC) são as de menor amargor. Tais resultados também demonstram a importância da Análise de Componentes Principais, a qual indicou que o sabor amargo é o de maior influência negativa nas castanhas de caju aqui avaliadas.

No entanto, devido à qualidade global no teste da ADQ não ter apresentado diferença significativa entre amostras e a aceitação global em conjunto com o teste de intenção de compra apresentarem médias com valores aproximados para os dois tipos de castanhas, o teste de Preferência por Ordenação tornou-se pertinente, sendo amplamente utilizado em associação com a ADQ e teste de intenção de compra^{27,28,29}. Isso permitiu uma maior consistência dos resultados, uma vez que as amostras WOF (com manchas do LCC) obtiveram um somatório de notas igual a 272 e as W3F (ausência de mancha do LCC) um total de 337 pontos, valores esses significantes, estatisticamente, denotando uma maior preferência pelas amêndoas W3F.

Assim Guillaumin³⁰ afirma que o processo de fritura resulta em transformações físico-químicas e sensoriais do alimento, que tornam-se mais crocantes e agradáveis em relação à textura bucal, conferindo uma cor dourada, brilhante e uniforme, melhorando a apresentação e aumentando as intensidades dos sabores e aromas, devido ao próprio óleo ou ao desenvolvimento de novos compostos. A conservação do produto é prolongada pela destruição de micro-organismos e enzimas presentes nos alimentos e a palatabilidade é

aumentada em consequência da perda de umidade e ganho de gordura³¹.

CONCLUSÃO

Ambas castanhas avaliadas apresentaram elevado valor calórico e percentual de lipídios e de proteínas. O processo de fritura seguido da salga resulta em boa aceitabilidade das amêndoas de castanhas de caju, seja pelos provadores treinados ou pelos não treinados, porém foi observado que mesmo após esse processo a presença do LCC reduz a aceitação sensorial, possivelmente por conferir maior sabor amargo. Logo a fritura e salga das amêndoas minimizam, mas não mascaram o sabor residual das castanhas manchadas pelo LCC. É necessário, portanto, que os produtores aperfeiçoem o processo de extração do LCC, para a melhoria da qualidade sensorial, nutricional e aumento do valor de mercado dessas amêndoas.

AGRADECIMENTOS

À Incubadora Tecnológica de Empreendimentos Solidários (ITES); à Cooperativa do Cajucultores do Estado do Piauí (COCAJUPE), ao Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamentos de Alimentos (NUEPPA) e à Direção, alunos e funcionários do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros – Picos – PI, que de forma voluntária participaram desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Azam-Ali SH, Judge EC. Small-scale cashew nut processing. Coventry (UK): ITDG Schumacher Centre for Technology and Development Bourton on Dunsmore; 2001.
2. Silva KMB, Almeida FAGA, Silva PSL. Peduncle and fruit yield, in six cropping seasons, of early dwarf Cashew tree clones irrigated with different water regimes. *Rev Bras Frutic*. 2004;26(3):474-7.
3. Kumar PP, Paramashivappa PJ, Vithayathil PJ, Subra Rao PV, Srinivasa Rao A. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid. *J Agric Food Chem*. 2002;50:4705-8.
4. Mazetto SE, Lomaco D, Mele G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Quim Nova*. 2009;32(3): 732-41.
5. Agostini-Costa TS, Jales KA, Oliveira MEB, Garruti DS. Determinação Espectrofotométrica de ácido anacárdico em amêndoas de castanha de caju. Comunicado Técnico 122. Brasília (DF): Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2005.
6. Edoga MO, Fadipe L, Edoga RN. Extraction of polyphenols from cashew nut shell. *Leonardo El. J Pract Technol*. 2006;9(1):107-12.
7. American Food Institute – AFI. Specifications for Cashew Kernels – Text. & Appendices, Adopted; 2008.
8. Kemp SE. Application of sensory evaluation in food research. *Int J Food Sci Technol*. 2008;43(9):1507-11.
9. Moussaoui KA, Varela P. Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. *Food Qual Pref*. 2010;21:1088-99.
10. Planzer SB, Cruz AG, Hatanaka CL, Mamede PL, Cadena RS, Faria JAF, et al. Sensory profile and acceptance of milk chocolate beverage. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010;30:391-8.
11. Ribeiro JS, Ferreira MMC, Salva TJG. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. *Talan*. 2011;83:1352-8.
12. AOAC. Association Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the Association Chemistry. 20^a ed. Washington (DC): AOAC; 2002.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (Anvisa). Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Brasília (DF): Instituto Adolfo Lutz; 2005.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção I.
15. Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Consumer test and in-house panel acceptance tests. *Sensory Evaluation Techniques*. Florida: CRC Press Inc; 1988.
16. Ishimoto FY, Harada AI, Branco IG, Conceição WAS, Coutinho MR. Aproveitamento Alternativo da Casca do Maracujá-Amarelo (*Passiflora edulis* f. var. *flavicarpa* Deg.) para Produção de Biscoitos. *Rev Cienc Exat Nat*. 2007;9(2):279-92.
17. SPSS. Inc. 14.0 for Windows Evaluation Version [Computer program]; LEAD Technologies SPSS Inc., 2005.
18. Paiva FFA. Processamento de castanha de caju. Brasília (DF): Embrapa Informação Tecnológica; 2006.
19. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Versão II. 2^a ed. Campinas (SP): NEPA-UNICAMP; 2006.
20. Brufau G, Boatella J, Rafecas M. Nuts: source of energy and macronutrients. *Brit J Nutr*. 2006;96(2):24-8.
21. Akinhanmi TF, Atasié VN, Akintokun PO. Chemical Composition and Physicochemical Properties of Cashew nut (*Anacardium occidentale*) Oil and Cashew nut Shell Liquid. *J Food Agric. Environ*. 2008;2(1):1-9.
22. Ros E, Mataix J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. *Brit J Nutr*. 2006;96(2):29-35.
23. Griel AE, Kris-Etherton PM. Tree Nuts and the Lipid Profile: A Review of Clinical Studies. *Br J Nutr*. 2006;96(2):68-78.
24. Melo MLP, Maia GA, Silva APV, Oliveira GSF, Figueiredo RW. Caracterização físico-química da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. *Ciênc Tecnol Aliment*. 1998;18(2):184-7.

25. Lima JR, Silva MAAP, Gonçalves LAG. Caracterização sensorial de amêndoas de castanha fritas e salgadas. *Ciênc Tecnol Aliment*. 1999;19(1):123-6.
26. Dutcosky SD. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba (PR): Champagnat; 1996.
27. Maciel MIS, Melo EA, Lima VLAG, Silva WS, Maranhão MCM, Souza KA. Características sensoriais e físico-químicas de geleias mistas de manga e acerola. *Bol CEPPA*. 2009;27(2):247-56.
28. Zavareze ER, Moraes KS, Salas-Mellado MLM. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010;30(1):100-5.
29. Mascarenhas RJ, Silva MS, Lopes JD, Lima MAC. Avaliação sensorial de uvas de mesa produzidas no Vale do São Francisco e comercializadas em João Pessoa – PB. *Rev Bras Frutic*. 2010; 32(4): 993-1000.
30. Guillaumin, R. Kinetics of fat penetration in food. *In: Varela G, Bender AE, Morton IA. (Eds.). Frying foods: principles, changes, new approaches*. Chichester: Ellis Horwood; 1988. p.82-90.
31. Jorge N, Lunardi VM. Influência dos tipos de óleos e tempos de fritura na perda de umidade e absorção de óleo em batatas fritas. *Ciênc Agrotec*. 2005; 29(3): 635-41.

Efeito do consumo de hambúrguer de carne de avestruz e hambúrguer bovino comercial em ratos jovens, pela análise de teores de colesterol total e frações lipoproteicas

Assessing the effect in young rats fed with ostrich meat hamburger and commercial beef hamburger, by analyzing the total cholesterol and lipoprotein fractions contents

RIALA6/1381

João Andrade da SILVA^{1*}, Elciane da Silva NÓBREGA¹, Maria José de Carvalho COSTA¹, Mayara Queiroga BARBOSA¹, Edvaldo Vasconcelos de CARVALHO FILHO²

*Endereço para correspondência: ¹ Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária, s/n, Castelo Branco, João Pessoa, PB, Brasil, CEP: 58059-900, tel.: 83 3216 7357, e-mail: andrade@ccs.ufpb.br

² Faculdade de Ciências da Saúde Trairi, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Santa Cruz, RN, Brasil
Recebido: 23.07.2010 - Aceito para publicação: 08.07.2011

RESUMO

O consumo de produtos menos calóricos, produzidos com substitutos de gordura, é alternativa viável na produção de alimentos mais saudáveis, como hambúrgueres, muito apreciados por jovens frequentadores assíduos de lanchonetes. Neste trabalho foi avaliada a influência do consumo de hambúrguer de carne da coxa (*Gastrocnemius pars interna*) de avestruz (*Struthio camelus*) e hambúrguer de carne bovina nos teores de colesterol total, triglicerídeos HDL-colesterol, LDL-colesterol e VLDL-colesterol. Três grupos de 11 ratos machos Wistar de 50 dias de vida foram alimentados com três tipos de dietas, o grupo A que consumiu a dieta de hambúrguer de carne de avestruz, o grupo B alimentado com a dieta de hambúrguer de carne bovina e o grupo C (grupo controle caseira) com dieta padrão caseína durante 50 dias. O hambúrguer de carne de avestruz apresentou melhores qualidades do que o hambúrguer de carne bovina nos resultados das análises da composição centesimal e na quantificação dos ácidos graxos e perfil lipídico mais equilibrado. Nos exames histopatológicos observou-se quadro de esteatose hepática na lâmina do grupo de animais que consumiram hambúrguer de boi. O percentual de gordura nesse grupo também foi maior, provavelmente por ter sido submetido a uma dieta como maior quantidade de gordura. **Palavras-chave.** hambúrguer, carne de avestruz, adolescente, arteriosclerose.

ABSTRACT

Consuming less calorific products manufactured with fat substitutes is a viable alternative to produce healthy foods, mainly for young people and adolescents who are the major consumers of fast food. This study assessed the effects of the consumption of hamburger of ostrich (*Struthio camelus*) thigh (*Gastrocnemius pars interna*) meat and beef burger on the total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and VLDL-cholesterol contents. Three groups of 11 male 50 day-aged Wistar rats were fed with three types of diets, group A (ostrich group) consumed a diet containing ostrich meat burger, group B (bovine group) fed with beef burger and group C (casein control group) with standard casein diet for a period of 50 days. The ostrich hamburger meat showed best qualities when compared with the beef burger in analysing the chemical composition and quantification of the fatty acids and the more balanced lipid profile. On histopathological examination a feature of fatty liver on the lamina was shown in samples from the animal of beef burger - consuming group. The highest fat percentage was also found in this group, probably owing to being fed with a fatter diet. **Keywords.** hamburger, ostrich meat, teenager, arteriosclerosis.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas têm-se observado muitas alterações nos hábitos alimentares dos adolescentes. A população jovem tem abandonado progressivamente a dieta tradicional e tem adotado as dietas ocidentais, optando por refeições rápidas e ampliação do consumo de alimentos industrializados que podem contribuir para o aumento do sobrepeso e da obesidade¹. Em muitos casos, o adolescente com sobrepeso ou obeso adquiriu hábitos alimentares inadequados na infância, como comer enquanto assiste televisão ou alimentar-se fora dos horários das refeições e perda da disciplina e dos padrões alimentares estabelecidos²⁻⁴. O impacto nutricional dos lanches e refeições rápidas pode ser influenciado por alguns fatores como a frequência de consumo e a qualidade nutricional dos alimentos escolhidos⁵. A mudança de hábitos alimentares inclui o consumo de alimentos como lanches rápidos, que podem ser encontrados em lanchonetes, que vão desde as pequenas e locais até as grandes redes multinacionais. Destacando-se o crescente consumo de lanches em especial o hambúrguer, que é o preferido entre as crianças e os adolescentes e muito apreciado também por adultos².

Entre os produtos industrializados da carne, o hambúrguer é uma alternativa para o aproveitamento das carnes menos nobres, obtido da carne moída, de animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processos tecnológicos adequados⁶. O hambúrguer tornou-se um alimento popular pela praticidade que representa atualmente, o que combina com o estilo de vida instalado nos grandes centros urbanos⁷. No entanto, os hambúrgueres encontrados no mercado apresentam elevados teores de lipídios e a frequência do seu consumo pode levar ao acréscimo da quantidade de gordura saturada no organismo, podendo provocar diversas doenças cardiovasculares⁸.

Devido à frequente divulgação dos riscos dessas doenças, observa-se uma crescente valorização dos produtos com quantidades reduzidas de gordura⁹. Uma das tendências da indústria da carne é a formulação de produtos diferenciados, com baixos teores de gordura, menos calorias e menos colesterol¹⁰.

De acordo com Fernández-López et al.¹¹, a carne de avestruz vem conquistando adeptos devido ao seu sabor e à sua qualidade nutricional. Do ponto de vista nutricional, a carne de avestruz é um alimento

de baixo valor calórico e com baixo teor de gordura saturada. Seu diferencial está nos elevados teores de ômega 3 e ômega 6, que podem auxiliar na redução da concentração de colesterol nas artérias^{12,13}. Pelo baixo valor calórico pode ser alternativa para diminuir os riscos de doenças cardiovasculares e de doenças coronarianas, principalmente para os obesos¹⁴.

Segundo Navab et al.¹⁵, para se produzir alimentos com baixos teores de gordura é necessária a utilização de produtos com atributos sensoriais semelhantes aos dos lipídeos, mas com valor calórico reduzido. O substituto de gordura ideal seria um composto seguro que apresentasse todas as propriedades funcionais das gorduras, mas com baixo teor calórico. Salvino et al.¹⁶ consideram a adição do amido modificado uma alternativa viável para a redução de custos na industrialização do hambúrguer de carne de avestruz, sem prejudicar seus parâmetros sensoriais, além de permitir a redução da gordura do produto final.

A utilização dos substitutos de gorduras pode proporcionar alternativas mais saudáveis para a alimentação dos jovens, que são os maiores consumidores dos lanches rápidos. Este trabalho tem como objetivo comparar o consumo de hambúrguer de avestruz (*Struthio camelus*), especialmente do corte da coxa (*Gastrocnemius pars interna*) e hambúrguer de carne de boi, utilizados na alimentação de ratos jovens.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O hambúrguer de carne bovina foi adquirido no comércio local, após aplicação de um questionário para identificação do hambúrguer mais consumido em lanchonetes. O hambúrguer de carne de avestruz foi produzido em escala piloto no Núcleo de Processamento de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba (NUPPA/UFPB).

O hambúrguer de carne de avestruz utilizado na pesquisa foi formulado com amido modificado e óleo vegetal em substituição a gordura animal. Foi utilizado na formulação carne da coxa (*Gastrocnemius pars interna*) de avestruz (*Struthio camelus*), moída e embalada a vácuo, proveniente da empresa GRANDAVE EMPREENDIMENTOS RURAIS LTDA, de Natal (RN). As amostras foram acondicionadas em sacos individuais congeladas, transportadas para os laboratórios e mantidas congeladas até sua utilização.

Métodos

Análises físico-químicas

A determinação de umidade foi realizada por gravimetria em estufa estabilizada a 105 °C. O resíduo mineral fixo foi obtido após carbonização em manta aquecedora e incineração em forno mufla a 550 °C. Para a determinação de proteínas utilizou-se o método de Kjeldahl, com fator de correção¹⁷. Os lipídeos foram quantificados pelo método Soxhlet¹⁷. A composição dos ácidos graxos foi realizada segundo a metodologia descrita por Folch Less e Stanley¹⁸ e a identificação e quantificação dos ácidos graxos obtida a partir dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, conforme o método descrito por Hartman e Lago¹⁹.

Preparações dos hambúrgueres para inclusão na dieta experimental

Os hambúrgueres foram cozidos em forno a uma temperatura central de 71 °C, controlada com termômetro (Optex PT-5LD, 0-500 °C). Em seguida, foram desidratados em estufa com circulação de ar (40 °C), depois triturados em picador/moedor de carne (Skymssen pcp221) e adicionados aos demais componentes da dieta.

Composição das dietas experimentais

Foram formuladas três tipos de dietas (Tabela 1) com 17% de proteínas. O grupo A (Grupo Avestruz) consumiu a dieta contendo hambúrguer de carne de avestruz, o grupo B (Grupo Bovino) a dieta contendo hambúrguer de carne bovina e o grupo C (Grupo Controle Caseína) dieta padrão caseína.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais à base de caseína, hambúrguer de carne de avestruz e hambúrguer de carne bovina

Componentes (g/100 g)	Grupo Controle	Grupo Avestruz	Grupo Bovino
Caseína	17	-	-
Hambúrguer de carne de Avestruz	-	23,6	-
Hambúrguer de carne Bovina	-	-	24,18
Óleo vegetal (soja)	7,0	5,4	4,76
Celulose	5,0	5,0	5,0
Mistura Vitamínica	1,0	1,0	1,0
Mistura Minerais	3,5	3,5	3,5
D-L metionina	3,0	3,0	2,5
Bitartarato	2,5	2,5	2,5
Amido	60,1	66,1	62,6

As dietas para cada grupo foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental do Centro de Ciência da Saúde, oferecidas diariamente, em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*. Os teores de sais minerais, vitaminas, fibras, proteínas carboidratos e lipídeos foram equilibrados segundo recomendações do American Institute of Nutrition (AIN)²⁰.

Ensaio biológico

Foram utilizados 33 ratos machos (*Rattus norvegicus*) jovens com 50 dias de idade, albinos da linhagem Wistar, peso médio de 110±3g, divididos em três grupos de 11 animais. Durante todo o experimento os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água, temperatura 23 °C ± 2 °C e ciclo claro escuro de 12 horas. Ao Grupo Avestruz foi administrada dieta à base de hambúrguer carne de avestruz, ao Grupo Bovino foi administrada dieta a base de hambúrguer de carne bovina e ao Grupo Controle foi administrada dieta à base de caseína, com igual concentração proteica de 17%, durante 50 dias. Precedendo sua realização prática, este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal da Paraíba (CEPA/UFPB) sob o número 0305/08.

Ao final dos 50 dias de experimento e após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com cloridrato de xilazina e quetamina e foram sacrificados. O sangue foi retirado por técnica de punção cardíaca para realização das análises bioquímicas e os órgãos para pesagem. O fígado foi retirado para pesagem e análise histopatológica.

Dosagens bioquímicas

O conteúdo plasmático de colesterol total (CT), HDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicerídeos (TG) foram quantificados, utilizando-se o *kit* enzimático Biolab (Biolab Mérieux S/A) seguindo as recomendações de Allain et al.²¹. A determinação de LDL-colesterol, foi realizada de acordo com o método descrito por Friedwald et al.²².

Avaliação histopatológica

Foram retirados fragmentos do lóbulo direito do fígado para a realização da avaliação histopatológica. As peças foram lavadas em solução salina (0,9%) e fixadas em solução de formol tamponado (10%) por um período de 48 horas. Em seguida, as peças foram submetidas a um processo de desidratação em série crescente de

alcoóis e diafanização em xilol, em tempo previamente padronizado para todos os grupos, e incluídas em parafina. Após a inclusão, foram seccionados em 5µm de espessura e corados pelo método da hematoxilina-eosina para exame histológico em microscópio de luz.

Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos a análises estatísticas pelo Teste t de Student com significância ($p < 0,005$) para análises dos constituintes nutricionais do hambúrguer de avestruz e bovino (expresso em média \pm desvio padrão). Para análise dos resultados do ensaio biológico foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) para comparações entre os diversos parâmetros avaliados dos diferentes grupos. Quando foi constatada diferença pela aplicação da ANOVA utilizou-se o Teste de Tukey, para identificar quais grupos diferiram entre si. Quando não foi possível utilizar teste paramétrico, foi utilizado o teste não paramétrico, Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn's. Todos os testes foram feitos com significância estatística em nível crítico de 5% em todos os casos avaliados. Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o pacote estatístico Sigma Stat 3.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição físico-química dos hambúrgueres

Os resultados das análises da composição centesimal dos hambúrgueres estão descritos na Tabela 2. Com relação ao teor de umidade, no hambúrguer de carne de avestruz o percentual encontrado foi $66,06 \pm 1,53$, significativamente inferiores ao do hambúrguer bovino $67,65 \pm 3,53$, ($p > 0,001$). Esses resultados diferem dos encontrados por Hautrive et al.²³, em que os valores de umidade foram mais altos no hambúrguer de carne

Tabela 2. Composição centesimal dos hambúrgueres de carne de avestruz e de carne bovina *in natura*

Constituintes	Hambúrguer de Avestruz	Hambúrguer Bovino
Umidade	$66,06 \pm 1,53^a$	$67,65 \pm 3,53^b$
Resíduo Mineral Fixo	$2,22 \pm 1,34^a$	$2,30 \pm 1,23^b$
Lipídios	$9,04 \pm 3,66^a$	$11,03 \pm 1,66^b$
Proteína	$20,00 \pm 2,15^a$	$17,05 \pm 0,05^b$
Carboidratos	$2,30 \pm 1,27^a$	$1,95 \pm 1,07^b$

Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média (Teste t de Student, $p > 0,001$)

de avestruz comparado ao hambúrguer de carne bovina. Não houve diferença significativa no resultado da análise de resíduo mineral fixo (RMF) dos dois hambúrgueres.

O percentual de lipídeos do hambúrguer de carne de avestruz foi $9,04 \pm 3,66$ g, diferindo significativamente do encontrado no hambúrguer bovino ($11,03 \pm 1,66$). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Hautrive et al.²³ e Fisher et al.²⁴, em que o percentual de lipídeos do hambúrguer da carne de avestruz ($10,06 \pm 4,08$) foram inferiores ao hambúrguer bovino ($11,2 \pm 1,12$).

O percentual de proteínas diferiu estatisticamente entre os hambúrgueres analisados, o de carne avestruz $20,00 \pm 2,15$ foi superior ao de bovino $17,05 \pm 0,05$, diferindo dos resultados encontrados por Hautrive et al.²³, onde os valores de proteínas das amostras não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Sales e Hayes et al.²⁵ e Paleari et al.²⁶ encontraram resultados semelhantes aos encontrados por Hautrive et al.²³ que divergiram dos resultados do teor de proteínas encontrados nesta pesquisa. Walter et al.²⁷ encontraram resultados para proteína semelhantes aos de nossa pesquisa quando compararam carne de avestruz e cortes magros de carne de boi. Fernandez-Lopez et al.¹¹ avaliou a composição química de três formulações de hambúrgueres, com carne de avestruz, carne de costela bovina e com toucinho de porco.

Não houve diferenças estatísticas para os percentuais de umidade, proteínas e gordura entre as formulações de carne de avestruz e costela bovina (68,67%, 22,43%, 8,58% e 69,11%, 21,81%, 7,16%). No entanto, apresentou diferenças para o hambúrguer feito com toucinho de porco que apresentou maior percentual de gordura (12,40%) e menor percentual de umidade (64,45%) e de proteína (19,78%).

Quantificação e identificação dos ácidos graxos dos hambúrgueres

De acordo com a Tabela 3, o hambúrguer de carne de avestruz apresentou maiores quantidades de ácidos graxos moninsaturados e poliinsaturados em relação ao hambúrguer de carne bovina. O maior índice de ácidos graxos saturados encontrados no hambúrguer bovino pode ser explicado pela adição da gordura suína em sua composição. No hambúrguer de avestruz foi usado óleo de soja, que é rico em ácidos graxos poliinsaturados.

Resultados semelhantes aos encontrados nessa pesquisa foram encontrados por Scrimgeour et al.²⁸ ao analisarem carnes de peru, de frango e de boi,

Tabela 3. Composição de ácidos graxos (AG) dos hambúrgueres

Componentes		Hambúrguer de avestruz (%)	Hambúrguer bovino (%)
Ácidos graxos saturados			
C8:0	Ácido caprílico	0,85	0,94
C10:0	Ácido cáprico	0,69	3,95
C12:0	Ácido láurico	2,32	3,96
C14:0	Ácido mirístico	4,83	10,64
C16:0	Ácido palmítico	27,61	30,52
C18:0	Ácido esteárico	14,06	15,62
C8:0	Ácido caprílico	0,85	0,94
Total		50,36	65,63
Ácidos graxos monoinsaturados			
C16:1	Ácido palmitoleico	7,82	3,53
C18:1	Ácido oleico	31,27	27,81
Total		39,09	31,34
Ácidos graxos poliinsaturados			
C18:2 (ω6)	Ácido linoleico	8,62	1,97
C18:3 (ω3)	Ácido linolênico	1,93	1,06
Total		10,55	3,03
ω6/ω3		4,46:1	1,86:1

encontrando valores próximos para os ácidos graxos saturados respectivamente de 50,91%, 58,56% e 69,35%, semelhantes aos encontrados na avaliação dos hambúrgueres de carne de avestruz e de carne bovina respectivamente (50,36% e 65,63%). Paleari et al.²⁶ comprovaram que o índice de gordura saturada são menores na carne de avestruz quando comparada com a carne de peru. Nesta mesma pesquisa, a porcentagem de gordura insaturada encontrada foi maior na carne de avestruz, corroborando com os dados encontrados no estudo.

Os ácidos graxos saturados são os responsáveis pelo aumento das concentrações de colesterol sérico, eles aumentam os níveis séricos de todas as lipoproteínas, principalmente o LDL - Colesterol, visto que reduzem a síntese e atividade de receptores LDL²⁹. O acúmulo de LDL no plasma está associado ao risco de doenças cardiovasculares, devido à redução de receptores de LDL nas células dos tecidos periféricos³⁰. O hambúrguer de carne de avestruz, portanto, pode ser uma opção mais saudável por apresentar menores quantidades de gordura saturada.

O percentual de ácido caprílico no hambúrguer de carne de avestruz (0,85%), cáprico (0,69%), láurico (2,32%), mirístico (4,83%) e palmítico (27,61%) foram menores quando comparados aos mesmos ácidos graxos do hambúrguer bovino. Em relação ao ácido mirístico,

a variação foi aproximadamente 5,81% a menos no hambúrguer de avestruz. O ácido esteárico apresentou percentuais de 14,06% e 15,62% no hambúrguer de carne de avestruz e bovino, respectivamente.

O ácido esteárico influencia de forma discreta o aumento do colesterol total e do LDL - Colesterol, devido à capacidade do organismo de transformá-lo em ácido oleico³¹. Os ácidos graxos monoinsaturados (palmitoleico e oleico) identificados no hambúrguer de carne de avestruz se apresentaram em maiores proporções 7,82% e 31,27%, em relação ao encontrado no hambúrguer de carne de boi (3,53% e 27,81%), que segundo Lopez-Miranda et al.³² confere ao hambúrguer de avestruz, uma melhor qualidade nutricional por estar no alimento em maiores proporções. O hambúrguer de carne de avestruz apresentou maior percentual de ácido linoleico (8,62%) enquanto que o hambúrguer de carne bovina menor (1,62%). A quantidade de ácido linolênico encontrada nos hambúrgueres de carne de avestruz (1,93%) e o bovino (1,06%) foram semelhantes. A proporção ω6 no hambúrguer de carne de avestruz foi consideravelmente maior que no hambúrguer de carne bovina, isso devido provavelmente pela qualidade dos ácidos graxos da carne de avestruz^{33,34} e pela adição do óleo de soja que também é rico em ω6.

A quantidade de ácidos graxos poliinsaturados nos dois hambúrgueres foram semelhantes.

Os hambúrgueres de carne de avestruz e de carne bovina apresentaram razão $\omega 6:\omega 3$ de 4,47:1 e 1,86:1, respectivamente. Lorigeril et al³⁵ verificaram a diminuição de 70% na taxa de mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, quando a razão $\omega 6:\omega 3$ na dieta foi de 4:1. As razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas por Masters,³⁶ o que possibilita uma maior conversão do ácido alfa-linolênico em ácido docosahexaenóico (ADH), que alcança o seu valor máximo em torno de 2,3:1, influenciando as propriedades físicas das membranas, as características de seus receptores, interações celulares e a atividade enzimática³⁷.

Avaliação dos constituintes sanguíneos dos animais

Na análise das frações lipídicas sanguíneas apresentadas na Tabela 4, o grupo que consumiu o hambúrguer bovino apresentou diferença significativa, constatando-se que a dieta oferecida aumentou as frações lipoproteicas dos animais. Em seguida o grupo que consumiu o hambúrguer de carne de avestruz apresentou qualidade de perfil lipídico superior ao grupo controle, porém não apresentou diferença significativa e o grupo C teve menores níveis de colesterol total, HDL-colesterol e VLDL-colesterol.

Observa-se que os grupos que apresentaram perfil lipídico mais equilibrado foram os grupos A, com dieta à base de hambúrguer de carne avestruz e o grupo C, com dieta à base de caseína a 17%. O grupo B, que consumiu dieta elaborada com hambúrguer de carne bovina, apresentou níveis baixos de HDL-Colesterol e alta concentração LDL-Colesterol em relação os demais grupos pesquisados.

Xiong et al³⁸ analisaram os efeitos de uma dieta com carne de boi, de porco e de peru na concentração sanguínea de ratos e observaram que os valores de colesterol total e frações não diferiram entre os grupos.

Tabela 4. Análise dos constituintes sanguíneos

Constituintes (mg/dl)	Grupo Controle	Grupo Avestruz	Grupo Bovino
Colesterol total	68,14 ± 9,55 ^a	72,98 ± 5,72 ^a	101,89 ± 7,04 ^b
Triglicerídeos	35,83 ± 7,66 ^a	34,06 ± 4,24 ^a	60,22 ± 8,26 ^b
HDL-colesterol	28,84 ± 6,27 ^a	38,64 ± 9,23 ^a	26,09 ± 3,97 ^b
LDL-colesterol	32,13 ± 10,34 ^a	27,76 ± 3,49 ^a	41,20 ± 4,87 ^b
VLDL-colesterol	7,17 ± 1,53 ^a	9,66 ± 1,13 ^c	11,34 ± 1,65 ^b

Os valores estão expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença entre os grupos (ANOVA, seguida de Tukey, $p < 0,05$) entre as amostras analisadas

Os valores de triglicerídeos, porém, ficaram menores no grupo alimentado com a dieta à base de carne de peru. No grupo que consumiu a dieta à base de hambúrguer de boi, os níveis de triglicerídeos foram maiores ($60,22 \pm 8,26$), com uma diferença significativa importante, seguido respectivamente do grupo controle caseína ($35,83 \pm 7,66$) e grupo A ($34,06 \pm 4,24$). Esses resultados estão próximos dos valores encontrados por Damian et al.³⁹, que comparou efeitos no sangue de uma dieta com salsicha comparada a uma dieta normal padrão em ratos jovens.

Exame histopatológico do fígado dos animais

Nos exames histológicos do lóbulo direito do fígado (Figura 1) observa-se esteatose hepática no Grupo Bovino que consumiu a dieta à base de hambúrguer de carne bovina. Já nas lâminas do Grupo Avestruz, que consumiu a dieta à base de hambúrguer de carne de avestruz e do Grupo Controle, não foram identificadas alterações lipídicas relevantes quando observadas em microscópio de luz. Vale ressaltar que a não visualização de elementos gordurosos nas células durante o exame microscópio é indicativo de morfostase e homeostase, representando o equilíbrio da forma e da função da estrutura⁴⁰.

O fígado é um dos órgãos mais afetados pela esteatose, além do coração e dos rins, por participar diretamente do mecanismo de metabolização das gorduras. As gorduras são absorvidas pelo intestino, passam para o sangue e chegam ao fígado, órgão responsável pela oxidação dos ácidos graxos e pela mobilização de mais gordura dos depósitos adiposos, quando esta é necessária⁴¹.

Segundo Freedman et al.⁴², a esteatose se origina da alteração dessa proporção devido ao comprometimento da síntese de fosfolípidos. Há uma diminuição da produção de fosfolípidos devido a quedas metabólicas das células, o que indica que houve uma agressão e perda da homeostase. Com a redução de fosfolípidos, há uma mudança no arranjo físico-químico entre essa substância e a gordura neutra, que fica “desmascarada”, ou seja, torna-se microscopicamente visível e corável. O acúmulo de gordura neutra é, então, produto da mudança da relação fosfolípidos/gordura neutra intracelular. Louthan et al.⁴³ analisaram os fatores patológicos causadores de arteriosclerose em adolescentes e adultos e concluíram que uma dieta rica em gorduras pode originar a esteatose, provocando um

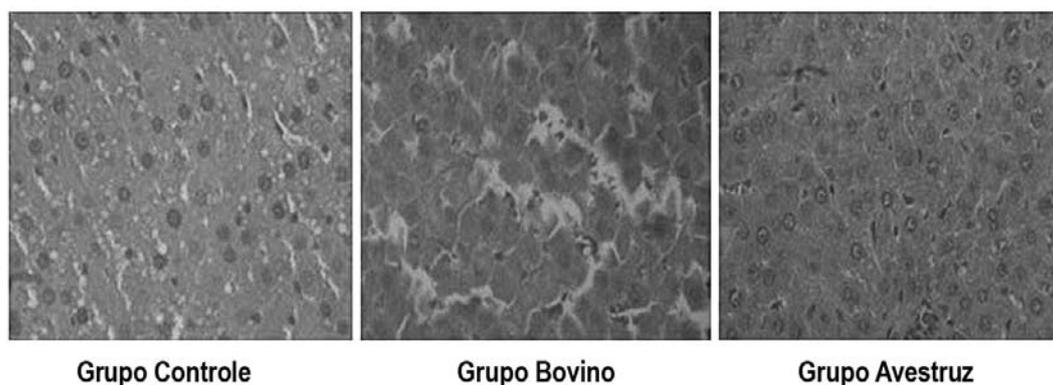


Figura 1. Cortes histológicas do fígado

acúmulo gorduroso e não a redução do metabolismo celular. O que ocorre é a absorção de gorduras pelas células que se encontram em desequilíbrio metabólico.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho indicam que os hambúrgueres elaborados com carne de avestruz possuem baixo teor de gorduras totais comparado aos hambúrgueres de carne bovina, com menor quantidade de gordura saturada e maior quantidade de ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados. Trata-se assim de um alimento de melhor qualidade nutricional que poderia ser inserido na alimentação de jovens e adultos, melhorando a qualidade da alimentação e reduzindo o risco de dislipidemias.

Os ratos que consumiram a dieta elaborada com o hambúrguer de carne bovina, desenvolveram um quadro de esteatose hepática, o que justifica a preocupação dos cardiologistas com as dietas à base desse tipo de alimento. Os animais que consumiram a dieta com hambúrguer de carne de avestruz não desenvolveram a patologia, o que o qualifica como uma alternativa mais saudável para as pessoas que optarem pelo consumo de lanches rápidos à base de hambúrguer.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira A, Albuquerque C, Carvalho G, Sendin P, Silva M. Determinantes da obesidade nos adolescentes. *Actas do V Seminário Internacional/II Ibero Americano de Educação Física, Lazer e Saúde*; 2009.
2. Monteiro P, Victora C, Barros F. Fatores de risco sociais, familiares e comportamentais para obesidade em adolescentes. *Rev Panamer Salud Pública*. 2004;16(4):250-8.
3. Suñé FR, Dias-da-Costa JS, Olinto MTA, Pattussi MP. Prevalência e fatores associados para sobrepeso e obesidade em escolares de uma cidade no Sul do Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2007;23(6):1361-71.
4. Tassitano RM et al. Prevalência e fatores associados ao sobrepeso e à obesidade em adolescentes, estudantes de escolas de Ensino Médio de Pernambuco, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2009;25(12):2639-52.
5. Nakaya N. Hypertriglyceridemia as a cause of arteriosclerosis. *Nippon Rinsho*. 2002; 60(5):860-70.
6. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. [Acesso 2010 Ago 3] Disponível:[<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>].>
7. Ariseto AP. Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito. [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2003.
8. Caye L, François P, Santos MV, Medeiros LM, Pires CC. Hambúrguer de carne ovina: aceitabilidade do consumidor. III Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária – Ciência e Tecnologia de Alimentos. [acesso 2010 Mai 2]. Disponível em: [<https://web.dv.utfpr.edu.br/seer/index.php/SSPA/article/view/43/77>].
9. Pszczola DE. Starches and gums move beyond fat replacement. *Food Technol*. 2001;53(8):74-80.
10. Morais SCD, Menten JFM, Brainer MMA, Vale MM. Altos níveis dietéticos de cobre no desempenho e no colesterol sérico e muscular de frango de corte. *Scientia Agricol*. 2001;58(1):1-5.
11. Fernández-López J, Jiménez S, Sayas-Barberá E, Sendra E, Pérez-Alvarez JA. Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat Sci* 2006; 73(2):295–303.
12. Hoffman LC, Mellett FD. Quality characteristics of low fat ostrich meat patties formulated with either pork lard or modified corn starch, soya isolate and water. *Meat Sci*. 2003;65(2):869-75.
13. Falvela CV. Carne de avestruz. *Rev Nutr Bras*. 2004;3(1):51-4.
14. Muniz, LR. Perspectivas da Carne de Avestruz: Criação, Industrialização e Mercado Consumidor. São Paulo; 2004.
15. Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Oba S, Shimizu N. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: Step 1. *J Lipid Res*. 2000;41(9):1481-94.

16. Salvino EM, Silva JA, Nóbrega ES, Nascimento JC, Costa MJC, Maciel JF. Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de hambúrgueres de carne de avestruz (*Struthio camellus*), elaborados com substituto de gordura. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(1):34-41.
17. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo-Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. Brasília (DF): ANVISA; 2005.
18. Folch J, Less M, Stanley S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957;226(1):497-509.
19. Hardtman L, Lago RC. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab Prat*. 1973;22(6):475-6.
20. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. *J Nutr*. 1993;123(11):1939-51.
21. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clin Chem*. 1974;20(4):470-5.
22. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;8:499-502.
23. Hautrive TP, Oliveira ARD, Silva NN, Terra PC, Campagnol B. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de avestruz. *Ciênc Tecnol Alim*. 2008;28(1):95-101.
24. Fischer P, Hoffmann L, Mellet F, Hunt M. Processing and nutritional characteristics of value added ostrich products. *Meat Sci*. 2000;55(3):251-4.
25. Sales J, Hayes JP. Proximate, amino acid and mineral composition of ostrich meat. *Food Chem*. 1996;56(2):167-70.
26. Paleari, MA, Camisasca S, Beretta G, Renon P, Corsico P, Bertolo G, et al. Ostrich meat: physical-chemical characteristics and comparison with turkey and bovine meat. *Meat Sci*. 1998;48(3/4):205-10.
27. Walter JMS, Ground L. Ostrich: A comparison with ground beef. *J Amer Diet Assoc*. 2003;32(11):9-12.
28. Scrimgeour CM, Macveam A, Fernie C, Sebedio JL, Riemersma AR. Dietary trans linolenic acid does not inhibit and desaturation acid in man. *Eur J Lipid Sci Techn*. 2001;103(6):341-9.
29. Pozzan R, Magalhaes MEC, Brandão AA, Brandão AP. Dislipidemia, síndrome metabólica e risco cardiovascular. *Rev Socerj*. 2004;17(2):97-104.
30. Morais CSN, Barcelos MFP, Sousa RV, Lima HM, Lima AL. Efeitos das fontes e níveis de lipídios nas dietas de ratos machos da linhagem Wistar (*rattus norvegicus*) sobre frações lipídicas no sangue. *Ciênc Agropec*. 2003;27(5):971-7.
31. Horbańczuk J, Sales J, Celeda T, Kanecka A, Zieba G, Kawka P. Cholesterol content and fatty acid composition of ostrich meat as influenced by subspecies. *Meat Sci*. 1998;50(3):385-8.
32. Lopez-Miranda J, Badimon L, Bonanome A, Lairon D, Kris-Etherton PM, Mata P, Perez-Jimenes F. Monounsaturated fat and cardiovascular risk. *Nutr Rev (Suppl)*. 2006;64(10):S1-S12.
33. Girolami A, Marsico I, D'Andrea G, Braghieri A, Napolitano F, Cifuni GF. Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of ostrich meat as influenced by age at slaughter and muscle type. *Meat Sci*. 2003;64(3):309-15.
34. Soriano A, García Ruiz A, Gómez E, Pardo R, Galán FA, González Viñas MA. Lipolysis, proteolysis, physicochemical and sensory characteristics of different types of Spanish ostrich salchichon. *Meat Sci*. 2007;75(4):661-8.
35. Lorgeil M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I. Mediterranean alpha-linolenic acid rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *The Lancet*. 1994;343(4):1454-9.
36. Masters C. n-3 Fatty acids and the peroxisome. *Mol Cell Biochem*. 1996;165(2):83-93.
37. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging*. 2002;23(5):843-53.
38. Xiong M, Zhang Y, Li X, Ma C. Effects on dietary cured meat on lipid metabolism in rats. *Food Chem*. 2007;107(1):60-7.
39. Damian C. Efeito da quitosana na digestibilidade aparente da gordura e na qualidade de salsichas Frankfurt [tese de doutorado]. Florianópolis(SC): Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); 2005.
40. Ascheiro A. Epidemiologic studies on the dietary fats coronary heart disease. *Am J Med*. 2002;13(1):12-3.
41. Martinez N, Harry DS. Clinical disorders of plasma lipid and lipoprotein metabolism. In: Intyre N, Harry DS. *Lipids and Lipoprotein in Clinical Practice*. Wolfe Publish. 1991;93:139.
42. Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The bogalusa heart study. *Pediatrics*. 1999;103(6):1175-82.
43. Louthan MV, Barve S, McClain CJ, Joshi-Barve S. Decreased serum adiponectin: an early event in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatrics*. 2005;147(6):835-8.

Estabilidade de doces em massa de banana prata

Study on the stability of banana preserves

RIALA6/1382

Glêndara Aparecida de Souza MARTINS^{1*}, Fabiana Queiroz FERRUA², Karina Scatolino MESQUITA², Soraia Vilela BORGES², João de Deus Souza CARNEIRO²

*Endereço para correspondência: ¹ Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Tocantins - UFTO, Campus de Palmas, Caixa Postal: 114, CEP: 77001-090, Palmas, TO, e-mail: glendarasouza@uft.edu.br

² Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras - UFLA

Recebido: 25.08.2010 – Aceito para publicação: 18.08.2011

RESUMO

Doces em massa possuem prolongada vida de prateleira, aproximadamente 12 meses, quando armazenados em condições adequadas. No Brasil as condições de armazenamento são variáveis e a adição de conservantes é uma das técnicas mais utilizadas para ampliar a estabilidade. Devido à possibilidade da adição de conservantes induzir alterações nesses produtos, no presente trabalho foi analisada a estabilidade de doces em massa de banana prata, com e sem a adição de sorbato de potássio, durante o armazenamento, bem como os efeitos de variações de temperatura. A estabilidade das amostras de doces armazenadas foi avaliada pelo planejamento fatorial triplo com duas repetições, sendo os fatores analisados o sorbato de potássio (presença e ausência), a temperatura (20 °C, 30 °C e 40 °C) e o tempo de armazenamento (0, 30, 75, 120, 165 dias), por meio da determinação de sólidos solúveis, açúcares totais, redutores e não redutores, acidez, atividade de água, umidade, cor e textura. O tempo foi fator determinante nas alterações ocorridas. A temperatura de armazenamento influenciou todos os parâmetros, exceto a elasticidade e a adesividade. A presença do sorbato de potássio interferiu no teor de sólidos solúveis, na firmeza e na fraturabilidade e nos demais parâmetros com exceção da elasticidade, coesividade e teores de açúcares.

Palavras-chave. sorbato de potássio, temperatura, textura, cor.

ABSTRACT

Banana preserves have a long shelf life, when stored under proper conditions. In Brazil the storage conditions are variable, and the preservatives addition is one of the mostly used among several methods employed to increase product stability. As this preservation methodology may cause changes in banana preserves, it is crucial to conduct studies on alterations caused by adding preservative, but also by temperature variations in banana preserves. This study aimed at monitoring the stability of banana preserves, with and without addition of potassium sorbate during its storage. For evaluating the stability, banana preserves were stored at different temperatures for 165 days, using a triple factorial planning with two replications and investigating factors on potassium sorbate (with and without), temperature (20 °C, 30 °C and 40 °C) and storage time (0, 30, 75, 120, 165 days) and soluble solids, total sugars, reducing- and non reducing-sugars, color and texture were analyzed. The time was the determining factor on product alterations. The storage temperature affected all of the analyzed parameters, excepting elasticity and adhesiveness; the presence of potassium sorbate interfered mainly on soluble solids contents, firmness and fractures, and on other characteristics excepting on moisture, elasticity, cohesiveness and sugar contents.

Keywords. potassium sorbate, temperature, texture, color.

INTRODUÇÃO

Na comercialização de produtos *in natura* são exigidos altos padrões de qualidade, o que leva ao descarte daqueles que possuam partes amassadas ou apodrecidas, bem como, frutos com formatos irregulares, injúrias provocadas pelo transporte, manuseio e armazenamento inadequado. No geral, quando qualificados para consumo, esses produtos danificados podem ser aproveitados para a produção de doces em massa. Esses doces, conforme a embalagem e condições de processamento, têm uma vida útil que pode variar de seis meses a um ano, a qual pode ser prolongada pela adição de ácido sórbico e seus sais, uma vez que, de acordo com Tfouni e Toledo¹, a presença desse conservante em pH ácido pode prorrogar a vida de prateleira de alimentos.

A banana cv. prata constitui-se uma importante fruta, não apenas por seu elevado valor nutritivo, com excelente aceitação para o consumo *in natura* e grande aplicação industrial, como também porque pode se desenvolver e produzir satisfatoriamente mesmo em condições adversas, motivo pelo qual está entre as frutas com as melhores perspectivas econômicas nas regiões onde é cultivada².

A Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa³ define produto de frutas como um processo que deve ser realizado a partir de frutas, inteiras ou em partes e ou sementes, obtidos por cocção e/ou concentração e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos. Podendo ser apresentados com ou sem a adição de açúcar e/ou outro ingrediente, desde que não descaracterize o produto.

A resolução Normativa nº 9, de 1978⁴ define doce em massa como o produto resultante do processamento das partes comestíveis de bananas, desintegradas, com adição de açúcares, com ou sem adição de água, agentes geleificantes, ajustadores de pH e de outros ingredientes e aditivos permitidos até consistência apropriada, sendo termicamente processada e acondicionada de modo a assegurar a sua perfeita conservação, devendo ter cor normal característica do produto, aspecto gelatinoso e sólido permitindo o corte.

A conservação de doces em massa ocorre pela tecnologia de obstáculos, em que barreiras, como tratamento térmico, adição de açúcar e conservantes garantem a estabilidade e segurança do alimento⁵. No entanto, durante o armazenamento os produtos em geral sofrem

influências de fatores intrínsecos e extrínsecos, podendo alterar suas características até atingir um período em que essas alterações impossibilitam o consumo⁶.

A textura como parâmetro de qualidade pode ser determinada instrumentalmente por meio das propriedades mecânicas, sendo considerada um aspecto de qualidade dos alimentos de suma importância^{7,8}, principalmente nos doces em massa em que se deseja o corte.

A cor é um dos principais atributos que afetam o consumo por meio da percepção da qualidade do produto, podendo até ser usada como estimativa dos componentes nutricionais para índices de qualidade, influenciando também na tomada de decisão de compra pelo consumidor. A cor de doces em massa deve-se aos pigmentos presentes nos alimentos e seus produtos de degradação. Há produtos derivados de reações enzimáticas e não enzimáticas (reação de Maillard, oxidação de vitaminas, caramelização), que são influenciados pelas condições de processamento e pela formulação^{6,9}. Durante a estocagem, a estabilidade da cor é dependente da temperatura, material da embalagem (permeabilidade à luz, vapor de água e oxigênio), uso de aditivos¹⁰, entre outros fatores como o cultivar e o tempo de armazenamento^{6,11}.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade dos doces em massa de banana prata por meio das alterações físico-químicas ocorridas durante 165 dias de armazenamento, nas temperaturas de 20 °C, 30 °C e 40 °C.

MATERIAL E MÉTODOS

As bananas (*Musa* sp.) da variedade prata foram adquiridas em comércio local no município de Lavras-MG. Os frutos foram lavados com solução de água e detergente neutro e imersos em solução aquosa de hipoclorito com concentração de 500 mg/L de solução, durante 15 minutos. Após foram selecionados e submetidos ao descascamento manual e branqueamento. O binômio tempo x temperatura, a ser utilizado no branqueamento, foi determinado por meio da análise da atividade da peroxidase, de acordo com Matsuno e Uritani¹², sendo o tempo de 100 °C por cinco minutos suficiente para a inativação total da atividade dessa enzima. Faz-se importante destacar que a peroxidase é uma das enzimas de maior estabilidade térmica presente em frutos e vegetais e, portanto, uma das mais utilizadas como indicador de branqueamento¹³.

Para a obtenção do doce de banana em massa o açúcar cristal, a pectina de alto teor de metoxilação e grau de especificação 150-SAG previamente dissolvida em água e a polpa de banana foram misturados e concentrados em tacho aberto na temperatura de, aproximadamente 85 °C até atingir 74 °Brix, sendo elaborados doces com e sem a presença de sorbato de potássio. A formulação utilizada foi de 60% de açúcar, 40% polpa e 0,4% ácido cítrico, sendo essa porcentagem referente à massa da polpa. O ácido foi adicionado metade no início e a outra metade no final do processamento em virtude do tacho utilizado ser aberto e a temperatura de trabalho elevada, o que pode provocar a hidrólise da pectina afetando no ponto de corte dos doces. Nos doces adicionados de conservante o sorbato de potássio foi adicionado no final do processo na concentração de 0,1% (m/m em relação à massa de polpa inicial), atendendo o descrito na Resolução nº 34 da Anvisa¹⁴. O produto final foi envasado a quente em embalagens de polipropileno (0,190 mm de espessura, 9 mm de diâmetro, 5,5cm de altura), fechado e resfriado a temperatura ambiente.

Após o processamento e o acondicionamento na embalagem, os doces foram estocados em câmaras com temperatura controlada em 20 °C, 30 °C e 40 °C e umidade relativa média 85%, durante 165 dias visando à avaliação da influência da variação da temperatura de armazenamento e da presença de sorbato de potássio na estabilidade dos doces em massa.

Para avaliar o efeito do sorbato de potássio na formulação do doce e da temperatura de armazenamento sobre a estabilidade física e físico-química dos doces armazenados, foi seguido um planejamento fatorial triplo com duas repetições. Os fatores e níveis avaliados foram: sorbato de potássio (presença e ausência), temperatura (20 °C, 30 °C e 40 °C) e tempo de armazenamento (0, 30, 75, 120, 165 dias).

A determinação dos sólidos solúveis totais foi realizada por refratometria, de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁵, e os valores expressos em °Brix. Os açúcares totais, redutores em glicose e não redutores em sacarose foram analisados pelo método descrito por Nelson¹⁶ e Somogyi¹⁷. A cor dos doces foi determinada, em triplicata, de acordo com a metodologia proposta por Giese¹⁸, em que os valores de L*, a* e b* foram determinados com aparelho colorímetro Minolta modelo CR 400, trabalhando com D₆₅ (luz do dia) e utilizando-se os padrões CIELab.

A diferença total de cor foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

(1) sendo Δ a diferença entre cada parâmetro de cor da amostra inicial (tempo zero) e a amostra armazenada.

Para análise de perfil de Textura (TPA) foi utilizado um texturômetro TA.TX2i Stable Micro Systems, (Goldaming, England) em amostra de doce com volume de 1 cm³, com sonda cilíndrica de alumínio de fundo chato (45 mm) e tempo, distância, velocidades de pré-teste, teste e pós-teste de cinco segundos, 6 mm, 2 mm/s, 1 mm/s e 2 mm/s, respectivamente, sendo os testes realizados em oito replicatas. Os resultados obtidos da curva força x tempo foram calculados pelo *software* Texture Expert Versão 1.22, sendo analisados os parâmetros de dureza, coesividade, elasticidade e adesividade.

Após as análises, os dados das alterações físico-químicas e de físicas, ocorridas no produto durante o armazenamento, foram analisados com o auxílio do *software* SISVAR, por meio da análise de variância para indicar o efeito significativo das variáveis independentes e suas interações. A alteração da cor foi analisada por meio do cálculo de médias e desvio padrão das análises, realizadas em triplicata, para posterior cálculo da diferença total de cor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentadas as análises de variância das variáveis resposta para as análises físico-químicas e físicas.

Os teores de sólidos solúveis tenderam a aumentar com o tempo de armazenamento em todos os tratamentos estudados. No entanto, o aumento mais acentuado foi observado nos doces com sorbato de potássio. Comportamento semelhante foi observado por Menezes¹⁹ em doces de goiaba, sendo que a autora atribuiu esse efeito ao fenômeno de sinérese, que é um problema frequentemente encontrado em géis de polpa de frutas, resultado da liberação da água retida na matriz do gel²⁰. Tal fenômeno também foi observado nesse estudo a partir de 120 dias de armazenamento em todos os doces, mas não foi quantificado.

Quando avaliada a influência da temperatura nos sólidos solúveis observou-se que os doces com adição de

Tabela 1. Resumo da análise de variância dos resultados das análises físico-químicas dos doces de banana em massa

Causas de variação	Quadrado Médio das Variáveis							
	GL	SS	AT	AR	ANR	pH	AcT	aw
Tempo (t)	4	0,000*	0,000*	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Sorbato (S)	1	0,000*	0,112	0,211	0,113	0,003*	0,088*	0,000*
Temperatura (T)	2	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
t*S	4	0,000*	0,262	0,232	0,242	0,000*	0,000*	0,053
t*T	8	0,000*	0,518	0,718	0,528	0,000*	0,009*	0,005*
T*S	2	0,000*	0,020*	0,039*	0,019*	0,796	0,281	0,146
T*t*S	8	0,000*	0,561	0,591	0,681	0,047*	0,105	0,443
Resíduo	30							
CV (%)		0,15	9,06	10,6	12,06	1,01	1,75	2,38
Média geral		74,30	70,94	17,13	51,07	3,59	0,66	0,72

* Significativo, ao nível de 5%, pelo teste F. SS- Sólidos Solúveis; AT- Açúcares totais; AR - Açúcares redutores; ANR - Açúcares não redutores; AcT - Acidez Total Titulável; aw- Atividade de água

Tabela 2. Análise de variância da textura e umidade dos doces de banana em massa

Causas de variação	Quadrado Médio das Variáveis						
	GL	FIRM	COEZ	ELAST	ADES	FRAT	UM
Tempo (t)	4	0,000*	0,009*	0,021*	0,000*	0,000*	0,000*
Sorbato (S)	1	0,000*	0,168	0,097	0,000*	0,000*	0,062
Temperatura (T)	2	0,000*	0,061*	0,570	0,587	0,000*	0,000*
t*S	4	0,000*	0,178	0,058	0,255	0,000*	0,004*
t*T	8	0,000*	0,198	0,106	0,000*	0,000*	0,047*
T*S	2	0,000*	0,229	0,887	0,027*	0,000*	0,047*
T*t*S	8	0,000*	0,650	0,069	0,007*	0,000*	0,395
Erro	30						
CV (%)		7,23	10,66	3,03	-17,03	11,18	4,34
Média geral		5,59	0,24	0,91	-4,3	4,24	33,13

* Significativo ao nível de 5% pelo teste F. FIRM - Firmeza; COEZ - Coesividade; ELAST - Elasticidade; ADES - Adesividade; FRAT - Fraturabilidade; UM - Umidade

sorbato de potássio armazenados a 20 °C mantiveram-se o teor de sólidos solúveis constantes, enquanto que nas demais temperaturas observou-se o aumento dessa variável. Resultado semelhante foi obtido por Martins et al.²¹ para doce em massa de umbu. Os autores destacam que esse tipo de alteração provavelmente ocorre devido à evaporação de água durante a estocagem a temperaturas elevadas, uma vez que a permeabilidade de algumas embalagens, como o caso do polipropileno, pode permitir a migração da água para o ambiente. Já os doces sem adição do conservante apresentaram comportamentos diferentes para cada temperatura de armazenamento, sendo que quando armazenados a 20 °C os valores de sólidos solúveis mantiveram-se constantes até os 30 dias, apresentando aumento aos 75 dias e posterior queda e estabilização

aos 120 dias. No entanto, ao serem armazenados na temperatura de 30 °C, os valores de sólidos solúveis dos doces aumentaram aos 30 dias, mantendo-se estáveis até posterior queda e estabilização aos 120 dias. Já os doces armazenados a 40 °C, apresentaram queda nos valores de sólidos solúveis aos 30 dias e subsequente aumento até a estabilização aos 120 dias de armazenamento.

Os teores de açúcares totais, redutores e não redutores sofreram influência do tempo e da temperatura, ao nível 5% de significância (Tabela 1). Observou-se que o teor de açúcares totais aumentou com a elevação do tempo de armazenamento e conseqüentemente os açúcares redutores e não redutores.

Quando avaliada a influência da temperatura, os tratamentos sem sorbato de potássio e armazenados

nas temperaturas de 30 °C e 40 °C apresentaram maiores valores de açúcares totais, não redutores e redutores quando comparados aos doces armazenados a 20 °C. Já nos doces com sorbato de potássio observou-se redução dos valores de açúcares totais, redutores e não redutores no último intervalo de tempo de armazenamento na temperatura de 40 °C. Alexandre et al.²² observaram comportamento semelhante ao avaliar a conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos.

Ao avaliar a textura, observou-se que tanto a firmeza, quanto a fraturabilidade apresentaram uma tendência a aumentar de acordo com o tempo de armazenamento. A tendência ao declínio foi observada para a adesividade, a coesividade e a elasticidade. Observou-se, porém, uma diferença significativa ($p < 0,05$) apenas no último tempo de armazenamento para todas as variáveis avaliadas e a influência do sorbato apenas sobre a adesividade, a firmeza e a fraturabilidade (Tabela 2).

De acordo com Szczesniak²³, a firmeza é a força necessária para que o material atinja uma dada deformação. O aumento desse parâmetro durante o tempo de armazenamento bem como o aumento na fraturabilidade, possivelmente ocorreu devido à elevação no teor de sólidos solúveis. Godoy et al.²⁴ destaca que variações nos valores que representam a firmeza indicam diferenças na estrutura do gel dos produtos, em decorrência da variabilidade nas formulações e métodos de processamento e armazenamento de cada produto, uma vez que a formação do gel e suas características finais estão diretamente relacionadas ao teor de sólidos solúveis, pectina, ácido e polpa.

A elevação do teor de sólidos solúveis afeta a textura do doce de duas maneiras. Por um lado, a redução do teor de água aumenta a rigidez da estrutura²⁵. Por outro, o aumento no teor de sólidos solúveis, assim como a firmeza e a fraturabilidade (Tabela 2), sofreram influência da temperatura de armazenamento, indicando que houve evaporação da água presente nos doces armazenados. Com isso, aumenta as chances de hidrólise da pectina, o que torna a estrutura descontínua e mais aderente⁴.

Observou-se, aos 165 dias de armazenamento, influência significativa, ao nível de 5%, das temperaturas de 30 °C e 40 °C na firmeza dos doces com sorbato de potássio. Já para a fraturabilidade a temperatura foi influente em ambos os tratamentos, tendo a temperatura de 30 °C provocado maiores valores dessa variável nos doces sem adição do sorbato de potássio. No entanto, nos

doces com sorbato de potássio a temperatura de 40 °C apresentou maiores valores para fraturabilidade a partir de 120 dias de armazenamento.

Menezes et al.²⁶ afirma que outro fator influente na textura de doces em massa é a acidez, pois quanto maior for o seu teor, maior será a firmeza dos doces, concordando com o encontrado nesse estudo. Os autores afirmam ainda que essa relação pode ser atribuída à menor dissociação das carbonilas livres e moléculas de pectina, o que diminui a repulsão intermolecular e favorece a formação de ligações cruzadas, essenciais para a formação do gel.

De acordo com Soares Júnior et al.²⁷ e Godoy et al.²⁴, o aumento no teor de sólidos solúveis ocasiona elevação na adesividade, pois esse fato indica evaporação de água e conseqüentemente a hidrólise da pectina, comportamento esse contrário ao encontrado nesse trabalho, visto a redução da adesividade. No entanto, de acordo com os autores, as técnicas empregadas para análise de textura ainda não propiciam um grau de padronização satisfatório ao produto, o que frequentemente apresenta deficiências nas avaliações da dureza, adesividade, entre outros parâmetros de textura.

A coesividade é a extensão em que o material pode ser deformado antes da ruptura e a elasticidade a taxa em que o material deformado volta para a sua condição inicial. Observou-se um aumento, no início do armazenamento, desses parâmetros, sendo mais pronunciado na coesividade e posterior redução de ambos os parâmetros nos últimos tempos de observação. Os baixos valores observados na elasticidade, desde o primeiro tempo de análise, pode ocorrer devido à presença de sacarose na formulação, pois, de acordo com Toledo², a sacarose possui efeito plasticizante tornando o produto mais plástico e menos elástico.

Os valores de pH dos doces de banana, com e sem a adição de sorbato de potássio, aumentaram com 30 dias de armazenamento em todos os tratamentos avaliados, principalmente nos doces sem adição do conservante e armazenados a 30 °C e 40 °C. Mas após esse período, os valores diminuíram concordando com o observado por Mota²⁸ para geleia de amora preta após 40 dias de armazenamento, sendo que o autor atribui o decréscimo do pH com o passar do tempo ao fato da acidez ter aumentado durante o armazenamento.

O efeito da presença de sorbato de potássio no pH, mostrou-se significativa, ao nível de 5% de significância (Tabela 1), concordando com o descrito por Vidyasagar

e Arya²⁹ e Thakur et al.³⁰ ao afirmarem que o sorbato de potássio provoca oscilações no pH do meio. No entanto, os autores descrevem ainda que nessa relação, porém, é difícil determinar qual é a variável independente, pois tanto o pH é alterado com a presença do conservante quanto o conservante pode sofrer efeito catalítico exercido pelo pH do meio. Nesse sentido, Menezes et al.²⁶ observaram que a adição de sorbato de potássio aumentou o pH de doces em massa de goiaba tornando o produto menos ácido, sendo que os autores atribuíram esse fato à relação entre o pH e a dissociação das moléculas de ácido sórbico que ocorre de forma proporcional.

A acidez titulável dos doces aumentou durante o armazenamento, corroborando com o encontrado por Nascimento et al.³¹ para doce de corte de casca de maracujá e Menezes¹⁹ para doce de goiaba em massa. Os tratamentos com e sem a presença de sorbato de potássio apresentaram diferença significativa, ao nível de 5%, entre si (Tabela 1), sendo que nos tratamentos sem o conservante houve um aumento mais rápido e pronunciado da acidez do que nos tratamentos com a adição do conservante.

A temperatura de armazenamento apresentou-se significativamente influente, ao nível de 5%, na acidez de ambos os doces avaliados durante o período de armazenamento (Tabela 1), apresentando valores maiores nas temperaturas de 30 °C e 40 °C. No entanto, mesmo nas temperaturas maiores, os valores de acidez não ultrapassaram o limite aceitável, que de acordo com Jackix⁴ é 1 mg de ácido/100 g de produto onde a partir de então ocorre o processo de sinérese, ou seja, a exsudação do líquido do doce.

Tabela 3. Médias e desvio padrão para o parâmetro de cor L do doce de banana durante o armazenamento

Tratamento	Tempo	20 °C	30 °C	40 °C
		L	L	L
Sem Sorbato	0	23,8 ± 1,8	22,7 ± 0,1	22,64 ± 0,1
	30	22,7 ± 0,04	27,6 ± 0,2	23,8 ± 0,1
	75	21,4 ± 0,03	26,6 ± 0,3	22,6 ± 0,1
	120	26,9 ± 0,3	24,6 ± 0,8	23 ± 0,2
	165	24,5 ± 0,4	27,8 ± 0,1	21,3 ± 0,2
Com Sorbato	0	31,6 ± 0,1	31,8 ± 0,1	31,3 ± 0,2
	30	29,1 ± 0,1	27,2 ± 0,04	27,5 ± 0,06
	75	25,1 ± 0,1	23,9 ± 0,8	24,2 ± 0,2
	120	28,7 ± 0,1	30,4 ± 0,2	26,6 ± 0,3
	165	27,8 ± 0,1	28,4 ± 0,5	25,4 ± 6,5

A atividade de água (Aw) apresentou oscilações durante o armazenamento.

Os tratamentos de doce em massa apresentaram diferença significativa, ao nível de 5%, entre as temperaturas de armazenamento ao longo do tempo (Tabela 1). Os tratamentos sem adição de sorbato de potássio apresentaram maiores oscilações da atividade de água durante o armazenamento, em todas as temperaturas.

Quando tratados com o conservante e armazenados a 40 °C, os doces apresentaram uma redução maior da atividade de água, quando comparados com as demais temperaturas. Por exemplo, descreveram, no final do período de armazenamento, Aw de 0,66, enquanto que nas demais temperaturas esse valor é de 0,72 e 0,74 para 20 °C e 30 °C, respectivamente.

Gliemmo et al.³² observaram, em seus trabalhos, que o sorbato de potássio, presente em modelos aquosos, provoca uma redução na atividade de água principalmente em altas temperaturas, concordando com o observado neste trabalho para a temperatura de 40 °C. De acordo com Takur et al.³⁰, essa relação da atividade de água com o sorbato de potássio deve-se ao fato da solubilidade dos sais de ácido sórbico ser alta, acima de 50%, principalmente em altas temperaturas.

Chagas et al.³³, ao estudar doce de goiaba, observaram que a atividade de água é influenciada diretamente pela proporção polpa/açúcar adicionada à formulação atribuindo essa ocorrência à capacidade higroscópica do açúcar que pode permitir a redução do teor de água livre no alimento.

Assim como a atividade de água, a umidade apresentou oscilações durante o tempo de armazenamento. No entanto, não houve diferença significativa, ao nível de 5%, entre os tratamentos com e sem a adição de sorbato de potássio (Tabela 2). Quando avaliada a influência da temperatura, os doces com adição de sorbato de potássio apresentaram um aumento da umidade aos 75 dias de armazenamento, sendo esse aumento significativo, ao nível de 5%, nos doces armazenados a 20 °C quando comparados com os doces armazenados nas demais temperaturas e posterior queda estabilizando em torno 34% de umidade, em base úmida (g/100g matéria úmida). Os doces sem adição do conservante também apresentaram diferença da temperatura de 20 °C para as demais temperaturas, no entanto aos 165 dias os doces armazenados a 40 °C apresentaram maior valor de umidade quando comparados com os demais.

Tabela 4. Médias e desvio padrão para os parâmetros de cor a* e b* do doce de banana durante o armazenamento

Tratamento	Tempo	20 °C		30 °C		40 °C	
		a*	b*	a*	b*	a*	b*
Sem Sorbato	0	4,6 ± 0,7	-2,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	-2,1 ± 0,02	4,7 ± 0,9	-2,1 ± 0,01
	30	7,4 ± 0,3	2,4 ± 0,4	7,1 ± 0,07	2,5 ± 0,06	8,5 ± 0,2	0,73 ± 0,02
	75	7,4 ± 0,02	1,2 ± 0,2	8,1 ± 0,01	0,85 ± 0,4	3,6 ± 0,2	0,38 ± 0,1
	120	7,3 ± 0,07	2,8 ± 0,7	7,5 ± 0,5	0,88 ± 0,2	7,7 ± 0,4	0,55 ± 0,2
	165	8,9 ± 0,09	0,9 ± 0,2	7,6 ± 0,2	0,26 ± 0,2	6,1 ± 0,3	0,07 ± 0,2
Com Sorbato	0	6,75 ± 0,7	2,7 ± 0,5	6,9 ± 1	2,1 ± 0,09	6,8 ± 0,8	2,3 ± 0,007
	30	10,4 ± 0,5	2,5 ± 0,6	7,6 ± 0,4	3 ± 0,1	9,5 ± 0,4	5 ± 0,2
	75	6,6 ± 0,07	3,9 ± 0,3	6,2 ± 0,2	2,48 ± 0,3	6,4 ± 0,5	0,54 ± 0,2
	120	8,3 ± 0,4	5,1 ± 1,4	8,8 ± 0,3	3,6 ± 1,1	6,56 ± 0	1,2 ± 0,9
	165	8,8 ± 0,07	3,8 ± 0,6	7,7 ± 0,3	1,9 ± 0,6	5,8 ± 0,1	0,1 ± 0,1

É importante destacar que todos os tratamentos, até o tempo estudado, apresentaram-se dentro do padrão descrito pela legislação, por meio da normativa nº 9, de 1978, publicada no D.O.U em 11/12/1978³⁴, da Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde⁴, em que a umidade máxima permitida para doce em massa é de 35% em base úmida. Os doces sem adição de conservante e armazenados a 40 °C, porém, estavam no limite descrito pela legislação aos 165 dias de armazenamento.

Oscilações nos teores de umidade foram verificadas por Beltrão Filho e Silva³⁵ ao observar o comportamento dessa variável no doce em massa de banana nanica durante o armazenamento, sendo que o autor atribui essas oscilações ao não armazenamento das amostras em ambiente controlado. O autor destaca ainda que a importância da umidade, em doces em massa, não ultrapassa o exigido pela legislação evitando assim qualquer espécie de contaminação.

Os resultados de determinação da cor (L, a*, b* e ΔE) do doce em massa são apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

O produto apresentou escurecimento durante o armazenamento, ou seja, diminuição do valor do parâmetro de cor L*, luminosidade, tanto maior quanto maior a temperatura (Tabela 3), concordando com o descrito por Garza et al.³⁶ ao afirmar que o aumento do tempo e da temperatura de armazenamento afeta diretamente os principais componentes da cor. Menezes et al.²⁶ afirmam que a redução da luminosidade dos doces em massa pode ocorrer em decorrência de um maior escurecimento não enzimático, como a caramelização e a reação de Maillard, provocada pela presença de um

percentual elevado de açúcar nas formulações desse tipo de produto.

O parâmetro de cor a* apresentou poucas alterações com o aumento da temperatura (Tabela 4), tendendo a aumentar com o passar do tempo de armazenamento e intensificar a cor vermelha em todos os tratamentos. Já os valores do parâmetro de cor b* apresentaram oscilações com o aumento da temperatura de armazenamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Menezes¹⁹ para o parâmetro de cor a* do doce em massa de goiaba e Garcia-Viguera et al.¹¹ para os parâmetros de cor a* e b* analisados em geleia de morango.

A diferença total de cor apresentou oscilações com o tempo e a temperatura de armazenamento (Tabela 5) tanto nos doces com sorbato de potássio

Tabela 5. Médias e desvio padrão da diferença total de cor do doce de banana durante o armazenamento

Tratamento	Tempo	E		
		20 °C	30 °C	40 °C
Sem Sorbato	0	--	--	--
	30	5,33	7,28	4,87
	75	1,76	2,17	5,05
	120	5,72	2,08	4,12
	165	3,45	3,26	2,38
Com Sorbato	0	--	--	--
	30	4,42	4,73	5,38
	75	5,69	3,62	6,35
	120	4,15	7,08	2,49
	165	1,65	2,84	1,79

quando nos doces sem adição do conservante. Tal fato pode ter ocorrido devido ao comportamento oscilatório observado para o parâmetro b^* . A diferença total de cor tem sido largamente utilizada na descrição visual da alteração de cor e é útil no monitoramento da qualidade de frutas e produtos de frutas, sendo que quanto maior o seu valor, maior degradação da cor o produto apresenta. Esse aumento pode ser acentuado com a elevação da temperatura^{36, 37}, fato observado neste trabalho até os 75 dias de armazenamento.

Miguel et al.³⁸ afirmam que a oxidação de alguns ácidos, presentes em produtos como o doce em massa, podem ocorrer por via anaeróbica, levando à formação de hidróxi-metil-furfural e furfural, respectivamente, os quais por sua vez formam melanoidinas, que causam escurecimento, tal como na reação de Maillard. Os autores afirmam ainda que a fase anaeróbica ocorre durante o armazenamento e tende a variar de acordo com a oscilação da temperatura.

Quando avaliada a qualidade microbiológica durante o período de armazenamento, observou-se que os doces mantiveram-se microbiologicamente estáveis em todos os tratamentos. Ou seja, a contagem de microorganismos apresentou-se inferior ao exigido pela legislação como padrão de qualidade por meio da portaria nº 451 de 19/9/1997, da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS)³⁹. Essa portaria descreve que para serem considerados estáveis, os purês e doces em massa devem apresentar ausência de salmonelas em 25 g de amostra, contagem máxima de 1 coliforme a 35 °C/g de amostra e contagem máxima de 103 fungos filamentosos e leveduras/g de amostra.

Embora não exigida pela legislação a contagem de coliformes totais foi realizada indicando ausência de contaminação e conseqüente adequabilidade do processamento, pois a presença deste microorganismo indica contaminação do produto após processamento⁴⁰. Resultados semelhantes foram observados por Menezes¹⁹.

CONCLUSÃO

As formulações de doce em massa de banana prata sofreram influência tanto do tempo como da temperatura de armazenamento e da presença de sorbato de potássio, sendo o tempo a variável que mais interferiu na qualidade do produto, contribuindo para as alterações de todos os parâmetros analisados. A temperatura provocou alterações em todos os parâmetros exceto a elasticidade e a adesividade,

enquanto a presença de sorbato de potássio mostrou-se influente nos sólidos solúveis, firmeza, fraturabilidade, adesividade, bem como em todos os parâmetros de cor, sendo a temperatura de 20 °C a menos influente nas alterações ocorridas.

REFERÊNCIAS

1. Tfouni SAV, Toledo MCF. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food Control*. 2002;13(2):117-23.
2. Toledo PF. Propriedades reológicas de doce de banana [dissertação de mestrado] Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas (Unicamp); 2004.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Brasília; 2005. [acesso 2011 Ago 15]. Disponível em: [http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php/].
4. Jackix MH. Doces, geleias e frutas em calda. São Paulo (SP): Ícone; 1988.
5. Leistner L. Food preservation by combined methods. *Food Res Int*. 1992;25(2):151-8.
6. Wicklund T, Rosenfeld HJ, Martisen BK, Sundfor MW, Lea P, Brunn T, Blomhoff R, et al. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *LWT*. 2005;38(4):380-91.
7. Banjongsinsiri P, Kenney S, Wicker L. Texture and distribution of pectic substances of mango as affected by infusion of pectinmethylesterase and calcium. *J Sci Food Agric*. 2004;84(12):1493-9.
8. Cerezal P, Duarte G. Sensory influence of chemical additives in peeled cactus pears (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) in syrup conserved by combined methods. *J Prof Assoc Cactus Dev*. 2004;6(6):102-19.
9. Albuquerque JP. Fatores que influenciam no processamento de geleias e geleias de frutas. *Bol Soc Bras Ciênc Tecnol Alim*. 1997;31(1):1-8.
10. Gliemmo MF, Campo CA, Gerschensons LN. Effect of several humectants and potassium sorbate on the growth of *zygosaccharomyces balli* in model aqueous systems resembling low sugar products. *J Food Eng*. 2006;77(4):761-70.
11. Garcia-Vigyera C, Zafrilla P, Romero F, Abellán P, Artés F, Tomás-Barberán FA. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *J Food Sci*. 1999;64(2):234-47.
12. Matsuno H, Uritani I. Physiological behaviour of peroxidase enzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or back root. *Plant Cell Physiol*. 1972;13(6):1091-101.
13. Whitaker JR. Effect of temperature on enzyme-catalysed reactions. In: Principles of enzymology for the food science. New York: Marcel Dekker; 1972. p.319-49.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 34, de 9 de março de 2001. Aprova o regulamento técnico para o uso de aditivos alimentares estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a Categoria de Alimentos 21: Preparações culinárias industriais.

- Brasília; 2001. [acesso 2011 Mai 9]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/34_01rdc.htm].
15. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ª ed. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 1985.
 16. Nelson N. A fotometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J Bio Chem*. 1944;153(2):375-80.
 17. Somogy M. A new reagent for determination of sugars. *J Bio Chem*; 1956. 160(1):61-8.
 18. Giese J. Fats, oils and fat replacers. *Food Technol*. 1996; 50(4):78-83.
 19. Menezes CC. Otimização e avaliação da presença de sorbato de potássio e das embalagens sobre o doce de goiaba durante o armazenamento [dissertação de mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras (UFLA); 2008.
 20. Mouquet C, Aymard C, Guilbert S, Cuvelier G, Launay B. Influence of initial pH on gelation kinetics of texturized passion fruit pulps. *LWT*. 1997;30(1):129-34.
 21. Martins MLA, Borges SV, Deliza R, Castro FT, Cavalcante NB. Características de doce em massa de umbu verde e maduro e aceitação pelos consumidores. *Rev Pesq Agropec Bras*. 2007;42(9):1329-33.
 22. Alexandre D, Cunha RL, Hubinger MD. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. *Rev Ciênc Tecnol Alim*. 2004;24(1):114-9.
 23. Szczesniak AS. Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer*. 2002;13(2): 215-25.
 24. Godoy RCB, Matos ELS, Santos DV, Amorim TS, Waszczynskyj N, Neto MAS. Estudo da composição físico-química e aceitação de bananadas comerciais por meio de análise multivariada. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(3):373-80.
 25. Glicksman M. Gum technology food industry. New York: Academic Press; 1969.
 26. Menezes CC, Borges SV, Cirillo MA, Ferrua FQ, Oliveira LF, Mesquita KS. Caracterização física e físico-química de diferentes formulações de doce de goiaba (*Psidium guajava* L.) da cultivar Pedro Sato. *Rev Ciênc Tecnol Alim*. 2009;29(3): 618-25.
 27. Soares Júnior AM, Maia ABRA, Nelson DL. Estudo do efeito de algumas variáveis de fabricação no perfil texturométrico do doce de manga. *Rev Ciênc Tecnol Alim*. 2003;23(1):76-80.
 28. Mota RV. Caracterização física e química de geleia de amora-preta. *Ciênc Tecnol Alim*. 2006;26(30):539-43.
 29. Vidyasagar K, Arya SS. Stability of sorbic acid in orange squash. *J Agric Food Chem*. 1983;31(6):1262-3.
 30. Thakur BR, Singh RK, Arya SS. Chemistry of sorbates: a basic perspective. *Food Rev Int*. 1994;10(1):71-91.
 31. Nascimento MRF, Oliveira, Borges SB. Estudo da conservação de doce de corte de casca de maracujá à temperatura ambiente. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; Porto Alegre: CBCTA; agosto de 2002.
 32. Gliemmo MF, Campo CA, Gerschensons LN. Effect of several humectants and potassium sorbate on the growth of *Zygosaccharomyces balli* in model aqueous systems resembling low sugar products. *J Food Eng*. 2006;77(4):761-70.
 33. Chagas EN, Menezes CC, Cirillo MA, Borges SV. Método "Ridge" em modelo de superfície de resposta: otimização de condições experimentais na elaboração de doce de goiaba. *Rev Bras Biom*. 2009;26(4):71-81.
 34. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução Normativa nº 9, de 11 de dezembro de 1978. Atualiza a Resolução nº 52/77 da antiga Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Brasília; 1978. [acesso 2009 Mar 22] Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/09_78_doces.htm].
 35. Beltrão Filho EM, Silva MLP. Processamento de doce em massa de banana (*Musa* sp): cultivar nanicao. I Jornada Nacional da Agroindústria; outubro de 2006. Bananeiras: Agroindústria Nacional. 1 CD-ROMm.
 36. Moura SCSR, Berbari AS, Almeida MEM, Luccas V, Kitahara EO. Acompanhamento da vida-de-prateleira de caqui-passa. V Congresso Ibero-Americano de Ingeniería de Alimentos; setembro de 2005;México: CIBIA. CD-ROM.
 37. Moura SCSR, Berbari AS, Germer SPM, Almeida MEM, Fefim DA. Determinação da vida de prateleira de maçã-passa por testes acelerados. *Rev Ciênc Tecnol Alim*. 2007;27(1):41-.
 38. Miguel ACA, Albertini S, Spoto MHFS. Cinética da degradação de geleia de morango. *Ciênc Tecnol Alim*. 2009;29(1):142-7.
 39. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2 jul. 1998. Seção I, nº 124, p. 4-13.
 40. Siqueira RS. Manual de microbiologia de alimentos. Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA; 1995.

Avaliação da sensibilidade do método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico para determinação da atividade da fosfatase alcalina residual em manteiga

Evaluation of the sensitivity of visual and spectrophotometric Scharer rapid test for determining residual alkaline phosphatase activity in butter

RIALA6/1383

Cláudia Aparecida de Oliveira e SILVA^{1*}, Sebastião Cesar Cardoso BRANDÃO², Antônio Fernandes de CARVALHO², Juraci Alves de OLIVEIRA³

*Endereço para correspondência: ¹ Divisão de Vigilância Sanitária, Fundação Ezequiel Dias/FUNED, Instituto Octávio Magalhães, Rua Conde Pereira Carneiro, 80, Gameleira, Belo Horizonte, MG, CEP: 30510-010, tel: 31 3314-4685 / 31 9988-5042, e-mail: claudiaufv@yahoo.com.br

² Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, UFV

³ Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, UFV

Recebido: 14.05.2010 - Aceito para publicação: 19.07.2011

RESUMO

A determinação da fosfatase alcalina (ALP) residual é usada na indústria de laticínios há mais de 60 anos para verificar a eficiência da pasteurização. Estudos sobre a atividade dessa enzima em manteiga são escassos no Brasil, cuja avaliação é obrigatória somente para leite pasteurizado. Avaliou-se a sensibilidade do teste rápido de Scharer, modalidades visual e espectrofotométrica, para efetuar a análise da atividade da ALP em manteiga em comparação com a técnica fluorimétrica, cujo limite estabelecido pela Food and Drugs Administration (FDA) é de 350,0 mU/kg de produto. As amostras de manteigas foram preparadas com creme pasteurizado e adicionando-se quantidades de 0,000%; 0,010%; 0,015%; 0,025%; 0,050% e 0,100% (v/v) de creme cru. Pelo teste rápido de Scharer visual foi possível detectar a atividade residual da enzima a partir de concentrações de 0,050% de creme cru. Sua sensibilidade não foi condizente com a do método fluorimétrico, que detectou valores médios de 348,9 mU/kg no produto fabricado com 0,015% de creme cru. A técnica espectrofotométrica demonstrou maior sensibilidade, com detecção de creme cru na concentração de 0,015%, correspondente ao limite estabelecido pela FDA. Modificações técnicas no teste rápido de Scharer são necessárias para melhorar a sensibilidade analítica do ensaio.

Palavras-chave. manteiga, tratamento térmico, fosfatase alcalina, metodologias.

ABSTRACT

Determination of residual alkaline phosphatase (ALP) has been used in the dairying industries for evaluating the efficiency of pasteurization. This study aimed at assessing the sensitivity of Scharer rapid test, both visual and spectrophotometric techniques for determining the activity of ALP in butter, in comparison to the fluorimetric assay, being 350.0 mU enzyme/kg of product the limit established by the Food and Drug Administration (FDA). Butters were made from pasteurized cream and amounts of 0.000%; 0.010%; 0.015%; 0.025%; 0.050% and 0.100% (v/v) of raw cream were added into. By using visual Scharer rapid technique, the enzyme residual activity was detected starting at concentrations of 0.050% of raw cream. This sensitivity was not consistent with that found in fluorimetric methodology, which showed value of 348.9 mU/kg in a manufactured product containing 0.015% raw cream. The spectrophotometric technique showed high sensitivity, detecting raw cream concentration of 0.015%, corresponding to the limit established by FDA. Modifications should be done for improving the analytical sensitivity of the Scharer rapid test.

Keywords. butter, thermal treatment, alkaline phosphatase, methodologies.

INTRODUÇÃO

Pasteurizar o leite ou o creme de leite consiste em destruir, pelo emprego conveniente do calor, a quase totalidade da microbiota banal e toda a microbiota patogênica, quando esta existir, modificando, contudo, o menos possível a estrutura física e o equilíbrio químico do produto, assim como sua constituição e os seus elementos bioquímicos¹.

A fosfatase alcalina (ALP, EC 3.1.3.1) é uma enzima naturalmente presente no leite. Sua concentração pode variar de acordo com a raça do animal, alimentação, período de lactação, produtividade e ao longo das estações do ano. Por ser a ALP inativada na pasteurização eficiente do leite ou creme de leite, a determinação de seus níveis residuais é usada na indústria de laticínios há mais de 60 anos para comprovar a eficiência do tratamento térmico de pasteurização. Sua resistência térmica é ligeiramente superior à das formas não esporuladas dos micro-organismos patogênicos mais resistentes que podem estar presentes no leite². Assim o tratamento aplicado comercialmente para a pasteurização do leite ou do creme de leite, além de destruir os micro-organismos patogênicos, diminui a atividade dessa enzima a concentrações residuais. Em condições insuficientes de pasteurização, a enzima é reduzida a concentrações acima das consideradas apropriadas, o que pode indicar pasteurização ineficiente ou pós-contaminação com matéria-prima crua³.

Análises laboratoriais para determinação da atividade da ALP são baseadas no princípio de que a enzima hidrolisa ésteres monofosfatados em temperatura e pH determinados, conduzindo à liberação de compostos que podem ser detectados por reações colorimétricas, fluorescência ou luminescência^{4,5}.

O limite de detecção varia entre 0,1% a 0,5% v/v de leite cru adicionado para a maioria dos métodos colorimétricos, podendo-se obter um limite de detecção de 0,006% v/v quando se utiliza o método fluorimétrico^{6,7}.

O método rápido de Scharer visual e espectrofotométrico é um teste colorimétrico clássico para determinação da ALP⁸. O substrato fenilfosfato de sódio, sob ação da enzima, libera fenol. O fenol reage com CQC (2,6-dicloroquinona 4-cloroimida) formando o indofenol, de coloração azul. O composto formado é detectado visualmente ou espectrofotometricamente por comparação com uma curva de calibração de solução de fenol em água^{3,4}.

No método fluorimétrico (Fluorophos[®]), o produto da reação é fluorescente. Trata-se de um método rápido, muito sensível e atualmente, além do método de quimiluminescência (*Charm Test*), é aceito pela Food and Drugs Administration (FDA) para análise da ALP em leite e produtos lácteos. O limite máximo permitido é de 350 miliunidades (mU) de enzima por litro ou quilograma de produto⁹.

Informações sobre a atividade residual da ALP em manteiga e de avaliações da sensibilidade e dos limites de detecção dos métodos analíticos utilizados para avaliação desse produto são escassas. Fato que ocorre principalmente no Brasil, em que a análise da ALP não é um procedimento analítico obrigatório pela legislação vigente para verificação da eficiência da pasteurização do creme usado para a fabricação da manteiga¹⁰. A maioria dos trabalhos internacionais tem como objeto de pesquisa produtos fluidos, como leite integral e desnatado, leite achocolatado e creme de leite com baixo teor de gordura^{6,11-13}.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade do método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico na determinação da atividade residual da ALP em manteiga, comparando-o com o método fluorimétrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Creme cru integral foi obtido no Laticínio Escola da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Após a análise do teor de gordura pelo método butirométrico de Gerber¹⁴, foi realizada a padronização para 40,0% a 41,0% de gordura com água destilada ou leite desnatado. Em seguida, o creme foi submetido ao tratamento térmico de 85 °C, por 30 minutos. Após os 30 minutos, o creme foi imerso em banho de gelo por aproximadamente 30 minutos até que atingisse temperatura inferior a 20 °C e estocado em geladeira por uma noite para que ocorresse a maturação.

Métodos

Fabricação das manteigas em escala laboratorial

O creme padronizado, pasteurizado e maturado foi adicionado de creme cru nas proporções de 0,000%; 0,010%; 0,015%; 0,025%; 0,050% e 0,100% (v/v). Após a mistura homogênea, iniciou a mistura em bateadeira

doméstica da marca Walita, inicialmente na velocidade "1" e, posteriormente, na velocidade "2", até a obtenção da manteiga. O leite foi drenado, a manteiga foi lavada por duas vezes com água gelada, usando-se em cada lavagem o mesmo volume de leite retirado. Foram adicionados 2,0% (m/m) de sal em relação ao peso da manteiga obtida. O produto final foi armazenado em embalagens de polietileno e congelado a -15 °C, até o momento da análise. Foram realizadas 10 fabricações de cada concentração de creme cru utilizada, em dias diferentes e determinada a atividade da ALP no creme cru padronizado.

A determinação da atividade da ALP, no creme cru padronizado usado nas fabricações das manteigas foi realizada em duplicata pelo método fluorimétrico, segundo a metodologia descrita por Rocco³ no Standard Methods for the Examination of Dairy Products. O equipamento Fluorophos[®] e todos os reagentes utilizados no método fluorimétrico são fabricados exclusivamente pela Advanced Instrument.

Em função da alta atividade da enzima no creme cru, foi necessário realizar uma diluição 1:1000 (v/v) do creme em água destilada, antes de submetê-lo à análise fluorimétrica.

A dois mililitros da solução de substrato Fluorophos[®], adicionados em cubetas próprias, previamente estabilizadas em bloco de aquecimento a 38 °C, por no mínimo 20 minutos, transferiu-se uma alíquota de 75,0 µL da amostra diluída preparada. A cubeta, com a amostra e o substrato, foi tampada com filme plástico tipo PVC, agitada rapidamente, seca com papel absorvente e inserida no porta-cubeta do equipamento.

Após o primeiro minuto, necessário para que ocorresse a estabilização da temperatura, a taxa de fluorescência emitida pela amostra por minuto (F/min) foi medida, automaticamente, durante dois minutos. Uma unidade da enzima ALP corresponde à quantidade da enzima que catalisa a transformação de 1,0 µmol de substrato Fluorophos[®], por minuto, por litro de amostra. Os resultados foram expressos em miliunidades da enzima por litro de creme (mU/L), em função das baixas concentrações da enzima encontrada nos produtos finais. O valor obtido foi multiplicado por mil (fator de diluição da amostra).

Determinação da atividade residual da ALP nas manteigas fabricadas

As manteigas fabricadas em cada repetição foram analisadas quanto à atividade da ALP pelo

método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico, e pelo método fluorimétrico (Fluorophos[®]), após 24h a 48h de fabricação, e foram mantidas congeladas até o momento de realização das análises.

Utilizou-se as metodologias descritas por Rocco³ no Standard Methods for the Examination of Dairy Products.

Método rápido de Scharer visual e espectrofotométrico

As amostras congeladas a -15 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) foram pesadas em porções de 0,5 g diretamente nos tubos de ensaio, em triplicata. Pesou-se também 0,5 g do controle negativo, representado pela amostra de manteiga tratada a 95 °C, por 1 minuto. Os tubos foram colocados em banho-maria, a 40 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$), por alguns minutos, até derretimento da manteiga. Adicionou-se, a cada tubo, 5,0 mL de solução substrato de trabalho (fenilfosfato dissódico, 0,1% m/v) – concentração simples. Eles foram agitados e incubados em banho-maria a 40 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por exatamente, 16 minutos, contados a partir do momento em que a temperatura no interior de um tubo controle com substrato atingiu 40 °C. Após a incubação, seguiu-se a remoção dos tubos e a adição de 0,1 mL de solução CQC 0,3% m/v e 0,1 mL de catalisador sulfato de cobre (CuSO₄) 0,2% m/v, sendo novamente incubados por mais cinco minutos a 40 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Após os cinco minutos, procedeu-se a transferência para o banho de gelo, com temperatura máxima de 10 °C por, aproximadamente 15 minutos. Retirou-se, com o auxílio de uma espátula, a fina camada sólida de gordura formada e a fase aquosa de cada tubo foi transferida para tubos limpos e previamente identificados. Adicionou-se 3,0 mL de butanol neutralizado e resfriado a -20 °C. Inverteu-se quatro vezes em meio ciclo, ou seja, inverteu-se o tubo em um segundo e pausou-se mais um segundo (meio ciclo). Esse procedimento foi realizado por quatro vezes. Os tubos foram deixados em repouso por dois minutos e então foram repetidos os passos de inversão (quatro tempos em meio ciclo). Obteve-se, dessa forma, a fase alcoólica contendo o indofenol produzido pela reação do CQC com o fenol originado da hidrólise do substrato pela ação da enzima ALP.

Os tubos permaneceram em repouso por duas horas para que fosse possível a obtenção de uma camada alcoólica límpida (camada superior) e posterior análise visual e espectrofotométrica. Ambas as análises foram realizadas com base na comparação dos tubos

das amostras com uma curva de calibração obtida a partir de soluções de fenol em água nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 µg de fenol equivalente por mL de solução.

A curva de calibração foi avaliada quanto às premissas de linearidade: diagnóstico de *outliers* pelo resíduo de Jackknife; distribuição normal dos resíduos pelo teste Ryan-Joiner; autocorrelação dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson e homocedasticidade pelo teste de Levene modificado por Brown-Forsythe. Após o atendimento das premissas, foi realizada a análise de falta de ajuste do modelo (desvio da linearidade), por análise de variância (ANOVA)^{15,16}.

Análise visual

Comparou-se a coloração dos tubos de cada amostra com o tubo do controle negativo e com os tubos da curva de calibração. As amostras cujos tubos apresentaram coloração azulada, igual ou mais intensa que o tubo da curva de calibração que continha 1,0 µg de fenol/g de amostra ou coloração mais intensa que o tubo do controle negativo foram consideradas positivas para a atividade residual da ALP. Já as amostras que apresentaram coloração (translúcida) igual ao tubo da curva de calibração que continha 0,0 µg de fenol/g de amostra ou igual ao tubo do controle negativo foram consideradas negativas.

Análise espectrofotométrica

Realizou-se a determinação da absorvência da fase alcoólica dos tubos da curva de calibração e das amostras, em espectrofotômetro (Shimadzu, model 1240 UV-Visível) no comprimento de onda de 650nm. Para obtenção das concentrações de fenol em cada amostra analisada, em µg de fenol/g de manteiga, utilizou-se a equação da reta obtida por meio da leitura da curva de calibração e dos valores de absorvência líquida das amostras. Para amostras que tinham um “branco” (controle negativo), como era o caso da manteiga, subtraiu-se a absorvência desse branco da presente na amostra e obteve-se assim a absorvência líquida^{3,4}.

Avaliação da atividade da ALP pelo método fluorimétrico

Para o preparo da amostra de manteiga utilizou-se os procedimentos descritos no manual do equipamento¹⁷. Pesou-se 0,5 g de cada amostra de manteiga em um tubo de ensaio e adicionou-se 5,0 mL da

solução tampão de extração (*Cheese Extraction Buffer*). Os tubos foram agitados e colocados em banho-maria, a 38 °C, por 10 minutos. Cada tubo foi agitado em Vortex na velocidade máxima por exatamente um minuto. Partindo-se da solução aquosa, realizou-se a análise da atividade da ALP no equipamento Fluorophos®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variação da atividade da ALP no creme cru padronizado

As amostras de creme cru usadas na fabricação das manteigas, nas 10 repetições realizadas, foram obtidas durante os meses de maio, junho e julho e apresentaram os valores mínimo, máximo e médio para a atividade da ALP descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade da ALP, determinada pelo método fluorimétrico, no creme cru padronizado utilizado para fabricação das manteigas nas 10 repetições

Valor encontrado	Atividade de ALP (mU/L)
Mínimo	9.872.500
Máximo	28.733.500
Médio	16.644.150
Coefficiente de variação (CV %)	30,08

Em função dessas variações, a quantidade de creme cru adicionada ao creme pasteurizado que correspondia a uma atividade residual da ALP de 350,0 mU/kg (valor limite estipulado pela FDA, utilizando o método fluorimétrico) na manteiga encontrou-se dentro do intervalo de 0,010% a 0,025% (v/v).

Ao estudar a atividade da ALP pelo método fluorimétrico em leite fluido integral na primavera e no verão, Castro¹⁸ encontrou valores de atividade entre 516.800 mU/L e 1.519.800 mU/L. A autora verificou que a adição de 0,025% a 0,050% (v/v) de leite cru ao leite pasteurizado correspondia ao limite de 350,0 mU/L estabelecido pela FDA⁹.

A diferença nos valores encontrados para creme de leite e leite pode ser explicada principalmente pelo fato de haver uma maior concentração da enzima na fração gordurosa dos produtos lácteos. A enzima, apesar de não ser lipossolúvel, encontra-se adsorvida entre os glóbulos de gordura^{7,11}. Logo, a quantidade de creme cru necessária para atingir o limite máximo permitido de atividade residual da ALP é muito inferior que a quantidade de leite cru necessária, sem levar em

consideração fatores como estação do ano, período de lactação, entre outros.

Resultados da atividade residual da ALP nas manteigas pelos métodos rápidos de Scharer, visual e espectrofotométrico e fluorimétrico

As curvas de calibração obtidas a partir de soluções de fenol em água nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 µg de fenol equivalente por mL de solução, apresentaram coeficiente de determinação (r^2) entre 0,9979 e 0,9999.

O modelo atendeu a todas as premissas de linearidade (detecção de *outliers*, distribuição normal dos resíduos, ausência de autocorrelação entre os resíduos e homocedasticidade). Quando avaliada a falta de ajuste do modelo linear simples por ANOVA, o mesmo apresentou regressão significativa e falta de ajuste não significativa (α : 0,05).

Tabela 2. Curvas de calibração utilizadas nas repetições realizadas para avaliação da sensibilidade do método rápido de Scharer visual e espectrofotométrico

Repetição	Curva de calibração	Coefficiente de determinação (r^2)
1	$\hat{y} = 0,0653X + 0,0015$	0,9993
2	$\hat{y} = 0,0634X - 0,0034$	0,9998
3	$\hat{y} = 0,0606X + 0,0061$	0,9979
4	$\hat{y} = 0,0601X + 0,0063$	0,9997
5	$\hat{y} = 0,0657X - 0,0050$	0,9995
6	$\hat{y} = 0,0642X + 0,0081$	0,9995
7	$\hat{y} = 0,0625X + 0,0058$	0,9989
8	$\hat{y} = 0,0641X + 0,0091$	0,9990
9	$\hat{y} = 0,0697X + 0,0035$	0,9999
10	$\hat{y} = 0,0664X + 0,0103$	0,9994

Tabela 3. Análise de variância para o ajuste do modelo linear simples utilizado para cálculo da curva de calibração (µg de fenol/mL de solução) para determinação da atividade de ALP residual em manteiga

FV	GL	SQ	QM	F	Fcritico
Regressão	1	0,64390	0,64390	15785,99737	4,84434
Resíduo	11	0,00045	0,00004		
Falta de ajuste	3	0,00013	0,00004	1,06456	4,06618
Entre níveis	4	0,64402			
Erro puro	8	0,00032	0,00004		
Total	12	0,64434			

Em comparação com o controle negativo (manteiga tratada a 95 °C, por um minuto), foi possível distinguir o resultado positivo a partir da adição de 0,025% de creme cru, sendo que para as concentrações de 0,050% e 0,100% obteve-se resultados positivos em todas as repetições realizadas.

Já em relação ao o tubo 1,0 µg/mL da curva de calibração, apenas 30,0% das amostras contaminadas com 0,025% de creme cru apresentaram resultado positivo, o que indica uma menor sensibilidade quando se utiliza essa forma de comparação.

Soares¹⁹ ao trabalhar com leite fluido e queijo Minas padrão, também encontrou dificuldades na comparação visual da curva de calibração com as amostras analisadas. Queijos tipo mussarela, ricota, Minas frescal e Minas padrão foram analisados por Oliveira et al.²⁰, quanto à atividade residual da ALP, concluindo que a curva de calibração utilizada foi inapropriada para a interpretação visual dos resultados, devido à grande variação nas tonalidades de azul obtida para os diferentes tipos de queijos.

Métodos fluorimétricos^{6,21} utilizam curvas de calibração para cada produto analisado, sendo as concentrações conhecidas do produto de reação adicionadas a uma amostra do produto a ser testado. Já o método rápido de Scharer utiliza uma mesma curva para todos os produtos lácteos, elaborada a partir de soluções de fenol em água. Como os constituintes dos produtos influenciam na tonalidade da coloração obtida, os padrões podem não corresponder a essa variação de tonalidade, o que dificulta a interpretação dos resultados.

No método espectrofotométrico foi possível detectar a presença de atividade da ALP a partir de 0,010% de creme cru, mas só em concentrações acima de 0,050% atingiu-se o limite de 1,0 µg de fenol/g de amostra. Esse limite é citado por Rocco³ como a concentração residual de enzima que indica pasteurização imprópria ou contaminação com matéria-prima não pasteurizada, o que equivaleria a, aproximadamente, 0,10% de contaminação com creme cru. Observou-se que para a manteiga esse valor seria aproximadamente a metade, ou seja, 0,050% de creme cru adicionado ao creme pasteurizado (Tabela 4).

O método de Scharer espectrofotométrico para a análise de manteiga apresentou linearidade de resposta para as adições de creme cru (v/v) utilizadas. Ao relacionar a porcentagem de creme cru adicionado

Tabela 4. Comparação dos resultados obtidos pelo método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico e fluorimétrico nas 10 repetições realizadas

Creme cru % (v/v)	Scharer Visual (Resultado Positivo)		Espectrofotométrico (µg de fenol/g)	Fluorimétrico (mU/Kg)
	CN*	Padrão** (1,0 µg/mL)	Valores médios	Valores médios
0,000	0 (0%)	0 (0%)	-0,06 + 0,10	ND***
0,010	0 (0%)	0 (0%)	0,08 + 0,12	ND***
0,015	1 (10%)	1 (10%)	0,19 + 0,16	348,9 +/- 83,4
0,025	8 (80%)	3 (30%)	0,33 + 0,23	544,1 +/- 89,3
0,050	10 (100%)	10 (100%)	0,83 + 0,38	1.144,7 +/- 331,2
0,100	10 (100%)	10 (100%)	1,72 + 0,62	ND***

*comparando os tubos com a coloração obtida no Controle Negativo (CN)

**comparando com o tubo da curva padrão que contém 1,0 µg de fenol equivalente/mL

*** ND = não determinado

(v/v) e a quantidade de µg de fenol/g de amostra, obteve-se a equação: $\hat{y} = 18,044X - 0,0865$ e coeficiente de determinação (r^2) igual a 0,9989. O coeficiente de correlação encontrado foi de 0,9995, o que implica em forte relação entre a quantidade de creme cru adicionada e a atividade residual da ALP em manteiga.

Em cada repetição, analisou-se, pelo método fluorimétrico, a manteiga com menor concentração de creme cru adicionado que apresentava resultado visual positivo pelo método rápido de Scharer e a de maior concentração que apresentava resultado visual negativo. Com essas análises, pretendeu-se estabelecer a comparação da sensibilidade e do limite de detecção do método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico, com o método fluorimétrico.

Ao comparar os três métodos utilizados e ao adotar como parâmetro o valor de atividade de ALP estabelecido atualmente pela FDA de 350,0 mU/kg, pelo método fluorimétrico, pode-se concluir que o método rápido de Scharer visual não foi sensível o suficiente para detectar esse valor e sim apenas valores para a enzima, em média, superiores a mil mU/kg de manteiga. No entanto, para a manteiga, esse método foi mais sensível do que para leite fluido, como indicam os trabalhos de Castro¹⁸, que apenas detectou a presença de ALP pelo método visual com a adição de no mínimo 1,0% de leite cru ao pasteurizado, o que correspondia a uma atividade próxima a 8 mil mU/L de leite.

Ao analisar o queijo Minas padrão pelo mesmo método, Soares¹⁹ concluiu que somente a partir de concentrações de 0,50% de leite cru era possível detectar

resultados positivos nas amostras de queijo pelo método visual, o que evidencia a maior sensibilidade do método rápido de Scharer visual para manteiga, em relação aos outros dois produtos estudados.

A maior sensibilidade do método visual para manteiga pode ser associada principalmente à maior atividade da ALP no creme do que no leite e, também possivelmente por características intrínsecas do produto, o que possibilita a melhor visualização da coloração azul na manteiga do que em amostras de leite e de queijo.

Uma atividade da ALP de aproximadamente 350,0 mU/kg de manteiga correspondeu, em média a 0,19 µg de fenol/g de amostra, pelo método espectrofotométrico. Esse valor foi relacionado a quantidades adicionadas de creme cru que variaram entre 0,010 a 0,025% (v/v), sendo que na maioria das repetições este valor foi igual a 0,015% (v/v).

A relação encontrada entre a porcentagem de creme cru adicionada e a atividade residual da ALP na manteiga, torna evidente o fato de que o limite de 1,0 µg de fenol/g de amostra estabelecido para este método corresponde a valores muito superiores ao limite de 350,0 mU/kg. No caso da manteiga, 0,050% de contaminação com creme cru corresponderam a valores médios de 1.144,0 mU/kg. Logo esse limite residual da atividade da ALP deve ser revisto e determinado para cada produto lácteo individualmente, de forma que para todos eles o limite estabelecido seja equivalente ao valor máximo de 350,0 mU/kg pelo método fluorimétrico.

Entre os métodos utilizados, o fluorimétrico é o mais rápido, apresenta alta especificidade para atividade

da ALP, alta sensibilidade, baixo limite de detecção, quantificação automática da atividade da enzima e registro impresso. No entanto, apresenta a desvantagem de possuir alto custo por análise, pois todos eles são importados e fornecidos unicamente pela Advanced Instruments, detentora da patente do método.

O método rápido de Scharer, visual e espectrofotométrico apresentou, para análise de manteiga, algumas limitações. Observou-se a dificuldade de se comparar a coloração das amostras com a coloração da curva de calibração, em função das diferenças na tonalidade da coloração azul. Era constante a ocorrência de contaminações pela presença de fenol livre nas vidrarias utilizadas e instabilidade dos reagentes preparados, o que demonstra a inespecificidade do método.

Problemas semelhantes foram citados por Soares¹⁹. A autora explicitou a necessidade do uso de 30 mL de butanol para garantir que todo fenol livre fosse retirado da solução de substrato, o que foi confirmado no presente trabalho. O método oficial determina o uso de apenas 3 mL para realização dessa extração.

No decorrer das análises observou-se que a forma e a velocidade de inversão dos tubos da curva de calibração para extração do indofenol interferiam diretamente nos resultados. Essa etapa do procedimento analítico não é muito bem detalhada na metodologia, que cita apenas que os tubos devem ser invertidos por seis voltas completas. Essa subjetividade dá margem à ocorrência das variações acima citadas e podem comprometer assim os resultados do trabalho desenvolvido.

CONCLUSÃO

O método rápido de Scharer visual possui limite de detecção superior ao correspondente a 350,0 mU/kg, portanto não apresentou sensibilidade satisfatória para determinação visual da ALP em manteiga.

O método espectrofotométrico foi mais sensível que o visual, e foi capaz de detectar a atividade da ALP na manteiga correspondente a atividade de 350,0 mU/kg, porém, observa-se a necessidade de implementar modificações na metodologia, além de determinar um novo limite, pois a quantidade de fenol correspondente ao limite do método fluorimétrico é bem inferior ao limite de 1,0 µg de fenol/g de amostra estipulado para essa análise.

Apesar dos problemas expostos, o método rápido de Scharer é bastante difundido, de preço mais acessível e possível de ser utilizado nos laboratórios, como análise de rotina para atividade da ALP. Desde que tomados, é claro, os devidos cuidados em sua realização e que sejam realizadas modificações no intuito de garantir uma sensibilidade condizente como método fluorimétrico e a confiabilidade dos resultados encontrados.

REFERÊNCIAS

1. Walstra P, Geurts TJ, Noomen A, Jellema A, Boekel MAJS. Chapter 2: Milk Components in Dairy Technology – Principles of milk properties and processes. New York – USA. 1999; p. 91-98
2. Karmas R, Kleyn DH. Determination and interpretation of alkaline phosphatase activity in experimental and commercial butters. *J Dairy Sci*. 1990;73(3):584-9.
3. Rocco RM, Fitts J. Chapter 14: Alkaline Phosphatase Methods. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association. Edited by H. Michael Wehr and Joseph F. Frank. 17th Edition, NW Washington, 2004; p. 341-62.
4. Murthy GK, Kleyn DH, Richardson T, Rocco RM. Chapter 14: Alkaline Phosphatase Methods. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association. Edited by Robert T. Marshall. 16th Edition, NW Washington, DC. 1992; p. 412-30.
5. Fox PF, Kelly AL. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects - part 2. *Int Dairy J*. 2006;16:517-32.
6. Rocco RM. Fluorimetric analysis of alkaline phosphatase in fluid dairy products. *J Food Prot*. 1990; 53(7):588-91.
7. Claeys WL, Loey AM, Hendrickx ME. Intrinsic time temperature integrators for heat treatment of milk. *Trends Food Sci Technol*. 2002; 13:293-311.
8. Cornell University – College of Agriculture and Life Sciences. Alkaline phosphatase testing for milk pasteurization. Dairy Science Facts. Department of Food Sciences. Stocking Hall, Ithaca, NY 14853; 1998.
9. Food and Drug Administration - CFSAN/Office of Compliance. Grade “A” Pasteurized Milk Ordinance. Public health service publication (2003 Revision). Center for Food Safety & Applied Nutrition. Washington. DC; 2003. 340 p.
10. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Estabelece os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 11 mar. 1996. Seção 1.
11. Painter CJ. Residual alkaline phosphatase activity in milks subjected to various time/temperature treatments. Thesis [master of science]. Madison (WI): University of Wisconsin-Madison; 1995.
12. Angelino PD, Christen GL, Penfield MP, Beattie S. Residual alkaline phosphatase activity in pasteurized milk heated at various temperatures - measurement with the Fluorophos and Scharer rapid phosphatase tests. *J Food Prot*. 1999;62(1):81-5.

13. Rampling AM, Greenwood MH, Davies GEN. Use of a fluorimetric test for a bovine alkaline phosphatase to demonstrate under-pasteurization of skimmed milk and cream. *Int Dairy J*. 2004;14:691-5.
14. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 14 dez. 2006. Seção 1. p. 8.
15. Pimentel MF, Neto BB. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Rev Quim Nova*. 1996;19(3):268-77.
16. Souza, SVC. Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade em análises de alimentos [tese de doutorado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG; 2007.
17. Advanced Instruments. The advanced® fluorometer – user's manual. Advanced Instruments Inc. Dairy and Food Technology Division, Needham Heights, Massachusetts; 1992.
18. Castro PRS. Modificação do método de Scharer para determinação da atividade de fosfatase alcalina em leite [dissertação de mestrado]. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa - UFV; 2005.
19. Soares CF. Avaliação de métodos colorimétricos qualitativos e quantitativos para a determinação de atividade de fosfatase alcalina em leite e queijo Minas padrão [dissertação de mestrado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); 2003.
20. Oliveira AMG, Neves VJ, Boaventura RL, Pires LL, Lima LL. Análises de fosfatase alcalina residual em queijos inspecionados pelo Estado de Minas Gerais. XXII Congresso Nacional de Laticínios; Juiz de Fora (MG), julho de 2005; p. 427-430 [anais de congresso].
21. Fenoll J, Jourquin G, Kauffmann JM. Fluorimetric determination of alkaline phosphatase in solid and fluid dairy products. *Talanta*. 2002; 56:1021-6.

Teores de iodo em sal fortificado para o consumo humano

Iodine contents in fortified salt for human consumption

RIALA6/1384

Sabrina Maria dos SANTOS, Elaine Marra de Azevedo MAZON, Valéria Pereira da Silva FREITAS*

*Endereço para correspondência: Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional III, Instituto Adolfo Lutz, Rua São Carlos, 720, Vila Industrial, Campinas, SP, Brasil. CEP: 13035-420, tel: 19 3272-7977, e-mail: vpsfreitas@ial.sp.gov.br

Recebido: 18.04.2011 - Aceito para publicação: 23.08.2011

RESUMO

No Brasil, como em muitos países, é obrigatória a fortificação de sal de cozinha com iodo a fim de evitar graves distúrbios de saúde causados pela deficiência de iodo no organismo. A Resolução RDC nº 130 (26/5/2003) estabelece que o sal adequado para o consumo humano deve conter entre 20 e 60 miligramas de iodo para cada quilograma de produto. Distúrbios de deficiência de iodo (DDI) podem ser causados pela carência ou pelo excesso de iodo. Neste trabalho foram avaliados os teores de iodo em 31 amostras de sal coletadas em estabelecimentos comerciais da região de Campinas-SP. A determinação do teor de iodo foi efetuada em triplicata aplicando-se a titulação iodométrica no Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Campinas III. Do total de amostras, 10% estavam não conformes com a legislação vigente. No entanto, foi observada melhora gradativa no procedimento de iodação do sal no período estudado, uma vez que houve diminuição da porcentagem de amostras não conformes em relação aos dados anteriores: 20% em 2008; 11% em 2009 e 0% em 2010. A variação dos teores de iodo nas amostras de sal foi evidenciada em produtos de mesma marca e de lotes diferentes.

Palavras-chave. iodo, bócio endêmico, sal iodado, deficiência e excesso de iodo.

ABSTRACT

In Brazil, as in many countries, it is mandatory the fortification of salt with iodine in order to avoid severe health disorders caused by iodine deficiency in the body. Resolution RDC N° 130 of 26/5/2003 rules that the salt suitable for human consumption should contain from 20 to 60 milligrams of iodine per kilogram of product. The iodine deficiency disorders (IDD) may be caused by both lack and excess of iodine. This study evaluated iodine contents in 31 salt samples collected from market in the region of Campinas. The iodine determination was performed in triplicate by means of iodometric titration at the Centro de Laboratório Regional - Instituto Adolfo Lutz, Campinas III. Of the total samples, 10% of them were non compliant with the legislation in force. A gradual improvement in the procedure for salt iodination was found during the study period, since a progressive decrease in the percentage of non-compliant samples has been lately observed: 20% in 2008, 11% in 2009 and 0% in 2010. Iodine contents variations in salt sample occurred in products from the same brand and different lots.

Keywords. iodine, endemic goiter, iodized salt, iodine deficiency and excess.

INTRODUÇÃO

O iodo é um elemento químico necessário para a saúde humana, importante para o desenvolvimento físico e mental. A sua deficiência pode causar problemas graves à saúde, pois é um nutriente essencial na síntese dos hormônios da tireoide, que regulam o funcionamento do organismo. Esse microelemento pode ser encontrado no sal de cozinha iodado, em alimentos do mar, como algas, peixes, ostras e mariscos, além de verduras, legumes e frutas cultivados em regiões litorâneas¹.

O risco da ausência de iodo na dieta alimentar começa na gestação. Durante a gravidez, a carência pode causar abortos, má formação do feto, nascimento prematuro, entre outros. Se a deficiência ocorrer nas primeiras fases do desenvolvimento, a criança poderá ter funções psicomotoras comprometidas e redução da capacidade de concentração e aprendizado. Já na idade adulta, a deficiência de iodo pode provocar formação do bócio, que é o aumento da glândula tireoide. Outra doença que ocorre pela deficiência de iodo é o cretinismo endêmico, uma síndrome neurológica e endócrina que conduz o indivíduo a um quadro severo de retardamento mental e surdo-mudez².

Diante dos problemas citados, observa-se que a deficiência de iodo contribui para o aumento do gasto com atendimento em saúde e educação, uma vez que incrementa as taxas de repetência e evasão escolar e ainda proporciona a redução da capacidade para o trabalho. Portanto, direta ou indiretamente acarreta prejuízos sócio-econômicos ao país. Estratégias dirigidas para o controle da deficiência de iodo devem ser permanentes e preventivas, especialmente às gestantes, nutrízes e crianças menores de dois anos de idade³.

O Brasil adotou desde a década de 1950 a iodação do sal como estratégia para reduzir a prevalência do bócio endêmico e eliminar o cretinismo⁴.

Atualmente o *Pró-Iodo* é o programa nacional coordenado pelo Ministério da Saúde (MS), em parceria com outros órgãos e entidades para a prevenção e controle dos distúrbios por deficiência de iodo. Ele tem como objetivo a eliminação virtual sustentável dos Distúrbios por Deficiência de Iodo (DDI), bem como realizar o monitoramento para verificar se a iodação do sal está sendo realizada de forma segura e sob rigoroso controle e, além disso, avaliar se o sal oferecido à população fornece a quantidade necessária de iodo para prevenir e controlar os DDI sem risco de ocorrência de doenças associadas ao consumo excessivo desse micronutriente³.

O sal de cozinha, conhecido como sal “comum”, foi escolhido para a fortificação do iodo por ser de fundamental importância para a saúde humana, não apenas por ser utilizado de maneira universal no preparo e na industrialização dos alimentos, mas também devido à sua característica de ser ingerido regularmente em pequenas quantidades, o que o torna veículo ideal para o consumo de iodo. Anualmente os brasileiros consomem aproximadamente um milhão de toneladas de sal. Além disso, é o alimento no qual o nutriente pode ser adicionado por meio de tecnologia simples e de baixo custo e é consumido por milhões de brasileiros⁵.

A legislação em vigor para a iodação do sal de cozinha é a Resolução RDC nº 130, de 26/5/2003. Ela estabelece que o sal adequado para o consumo humano deve conter entre 20 e 60 miligramas de iodo para cada quilograma de produto⁶.

Considerando-se o impacto do consumo do sal sobre a saúde pública, é importante monitorar periodicamente a qualidade do sal de cozinha disponível para a população.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de iodo no sal de cozinha em diferentes marcas comercializadas na região de Campinas (SP), no período de 2008 a 2010, considerando a adequação da legislação brasileira, quanto ao estabelecimento do intervalo de limites de iodo adicionado ao sal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 31 amostras de sal de cozinha, sendo 5, 19 e 7 nos anos de 2008, 2009 e 2010, respectivamente. Os produtos eram de lotes distintos e marcas nacionais, procedentes de estabelecimentos comerciais dos municípios da região de Campinas (SP).

A determinação do teor de iodo foi efetuada em triplicata no Centro de Laboratório Regional Campinas III – Instituto Adolfo Lutz.

A metodologia analítica utilizada, titulação iodométrica, está descrita no livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁷ e fundamenta-se na geração de iodo em presença de iodeto de potássio (KI), em meio ácido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos revelaram uma tendência de conformidade no sal disponível no mercado da região de Campinas/SP. No entanto a não conformidade em três

Tabela 1. Resultados do teor de iodo nas diversas marcas de sal

Ano	Marcas	Teor de Iodo mg/kg*	CV%**	Resultados
2008	D	19,45 ± 0,03	0,15	Não Conforme
2008	B	27,28 ± 0,98	3,59	Conforme
2008	C	31,48 ± 0,02	0,06	Conforme
2008	A	46,60 ± 0,22	0,47	Conforme
2008	A	47,82 ± 0,28	0,59	Conforme
2009	O	18,17 ± 0,81	4,46	Não Conforme
2009	N	18,26 ± 1,11	6,08	Não Conforme
2009	N	37,01 ± 0,02	0,05	Conforme
2009	I	20,37 ± 0,48	2,36	Conforme
2009	G	20,99 ± 0,35	1,67	Conforme
2009	F	21,38 ± 0,52	2,43	Conforme
2009	F	32,23 ± 0,26	0,81	Conforme
2009	J	21,97 ± 0,35	1,59	Conforme
2009	T	27,51 ± 0,45	1,64	Conforme
2009	E	28,43 ± 0,30	1,06	Conforme
2009	Q	30,02 ± 1,53	5,10	Conforme
2009	D	30,14 ± 0,20	0,66	Conforme
2009	L	30,46 ± 0,21	0,69	Conforme
2009	P	30,64 ± 0,31	1,01	Conforme
2009	P	34,66 ± 0,02	0,06	Conforme
2009	I	20,34 ± 0,48	2,36	Conforme
2009	G	21,04 ± 0,35	1,66	Conforme
2009	R	32,91 ± 2,28	6,93	Conforme
2009	S	34,12 ± 0,90	2,64	Conforme
2010	V	22,44 ± 0,49	2,18	Conforme
2010	I	25,92 ± 0,54	2,08	Conforme
2010	U	29,54 ± 1,53	5,18	Conforme
2010	T	31,21 ± 0,51	1,63	Conforme
2010	V	33,90 ± 0,02	0,06	Conforme
2010	P	36,10 ± 0,02	0,06	Conforme
2010	B	40,14 ± 0,81	2,02	Conforme

Limites: Mínimo 20mg/kg e Máximo 60mg/kg (Resolução RDC 130, de 26/05/2003, ANVISA).

*Determinação em triplicata: média ± desvio padrão

**Coeficiente de Variação

(10%) amostras que apresentaram teor de iodo inferior ao estabelecido pela legislação vigente (< 20 mg/kg), mostrada na Tabela 1, é considerada grave, pois a adição de iodo dentro dos padrões estabelecidos é necessária para prevenir e combater as doenças relacionadas à deficiência desse elemento⁸.

Desde o estabelecimento da obrigatoriedade de adição de iodo no sal na década de 1950, observa-se uma significativa redução nas prevalências de bócio (20,7% em 1955, 14,1% em 1974, 1,3% em 1984 e 1,4% em 2000)^{9,10}. Embora existam avanços no controle dos DDI no Brasil, há necessidade de ações efetivas e intermitentes

de prevenção e controle, visto que o monitoramento constante da deficiência de iodo, bem como a determinação da concentração desse micronutriente adicionado ao sal são programas fundamentais para evitar a reincidência desse problema.

Os resultados ilustrados na Tabela 1 mostram diferenças expressivas do teor de iodo entre as distintas marcas estudadas. Das 21 marcas, 43% “A”; “B”; “D”; “F”; “I”; “N”; “P”; “T” e “V” puderam ser avaliadas mais que uma vez, sendo amostras de lotes diferentes. As amostras não conformes, todas com teores de iodo abaixo do estabelecido (< 20 mg/kg), representaram três (14%) das marcas estudadas, “O”, “N” e “D”; sendo que as marcas “N” e “D” quando analisadas posteriormente mostraram resultados satisfatórios, 37,0 e 30,1 mgI/kg, respectivamente.

A marca “P”, única avaliada três vezes (30,6 mg/kg, 34,7 mg/kg e 36,1 mg/kg) e as marcas “A” (46,0 mg/kg e 47,8 mg/kg), “I” (20,3 mg/kg e 25,9 mg/kg) e “T” (27,5 mg/kg e 31,2 mg/kg) mostraram resultados similares mesmo em lotes diferentes, indicando eficiência no processo de iodação.

A variação dos valores encontrados nas amostras de sal de mesma marca “B”; “D”; “F”; “N” e “V” podem advir da falta de padronização no processo de iodação ou da dificuldade da homogeneização do iodo no sal. A maioria das empresas adiciona o iodo na forma de gotejamento, o que pode ocorrer variabilidade, ressalta-se que o sal mais úmido absorve melhor o produto químico e que, após a secagem, poderá apresentar variação na dosagem³.

Embora a legislação vigente recomende a adição de iodo na faixa de 20 mg/kg a 60 mg/kg, estudos recentes no Brasil alertam para o excesso de iodo na população jovem. Esse fato pode estar relacionado à ingestão de quantidades elevadas de alimentos industrializados, que apresentam altos teores de sal iodado¹¹.

Duarte et al.¹² concluíram que a população escolar do Estado de São Paulo apresentava excessiva ingestão diária de iodo, quando avaliaram 844 escolares entre 6 e 14 anos e encontraram em 1,6% presença de bócio. Além disso, observaram demasiada excreção urinária de iodo em 53% da população estudada. As amostras de sal doméstico apresentavam valores entre 28,1 mgI/kg e 63,3 mgI/kg de sal.

Outro estudo epidemiológico constatou um aumento do número de casos de tireoidite crônica auto-imune, em função do consumo excessivo de iodo contido no sal de cozinha. Os resultados comprovaram que 19,5% das pessoas estudadas, tinham tireoidite

de Hashimoto. Esse estudo levantou a hipótese da população brasileira estar ingerindo mais sal do que inicialmente se pensava¹³.

O consumo de sal em excesso pela população em geral, pode induzir alterações da função tireóidea, como hipertireoidismo subclínico em idosos e tireoidite crônica auto-imune na população adulta, em geral¹³.

Segundo pesquisa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o consumo médio diário de sal no Brasil é de 10 g/dia. Entretanto a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda no máximo 5 g/dia (1 colher rasa de chá por pessoa). Isso significa que a população deve reduzir pela metade a ingestão de sal. Essa quantidade é suficiente para atender às necessidades de iodo de um indivíduo saudável¹⁴.

A recomendação estabelecida pela OMS para os países com média de consumo de sal em torno de 10 g/dia é na faixa de 20 mg/kg a 40 mg/kg de fortificação pelo iodo. Esse ajuste deve ser realizado com base nos dados de ingestão do sal e na média de concentração de iodo urinário encontrados em cada país⁸. Considerando o excessivo consumo de sal e conseqüentemente de iodo, alguns países como Guatemala, Panamá e Chile têm ajustado os teores desse micronutriente no sal comercializado, instituindo a faixa de 20 mgI/kg a 60 mgI/kg. Já o México estabelece a faixa entre 20 mgI/kg a 40 mgI/kg⁸.

Os dados deste trabalho demonstram que apenas 13% das amostras “H”, “A”, “A” e “M” possuem teor de iodo entre 40 mg/kg e 60 mg/kg. Do ponto de vista do estudo, esses resultados vêm reforçar pela necessidade de revisão na faixa da legislação brasileira, ajustando o teor de iodo adicionado ao sal conforme a tendência utilizada pelas indústrias, pois 23 (74%) das amostras encontravam-se entre 20 mgI/kg e 40 mgI/kg,

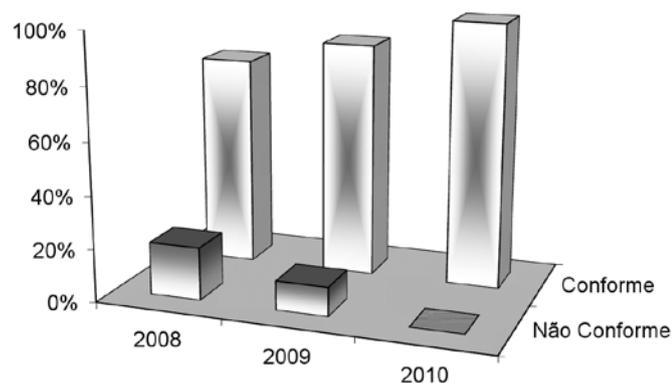


Figura 1. Perfil de condenação da concentração de iodo nas amostras de sal para consumo humano entre 2008 e 2010

intervalo de concentração mais adequado, quando se considera a quantidade excessiva de sal consumida pela população brasileira.

A Figura 1 demonstra que a iodação do sal melhorou, embora 10% das amostras estavam com o teor de iodo abaixo do estabelecido (Tabela 1). Foi observado que uma maior porcentagem, 20% delas, estava não conforme no ano de 2008. Já no ano de 2009 diminuíram para 11% e no ano de 2010, todas as amostras estavam de acordo com a legislação. Tal fato confirma a evidência do valor atribuído às atitudes governamentais.

Programas de monitoramentos contínuos devem existir, pois contribuem para a adequação legal do produto, o que traz benefícios à população e para a saúde pública em geral, facilitando para que as autoridades governamentais tenham subsídios para adequar à legislação e concentrar esforços na prevenção e controle das DDI.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que 10% das amostras estavam não conformes em relação à legislação vigente e que amostras de sal, de mesma marca e de lotes diferentes, apresentaram variação dos teores de iodo, o que pode ser uma falha da indústria produtora no processo de iodação do sal. No entanto, no período estudado, foi observada uma melhora gradativa no procedimento de fortificação de iodo no sal, pois houve diminuição da porcentagem de amostras não conformes: 20% em 2008, 11% em 2009 e 0% em 2010.

Os dados do trabalho indicam, junto com as pesquisas das vigilâncias sanitárias de vários Estados, que a política de saúde do Ministério da Saúde para a iodação do sal vem sendo implantada adequadamente.

Em face da importância do sal na preparação de alimentos e dos riscos à saúde da população causados tanto pela deficiência como pelo excesso de iodo, torna-se necessário o controle permanente de qualidade para averiguar a adequação aos critérios da legislação vigente.

REFERÊNCIAS

1. Franco G. Tabela de composição química dos alimentos. 9ª ed. São Paulo (SP): Editora Atheneu; 2001.
2. Mahan LK, Escott-Estump S. Krause alimentos, nutrição e dietoterapia. 10ª ed. São Paulo (SP): Roca; 2002.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual Técnico e Operacional do Pró-Iodo: Programa Nacional para a Prevenção e Controle dos Distúrbios por Deficiência de Iodo; 2008. 20 p.

4. Ferreira AB, Lanfer-Marquez UM. Legislação brasileira referente à rotulagem nutricional de alimentos. *Rev Nutrição*. 2007;20(1):83-93.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Programa nacional garante qualidade do sal consumido no país. *Rev Saúde Pública*. 2004;38(4):611-2.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 130, de 26 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [acesso 2010 Out 5]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/130_03rdc.htm].
7. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo – Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. [1ª ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Unicef. Cadernos de Atenção Básica: Carências de Micronutrientes. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2007.
9. Santos LMP. Bibliografia sobre deficiência de micronutrientes no Brasil 1990 – 2000 – Iodo e Bócio endêmico. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde; 2002. [acesso 2010 Out 24]. Disponível em: [http://www.opas.org.br/sistema/arquivos/pes_vol3.pdf].
10. Corrêa Filho HR, Vieira JBF, Silva YSP, Coelho GE, Cavalcante FAC, Pereira MPL. Inquérito sobre a prevalência de bócio endêmico no Brasil em escolares de 6 a 14 anos: 1994 a 1996. *Rev Panam Salud Publica* [online]. 2002;12(5):317-26.
11. Pereira A. Sal em excesso. *Rev Pesq FAPESP*, São Paulo, 2005. [acesso 2010 Out 25]. Disponível em: [<http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=2671&bd=1&pg=1&lg=>].
12. Duarte C, Tomimori EK, Boriolli RA, Ferreira JE, Catarino RM, Camargo RYA et al. Avaliação ultra-sonográfica da tireoide e determinação da iodúria em escolares de diferentes regiões do Estado de São Paulo. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. 2004;48(6):842-8.
13. Assessoria de Imprensa da Faculdade de Medicina da USP. Excesso de iodo nutricional provoca aumento de casos de doenças na tireoide. Agência USP de Notícias. São Paulo; out. 2005. [acesso 2010 Out 26]. Disponível em: [<http://www.usp.br/agenciausp>].
14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. [acesso 26 Out 2010]. Disponível em: [<http://nutricao.saude.gov.br/publi.php>].

O comércio e a segurança do acarajé e complementos: um estudo com vendedores treinados em boas práticas

Trading and safety of *acarajé* and its complements: a study with sellers trained on good practices

RIALA6/1385

Henrique Reis SERENO^{1*}, Ryzia de Cássia Vieira CARDOSO², Alaíse Gil GUIMARÃES³

*Endereço para correspondência: ¹ Departamento de Agroindústria, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Estrada de Igara, Km 4, CEP: 48970-000 - Senhor do Bonfim, BA, e-mail: henriquesereno@gmail.com

² Departamento de Ciências dos Alimentos, Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia - UFBA

³ Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia - UFBA

Recebido: 03.05.2011 - Aceito para publicação: 09.09.2011

RESUMO

Este trabalho caracterizou o comércio e a segurança do acarajé, uma das mais tradicionais preparações brasileiras. O estudo foi realizado entrevistando-se 30 vendedores e efetuando-se coleta de 30 amostras individuais de acarajé e seus complementos - vatapá, salada e camarão, que foram submetidas às seguintes análises: contagem de estafilococos coagulase positiva e de *Bacillus cereus*, pesquisa de *Salmonella* spp e clostrídios sulfito redutores e Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes/identificação de *Escherichia coli*. Confirmou-se a tradição das mulheres (86,7%) no comércio de acarajé e a relevância econômica dessa atividade. Para maior parte dos entrevistados (60%), a participação em treinamentos decorreu da necessidade de obter novos conhecimentos e de aplicar melhores práticas de higiene, contudo, verificou-se descontinuidade nessa formação. Entre as amostras analisadas, a prevalência global de resultados não conformes com os padrões microbiológicos foi de 45,8%. Entre os vendedores, apenas um (3,3%) apresentou todas as amostras em conformidade. A qualidade microbiológica do acarajé e complementos revelou ser um problema de saúde pública, o que indica a necessidade de formação contínua desses manipuladores.

Palavras-chave. acarajé, boas práticas de produção, segurança de alimentos, comida de rua.

ABSTRACT

This study aimed at characterizing the trading and safety of *acarajé*, which is one of the most traditional Brazilian food. The investigation was conducted by interviewing 30 vendors and collecting 30 individual samples of *acarajé* and its complements *vatapá*, salad and shrimp, which were analyzed on coagulase-positive *staphylococci* and *Bacillus cereus* counting, detection of *Salmonella* spp and sulphite-reducing clostridia and the most probable number of fecal coliform/*Escherichia coli* identification. It was confirmed the tradition of women (86.7%) in this business and its economic relevance. For the majority (60%) of interviewees, the participation in training was done due to the necessity in getting new knowledges and to learn how to apply them to improved the hygiene practices; unfortunately, this technical training was discontinued. Among the analyzed samples, the prevalence of non-compliant results with microbiological standards was 45.8%. Of 30 *acarajé* sellers, only one (3.3%) provided all samples in compliance with the regulation. It was shown that the microbiological quality of *acarajé* and the respective complements has been a public health problem, indicating the relevance of continuous training for these food handlers.

Keywords. "acarajé", good manufacturing practices, food safety, street food, health surveillance.

INTRODUÇÃO

Nos países em desenvolvimento, a venda de comida de rua é comum, tendo em vista a geração de trabalho e renda e, ao mesmo tempo, a oferta de alimentos de baixo custo, em locais de fácil acesso. No entanto, a falta de infra-estrutura básica, de conhecimentos de boas práticas higiênicas, de água potável e até mesmo de condições de armazenamento contribuem para a baixa qualidade microbiológica dos alimentos fornecidos^{1,2}.

No Brasil, pesquisas e o registro oficial de surtos têm reportado riscos sanitários associados aos alimentos comercializados nas ruas, em decorrência de apresentarem níveis elevados de contaminação por micro-organismos patogênicos e parasitas³⁻⁸.

Em Salvador, Estado da Bahia, a comida de rua constitui um dos principais segmentos do comércio informal de alimentos, sendo marcante a influência da culinária africana nos produtos comercializados. Entre esses, destaca-se o acarajé, um bolinho elaborado com massa de feijão fradinho (*Vigna unguiculata*) moído, batida com cebola ralada, água e sal, com posterior fritura em azeite de dendê. A iguaria é comercializada em tabuleiros nas ruas da cidade desde o início do século XVIII, sendo servida com complementos - vatapá, caruru, salada, pimenta e camarão defumado^{9,10}.

Na atualidade, o comércio dessa iguaria se mantém como tradição e parte da cultura alimentar, fato que resultou, em 2000, no seu tombamento pelo *Programa Nacional do Patrimônio Imaterial (PNPI)*, instituído pelo Decreto nº 3.551, de 4 de agosto de 2000¹¹.

Na perspectiva gastronômica, o acarajé constitui um dos mais importantes símbolos da cultura da Bahia, sendo consumido por baianos e turistas, que ficam encantados com o sabor, o aroma, a cor, a textura e a forma descontraindo de saborear esse bolinho, que é frito na hora e consumido nas ruas e praias de Salvador⁹. Muito apreciado, o acarajé é vendido em toda a cidade, disposto em tabuleiros, situados próximos a pontos comerciais, esquinas, *shoppings centers*, praias, entre outros¹².

A atividade dos vendedores deste produto, denominada ofício de Baiana de Acarajé está inscrita no *Livro de Registros e Saberes, das Celebrações, das Formas de Expressão e dos Lugares*¹³ e foi regulamentada pelo Decreto Municipal nº 12.175/1998¹⁴, que indica, inclusive, a padronização de indumentária e tabuleiro, zelando principalmente pela higiene na preparação e no manuseio do alimento.

No entanto, na última década, preocupações quanto à inocuidade do acarajé têm emergido no âmbito local e nacional, em virtude de evidências de contaminações microbiológicas, com riscos para os consumidores, o que tem mobilizado a Associação das Baianas de Acarajé e Mingau (ABAM) e as autoridades públicas, com vistas à adoção de medidas de qualificação para o segmento^{15,16}.

Dado o valor histórico do acarajé e o seu amplo consumo, o presente trabalho objetivou caracterizar este comércio na perspectiva social, econômica e sanitária, com um recorte específico para baianas treinadas em Boas Práticas de Produção (BPP), de modo a verificar a contribuição dessa formação para a segurança dos produtos e orientar intervenções futuras que possam promover a inocuidade da iguaria.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização do estudo

Trata-se de um estudo transversal e descritivo, conduzido junto ao segmento de comércio de acarajé de Salvador (BA), no período de outubro de 2007 a março de 2009, que contou com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira/Universidade Federal da Bahia (UFBA) (Parecer nº 22/2006).

Locais de investigação e formação da amostra de vendedores e de alimentos

Dos doze Distritos Sanitários (DS) existentes na cidade, cinco foram sorteados para fins da pesquisa. Em cada DS, os locais de coleta de informações e de amostras compreenderam as regiões caracterizadas pelo comércio intenso e grande fluxo de pessoas, em que se concentravam os vendedores.

Tendo em vista a ausência de informações ou dados que permitissem a adoção de critérios probabilísticos de amostragem, foi utilizado um modelo de amostragem itinerante¹⁷, com delineamento em conglomerados em que os distritos sanitários constituíram o primeiro nível de seleção, os vendedores o segundo e as amostras de acarajé e seus complementos o terceiro nível. Nesse desenho, foram entrevistados vendedores e obtidas amostras de acarajé e seus complementos em 30 pontos de venda, distribuídos igualmente nos cinco distritos sanitários da cidade de Salvador (BA).

Coleta de informações e formulário

Para caracterização econômica, social e sanitária do comércio de acarajé utilizou-se um questionário semi-estruturado, pré-testado. O instrumento apresentava 56 questões e descrevia organização em blocos, por focos de observação, contemplando: características do ponto de venda; características socioeconômicas do vendedor; perfil, aquisição e armazenamento dos alimentos; características higiênicas e sanitárias da atividade, questões de percepção e perfil dos vendedores em relação aos treinamentos em BPP.

Coleta de amostras para análises microbiológicas

Em cada ponto de venda, coletaram-se amostras separadas de acarajé, vatapá, salada e camarão seco, o que resultou, para o conjunto de DS, na obtenção de 30 amostras por produto e um total de 120 amostras. Procedeu-se a coleta das amostras de forma asséptica, com conservação posterior em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, sendo transportadas ao laboratório e mantidas sob refrigeração até o momento de análise.

Em atendimento à legislação brasileira¹⁸ e de acordo com cada tipo de produto, as análises realizadas compreenderam contagem de estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus*, pesquisa de *Salmonella* spp e clostrídios sulfito redutores e estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes, com isolamento e identificação de *Escherichia coli*. Adicionalmente, foi feita a contagem de bactérias aeróbias mesófilas para a salada. As análises seguiram técnicas estabelecidas pela American Public Health Association (APHA)¹⁹.

Padrões de apoio

Os resultados das análises microbiológicas tiveram como padrão para comparação os limites apresentados pela Resolução de Diretoria Colegiada nº 12/2001¹⁸. No caso da análise microbiológica para aeróbios mesófilos, devido à ausência de limite legal no Brasil, os resultados foram discutidos com base em recomendações técnicas e referências científicas²⁰⁻²².

Tratamento estatístico

As informações oriundas dos questionários e das análises microbiológicas foram tabuladas e processadas no programa Statistical Package for the Social Sciences - SPSS, v.13, compreendendo a análise descritiva para todas as

variáveis que compunham a base de dados. Para as variáveis contínuas, os padrões de distribuição foram avaliados por meio de medidas de tendência central e de dispersão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização social e econômica dos vendedores e caracterização da atividade

Como se observa na Tabela 1, houve uma predominância de mulheres (86,7%) na comercialização do acarajé, o que concorda com a tradição histórica

Tabela 1. Características sócio-demográficas dos vendedores de acarajé identificados em Distritos Sanitários - Salvador/BA

Característica	Distribuição (%)
SEXO	
Masculino	13,3
Feminino	86,7
IDADE DO RESPONSÁVEL (anos)	
Média (amplitude)	47 (22-60)
ESCOLARIDADE DO RESPONSÁVEL	
1º grau incompleto	36,7
1º grau completo	20,0
2º grau incompleto	6,7
2º grau completo	33,3
Outros (Superior incompleto)	3,3
ARRECADADAÇÃO (%)	
Menos de 1 SM*	3,3
Entre 1 e 3 SM	70,0
Entre 4 e 6 SM	16,7
Acima de 7 SM	10,0
RENDA ÚNICA PARA SUSTENTO (%)	
Sim	76,7
Não	23,3
CHEFE DA FAMÍLIA (%)	
Sim	70,0
Não	30,0
NÚMERO DE MEMBROS DA FAMÍLIA	
Média (Amplitude)	4 (2-10)
TEMPO NA ATIVIDADE (anos)	
Média (Amplitude)	8 (0,6-35)

da atividade, caracterizada pelo trabalho feminino¹². Esse resultado, entretanto, contrasta com outros estudos sobre alimentos de rua no Brasil, que descrevem valores elevados em relação ao gênero masculino^{3,6,23}.

Na América Latina, registra-se tendência de maior participação das mulheres na venda da comida

de rua. Em países como Peru, Guatemala e Jamaica as mulheres chegam a representar 50%, na Colômbia alcançam 59% e nos demais países da América do Sul, ficam em torno dos 64%¹.

Com relação à idade, os resultados mostram coerência com pesquisas recentes que confirmam a inserção de indivíduos na faixa etária dos economicamente ativos no segmento informal de alimentos²⁴⁻²⁶.

O baixo nível de escolaridade identificado, com registro de 56,7% da amostra com formação até o primeiro grau completo, ressalta uma preocupação quanto à relação entre a formação dos vendedores e as condições higiênicas e sanitárias no manuseio e preparo dos alimentos, uma vez que o nível de educação configura um dos principais determinantes do risco à saúde associado à comida de rua¹⁷.

O comércio mostrou-se importante fonte de renda para as famílias envolvidas, posto que, para a quase totalidade (96,7%), os ganhos eram superiores ao salário mínimo nacional. Entre os vendedores, 70,0% se declararam chefes de família e 76,7% informaram ter apenas essa atividade como única fonte de renda para o sustento familiar. Estudos desenvolvidos na Nigéria, em Marrocos e no Brasil mostram que vendedores de comida de rua ganham normalmente mais que o salário mínimo do país^{23,27}. Adicionalmente observa-se que o comércio de acarajé revela uma estabilidade no trabalho, haja vista que a média de tempo na atividade foi de oito anos.

Entre as razões indicadas para a inserção no segmento, 46,7% dos participantes referiram o desemprego, 36,7% a herança, 13,3% a complementação de renda e 3,3% outros motivos. No passado, a inserção das pessoas no comércio de acarajé atrelava-se à tradição, com a atividade geralmente passando de mãe para filha. Nas últimas décadas, contudo, o aumento do desemprego nas cidades passou a ser o principal determinante. De acordo com Góes²⁸, no Brasil, a venda ambulante tem sido uma atividade geradora de renda para uma importante parcela da população tradicionalmente excluída do processo produtivo formal, o que concorda com as razões apresentadas pelos vendedores entrevistados no presente estudo.

Em referência às condições de habitação dos vendedores de acarajé, local em que eram preparadas a massa crua do acarajé e a maior parte dos seus complementos, 86,7% dos entrevistados informaram possuir casa própria e para 90,0% dessas foi relatada a

disponibilidade de água tratada, rede de esgoto, energia elétrica, coleta de lixo diária e rua pavimentada.

Perfil dos vendedores em relação aos treinamentos em BPP

Partindo do pressuposto de que a capacitação e a apreensão de princípios básicos de higiene pelos manipuladores de alimentos é condição básica para a promoção da saúde pública, destaca-se na presente pesquisa a importância das noções de higiene e manipulação dos alimentos como recurso para redução da contaminação dos alimentos e prevenção de agravos à saúde.

Segundo os vendedores, todos haviam participado de treinamentos em BPP promovidos por diferentes instituições locais, conhecidas publicamente por suas ações junto a esse segmento, o que demonstra a preocupação com a qualidade higiênico-sanitária dos produtos. Cabe salientar ainda o empenho de alguns vendedores, posto que 33,3% relataram ter participado de mais de um evento de formação.

Ao mesmo tempo, verificou-se que todos os entrevistados responderam positivamente em relação à importância de participar de treinamentos sobre manipulação segura dos alimentos. As razões justificadas para participação no treinamento baseavam-se na aquisição de novos conhecimentos (60,0%) e na aplicação de melhores práticas de higiene (40,0%).

Ainda que todos os entrevistados tivessem realizado treinamento em BPP, observou-se descontinuidade, uma vez que o tempo transcorrido desde esta formação foi longo, registrando-se uma média de 27 meses, com amplitude de três a 72 meses. Diante do quadro, considera-se que o longo período sem treinamento pode resultar em condutas higiênicas impróprias, visto que muitos dos conhecimentos podem ser esquecidos²⁹, sendo, portanto, necessário que os manipuladores estejam sempre se atualizando.

Caracterização do perfil, aquisição e armazenamento dos alimentos

Para 90% dos vendedores as feiras livres se constituíram como o local de preferência para a aquisição das matérias-primas. Por isso, considerando as precárias condições de funcionamento das feiras em Salvador, nessa informação revela-se mais uma preocupação, no que tange à inocuidade dos alimentos. De acordo com Martini¹², os responsáveis pela etapa de aquisição

buscam produtos de baixo custo, que geralmente são de procedência duvidosa. Dessa forma, o produto final pode ser comercializado a preços mais baixos, porém, com qualidade questionável.

Em relação ao armazenamento dos alimentos perecíveis nos pontos de venda, 46,7% dos entrevistados utilizavam caixas isotérmicas, 43,3% panelas e 10% deixavam expostos. Nesse sentido, considera-se que o armazenamento não refrigerado contribui de forma significativa para a multiplicação microbiana, podendo resultar tanto em perdas da massa do acarajé, por fermentações, quanto em riscos à saúde do consumidor, principalmente pela possível presença de metabólitos microbianos termoestáveis.

Caracterização higiênico-sanitária dos vendedores e dos pontos de venda

Em referência às características higiênicas dos vendedores de acarajé, os resultados demonstram que esses se apresentavam trajados de acordo com a cultura africana. Assim 90,0% possuíam proteção para os cabelos (torso), 76,7% vestiam trajes brancos, a caráter, 50% usavam calçados fechados, 66,7% apresentavam unhas curtas e “limpas”, porém, pintadas, 26,7% não portavam adornos e nenhum dos entrevistados fazia uso de luvas.

Em 63,3% dos pontos não havia pessoa distinta para a manipulação de dinheiro, fato que concorre para aumentar a carga microbiana das mãos e propicia a contaminação de utensílios e alimentos. Em 26,7% e 100% dos casos observou-se que, de acordo com a demanda de venda, a salada e a massa de acarajé, respectivamente, eram manipuladas na rua, em sua etapa de finalização.

No que diz respeito à higienização das estruturas de venda, verificou-se que a maior parte dos entrevistados (83,3%) informou a limpeza diária. Contudo, para os demais vendedores (16,7%), a periodicidade do procedimento de higienização foi maior, o que contribui negativamente para a segurança dos alimentos comercializados. Entre os produtos indicados para a higienização da estrutura 40,0% usavam água, sabão e desinfetante e 56,7% usavam água e sabão.

Quanto aos utensílios, eles eram higienizados diariamente (96,7%) ou até três vezes ao dia (3,3%), porém em domicílio, com uso de água e sabão ou detergente (70,0%) ou com água, sabão ou detergente e desinfetante (30,0%).

Para 56,7% dos participantes foi declarada frequência de lavagem das mãos superior a cinco vezes por dia, enquanto 26,7% informaram entre duas e cinco vezes, 10% uma a duas vezes e 6,7% disseram não realizar este procedimento. No tocante, ainda que muitos relatassem elevada frequência de higienização das mãos, pela observação em campo, percebeu-se que a informação não correspondia à prática. Geralmente a lavagem ocorria apenas quando as mãos encontravam-se visivelmente sujas. Adicionalmente 36,7% declararam usar apenas água nesse procedimento, o que reduz muito pouco a contagem microbiana das mãos – para 63,3% a lavagem era feita com água e sabão.

Mediante os resultados encontrados para a frequência de higienização, pode-se observar que grande parte dos vendedores não seguia as normas higiênicas e sanitárias preconizadas, propiciando de maneira significativa a contaminação do produto final.

Tabela 2. Caracterização das amostras quanto à contaminação por coliformes a 45 °C, estafilococos coagulase positiva e *B. cereus* e classificação quanto à conformidade, frente aos padrões da RDC nº 12/2001¹⁸

Micro-organismos	Alimentos	Amostras Positivas n (%)	Padrão RDC 12/2001 (log)	Amostras não conformes n (%)
Coliforme a 45 °C	Acarajé	1 (3,3)	2	1 (3,3)
	Vatapá	13 (43,3)	2	8 (26,7)
	Camarão	14 (46,7)	1,3	9 (30,0)
	Salada	27 (90,0)	2	23 (76,7)
Estaf. coag. positiva	Acarajé	0 (0)	3	0 (0)
	Vatapá	4 (13,3)	3	3 (10,0)
	Camarão	2 (6,7)	3	1 (3,3)
<i>B. cereus</i>	Acarajé	1 (3,3)	3	1 (3,3)
	Vatapá	8 (26,7)	3	5 (16,7)
	Camarão	6 (20,0)	3	4 (13,3)

Perfil microbiológico das amostras de acarajé e complementos

Os resultados obtidos para coliformes a 45 °C, estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus*, nas 120 amostras, encontram-se descritos na Tabela 2.

Como se observa, coliformes a 45 °C registraram elevada frequência nas amostras de vatapá e camarão, que compreendem produtos previamente submetidos ao calor, indicando recontaminação pós-processamento, destacando-se ainda o elevado número de amostras de salada classificadas como não conformes (76,7%), o que sugere deficiência nos procedimentos de higienização dos vegetais e de manipulação desta preparação. Em adição, registra-se que *E. coli* foi isolada em 16,7%, 10% e 26,7% das amostras de vatapá, camarão e salada, respectivamente.

Em estudo conduzido por Leite et al.¹⁵, foram detectados níveis elevados de contaminação por coliformes termotolerantes, em 13% das amostras de acarajés, 52% dos vatapás, 78% dos camarões e 82,6% das saladas, resultados que superaram os valores encontrados na presente pesquisa.

Segundo Cardoso et al.³⁰, que reportaram não conformidade de 68% para coliformes termotolerantes para o conjunto acarajé-complementos, a elevada incidência de coliformes no acarajé revelou deficiência higiênica grave, sendo um fato que pode estar associado às condições de manuseio final ou mesmo de preparo de acompanhamentos no próprio local de venda.

Em relação aos estafilococos coagulase positiva (Tabela 2), pode-se observar a presença do micro-organismo em pequeno número de amostras – apenas em quatro de vatapá e duas de camarão, havendo quatro com contagens superiores ao padrão. Esse fato contrasta com aqueles reportados por Leite et al.¹⁵, que evidenciaram 26% das amostras de vatapá e 34,7% de camarão seco estavam com contaminação elevada, embora, nos bolinhos de acarajé, os valores se encontrassem em atendimento ao padrão vigente à época.

Para o conjunto acarajé-complementos, por sua vez, Cardoso et al.³⁰, observaram que 12,5% das 120 amostras analisadas encontravam-se como não conformes para esse micro-organismo. Esses fatos podem decorrer de práticas inadequadas no preparo dos alimentos, bem como de falhas no tratamento térmico e na manipulação posterior^{31,32}.

Em pesquisa conduzida por Hanashiro et al.³, não foi possível detectar o micro-organismo nas amostras de sanduíches quentes e frios analisados. Segundo os

autores, a confirmação da bactéria poderia sinalizar a necessidade de treinamento contínuo e sensibilização dos vendedores, visto que os mesmos são potenciais veiculadores de estafilococos para os alimentos.

Em relação ao *Bacillus cereus*, considera-se inicialmente que é um micro-organismo esporulado, largamente distribuído na natureza, sendo o solo seu reservatório natural e, por essa razão, contamina facilmente alimentos como vegetais e cereais²², que servem de ingredientes para a produção do acarajé.

Como registrado na Tabela 2, verifica-se a contaminação por *B. cereus*, sobretudo no vatapá e no camarão, que são produtos pré-aquecidos, contudo, muitas vezes deixados à temperatura ambiente nos tabuleiros das baianas. No caso do acarajé e complementos, a presença do *B. cereus* pode estar relacionada à capacidade esporogênica desse agente, assegurando-lhe a possibilidade de sobrevivência ao longo das diferentes etapas de processamento dos alimentos, com posterior germinação e multiplicação, quando as preparações são mantidas em temperaturas de risco, o que favorece a ocorrência de doenças veiculadas por alimentos³³.

De acordo com o estudo de Leite et al.¹⁵, a identificação de *B. cereus* em valores acima dos padrões apresentou índices de 13% para o bolinho, 73% para o vatapá e 56,5% para o camarão seco. Na pesquisa realizada por Cardoso et al.³⁰, identificou-se o referido micro-organismo em 32,5% das amostras acarajé-complementos.

Gehlen et al.³⁴, ao analisarem a qualidade microbiológica de 40 amostras de salgados, em Passo Fundo-RS, detectaram que 20% delas apresentavam valores de *B. cereus* acima dos parâmetros estabelecidos pela legislação, atribuindo esses resultados às condições de temperatura inadequada para o armazenamento.

Com relação à contagem de bactérias aeróbias mesófilas nas saladas, os resultados registraram a média de 7,2 log UFC/g. Nesse sentido, cabe ressaltar que números elevados de mesófilos são comuns em alimentos não processados e naqueles produzidos artesanalmente, como as saladas que são comercializadas com o acarajé, principalmente quando a produção e a comercialização ocorrem em vias públicas, com exposição à condição ambiental adversa.

Em um estudo realizado por Muleta e Ashenafi³⁵, com amostras de 150 alimentos de rua, em Addis Ababa, Etiópia, acima de 70% das amostras registraram contagem de aeróbios mesófilos superiores

a 7 log UFC/g, o que se assemelha aos resultados obtidos no presente estudo. Entre os 1742 sanduíches investigados por Garin et al.¹⁷, 41% não atenderam aos critérios microbiológicos utilizados, sendo que a proporção de amostras inaceitáveis devido à contagem padrão de aeróbios em excesso variou de 0% a 44%, entre as diferentes cidades investigadas. Furlaneto e Kataoka³⁶, que analisaram bactérias mesófilas aeróbias em sanduíches do tipo “x-salada”, comercializados em ruas de Umuarama (PR), verificaram que 100% das amostras apresentavam populações elevadas, com valores variando entre 6 log UFC/g a 8,6 log UFC/g.

No presente estudo não foram identificados clostrídios sulfito-redutores e *Salmonella* spp em nenhuma das amostras analisadas de acarajé, camarão, vatapá e salada; resultados semelhante aos reportados por Gehlen et al.³⁴. Todavia, Leite et al.¹⁵ relatam a identificação de ambas bactérias em amostras de vatapá e camarão, com valores acima do padrão para os clostrídios sulfito redutores, o que se distancia dos resultados obtidos no presente estudo. Da mesma forma, Cardoso et al.³⁰, registram índices de contaminação por esses micro-organismos de 10,8% e 6,6%, respectivamente, para o conjunto acarajé-complementos.

Na presente pesquisa, ainda que não se tenha detectado contaminação por *Salmonella* spp, para uma proporção significativa das amostras os valores de bactérias indicadoras observados foram altos, sinalizando a necessidade de maiores cuidados com a higiene na elaboração e comercialização do acarajé e seus complementos.

Quanto à condição de conformidade das preparações em relação ao total de vendedores investigados

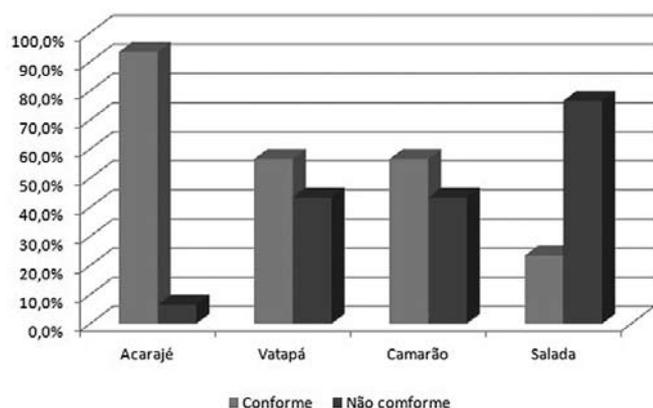


Figura 1. Distribuição (%) da condição de conformidade das preparações, em face à RDC 12/2001¹⁸, para o conjunto de vendedores investigados

(Figura 1), constatou-se alto índice de atendimento para o acarajé, índices medianos para o camarão e o vatapá e baixo para a salada. Entre as 120 amostras, a prevalência global de não conformes para o conjunto de procedimentos analíticos foi de 45,8%. Todavia a não conformidade por vendedor, computando as quatro preparações, mostrou um quadro de grande preocupação, uma vez que apenas um vendedor (3,3%) apresentou todas as suas amostras em cumprimento aos parâmetros estabelecidos pela RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (Anvisa/MS)¹⁸.

CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos e considerando a cultura alimentar local, conclui-se que a qualidade microbiológica do acarajé e dos complementos comercializados constitui um assunto que deve preocupar consumidores e órgãos de saúde pública, visto que a evidência de contaminações nessa iguaria, acima dos padrões, pode significar risco à saúde pela possível ocorrência de doenças veiculadas por alimentos.

Ainda que todos os vendedores tenham participado de treinamento, a avaliação dos pontos de venda e das condições de realização desse comércio identificou lacunas quanto ao atendimento a requisitos de higiene, o que indica a necessidade contínua de formação para esses manipuladores, de modo a promover a segurança dessas preparações.

REFERÊNCIAS

1. Simopoulos AP, Bhat RV. Street foods. *World Rev Nutr Diet*. 2000;86:123-37.
2. Food and Agriculture Organization. Promises and challenges of the informal food sector in developing countries. Rome; 2007.
3. Hanashiro A, Morita M, Matté GR, Matté MH, Torres EAFS. Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of São Paulo city, Brazil. *Food Control*. 2005;16(5):439-44.
4. Lucca A, Torres EAFS. Street food: the hygiene conditions of hot-dog in São Paulo, Brazil. *Food Control*. 2006;17(4):312-6.
5. Oliveira ACG, Seixas ASS, Sousa CP, Souza CWO. Avaliação microbiológica de caldo de cana comercializado em ruas e condições de manuseio de manipuladores em São Carlos, São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(5):1111-4.
6. Bezerra ACD (Org). Alimentos de rua no Brasil e saúde pública. São Paulo: Annablume; Cuiabá: Fapemat/EdUFMT; 2008.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Técnica: Doença de Chagas relacionada à ingestão de caldo de cana em Santa Catarina. [acesso 2006 Mar 22]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2005/240305_nota.pdf].

8. Cardoso RCV, Santos SMC, Silva EO. Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento. *Ciênc Saúde Colet*. 2009;14(4):1215-24.
9. Carvalho Filho CDC. Acarajé 10: sucesso em Salvador - Bahia. Anais do Seminário de Gastronomia em Gilberto Freyre. Recife; 2005.
10. Fernandes C. Viagem gastronômica através do Brasil. São Paulo: SENAC/Sonia Robatto; 2007.
11. Brasil. Ministério da Cultura. Instituto do Patrimônio Histórico Cultural Artístico Nacional – IPHAN. [acesso 2009 Ago 2]. Disponível em: [http://www.cultura.gov.br/site/wp-content/uploads/2007/10/decreto-3551.pdf].
12. Martini GT. Baianas do Acarajé: A uniformização do típico em uma tradição culinária afro-brasileira [tese de doutorado]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2007.
13. Fonseca CF. Baianas do acarajé: patrimônio urbano imaterial? Anais do 4º Encontro de Estudos Multidisciplinares em Cultura. Salvador; 2008. [acesso 2009 Jul 14]. Disponível em: [http://www.cult.ufba.br/enecult2008/14456.pdf].
14. Salvador. Decreto nº 12.175, de 25 de novembro de 1998. Dispõe sobre a localização e funcionamento do comércio informal exercido pelas baianas de acarajé e de mingau em logradouros públicos e dá outras providências. Diário Oficial [do] Município, Salvador, 26 de novembro 1998. p.2-3.
15. Leite CC, Sant’anna MB, Assis PN, Mariano APM. Qualidade higiênico-sanitária do acarajé e seus complementos, comercializados em diferentes pontos turísticos da cidade de Salvador(BA). *Rev Hig Alim*. 2000;14(71):50-4.
16. Carvalho Filho CD, Guimarães AG, Sobral NAT. Avaliação do Programa Acarajé 10, em Salvador, Bahia; 2003. *Rev Hig Alim*. 2005;19(133):15-9.
17. Garin B, Aidara A, Spiegel A, Arrive P, Bastaraud A, et al. Multicenter study of street foods in 13 towns on four continents by the food and environmental network of Pasteur and associated institutes. *J Food Prot*. 2002;65(1):146-52.
18. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. [acesso 2007 Jul 20]. Disponível em: [http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144].
19. Downes FP, Ito K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: American Public Health Association; 2001.
20. Riedel G. Controle sanitário dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 1992.
21. Gilbert RJ, Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro CD, et al. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Commun Disease Publ Health*. 2000;3(3):163-7.
22. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2006.
23. Cardoso RCV, Pimentel SS, Moreira LN, Santana CS, Cerqueira SC. Comida de rua: desvendando o mundo do trabalho e a contribuição social e econômica da atividade em Salvador (BA). *Conjuntura & Planejamento*. 2005;137:45-51.
24. Germano MIS, Germano PML, Castro AP, Andrighetto C, Babadopulus P, Koshio S, et al. Comida de rua: pros e contra. *Rev Hig Alim*. 2000;14(77):27-33.
25. Romancini SR, Abreu E, Kinasz TR. Uma abordagem sobre os trabalhadores da economia informal na Estação de Integração Bispo Dom José e Praça Ipiranga em Cuiabá – MT. *Rev Mato-Grossense Geog*. 2004;8:91-101.
26. Amson GV. Comércio ambulante de alimentos em Curitiba: perfil de vendedores e propostas para programa de Boas Práticas Higiênicas na manipulação de alimentos [dissertação de mestrado]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná - UFPR; 2005.
27. Omemu AM, Aderoju ST. Food safety knowledge and practices of street food vendors in the city of Abeokuta, Nigeria. *Food Control*. 2008;19(4):396-402.
28. Góes JAW. Consumo de Alimentos de Rua em Salvador: o que é que a baiana(o) tem? *SEI*. 1999; 9(2):89-92.
29. Egan MB, Raats MM, Grubb SM, Eves, A, Lumbers ML, Dean MS, et al. A review of food safety and food hygiene training studies in the commercial sector. *Food Control*. 2007;18(10):1.180-90.
30. Cardoso RCV, Guimarães AG, Leite CC, Mascarenhas JC, Amaral MTR, et al. Relatório Convênio 04/05 UFBA/Anvisa - Diagnóstico das condições sociais, econômicas e sanitárias do segmento de comida de rua em Salvador(BA). Salvador; 2007.
31. Caribbean Epidemiology Centre. Annual Report, Port of Spain, Trinidad. CAREC; 2000.
32. Mankee A, Ali S, Chin A, Indalsingh R, Khan R, Mohammed F, et al. Bacteriological quality of “doubles” sold by street vendors in Trinidad and the attitudes, knowledge and perceptions of the public about its consumption and health risk. *Food Microbiol*. 2003;20:631-9.
33. Rhodehamel EJ, Harmon SM. *Bacillus cereus*. In: Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists International; 1998. cap.14.
34. Gehlen AC, Rodrigues LB, Santos LR, Soares J, Trenhago G, Camargo C, et al. Qualidade microbiológica de coxinhas e esfihas comercializadas em dez confeitarias da cidade de Passo Fundo(RS). *Rev Hig Alim*. 2008;22(162):96-100.
35. Muleta D, Ashenafi M. Bacteriological profile and holding temperatures of street vended foods from Addis Abba. *Int J Environm Health Res*. 2001;11(1):95-105.
36. Furlaneto L, Kataoka AFA. Análise microbiológica de lanches comercializados em carrinhos de ambulantes. *Lecta*. 2004;22(1/2):49-52.

Avaliação de parâmetros microbiológicos de potabilidade em amostras de água provenientes de escolas públicas

Microbiological analyses for assessing the potability of water samples from public schools

RIALA6/1386

Joice Trindade SILVEIRA^{1*}, Roberta CAPALONGA², Ana Beatriz Almeida de OLIVEIRA³, Marisa Ribeiro de Itapema CARDOSO¹

*Endereço para correspondência: ¹ Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, Instituto de Ciências Básicas de Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9.090, CEP: 91540-000, Porto Alegre, RS, tel: 55 3433 1669 / 55 8147 1284, e-mail: joicetsilveira@gmail.com

² Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

³ Departamento de Medicina Social, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Financiamento: Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - FNDE/Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar - CECANE Sul. Processo nº 23.078.019879/08-03 (UFRGS)

Recebido: 09.03.2010 – Aceito para publicação: 18.07.2011

RESUMO

A água para o consumo humano exige altos padrões de qualidade a fim de controlar a transmissão de doenças. Nas escolas, a água é utilizada no preparo de refeições e na higienização de utensílios em contato com os alimentos. No presente estudo foi averiguada a qualidade de água utilizada em escolas públicas do Estado do Rio Grande do Sul, analisando-se os parâmetros microbiológicos de potabilidade. Foi conduzido estudo transversal em 124 escolas localizadas nas sete mesorregiões do Estado. As amostras coletadas foram analisadas quanto à presença de coliformes totais, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. e mesófilos totais. Foi aplicado questionário sobre o abastecimento de água, e foram avaliados os laudos emitidos pelas empresas responsáveis pelo abastecimento. Coliformes totais e *E. coli* foram encontrados nas amostras de água, respectivamente, de 22,6% e 10,5% escolas. *Shigella* sp. não foi identificada em nenhuma das amostras. A presença de mesófilos totais foi detectada nas amostras de água de 25 escolas. Do total de escolas avaliadas, 20,5% tinham potabilidade atestada por laudos e 18,8% informaram possuir reservatório em condições adequadas. É prioritário que se estabeleçam rotinas para o monitoramento da potabilidade da água e manutenção dos reservatórios, para que se possa fornecer água de qualidade à comunidade escolar.

Palavras-chave. água potável, reservatórios de água, coliformes, *Escherichia coli*, Saúde Pública.

ABSTRACT

Drinking water requires high quality standards in order to control disease transmission. At schools, the water is used for preparing meals and washing utensils in contact with food. This study assessed the storage conditions and the quality of drinking water used in public schools of Rio Grande do Sul state, Brazil, analysing the water potability by means of microbiological parameters. A cross-sectional study was conducted in 124 schools located in seven regions of Rio Grande do Sul. The collected water samples were analyzed for the presence of total coliforms, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. and mesophilic bacteria. A questionnaire on water supply and storage conditions was applied. Total coliforms and *E. coli* were detected in water samples from 22.6 and 10.5% schools, respectively. No *Shigella* sp. was detected in any sample. Mesophilic bacteria were isolated from water samples collected from 25 schools. Technical reports statements on water potability were available in 20.5% of schools only and 18.8% of schools were supplied with water stored in tanks under appropriate conditions. It is crucial to establish routines for monitoring drinking water potability and the water storage tanks cleaning for providing high quality water to students and school staffs.

Keywords. potable water, water storage, coliforms, *Escherichia coli*, Public Health.

INTRODUÇÃO

A poluição microbiana da água pode ser causada por uma gama de micro-organismos – vírus, bactérias, fungos, protozoários – que podem ser transmitidos ao homem pelo ciclo fecal-oral¹. Nas cidades, embora a água passe por tratamento prévio para atender aos requisitos de qualidade, pode sofrer contaminação durante as etapas de reserva, distribuição e consumo². A qualidade da água é reconhecida como indispensável para o desenvolvimento de comunidades. Apesar disso, inadequações quanto aos padrões microbiológicos podem ser encontradas^{3,4,5}.

As doenças de veiculação hídrica estão incluídas entre as doenças transmitidas por alimentos⁶. De acordo com o DATASUS, somente em 2010 foram registradas aproximadamente 500 mil internações no Brasil por diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível, sendo que 39,3% delas em indivíduos menores de cinco anos⁷. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 88% das doenças diarreicas são atribuídas à falta de acesso à água potável, ao saneamento inadequado e à falta de higiene. A melhoria da qualidade da água potável pode levar a uma redução de episódios de diarreia entre 17% e 39%^{8,9}.

Os Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANEs) foram criados pela Portaria nº 1010/2006 com o objetivo prestar apoio técnico e operacional aos Estados e municípios na implementação da alimentação saudável nas escolas atendidas pelo *Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE)*¹⁰.

Na produção de refeições, são muitos os processos em que a água está envolvida, sendo utilizada para a limpeza e higienização de alimentos, de manipuladores, de utensílios, superfícies e equipamentos, bem como para a própria cocção dos alimentos¹¹. Nesse contexto, a potabilidade da água é imprescindível para alcançar qualidade higiênico-sanitária das refeições oferecidas nas escolas.

Reconhecendo os riscos que as doenças transmitidas por alimentos oferecem à saúde e a importância da qualidade da alimentação escolar oferecida às crianças, o objetivo desse estudo foi verificar as condições de armazenamento e os parâmetros microbiológicos de potabilidade de amostras de água colhidas em escolas públicas do Estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi conduzido um estudo transversal em 124 escolas públicas atendidas pelo *PNAE* no Estado do Rio Grande do Sul, em que amostras de água colhidas de torneiras foram analisadas quanto à presença de indicadores microbiológicos de potabilidade.

O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Projeto nº 17.265).

Para a definição do tamanho amostral, partiu-se de um total de 3.891 escolas públicas com mais de 100 alunos, existentes no Estado. Considerou-se uma prevalência esperada de 50% de escolas com a presença de pelo menos um dos micro-organismos investigados, um intervalo de confiança de 95% e um erro aceitável de 8%¹². Por conveniência, estabeleceu-se que seriam amostradas escolas situadas na cidade mais populosa de cada uma das sete meso-regiões geográficas do Estado¹³.

A partir do levantamento do número de escolas existentes nessas cidades (estratos), calculou-se o número a ser amostrado em cada cidade, de forma que cada estrato fosse representado de forma proporcional no número total de amostras. Após esse levantamento, procedeu-se ao sorteio das escolas a serem amostradas em cada estrato. Todas as escolas foram visitadas, sem aviso prévio, durante o ano de 2009, após autorização das secretarias de educação estadual ou municipal. As escolas de Porto Alegre (30° 1' 58" S, 51° 13' 48" O) foram amostradas entre os meses de abril e junho, seguidas pelas de Santa Cruz (29° 43' 4" S, 52° 25' 33" O), no mês de julho e Caxias do Sul (29° 10' 4" S, 51° 10' 44" O), nos meses de agosto e setembro. Também foram coletadas amostras nas escolas de Pelotas (31° 46' 19" S, 52° 20' 34" O) nos meses de setembro e novembro; de Bagé (31° 19' 51" S, 54° 6' 25" O) no mês de outubro e de Passo Fundo (28° 15' 46" S, 52° 24' 25" O) e Santa Maria (29° 41' 2" S, 53° 48' 25" O) no mês de novembro.

Em cada escola, foram coletadas quatro amostras de 100 mL de água: duas na torneira externa ao prédio da escola, onde estava localizado o ponto de ligação à rede de abastecimento; e duas na torneira da cozinha. Em Porto Alegre, não foi realizada coleta na torneira externa à escola. Nos recipientes estéreis de coleta foram adicionadas pastilhas de tiosulfato de sódio, com a finalidade de inativar o cloro residual da água. Os frascos das amostras foram transportados em bolsas térmicas até o Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Após um período máximo de 24 horas, duas amostras (uma da torneira interna e outra do ponto de ligação à rede externa) foram submetidas à análise de coliformes totais, *Escherichia coli* e mesófilos heterotróficos. As duas amostras restantes foram utilizadas para a pesquisa de *Shigella* sp.

Paralelamente foi aplicado um questionário com perguntas sobre: a origem da água utilizada (recebida de redes pública de abastecimento ou alternativa); a existência de laudo de potabilidade fornecido por empresa credenciada; a presença de reservatório de água, a realização de limpeza semestral do reservatório e a existência de tampa no reservatório. As perguntas eram respondidas no dia da coleta pelos responsáveis pela escola, preferencialmente o (a) diretor (a). A escola era considerada como tendo um reservatório em boas condições quando apresentava comprovação de sua limpeza semestral e informava que o mesmo era provido de tampa.

Para a análise de coliformes totais e *E. coli*, foi adotado método de identificação rápido, utilizando o reagente cromogênico e fluorogênico ReadyCult Coliforms 100° (Merck, Alemanha). Imediatamente após a chegada da amostra de água ao laboratório, 100 mL de amostra foi transferido para um frasco, em que foi adicionado um flaconete de ReadyCult Coliforms 100°. O recipiente foi agitado até a dissolução completa dos grânulos e incubado em estufa a 36±1 °C por 24 h. O aparecimento de cor azul-esverdeada foi interpretado como presença de coliformes totais na amostra; a cor amarelada (inalterada do meio original) significou ausência de coliformes totais e de *E. coli*. A presença de fluorescência quando o frasco foi exposto à luz ultra-violeta (365 nm), foi interpretado como presença de *E. coli*. Testes positivos ou duvidosos foram submetidos ao teste do Indol para a confirmação¹⁴.

Para pesquisa de *Shigella* sp., a técnica utilizada foi a descrita pela American Public Health Association^{15,16}. As duas amostras colhidas em cada escola foram filtradas separadamente, e os filtros de membrana incubados em caldo Gram Negativo (GN, Merck) a 37 °C. Após 4 h e 24 h de incubação, uma alíquota de caldo GN de cada frasco foi semeada nos ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD, Merck) e *Salmonella-Shigella* (SS, Merck) para isolamento e identificação.

Para quantificação de bactérias mesófilas heterotróficas foi adotada metodologia descrita¹⁷.

Os laudos, sobre a qualidade microbiológica da água no período da coleta, emitidos pelos órgãos

responsáveis pelo abastecimento em cada cidade foram consultados nos seus sítios na rede. Em Santa Maria, Santa Cruz do Sul e Passo Fundo a empresa responsável pelo fornecimento é a Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN - www.corsan.com.br); em Caxias do Sul o Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto (SAMAE - www.samaecaxias.com.br); em Pelotas o Serviço Autônomo de Saneamento de Pelotas (SANEP - www.pelotas.com.br/sanep); em Bagé o Departamento de Água e Esgoto de Bagé – DAEB - www.daeb.bage.rs.gov.br) e em Porto Alegre o Departamento Municipal de Água e Esgoto – DMAE - www.portoalegre.rs.gov.br/dmae).

Os dados de presença/ausência dos indicadores foram expressos em termos de frequência. Os dados de quantificação de mesófilos totais foram primeiramente estratificados em <10 UFC/mL, até 500 UFC/ mL, ou maior que 500 UFC/mL.

As frequências de escolas em cada cidade, com a presença de cada um dos indicadores, e de amostras classificadas nos dois estratos de contagem de mesófilos totais, foram comparadas pelo Teste Exato de Fisher, com um nível de significância P<0,05. O programa utilizado foi o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

RESULTADOS

Bactérias do grupo coliforme foram encontradas em 28 (22,6%) das 124 escolas, sendo a maioria das amostras positivas (85,7%) coletada na torneira das cozinhas. As frequências por cidade variaram de 0% até 56,2%, sendo a mais elevada encontrada em Pelotas (meso-região Sudeste). A presença de *E. coli* foi verificada na água colhida em 13 (10,5%) escolas.

Do total de escolas com presença de *E. coli* em amostras de água, em doze a amostra positiva havia sido coletada na torneira da cozinha, uma dessas escolas apresentou a amostra coletada no ponto externo ao prédio também positiva. Em uma escola, apenas na amostra coletada na torneira externa ao prédio foi detectada a presença de *E.coli*. Pelotas apresentou frequência significativamente maior (P<0,05) de escolas com amostras positivas para *E.coli*. Não foi isolada *Shigella* sp. em nenhuma das amostras analisadas.

Vinte e cinco escolas tinham a presença de mesófilos heterotróficos nas amostras de água colhidas na torneira da cozinha, sendo que em três a contagem obtida superou 500 UFC/mL. Todas as escolas visitadas tinham abastecimento da rede pública municipal.

Tabela 1. Frequência de escolas em cidades das sete meso-regiões do Estado do Rio Grande do Sul com amostras de água positivas para coliformes totais ou *Escherichia coli*, com a presença de laudo de potabilidade e com reservatório de água em condição adequada¹

Meso-região	Município	Escolas amostradas	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>	Laudo de potabilidade	Reservatório adequado ¹
			N (%)	N (%)	N	N
Centro-ocidental	Santa Maria	13	6 (46,1)	3 (23,0)	1	2
Centro-oriental	Santa Cruz do Sul	07	0	0	3	1
Metropolitana	Porto Alegre	49	5 (10,2)	3 (6,1)	19	8
Nordeste	Caxias do Sul	19	3 (15,8)	1 (5,2)	0	9
Noroeste	Passo Fundo	11	3 (27,3)	0	1	2
Sudeste	Pelotas	16	9 (56,2)*	5 (31,2)*	0	0
Sudoeste	Bagé	09	2 (22,2)	1 (11,1)	0	0
Total		124	28 (22,6%)	13 (10,5)	24 (20,5%)²	22 (18,8%)²

¹ Submetido à limpeza semestral e provido de tampa. ² Referente a 117 escolas que contavam com reservatório de água

*Frequência de positivos significativamente maior ($P < 0,05$)

Os laudos fornecidos pelas empresas de abastecimento demonstraram que, em todas as cidades, a água da rede estava livre de coliformes totais, termotolerantes e/ou *Escherichia coli* nos meses de coleta.

Do total de escolas avaliadas, 117 (94,3%) possuíam reservatório de água. As outras sete recebiam água tratada por tubulações diretas da rede de abastecimento. Nove escolas com amostra de água que apresentaram *E.coli* possuíam caixa d'água e quatro recebiam abastecimento diretamente da rede pública.

Em relação ao questionário, os resultados demonstraram que apenas 24 escolas apresentaram laudo de potabilidade e 22 tinham reservatório de água provido de tampa e limpo semestralmente (Tabela 1). Entre as nove escolas que contavam com caixa d'água

e tiveram amostras de água positivas para *E.coli*, oito não tinham laudo de potabilidade e/ou reservatório em condições adequadas.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que 10,5% das escolas públicas visitadas no Estado do Rio Grande do Sul não dispunham, na torneira da cozinha, de água potável microbiologicamente, indicando possível presença de patógenos e o risco da ocorrência de doenças. Apesar disso, a *Shigella* sp., bactéria veiculada pela água e causa importante de diarreia sanguinolenta em crianças menores de cinco anos¹⁸ não foi encontrada nas amostras coletadas.

No Brasil, entre 1999 e 2008, foram notificados 343 surtos associados ao consumo de água, com mais de 146 mil pessoas expostas, 10 mil doentes e oito óbitos. Na maioria dos casos, a origem da água era desconhecida, provavelmente ocorrendo em localidades sem acesso à água tratada¹⁹. No entanto, um estudo demonstrou que amostras de água da torneira, provenientes da rede de abastecimento apresentavam índices de coliformes maiores do que os aceitos pela legislação. A água mineral e de poços artesianos apresentaram níveis ainda maiores do que a água tratada, demonstrando inconformidade com os padrões exigidos²⁰.

Em nosso estudo, coliformes totais foram detectados nas amostras coletadas nas torneiras das cozinhas. Esses micro-organismos compreendem um grande grupo de bactérias, encontradas tanto no material

Tabela 2. Resultado da quantificação de mesófilos heterotróficos em amostras de água colhidas em escolas de sete meso-regiões do Estado do Rio Grande do Sul (março-novembro/2009)

Meso-região	Município	<10	<500	>500
		UFC/mL	UFC/mL	UFC/mL
Centro-ocidental	Santa Maria	11	1	1
Centro-oriental	Santa Cruz do Sul	7	0	0
Metropolitana	Porto Alegre	38	11	0
Nordeste	Caxias do Sul	18	0	1
Noroeste	Passo Fundo	4	6	1
Sudeste	Pelotas	12	4	0
Sudoeste	Bagé	9	0	0
Total		99	22	3

UFC = Unidades Formadoras de Colônias

fecal quanto no solo e na água. Por esse motivo, não guardam relação exclusiva com contaminação fecal².

A legislação brasileira preconiza que estejam ausentes na saída do sistema de tratamento²¹, sendo indicados para aferição da eficiência do mesmo. Na distribuição, contudo, não podem ser considerados como único indicador, devendo ser pesquisada a presença de *E.coli*². Em relação aos micro-organismos mesófilos, a legislação também estabelece parâmetros apenas para a água no sistema de distribuição. A Portaria nº 518 determina que em 20% das amostras mensais do sistema, deve ser efetuada a sua contagem que não pode exceder 500 UFC/mL²¹. Em três escolas do presente estudo esse número de mesófilos heterotróficos foi alcançado. A presença de numerosos coliformes totais e mesófilos heterotróficos pode indicar falhas no reservatório e tubulações, permitindo a entrada ou acúmulo de sujidades.

Nas escolas visitadas, o maior número de amostras com presença de *E.coli* foi verificado na torneira das cozinhas. Em todos os municípios, a água chegava à escola em condição adequada, conforme laudos das empresas de abastecimento responsáveis. Além disso, das 68 escolas em que as amostras foram coletadas na torneira anterior ao reservatório, em apenas duas houve presença de *E. coli*, demonstrando que a água era contaminada posteriormente. Resultado semelhante foi encontrado no Pará, onde a água chegava pelo sistema público em condições adequadas nas áreas amostradas, mas apresentava altos índices de coliformes totais e termotolerantes nos domicílios²². A má qualidade da água distribuída e armazenada foi descrita por outros autores^{23,24}, demonstrando que essas inconformidades podem expor um elevado número de pessoas ao risco de infecção.

Conforme alguns autores, a instalação do tipo direta, em que as torneiras são alimentadas por água da rede pública, seria uma alternativa para garantir a qualidade da água, já que o reservatório constitui um ponto de risco para contaminação da água²⁵. No entanto, no presente estudo uma situação diferente foi evidenciada, uma vez que quatro das sete escolas que tinham instalação direta da rede apresentaram amostras não-potáveis. Em três dessas escolas foi observado que o terreno da escola não oferecia condições gerais de higiene e sanidade, apresentando objetos em desuso, lixo, animais, insetos e roedores. A situação encontrada demonstra a precariedade das instalações dessas escolas, a qual possivelmente pode incluir

falhas na estrutura da tubulação predial, permitindo a entrada de contaminantes.

Nove escolas que apresentaram amostras de água não-potável contavam com reservatório de água, resultado semelhante com o relatado em duas regiões do Rio de Janeiro, em que frequências superiores de contaminação na água dos reservatórios em relação à rede de abastecimento foram encontradas. Conforme os autores, o desconhecimento sobre a necessidade de higienização dos reservatórios pode ter contribuído para a situação observada²⁶. De forma similar, os problemas mais comuns verificados nos reservatórios de água em Unidades de Alimentação e Nutrição foram o fechamento inadequado e a ausência de programa de limpeza dos mesmos²⁷.

No presente estudo, somente 20,5% das escolas apresentavam o laudo de potabilidade da água e somente 18,8% tinham o reservatório de água em condições adequadas, ou seja, com limpeza semestral e providos de tampa. Essas duas falhas podem ter contribuído para a presença de *E.coli* na água coletada nas torneiras. Corrobora com essa hipótese o fato de que oito das nove escolas com amostras positivas para *E. coli* tinham pelo menos uma dessas inconformidades.

Em escolas atendidas pelo PNAE em Salvador²⁸, coliformes termotolerantes estavam presentes em 26% das amostras, configurando uma situação ainda mais grave que a relatada em nosso estudo. Nas mesmas escolas, apenas 17% dispunham dos registros sobre a potabilidade e 51% dos reservatórios não eram higienizados periodicamente.

Os resultados desse estudo sinalizam a importância do controle da água nas escolas públicas do Estado do Rio Grande do Sul, visto que foram encontradas amostras que não obedeciam aos parâmetros microbiológicos de potabilidade em escolas de cinco cidades com rede de abastecimento público. A situação dos reservatórios coloca em risco a água utilizada para consumo e preparo de refeições demonstrando a necessidade de ações de melhoria para atender os objetivos do Programa Nacional de Alimentação Escolar.

Além dos problemas apontados com relação à higienização dos reservatórios, deve-se ressaltar que a estrutura predial, incluindo as instalações hidráulicas, sofre danos com o passar do tempo, favorecendo a infiltração e o acúmulo de sujidades nas tubulações em contato com a água, tornando indispensável a manutenção periódica das mesmas.

CONCLUSÃO

As condições de armazenamento de água na maioria das escolas públicas localizadas em sete mesorregiões do Estado do Rio Grande do Sul não obedeciam aos parâmetros microbiológicos exigidos para a garantia da qualidade da água. Em 10,5 % das escolas havia presença de *E. coli* na água utilizada para o preparo da alimentação escolar, demonstrando que é essencial que se estabeleçam rotinas para o monitoramento da qualidade da água e para manutenção dos reservatórios, a fim de que se forneça água em condições adequadas à comunidade escolar.

REFERÊNCIAS

1. Tortora G, Funke BR, Case, CL. Microbiologia: Microbiologia aquática e tratamento de esgoto. 8ª Ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Inspeção sanitária em abastecimento de água. Brasil. Ministério da Saúde; 2006.
3. Amaral LA, Filho NA, Junior ODR, Ferreira FLA, Barros LSS. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. *Rev Saúde Pública*. 2003;37(4):510-4.
4. Giatti LL, Rocha AA, Santos FA, Bitencourt SC, Pieroni SRM. Condições de saneamento básico em Iporanga, Estado de São Paulo. *Rev Saúde Pública*. 2004;38(4):571-7.
5. Rocha CMBM, Rodrigues LS, Costa CC, Oliveira PR, Silva IJ, Jesus EFM et al. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária a área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil; 1999-2000. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(9):1967-78.
6. World Health Organization (WHO). Foodborne disease outbreaks: Guidelines for investigation and control. Genebra; 2008.
7. Brasil. Banco de Dados do Sistema Único de Saúde (DATASUS); 2010. Disponível em: [http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sih/cnv/nirs.def].
8. Cairncross S, Hunt C, Boisson S, Bostoen K, Curtis V, Fung ICH et al. Water, sanitation and hygiene for the prevention of diarrhoea. *Int J Epidemiol*. 2010;39:193-205.
9. WHO. Water, Sanitation and Hygiene Links to Health – Facts and Figures. Genebra; 2004.
10. Brasil. Ministério da Saúde e Ministério da Educação. Portaria Interministerial nº 1010, de 8 de maio de 2006. Institui as diretrizes para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas de educação infantil, fundamental e nível médio das redes públicas e privadas, em âmbito nacional. *Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 10 mai. 2001.
11. Jay JM. Microbiologia dos Alimentos. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
12. Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH et al. Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. Atlanta, Georgia, USA: Center for Disease Control and Prevention; 2009. [acesso 2010 Jul 01] Disponível em: [http://www.cdc.gov/epiinfo/].
13. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Mesorregiões geográficas do Estado do Rio Grande do Sul. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=rs].
14. Silva N, Neto RC, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica da água. 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela; 2005.
15. American Public Health Association (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington; 1975.
16. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington; 1985.
17. EPA (Environmental Protection Agency). Analytical Methods Approved for Drinking Water Compliance. USA; 2000.
18. WHO. Guidelines for the control of shigelosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1. Genebra; 2005.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Surtos de DTA ocasionados por água; 2008. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/surtos_agua_10.pdf].
20. Scoaris DO, Bizerra FC, Yamada-Ogata SF, Filho BAA, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV et al. The Occurrence of *Aeromonas* spp. in the Bottled Mineral Water, well Water and Tap Water from the Municipal Supplies. *Braz Arch Biol Technol*. 2008;51(5):1049-55.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de Março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 25 mar. 2004.
22. Sá LLC, Jesus IM, Santos ECO, Vale ER, Loureiro ECB, Sá EV. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em duas áreas contempladas com intervenções de saneamento - Belém do Pará, Brasil. *Epidemiol Serv Saúde*. 2005;14(3):171-80.
23. D'Águila PS, Roque OCC, Miranda CAS, Ferreira AP. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. *Cad Saúde Pública*. 2000;16(3):791-8.
24. Nogueira G, Nakamura CV, Tognim, MCB, Filho, BAA Filho BPD. Microbiological quality of drinking water of urban and rural communities, Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2003;37(2):232-6.
25. Ilha MSO, Gonçalves OM. Sistemas prediais de água fria. Texto técnico da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo - USP. Editora da Universidade de São Paulo - EDUSP; 1994.
26. Freitas MB, Brilhante O M, Almeida L M. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. *Cad Saúde Pública*. 2001;17(3):651-60.
27. Silva DO, Oliveira EA, Braga GA, Costa, GF, Feijó, TS, Cardozo, SV. Reconhecimento dos riscos ambientais presentes em unidades de alimentação e nutrição no município de Duque de Caxias (RJ). *Saúde Amb Rev*. 2008;3(2):1-6.
28. Cardoso RCV, Almeida RCC, Guimarães AG, Góes JAW, Silva AS, Santana AAC et al. Qualidade da água utilizada em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), em Salvador (BA). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007; 66(3):287-91.

Influência do erro de micropipetas na dosagem espectrofotométrica do ensaio de endotoxina bacteriana (LAL cromogênico) aplicável a produtos sujeitos à Vigilância Sanitária

Effect of micropipette inaccuracy on performance of spectrophotometric assay for bacteria endotoxin dosage (chromogenic LAL) employed in products subjected to sanitary surveillance

RIALA6/1387

Ana Paula Mello LEMGRUBER, Octavio Augusto França PRESGRAVE, Rosaura de Farias PRESGRAVE, Eloisa Nunes ALVES, Ronald Santos SILVA, Izabela GIMENES, João Carlos Borges Rolim de FREITAS, Cristiane CALDEIRA*

*Endereço para correspondência: Departamento de Farmacologia e Toxicologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, FIOCRUZ, Avenida Brasil, 4.362, Mangueiras, CEP: 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, e-mail: cristiane.caldeira@incqs.fiocruz.br
Recebido: 29.10.2010 - Aceito para publicação: 02.08.2011

RESUMO

Segundo a norma ISO 17.025, os instrumentos usados em experimento devem ser calibrados. No caso de micropipetas não há limite máximo de erro definido, sendo difícil estipular até que ponto uma micropipeta pode continuar a ser usada. O objetivo do trabalho foi o de determinar a porcentagem de erro no volume da micropipeta que não interfira nos resultados das diferentes etapas do ensaio toxicológico Lisado de Amebócitos de *Limulus* (LAL). Os percentuais de erro foram obtidos do levantamento de 44 certificados de micropipetas. Foram utilizados uma pipeta monocalibrada, de volume variável e *kit* LAL Cromogênio QCL-1000 (Lonza). A curva de endotoxina foi construída com as concentrações de 0,1; 0,25; 0,5 e 1 UE/mL. Os percentuais de erro de $\pm 2\%$, $\pm 4\%$ e $\pm 10\%$ foram comparados com a concentração de referência (0,5 UE/mL), e analisados pelo Student t-test ($p < 0,05$). A análise estatística mostrou que, para a endotoxina padrão e para o substrato do LAL, erro acima de 2% interfere nos resultados, cuja correção deve ser feita pelo ajuste do volume na pipeta. Nenhum erro testado causou interferência estatisticamente significativa na reação da cor do substrato. Micropipetas com erro superior a $\pm 2\%$ devem ser corrigidas.

Palavras-chave. ISO 17.025, incerteza de medição, teste de LAL, erros em micropipetas.

ABSTRACT

The ISO 17025 Guidelines states that all instruments used in performing experiments must be calibrated. For micropipettes no maximum error limit has established, which makes difficult to determine as far as a micropipette can be used without interfering on the final results. The aim of this study was to determine the percentage of errors which could be accepted in the micropipettes volume without interfering on results from different steps of LAL toxicological assay. The error percentages were determined based on the information from 44 certificates of micropipettes survey. A monochannel variable volume calibrated micropipette (Eppendorf) and QCL Chromogenic LAL kit (Lonza) were employed. Endotoxin curve was plotted using 0.1, 0.25, 0.5 and 1 EU/mL concentrations. The error percentages of $\pm 2\%$, $\pm 4\%$ and $\pm 10\%$ were compared with the reference concentration (0.5 EU/mL). Results were analyzed by Student's t-Test in relation to the reference concentration ($p < 0.05$). Statistical analysis showed that the error of 2% did not interfere on standard endotoxin and LAL substrate results, but errors above this percentage caused alterations on results. Micropipette errors did not interfere on the reaction of substrate color. Errors higher than $\pm 2\%$ should be corrected by adjusting the micropipette volume.

Keywords. ISO 17025, measurement unsureness, LAL test, micropipette error.

INTRODUÇÃO

Todos os produtos injetáveis de uso humano que se encontram no mercado devem ser livres de pirogênio. A contaminação desses produtos é considerada um grave problema de saúde pública, porque pode causar febre ou alterações vasculares que podem levar o paciente ao óbito¹. A legislação nacional preconiza como testes de segurança para a detecção de pirogênios o teste em coelhos e o Teste de Endotoxina Bacteriana, também conhecido como Lisado de Amébocito de *Limulus* (LAL)^{2,3}.

Internacionalmente o processo de padronização das atividades dos laboratórios de ensaio e calibração teve início com a publicação da ISO/IEC Guia 25 em 1978, com exceção da Europa em que vigorava a EM 45001⁴.

Para suprir algumas lacunas não contempladas nas normas anteriores, como por exemplo, a rastreabilidade de medições e o uso de meios eletrônicos, a ISO iniciou em 1995 os trabalhos de revisão do Guia 25, do qual resultou a norma ISO/IEC 17025:1999, publicada em 2000. Essa norma cancelou e substituiu o Guia 25 e a EM 45.001 de modo a harmonizar o conteúdo com textos idênticos em nível internacional e regional, além de haver uma convergência completa com os requisitos das ISO 9001 e 9002. No Brasil, foi publicada pela ABNT como NBR ISO/IEC 17.025:2001, tendo sua última revisão em 2005 com o objetivo de alinhar a ISO/IEC 17.025 à nova ISO 9001:2000⁴.

A ISO 17.025:2005 “Requisitos Gerais para a Competência dos Laboratórios de Testes e Calibração” é um padrão internacional que indica que os laboratórios de testes e de calibração operam um sistema de qualidade e são tecnicamente capacitados⁴.

O credenciamento na norma demonstra oficialmente que os resultados dos testes e da calibração são tecnicamente válidos e, portanto, todo material usado em experimento que envolva unidades de medida deve estar calibrado, de forma a garantir a qualidade dos resultados obtidos⁵.

As micropipetas são instrumentos volumétricos utilizados para a medição de um determinado volume de líquido quando são necessários valores na ordem dos microlitros. São instrumentos de medição muito importantes em áreas como a química, biologia, saúde, farmácia e genética, que trabalham com o doseamento volumétrico em pequena escala.

A ISO 17.025:2005 no seu item 5.10 define que o resultado das calibrações realizadas pelo laboratório deve ser relatado com exatidão, clareza e objetividade

na forma de um relatório ou certificado de calibração. Esses certificados devem incluir as condições que possam ter influência nos resultados da medição, a incerteza e evidência de que as medições são rastreáveis. Dessa forma, as micropipetas utilizadas nas diluições e demais dosagens são calibradas pelos Laboratórios da Rede Brasileira de Calibração (RBC), os quais fornecem um certificado em que constam os erros para cada volume medido. Esse erro é sistemático e definido como sendo a diferença entre o valor medido e o valor nominal⁵.

A calibração de micropipetas é de grande importância para os testes analíticos, uma vez que permite verificar os erros e incertezas associados ao material utilizado de modo a ajustar o volume mais exato possível. No entanto, em algumas situações, esses erros são demasiadamente altos. Uma vez que não existe um parâmetro definido que fixe um limite máximo de erro, fica muito difícil para o experimentador avaliar até que ponto a micropipeta pode continuar a ser usada sem interferir no experimento.

Muitos ensaios biológicos são baseados na detecção de substâncias, cuja quantificação precisa ser confiável. Considerando a dificuldade em se estabelecer a incerteza desse tipo de ensaio, é necessário diminuir ao máximo os fatores que possam interferir nessa incerteza, entre eles, os decorrentes de erros das micropipetas utilizadas nas diversas etapas do ensaio^{6,7}.

O teste de endotoxina bacteriana (método cromogênico) é um ensaio toxicológico quantitativo utilizado para a detecção de endotoxinas de bactéria Gram-negativa. Esse método utiliza o Lisado de Amébocitos de *Limulus* (LAL) modificado e um substrato produtor de cor sintética para detectar endotoxinas. Por esse método, uma amostra é misturada com o LAL, incubada e interrompida com um reagente de parada. Se houver endotoxina, ela apresentará uma coloração amarela determinada por espectrofotometria a 405-410nm. Uma vez que essa absorvência é diretamente proporcional à quantidade de endotoxina presente, a concentração de endotoxina pode ser calculada a partir de uma curva-padrão. Dessa forma, qualquer alteração no volume da amostra ou de um dos reagentes utilizados pode ser considerada como um ponto crítico na confiabilidade dos resultados e gerar resultados falso-positivos ou falso-negativos.

O presente estudo visa determinar o limite máximo do percentual de erro no volume da micropipeta a ser aceito que não interfira nos resultados das diferentes

etapas do LAL, sugerindo que a partir desse limite, a micropipeta seja considerada imprópria para esse ensaio (ou descartada).

MATERIAL E MÉTODOS

Micropipeta

Durante todos os experimentos, foi utilizada a mesma micropipeta, monocanal, de volume variável (200 a 1000 μ L), Eppendorf, calibrada com certificado emitido por laboratório da Rede Brasileira de Calibração, sem erro significativo nos volumes testados. O volume foi alterado de forma a mimetizar os erros a serem estudados (erro induzido).

Reagentes

Para a determinação dos erros induzidos foi realizada uma curva inicial utilizando o corante Vermelho Neutro (Sigma) e para os experimentos com o Teste de Endotoxina Bacteriana, foi utilizado o *kit* Lisado de Amebócitos de *Limulus* (LAL Cromogênio QCL-1.000 Lonza).

Escolha dos percentuais de erro

Os percentuais de erro foram obtidos por meio do levantamento em certificados de calibração de 44 micropipetas mono e multicanais do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do INCQS.

Curva do Vermelho Neutro

Foi colocada em microtubos solução estoque de Vermelho Neutro (Sigma) a 0,04% cujos volumes continham erros induzidos de $\pm 1\%$, $\pm 2\%$, $\pm 5\%$, $\pm 10\%$ e $\pm 20\%$. Foi adicionada em cada microtubo, água destilada suficiente para completar o volume total de 1 mL. Também foi utilizada uma solução controle em que nenhum percentual de erro foi gerado. Após a diluição, 100 μ L de cada solução foram transferidos para uma microplaca de 96 poços e a leitura realizada em 540 nm na leitora de microplacas (VersaMax®, Molecular Devices). A curva do Vermelho Neutro foi realizada somente como um estudo piloto, visando verificar a influência do erro na micropipeta, antes de estudar de forma aplicada no Teste de Endotoxina Bacteriana.

Teste de endotoxina bacteriana

O teste foi realizado conforme descrito no *kit*, variando-se o volume das soluções aplicadas em três etapas

distintas do método: endotoxina padrão (Etapa1), substrato do LAL (Etapa 2) e substrato de cor (Etapa 3). A solução de parada não foi alterada em nenhum dos grupos (Quadro 1).

Quadro 1. Esquema de alteração (indução de erro) dos reagentes do kit de LAL cromogênico (QCL-1000, Lonza)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Padrão	altera	fixo	fixo
Substrato LAL	fixo	altera	fixo
Substrato de cor	fixo	fixo	altera
Sol. Parada	fixo	fixo	fixo

A curva de endotoxina foi construída nas concentrações de 0,1 UE/mL, 0,25 UE/mL, 0,5 UE/mL e 1,0 UE/mL.

A concentração de 0,5 UE/mL foi usada também como referência, representando 100% da presença dos reagentes (erro 0), para a comparação com as soluções em que o erro foi induzido. Nos demais pontos, excetuando-se a curva, os volumes de cada reagente foram alterados, de modo a gerar os erros da micropipeta. Em função da limitação de ajuste do volume da micropipeta, somente os erros induzidos de $\pm 2\%$, $\pm 4\%$ e $\pm 10\%$, além da concentração de referência, foram estudados.

Análise Estatística

Na curva de Vermelho Neutro foram realizados oito poços para cada erro gerado e foram realizadas cinco repetições, enquanto que no teste de endotoxina bacteriana, cada erro induzido foi realizado em somente quatro poços, com três repetições, em função do custo do *kit*. Os resultados foram analisados por meio do teste t-Student não pareado, em planilha MS Excel®, comparando-se cada grupo correspondente ao erro induzido com o grupo controle. Foram consideradas diferenças significativas se o valor-p for menor que 0,05.

RESULTADOS

O levantamento dos certificados de calibração demonstrou que 43 micropipetas apresentavam erros na faixa entre -2% até +3%, sendo que, em um caso, foi encontrado um erro de -10,6%. Diante desses dados, foram selecionados os erros de $\pm 1\%$, $\pm 2\%$, $\pm 4\%$, $\pm 5\%$, $\pm 10\%$ e $\pm 20\%$, procurando abranger não só os percentuais encontrados, bem como erros superiores com a finalidade de verificar os limites de aceitabilidade dos mesmos.

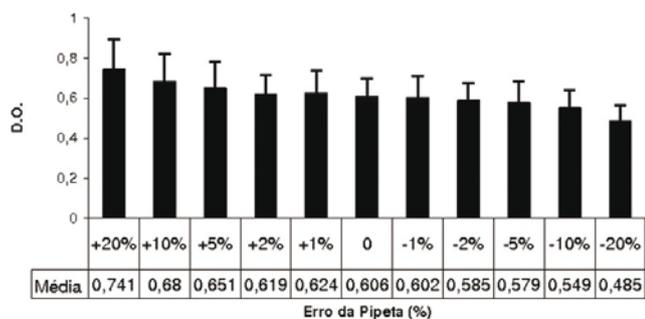


Figura 1. Perfil da curva de Vermelho Neutro em função dos erros induzidos, n=5 (média ± erro padrão)

A curva do Vermelho Neutro mostrou que os erros de +1%, -1% e +2% foram considerados não-significativos em relação ao ponto central (controle), ao passo que os erros de -2%, +5%, -5%, +10%, -10%, +20% e -20%, mostraram ser significativos (Figura 1).

Na Etapa 1 do teste de endotoxinas, na qual variou-se o volume do padrão de endotoxina, o perfil da curva mostrou-se coerente com o erro induzido, apresentando uma relação dependente entre a quantidade de endotoxina maior ou menor, em comparação com a concentração de referência, ou seja, com 0% de erro (Figura 2).

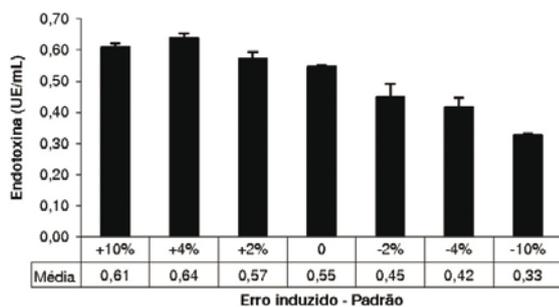


Figura 2. Resultado do teste de LAL, simulando diferentes erros quando da aplicação do padrão de endotoxina, n=3 (média ± erro padrão)

A análise estatística mostrou que erros até ±2% não alteraram o resultado, enquanto que os erros de ±4% e ±10% apresentaram diferença significativa (Tabela 1).

Na Etapa 2, na qual o erro foi induzido na adição do substrato LAL, os valores de recuperação da endotoxina em relação à concentração de referência também demonstraram diferenças significativas com os erros de ±4% e ±10% (Figura 3).

Tabela 1. Valores de p obtidos no teste t-Student para cada erro no Teste de LAL, n=3

	Padrão	Subst. LAL	Subst. Cor
10%	0,00218**	0,00304**	0,08996+
+4%	0,00028**	0,00637**	0,06644+
+2%	0,30011+	0,14204+	0,07013+
0	-	-	-
-2%	0,06041+	0,17291+	0,92959+
-4%	0,00396**	0,04739*	0,37989+
-10%	4,885x10 ⁻⁷ **	0,01825*	0,99721+

+ Não significativo; * significativo $\alpha=0,05$; ** significativo $\alpha=0,01$

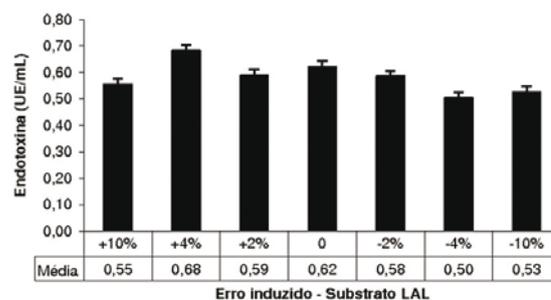


Figura 3. Resultado do teste de LAL, simulando diferentes erros quando da aplicação do substrato de LAL, n=3 (média ± erro padrão)

Foi encontrada uma redução na dosagem de endotoxina para o erro induzido de +10% nas Etapas 1 e 2. Tal fato precisará ser melhor investigado, uma vez que esperava-se um valor igual ou superior ao encontrado para o erro de 4%. A análise estatística mostrou que erros até ±2% não alteraram o resultado, enquanto que os erros de ±4% e ±10% apresentaram diferença significativa (Tabela 1).

Na Etapa 3, em que induziu-se o erro no substrato de cor, a resposta da quantificação de endotoxinas permaneceu inalterada, demonstrando que erros até ±10% não interferem nesse reagente do kit. Não houve, portanto, diferença significativa entre os valores encontrados com os erros induzidos, quando comparado com a concentração de referência.

DISCUSSÃO

O erro nos volumes pipetados é uma importante fonte de incerteza e, por isso deve ser considerado nos resultados das análises.

A correção do erro em micropipetas nem sempre é possível de ser realizada pelo técnico no momento

do ensaio. As de volume fixo, como o nome já diz, não permitem variar o volume e nas multicanais, qualquer ajuste feito incidirá sobre todos os canais e não apenas naquele que apresentou a variação. Nesse caso, as opções seriam a de não utilizar o canal que apresenta um erro maior que 2%. No caso de micropipetas monocanais de volume variável a correção pode ser realizada por meio da alteração do volume para mais ou para menos, conforme indicação do erro no certificado.

Cabe ressaltar, que os resultados alcançados neste estudo estão relacionados aos ensaios e condições avaliados e devem ser realizados para cada tipo de análise. Deve ser levada em consideração, portanto, uma possível variação significativa em uma ou mais etapas, ou, até mesmo, um problema do erro cumulativo ao longo das diferentes etapas de uma dosagem.

Em todas as repetições realizadas alterando o volume da endotoxina e do substrato LAL, a indução do erro de +10% resultou em valor abaixo do padrão, o que não condiz com o esperado. Isso pode significar que a disponibilidade aumentada de cada um desses reagentes na reação iniba de algum modo à formação do complexo reativo quantificado na absorvência. Outros estudos devem ser conduzidos sobre a ligação endotoxina/substrato LAL para verificar a real influência do erro da micropipeta nesse parâmetro.

Uma possível justificativa para que a influência do erro não tenha sido significativa para o substrato de cor pode residir no fato de que a quantidade desse substrato na solução tenha sido suficiente para se acoplar a qualquer quantidade do complexo endotoxina/LAL.

CONCLUSÃO

No teste do LAL, o erro da micropipeta interferiu quando foram alterados os volumes do padrão de endotoxina (que na prática laboratorial representa a amostra-teste) e do substrato de LAL. Isso pode ser explicado pelo fato de que o desfecho avaliado pela absorvência é a quantificação do complexo reativo formado pela ligação direta da endotoxina com o substrato. Desse modo, a quantidade deste complexo é diretamente proporcional à quantidade maior ou menor desses reagentes disponíveis na reação. A redução na dosagem de endotoxina observada no erro de +10% quando da alteração da solução de referência e do substrato do LAL precisa ser melhor investigada.

Erros superiores a $\pm 2\%$ devem ser corrigidos. Essa correção deverá ser realizada por meio da alteração do volume ajustado na micropipeta monocanal de volume variável, por ocasião da realização dos ensaios estudados. Micropipetas monocanais de volume fixo e multicanais que apresentarem um percentual de erro superior a $\pm 2\%$ não devem ser utilizadas no ensaio. A não correção dos erros pode alterar os resultados de ensaios analíticos, comprometendo a confiabilidade dos mesmos.

Os resultados encontrados limitam-se à aplicação para o teste de endotoxina bacteriana (teste de LAL), devendo ser efetuado estudo semelhante para cada teste ou ensaio específico, com a finalidade de se verificar a influência ou não do erro das micropipetas.

REFERÊNCIAS

1. Schindler S, von Aulock S, Daneshian M, Hartung T. Development, validation and applications of the Monocyte Activation Test for pyrogens based on human whole blood. *ALTEX*. 2009;26:265-77.
2. Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. Parte II. Fascículo 5. São Paulo: Atheneu; 2003. Teste de Pirogênio. v.5.1.2.
3. Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. Parte II. Fascículo 1. São Paulo: Atheneu; 1996. Endotoxinas Bacterianas; v.5.1.9.
4. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 17025: 2005. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); 2005.
5. Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde - INCQS (BR). Métodos de Ensaio e Calibração e Validação de Métodos do Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); 2009.
6. Morel P, Arruda TL, Bohrer-Morel MBC. Calculation of uncertainties in influence quantities in biological essays. *Braz Arch Biol Technol*. 2006;49:97-9.
7. Lourenço FR, Kaneko TM, Pinto TJA. Estimativa da incerteza em ensaio de detecção de endotoxina bacteriana pelo método de gelificação. *Rev Bras Ciênc Farm*. 2005;41(4):437-43.

Avaliação de um Sistema de Banco de Dados para Coleção de Fungos de Referência

Evaluation of a Database System for Reference Fungi Collection

RIALA6/1388

Miguel Madi FIALHO^{1*}, Marília Martins NISHIKAWA¹, Paola CARDARELLI-LEITE²

*Endereço para correspondência: ¹ Setor de Fungos de Referência, Departamento de Microbiologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Avenida Brasil, 4.365, CEP:21040-950, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, e-mail: miguel.fialho@incqs.fiocruz.br

² Setor de Biologia Molecular, Departamento de Microbiologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, -FIOCRUZ
Recebido: 30.11.2010 – Aceito para publicação: 23.08.2011

RESUMO

De acordo com o *Guia para Operação de Centros de Recursos Biológicos da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE)*, os Centros de Recursos Biológicos devem dispor os dados descritivos do material biológico e sua origem ao Global Biological Resource Center Network. Essa deliberação ratifica a preocupação da validação de ferramentas utilizadas no tratamento de dados pelas coleções e laboratórios prestadores de serviços no escopo indireto de suas rotinas, visando à qualidade. A avaliação do *Sistema de Banco de Dados da Coleção de Culturas de Fungos de Referência (INFOGER_FUNGOS)*, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), de acordo com a norma ISO/IEC nº 17.025:2005, estabelece um marco na qualidade e integridade das informações, economizando tempo na elaboração das estruturas do sistema permitindo ao profissional diretamente envolvido com a coleção e suas particularidades seja seu administrador. Este trabalho teve como objetivo demonstrar um método de avaliação de um sistema de gerenciamento de dados no cumprimento de sua finalidade atingindo níveis de qualidade satisfatórios. Ele servirá de modelo para avaliações de sistemas utilizados em coleções de micro-organismos dentro das normas da Qualidade e Acreditação de seus serviços e produtos, e colaborar no estabelecimento de padrão de dados baseado em experiências brasileiras, adaptado e estendido a modelos existentes.

Palavras-chave. Sistema de Banco de Dados, fungos, coleção de culturas, ISO/IEC 17.025:2005.

ABSTRACT

According to the Guidelines for Operation of Biological Resource Centres, the Biological Resource Centres must provide data for describing the biological material and its origin to the Global Biological Resource Centre Network. This statement confirms the concern on validating the tools used for data processing by the collections and laboratory service providers at an indirect scope of their routine, aiming at quality. Evaluation of the Database System of *Reference Fungi Culture Collection (INFOGER_FUNGOS)* of the National Institute for Quality Control in Health, according to paragraph 5.4.5.1 of the standard ISO/IEC 17.025:2005 settles a landmark in quality and integrity of information created, because time savings in establishing the system structure capacitates the professional directly involved in collection and its special features to be its administrator. This study aimed at describing a methodology for evaluating a data management system to fulfill its purpose by user and achieving satisfactory quality. This will be a model for assessing systems employed in microorganisms' collections which is required to run a system for recording data within the quality and accreditation norms of its services and products, and to cooperate in establishing a data pattern based on Brazilian experience, adapted and extended to the existing models.

Keywords. Database System, fungi, culture collection, ISO/IEC 17.025:2005.

INTRODUÇÃO

Coleções de culturas

A busca pela autossuficiência nacional em materiais de referência e as dificuldades para aquisição desses insumos no mercado internacional, devido aos altos custos e a morosidade nos trâmites para sua importação, levaram o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), em 1983, a definir como uma de suas estratégias a produção e o fornecimento de micro-organismos de referência utilizada em ensaios de controle da qualidade de produtos de acordo com metodologias preconizadas pela farmacopeia brasileira, compêndios oficiais e pela literatura internacional. Eles são cada vez mais exigidos nas áreas da saúde e da biotecnologia.

A *Coleção de Culturas de Micro-organismos de Referência do INCQS* é registrada no World Federation for Culture Collections (WFCC), sob o número INCQS 575. Tem em seu acervo representante dos três domínios taxonômicos que compõem a árvore filogenética atual: *Bacteria*, *Eucarya* e *Archaea*. Além das linhagens de referência, o INCQS mantém uma *Coleção de Micro-organismos de Interesse em Saúde Pública e Biotecnologia – Coleção de Pesquisa* constituída por isolados de amostras clínicas e ambientais, destinados ao desenvolvimento de projetos de pesquisa visando estudos taxonômicos, epidemiológicos e ambientais entre outros, advindos da colaboração entre o INCQS e outras instituições que depositam tais micro-organismos na coleção de culturas.

Como exemplo, o Serviço de Micologia Médica do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas (IPEC), que vem trabalhando em colaboração com a *Coleção de Fungos de Referência do INCQS* desde 1987, tendo como resultado a publicação de vários trabalhos científicos por meio dessa parceria e gerando um acervo de aproximadamente mil linhagens de *Cryptococcus neoformans*. Atualmente a coleção disponibiliza também o DNA genômico de algumas linhagens, em função da utilização de metodologias envolvendo a biologia molecular¹.

As linhagens mantidas e distribuídas pela *Coleção de Culturas de Fungos de Referência do INCQS* utiliza como método de preservação a liofilização e a criogenia, utilizando criotubos com “Skin Milk” 10% estéril como agente crioprotetor para o congelamento a -20 °C e glicerol 15% para congelamento a -70 °C². Essas linhagens são identificadas pela utilização integrada dos caracteres fenotípicos e genotípicos, taxonomia polifásica, o que torna mais precisa a certificação desses micro-organismos.

De acordo com o *Guia para Operação de Centros de Recursos Biológicos da OCDE (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico)*, os Centros de Recursos Biológicos (CRB) devem disponibilizar dados descrevendo o material biológico e sua origem ao Global Biological Resource Center Network (GBRCN)³, ratificando a preocupação da validação de ferramentas utilizadas no tratamento de dados pelas coleções e laboratórios prestadores de serviços no escopo indireto de suas rotinas, tendo como finalidade única a qualidade e considerando a grande evolução da biotecnologia e bioeconomia na década de 1990, em 1999, a Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) organizou um grupo de trabalho (Fase 1: 1999-2001)⁴, para discutir os desafios e as oportunidades associadas ao estabelecimento de uma Rede Global de Centros de Recursos Biológicos a ser consolidada a partir de coleções de serviço credenciadas.

Esse esforço resultou na publicação do documento “Biological Resource Centers: underpinning the future of life sciences and biotechnology”, que recomenda a criação de uma Rede Global de Centros de Recursos Biológicos, a ser construída a partir das competências existentes. A definição da estratégia de implementação da Rede Global de CRB foi objeto de estudo de um novo grupo de trabalho estabelecido no âmbito do *Programa de Biotecnologia da OCDE (Fase 2: 2002-2004)* que gerou o *Certificado e Critério de Qualidade para Centros de Recursos Biológicos (CERTIFICATION AND QUALITY CRITERIA FOR BIOLOGICAL RESOURCE CENTRES)*⁵.

Nessa segunda fase da iniciativa da OCDE os esforços foram concentrados na discussão e definição de critérios de acreditação de acordo com normas internacionalmente aceitas, nos critérios de qualidade e nos padrões de operação de centros de recursos biológicos e na abordagem de questões associadas à biossegurança e harmonização do marco legal⁶.

No Brasil, o Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), por intermédio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) selecionou propostas de instituições que detenham coleções de serviços de referência, em especial, coleções de culturas de micro-organismos e células, para atuarem como Centros de Recursos Biológicos (CRBs), com ações de implantação do sistema de qualidade que atenda aos critérios internacionalmente aceitos para integrar a Rede Brasileira de CRBs⁷. A partir desses indicativos, deve haver a busca na conformidade dentro das normas da qualidade aliada a um *software* que garanta domínio dos dados.

Além de garantir a autenticidade do material biológico, desde a sua aquisição até o fornecimento, é fundamental que os requisitos da qualidade como a capacidade técnica do corpo de servidores envolvidos no gerenciamento dos dados gerados, rastreabilidade e segurança sejam atendidos⁸. Como garantia de origem do material de referência inclui-se a guarda de toda documentação referente à aquisição e/ou depósito de um micro-organismo que passará a fazer parte do acervo, a manutenção das linhagens na segurança da estocagem sem riscos ao material e meio ambiente.

O material biológico das coleções é matéria-prima para a obtenção dos mais variados produtos biotecnológicos incluindo fármacos, alimentos, bebidas alcoólicas e ácidos orgânicos. São também utilizados no saneamento ambiental, notadamente nas práticas avançadas de biorremediação de resíduos tóxicos. Na agricultura, os micro-organismos são importantes na fixação biológica do nitrogênio e no controle biológico de pragas. Culturas puras obtidas de coleções de referência são utilizadas em atividades de ensino, estudos taxonômicos, identificação de patógenos e testes de controle da qualidade de produtos e materiais. O material biológico conservado por métodos adequados em coleções de culturas tem uma ampla gama de aplicações nas áreas de saúde, agropecuária, na indústria e no meio ambiente. A estimativa do mercado global para produtos derivados de recursos genéticos nas áreas de fármacos, fitofármacos, agricultura e outras aplicações biotecnológicas se situa na faixa de US\$ 500 bilhões a US\$ 800 bilhões por ano⁶.

O primeiro passo para a preservação de uma linhagem adquirida é dispor de um sistema de protocolo documental para fins de registro do micro-organismo. A preservação do atestado documental de entrada na coleção deve atender às normas da qualidade para que assegurem sua autenticidade de origem.

A documentação original como nota fiscal de compra, guia de remessa de importação, protocolo de processo de importação, ficha de depósito em formulário específico, todos devem ser arquivados em local físico e, se possível, em banco de dados textual, tanto em meio impresso quanto na forma eletrônica e estarem acessíveis para consulta e comprovação. Deve-se levar em conta não só os cuidados com a preservação dos micro-organismos, mas também todos os dados relacionados ao histórico pré e pós-depósito ou aquisição.

O uso de ferramentas informatizadas não só facilita e agiliza, mas é indispensável para a manutenção dos dados referentes à preservação de cada linhagem, localização,

emissão de relatórios e informes técnicos, levantamento de estoque, agilidade no fornecimento e na rastreabilidade de todo processo produtivo dentro das normas da qualidade.

Os CRBs deverão ainda produzir e armazenar dados eletrônicos e catálogos baseados em informações validadas. Os dados gerados devem ser conservados para rastreabilidade em conformidade com as leis, regulamentos e políticas nacionais.

Os depositários são responsáveis por assegurar a qualidade dos dados associados com o material biológico. O CRB pode exigir evidências para assegurar a validade dos dados, que poderão servir como subsídio para elaboração de guia de validação de banco de dados de outras coleções voltadas para a biodiversidade e para a melhoria das informações, ligadas direta ou indiretamente a Global Biodiversity Information Facility (GBIF)⁶.

Os *Materiais Microbiológicos de Referência do INCQS* são fornecidos para a indústria farmacêutica no controle dos mais diversos itens da produção, como controle de áreas limpas, eficácia de meios de cultivo e antifúngicos. Na área de pesquisa, instituições de ensino tanto públicas com privadas recorrem ao acervo do INCQS para suas pesquisas, teses de mestrado e doutorado.

A disponibilidade de catálogo atualizado é uma das ferramentas que o sistema *INFOGER_FUNGOS* de gerenciamento de dados oferece a imediata geração do catálogo das linhagens disponíveis da coleção. Parece a princípio uma ferramenta simples, mas possui grande relevância do ponto de vista institucional se levarmos em conta que a geração de informação de qualidade é um dos requisitos principais de um produto de referência.

Esse recurso pode ser medido por meio da divulgação da World Data Center for Microorganisms (WDCM), que disponibiliza dados das coleções registradas na WFCC e pelo demonstrativo que mostra que ano a ano vem crescendo o número de coleções registradas. No entanto, o crescimento dos catálogos disponibilizados não acompanha o número de novas coleções registradas.

A Norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025:2005

A norma estabelece que seja validado o *software* comercial por meio do item: 5.4.7.2a: “o *software* de computador desenvolvido pelo usuário esteja documentado em detalhes suficientes e apropriadamente validado, como adequado para uso”. Esse item da norma indica ainda que possam ser considerados suficientemente validados os *softwares* comerciais de prateleira (por exemplo: processadores de texto, banco

de dados e programas de estatística) utilizados em aplicações de cunho geral, dentro do campo de aplicações para o qual foram projetados. No entanto, convém que as configurações e modificações feitas nesses *softwares* sejam validadas⁹.

Partindo da definição do item 5.4.5.1 da norma, em que “validação é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos”, essa avaliação foi utilizada como ferramenta acessória na validação do Sistema de Banco de Dados da *Coleção de Culturas de Fungos de Referência do INCQS*, estabelecendo um marco na qualidade e integridade das informações geradas. Como vantagem na utilização de um *software* de prateleira, temos a economia de tempo na elaboração das estruturas do sistema permitindo que o profissional diretamente envolvido com a coleção seja o administrador do sistema.

Com base nesse item da norma, a *Coleção de Fungos de Referência do INCQS*, que já utiliza esse *software* há 10 anos, avaliou o sistema com fundamentos de estabilidade, praticidade e segurança, comprovando por meio de trabalho colaborativo com mais três laboratórios, sendo duas coleções de fungos e um laboratório de produção de linhagens de células para controle de qualidade em saúde.

MATERIAL E METODOS

Problema

Para fins de complementação na validação do Sistema de Gerenciamento de Bancos de Dados da *Coleção de Fungos de Referência do INCQS*, fazia-se necessária uma avaliação externa do sistema por um número maior de usuários. As diretrizes da pesquisa teriam de ser baseadas em normas de qualidade e tornar claro aos usuários entrevistados após a fase de testes que a avaliação seria referente ao sistema e ao ambiente, ou seja, interface do usuário. Para solução, foi proposta a instalação do sistema em outras coleções com perfil semelhante, com assinatura de termo de compromisso de uso.

Hipótese

Poderia ocorrer a incompatibilidade de configuração dos equipamentos a serem utilizados, versão do sistema operacional, versão do pacote do *software* utilizado, sistema de segurança de guarda de dados, inclui-se também a dificuldade de inteligibilidade e usabilidade do

usuário levando-se em conta que as coleções não possuem funcionários voltados para área computacional.

Estudo de caso

Após o período de instalação, importação de dados, adequação do sistema a realidade de cada coleção e treinamento de pessoal autorizado a operar os sistemas chamados de “usuários”. Os usuários passaram por um período de adaptação e utilização com pleno uso em suas atividades para posteriormente avaliarem o sistema na qualidade em uso. Os usuários mais avançados¹⁰ colaboraram com o instrumento de avaliação na qualidade externa e interna por meio de questionário acompanhado (Figuras 1 e 2). Com isso o universo de usuários proporcionou uma diversidade de visão nas avaliações possibilitando a tabulação de resultados numéricos.

Software utilizado

De acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 25.051:2008, item 4 - “Termos e Definições”: “produto de *software* comercial de prateleira, COTS, *software* comercial de prateleira definido por uma necessidade de mercado, comercialmente disponível, cuja adequação para uso foi demonstrada por um grande número de usuários comerciais”¹¹, ou mais simplesmente definido em “Processo e ciclo de vida de *software*” como: “produto já desenvolvido e disponível”¹². A *Coleção de Fungos de Referência do INCQS* utiliza Microsoft Access 2000 sendo a quinta versão completa do produto desde seu lançamento em 1992, com mais de 75 milhões de cópias em todas as versões até 2001, conferindo assim o título de banco de dados mais popular em todo mundo¹³.

O controle documental da *Coleção de Fungos de Referência do INCQS* utiliza o Sistema Operacional Windows XP e o Banco de Dados MSAccess, incluso no pacote Office 2000.

Trabalho Colaborativo

Com a finalidade de avaliar externamente o Sistema de Gerenciamento de Dados, decidiu-se por aplicar o *INFOGER_FUNGOS* em mais três coleções, que foram denominados colaboradores. A escolha dos colaboradores obedece a uma amostra de usuário que deve apresentar o mesmo perfil da população alvo do sistema, nos aspectos de formação, competência e experiência dos usuários; perfil da utilização do sistema – funções de maior impacto em seu trabalho; ambiente operacional – suporte, tanto operacional, ou seja: equipamento e *software* em versão

compatível quanto em treinamento, que nesse caso foi executado durante o trabalho de instalação e adequação do sistema; elementos da tarefa - amostra do resultado final do trabalho que disponham de elementos como nome de departamentos, chefia, e pessoal autorizado a operar o sistema. Assim foram contatados os três colaboradores de forma que não houvesse necessidade

de grandes modificações no SGBD da *Coleção de Fungos de Referência do INCQS*, para atender às especificações de utilização de cada colaborador sem que isso interferisse na estrutura básica do sistema. O colaborador pode testar seu desempenho, que compreendeu inclusive os itens de segurança, ergonomia e rastreabilidade¹⁴. A contrapartida para os colaboradores seria a possibilidade de obtenção

		SUBCARACTERÍSTICAS	SATISFATÓRIO			INSATISFATÓRIO			NÃO SE APLICA
			3	2	1	3	2	1	
Parte 1	Funcionalidade	Adequação							x
		Acurácia							
		Interoperabilidade							
		Segurança de acesso							
		Conformidade relacionada à funcionalidade							
	Confiabilidade	Maturidade							
		Tolerância a falhas							
		Recuperabilidade							
		Conformidade relacionada à confiabilidade							
	Eficiência	Comportamento em relação ao tempo							
		Utilização de recursos							
		Conformidade relacionada à eficiência							
	Manutenibilidade	Analisabilidade							
		Modificabilidade							
		Estabilidade							
		Testabilidade							
		Conformidade relacionada à manutenibilidade							
	Portabilidade	Adaptabilidade							
		Capacidade para ser instalado							
Coexistência									
Capacidade para substituir									
Conformidade relacionada à portabilidade									

		SUBCARACTERÍSTICAS	SATISFATÓRIO			REGULAR			INSATISFATÓRIO			NÃO SE APLICA
			3	2	1	3	2	1	3	2	1	
Parte 1	Usabilidade	Inteligibilidade										
		Apreensibilidade										
		Operacionalidade										
		Atratividade										
		Conformidade relacionada à usabilidade										

Figura 1. Formulário para avaliação baseado no modelo de qualidade para qualidade externa e interna. NBR ISO/IEC 9126-1:2003 – “Engenharia de Software Qualidade de produto, Parte 1: Modelo de qualidade”

	Modelo de qualidade para qualidade em uso	CARACTERÍSTICAS	SATISFATÓRIO			REGULAR			INSATISFATÓRIO			NÃO SE APLICA
			3	2	1	3	2	1	3	2	1	
Parte 2		Eficácia										
		Produtividade										
		Segurança										
		Satisfação										

Figura 2. Formulário para avaliação baseado no modelo de qualidade para qualidade em uso. NBR ISO/IEC 9126-1:2003 – “Engenharia de Software Qualidade de produto, Parte 1: Modelo de qualidade”

de um sistema e gerenciamento de sua coleção a partir de um banco de dados elaborado de forma a atender às necessidades de uma coleção de micro-organismos voltada para gerenciamento do laboratório nos aspectos da qualidade, pois essas coleções constavam como repositório de dados planilhas em MS Excel.

O Quadro 1 representa os colaboradores: duas *Coleções de Fungos de Referência* e o Laboratório de Cultura de Células do INCQS. Além de testar o SGBD durante o período de implantação do sistema, os usuários foram treinados para seu uso e atuaram como avaliadores a partir de diretrizes da qualidade nos requisitos de segurança, estabilidade, funcionalidade, praticidade e usabilidade com base nas normas ABNT NBR ISO/IEC 9.126-1:2003 – “Engenharia de *Software* Qualidade de produto”¹⁵; ABNT NBR ISO/IEC 14.598-1:2001 – “Tecnologia de informação – Avaliação de produto de *software* – Parte 1: Visão geral”; ABNT NBR ISO/IEC 14.598-5:2001- “Tecnologia de informação – Avaliação de produto de *software* – Parte 5: Processo para avaliadores” e ABNT NBR ISO/IEC 25.051:2008 – “ENGENHARIA DE SOFTWARE – Requisitos e avaliação da qualidade de produto de *software* (SquaRE) e Requisitos de qualidade de produto de *software* comercial de prateleira (COTS) e instruções para testes”.

Também foi necessária a elaboração de um termo de compromisso, entre os colaboradores e o administrador do sistema, para garantir o sigilo das informações pertinentes à estrutura do sistema de gerenciamento e informações sensíveis da coleção durante e após a sua implementação. A etapa de validação teve seu início logo após a otimização do Banco de Dados da Coleção de Fungos e, ao longo de seis meses, o sistema foi instalado e adaptado às necessidades das três coleções e verificada a sua completa utilização.

A ABNT NBR ISO/IEC 9.126-1:2003 recomenda que para avaliação de qualidade de um produto de *software* sejam definidas metas de qualidade final e intermediário e decomposta hierarquicamente em um modelo de características e subcaracterísticas, as quais podem ser usadas em listas de verificação de tópicos relacionados à qualidade. Essa norma serviu como base para avaliação pelos usuários no trabalho colaborativo utilizando um formulário simplificado correspondente às atividades pretendidas¹⁵. Foram usados os modelos de qualidade externa e interna descritas nas normas ISO, conforme representação da categoria e subcategorias da Figura 1, que orienta avaliações executadas por usuários finais e DBA.

Nessa metodologia de avaliação os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de estabilidade do sistema em uso, confiabilidade dos dados depurados para relatórios, emissão de documentos oficiais em formato preconizado por procedimento operacional padrão do INCQS, cruzamentos dos dados atendendo ao maior número de itens da norma, usabilidade do sistema com outros sistemas de interface do laboratório, velocidade de resposta no controle da administração do banco de dados, segurança no controle de usuários e cópias de segurança.

Qualidade em uso

O modelo de questionário utilizado para avaliar a qualidade em uso, executada na perspectiva do usuário menos avançado, tem sua representação na Figura 2 com definições autoexplicativas. Essa visão subjetiva depende da utilização do usuário e suas metas, assim a norma ABNT NBR ISO/IEC 9.126-1:2003 define a qualidade em uso como:

“capacidade do produto de *software* de permitir que usuários especificados atinjam metas especificadas com eficácia, produtividade, segurança e satisfação”.

1 – Qualidade em uso é a visão de um ambiente contendo *software*, sob a perspectiva do usuário. É medida em termos de resultado do uso do *software* nesse ambiente e não das propriedades do próprio *software*;

2 – A definição de qualidade em uso na NBR ISO/IEC 14.598-1, ainda não inclui a nova característica “segurança”;

3 – Usabilidade é definida na ISO 9.241-11 de forma similar à definição em uso nesta parte da NBR ISO/IEC 9.126. Qualidade em uso pode ser influenciada por qualquer característica de qualidade, sendo então mais ampla que usabilidade, a qual é definida nessa parte da NBR ISO/IEC 9.126 em termos de inteligibilidade, apreensibilidade, operacionalidade, atratividade e conformidade.

RESULTADOS

Aplicação de questionário

Após o término de instalação, importação dos dados e adaptação do sistema a realidade e cada coleção colaboradora (incluindo-se período de uso e entrada de dados pelos usuários) o questionário impresso era lido e marcado por uma pessoa responsável pela tabulação os dados como metodologia utilizada por Silveira (2007), representando da mesma forma a tabulação de

resultados¹⁶. Optou-se por um modelo simplificado baseado nas qualidades descritas nas normas com item explicativo para cada questão avaliada, com resposta: “SATISFATÓRIO”, “INSATISFATÓRIO” e “NÃO SE APLICA”, com variação e 1, 2 e 3 para graus de “Satisfatório” e “Insatisfatório”. Apenas na característica de usabilidade foi incluído no questionário ao item “REGULAR” baseado em na classificação de “Usuários leigos ou não avançados” (Silberchatz, 2006)¹⁷, pela menor interatividade do usuário com a interface do sistema como um todo.

Utilizando o mesmo princípio do nível de maturidade de usabilidade de software descrito em Ponte (2008), buscou-se simplificar a métrica na avaliação dos resultados com o somatório das respostas de subcaracterísticas no valor “SATISFATÓRIO” (grau 3), obtendo-se assim o percentual de respostas por características. Esse percentual demonstrado no gráfico (Figura 3) reflete o nível de satisfatoriedade, pois ultrapassa o ponto de corte de 81% para “Ultrapassando os Requisitos” (Figura 4).

Durante o processo de instalação optou-se pelo acompanhamento e uso do sistema mesmo que em fase de teste de compatibilidade com equipamentos e versões do MS Access. A metodologia de avaliação *SGBD INFOGER_FUNGOS* da *Coleção de Fungos de Referência* baseada em normas ISO de qualidade serviu não apenas como item acessório na validação de um *software* de prateleira, mas também como uma garantia de pesquisa para evolução de sua usabilidade. Os colaboradores optaram por adotar o sistema *INFOGER_FUNGOS* como gerenciador de banco de dados das respectivas coleções, ratificando sua usabilidade e portabilidade.

No trabalho realizado com a *Coleção Micologia* de Trichocomaceae do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) da Fiocruz (colaborador 1), o sistema de *backup* implantado utiliza um *freeware software* (*software* livre) e um *hardware* de armazenamento externo no próprio laboratório, mas operando o sistema de *backup* em rede.

Esse trabalho de *backup* está relacionado à segurança dos dados de uma coleção e atende às exigências de salvaguarda de dados de acordo com o Decreto do ano 2000, que instituiu a política nacional de segurança das informações¹⁸ e com o Decreto de 29 de outubro de 2003, que institui Comitês Técnicos do Comitê Executivo do Governo Eletrônico e apresenta outras providências¹⁸, segundo o Art. 1º: “ficam instituídos Comitês Técnicos, no âmbito do Comitê Executivo do Governo Eletrônico,

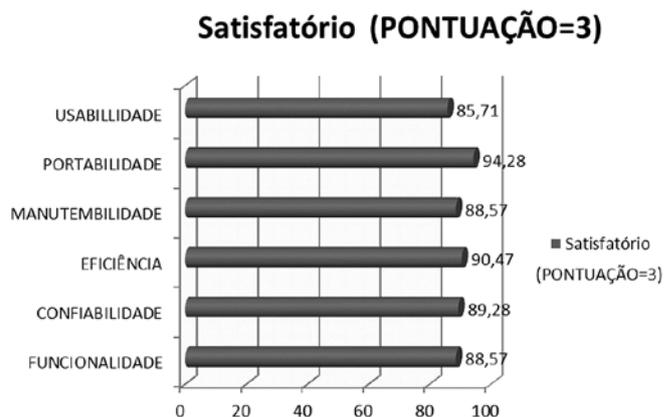


Figura 3. Gráfico representando o nível de satisfatoriedade dos usuários do INFOGER_FUNGOS

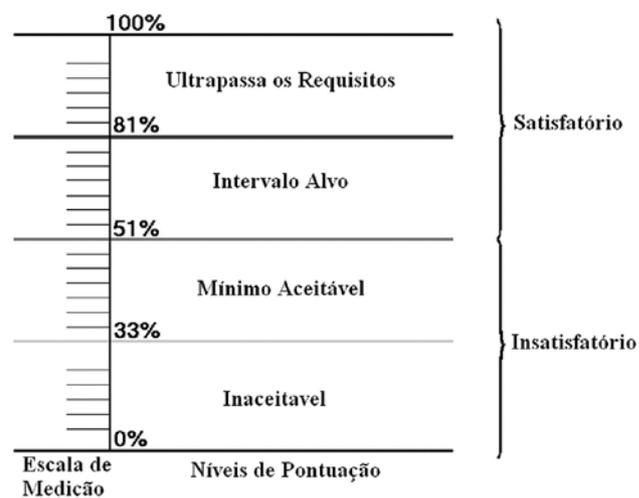


Figura 4. Nível de maturidade de usabilidade de software de acordo com Ponte¹⁹

criado pelo Decreto de 18 de outubro de 2000, com a finalidade de coordenar e articular o planejamento e a implementação de projetos e ações nas respectivas áreas de competência”.

Quanto à adequação do *SGBD INFOGER_FUNGOS*, a quantidade de arquivos criados a cada modificação gerou um *backup* de segurança, sem que houvesse a necessidade de interrupção no uso do mesmo, otimizando o tempo necessário para adaptação, que se torna bem inferior ao tempo de criação de um novo sistema de gerenciamento de dados. O período de trabalho até que o sistema estivesse totalmente operante de acordo com as necessidades específicas de cada colaborador está demonstrado no Quadro 1.

O tamanho final do *SGBD INFOGER_FUNGOS* e sua simplicidade contribuem para a confiabilidade

COLABORADOR	TIPO DE ACERVO	IMPORTAÇÃO E DADOS	VERSÃO DO SISTEMA E VERSÃO DO BD		TEMPO DE TRABALHO	LOGS DE AJUSTES	ARQUIVOS GERADOS
			SISTEMA OPERACIONAL TODOS EM REDE	VERSÃO ACCESS			
Coleção de tricomaceae (wfcc – cmt 948)	446 linhagens de fungos filamentosos	Ms access 2000	XP	2003	5 meses	15	137
Coleção de fungos patogênicos – ipec (wfcc – cfp 951)	2117 linhagens levedura	Planilha MS excel	**XP/2000/Windows 7	2003 2007	6 meses	24	1256
Laboratório de cultura de células - incqs	162 registros de linhagem celular	Planilha MS excel	2000/xp*	2000 2010	4 meses	9	28

*Devido à mudança no sistema operacional o trabalho se iniciou com o Microsoft 2000 e atualmente opera com o sistema XP sem ocasionar problema algum.

**O Sistema de Banco de Dados foi avaliado com o sistema operacional, Vista, 2000 E WINDOWS 7, para verificação da estabilidade, tendo se comportado satisfatoriamente.

Quadro 1. Apresentação dos colaboradores e os sistemas operacionais e versões que utilizam o *INFOGER_FUNGOS*

e portabilidade, otimizando o sistema de cópias de segurança, que pode ser feito manualmente, ou de forma automatizada. O setor de informática do INCQS utiliza um sistema automatizado de cópias de segurança, contanto que o arquivo esteja em diretório da rede interna, fornecendo uma garantia a mais em caso de falhas.

Direitos autorais

O *SGBD INFOGER_FUNGOS* tem sua particularidade intelectual nos relacionamentos entre aos diversos bancos de dados que compõem o sistema para o gerenciamento de um laboratório de referência ligado ao preceito da qualidade pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT - ISO/IEC 17.025:2005, que teve seu início há 10 anos, usando o mesmo *software* de construção e evoluindo para um sistema que engloba baixo custo, produtividade e qualidade. Sendo assim, em 15 de outubro de 2009 foi solicitado por meio da GESTEC, Departamento da FIOCRUZ responsável pelos processos de propriedade intelectual, a abertura de processo para registro de *software* no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), sendo encaminhados os documentos requeridos em dezembro de 2009, baseado na Lei de Direitos Autorais nº. 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, que em seu Art.5º, XIII cita que “as coletâneas ou compilações, antologias, dicionários, bases de dados e outras obras que, por sua seleção, organização ou disposição de seu conteúdo, constituem uma criação intelectual”. Mesmo assim, o direito intelectual estaria assegurado pelo disposto na Lei nº. 9.609, de 19 de fevereiro de 1998, que dispõe

sobre proteção intelectual de programa de computador, em no seu Art. 2º, § 3º: “a proteção aos direitos que trata esta Lei independe de registro”²⁰. O Decreto nº 2.556, de 20 de abril de 1998, regulamenta o registro em Art. 1º: “os programas de computador poderão, a critério do titular dos respectivos direitos, ser registrados no INPI”²⁰.

DISCUSSÃO

O crescente aumento dos registros das coleções na WFCC é o principal indicativo de interesse da comunidade científica pelos Centros de Recursos Biológicos, mas o acompanhamento dos níveis de qualidade deve ser preocupação vigente dos curadores e financiadores das coleções, por meio desse preceito a *Coleção de Fungos do INCQS* busca os maiores índices de qualidade buscando cumprir os itens da norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025:2005. Um indicativo desse crescimento é notado pelo de acompanhamento dos dados fornecidos pela World Data Center for Microorganisms (WDCM), disponível em: <http://wdcm.nig.ac.jp/statistics.html>, que divulga os quantitativos das coleções registradas com seus modelos de financiamentos e linhas de trabalho de cada coleção. Além de divulgarem a ficha de cada coleção, a coleção do INCQS tem financiamento governamental e está inserida no modelo de “coleção de serviço”. Podemos observar o crescimento dos registros de coleções em comparação com os catálogos disponibilizados eletronicamente como um déficit no sistema informatizado das coleções registradas. Dados disponibilizados de 29

de fevereiro de 2002 a 12 de julho de 2011 indicam o crescimento apresentado no registro de coleções, em que os totais de catálogos disponibilizados não acompanha o crescimento real do número de coleções, apresentando um crescimento nominal de 162 coleções, sendo apenas 60 catálogos informatizados (disponível em <http://wdcm.nig.ac.jp/statistics.html>. Acesso em: 2011 Jul 12), o catálogo informatizado gerado pelo *INFOGER_FUNGOS* possibilita agilidade nas respostas das consultas nas prestações de serviços com dados atualizados.

Por conseguinte, o *Guia de Boas Práticas para Centros de Recursos Biológicos da OCDE* salienta a necessidade da rastreabilidade nos fornecimentos, desde a transportadora responsável pelo envio, o destinatário e os dados do material enviado³, esse controle de dados oferecido pelo sistema *INFOGER_FUNGOS* fornece subsídio para um planejamento estratégico trimestral junto à instituição.

Para uma coleção de referência, o correto tratamento dos dados se reporta-se ao seu padrão externo e ao processo produtivo da coleção, demandando uma melhor organização da base técnica laboratorial, estabelecendo logística que garanta a prestação de serviços em ambiente de alta confiabilidade quanto aos quesitos de biossegurança, rastreabilidade, sigilo e proteção patentária conforme orientação apresentada para os Centros de Recursos Biológicos e a conformidade do material biológico.

Assim é imprescindível para administração de qualquer tipo de Coleção de Recursos Biológicos o controle total dos processos produtivos, desde a aquisição, triagem, produção, controle de estoque e controle de fornecimento. Uma coleção de referência para atingir o mínimo de qualidade na prestação de serviços, deve trabalhar com qualidade na organização dos dados para dispor de rastreabilidade interna e externa.

CONCLUSÃO

O Sistema de Banco de Dados implantado na *Coleção de Fungos de Referência do INCQS* possui custo relativamente baixo (Microsoft Office Access 2010 - *Full Version* - Preço médio de R\$ 257,30 em junho de 2011), se comparado aos bancos de dados de grande porte que necessitam de profissional especializado para modelagem e administração e manutenção podendo elevar esse valor a um custo 30 vezes superior. Quanto ao volume de dados suportado pelo Ms Access pode-se afirmar ser

robusto, pois a versão Ms Access 2000, segundo manual do fabricante¹³ suporta até 2GB de dados brutos e o maior acervo trabalhado, mesmo com todos os aportes de interface, não ultrapassou 10,5MB. Ou seja, 200 vezes inferior à capacidade máxima referendada em uma versão que já sofreu três novas atualizações. Nesse sistema, a manutenção é atribuída ao Administrador de Banco de Dados (ABD), que pode ser um profissional do próprio laboratório ou da unidade, bastando ter conhecimento avançado do *software*, não necessitando de contrato de manutenção, que também envolve altos custos.

O controle de cópias de segurança tornou-se mais otimizado por se tratar de um banco de dados que mantém os arquivos de dados separado do programa. Além disso, o controle de cópias de segurança está por conta da administração da rede diretamente por sistema de *backup* automatizado, respeitando às normas da qualidade. O acesso ao banco de dados restrito por senha, com a possibilidade de criptografia, permite um aumento no nível de segurança.

Seu entendimento é simples, levando-se em conta a visão do usuário quanto à necessidade dos dados a serem armazenados e da utilidade prática de respostas que o sistema oferece, podendo filtrar os dados sensíveis. Os documentos gerados, como relatórios e consultas mantêm interface com outros programas do pacote de *software* facilitando e elaboração de relatórios, projetos, protocolos, formulários e etiquetas.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Rio de Janeiro - Brasil). Atividades Institucionais: 2005-2008. *In*: Rio de Janeiro: INCQS; 2009.
2. Smith D, Onions AHS. The Preservation and Maintenance of Living Fungi (IMI Technical Handbooks nº 2). 2ª ed. UK: CAB International; 1994.
3. Organisation for Economic Co-Operation and Development, editor. Best Practice Guidelines For Biological Resource Centers: OECD; 2007. [acesso 2010 Nov 26] Disponível em: [<http://www.oecd.org/dataoecd/6/27/38778261.pdf>].
4. Organisation for Economic Co-Operation and Development, editor. Underpinning the Future of Life Sciences and Biotechnology: OECD; 2001. [acesso 2010 Nov 26]. Disponível em: [<http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264193550-en>].
5. Organisation for Economic Co-Operation and Development, editor. Forum on Knowledge Economy: Biotechnology; Guidance for The Operation of Biological Research Centres (BRCs), Part 1: General Requirements For All BRCs: OECD; 2008. [acesso 2010 Nov 26]. Disponível em: [<http://www.oecd.org/dataoecd/60/42/23547743.pdf>].

6. Canhos VP. O Papel da Sociedade Brasileira de Microbiologia no Suporte à Consolidação da Rede Brasileira de Coleções de Culturas de Micro-organismos. *Microbiol in foco*. 2007;1(2):40-8.
7. Ministério da Ciência e Tecnologia. FINEP. Seleção Pública de Instituições Interessadas em Obter Apoio Voltado à Expansão da Rede de Centros de Recursos Biológicos. Carta-Convite MCT/FINEP - Ação Transversal - TIB - Centros de Recursos Biológicos. Brasília: MCT/FINEP; 2007.
8. Anvisa. Acreditação em Laboratórios de Microbiologia. 1ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa); 2004.
9. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005, Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. 2ª ed. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); 2005.
10. Elmasri E, Navathe SB. Sistemas de Banco de Dados, Fundamentos e Aplicações. Tradução da 4ª ed. São Paulo: Pearson; 2005.
11. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 25051:2008, ENGENHARIA DE SOFTWARE - Requisitos e avaliação da qualidade de produto de *software* (SquaRE) Requisitos de qualidade de produto de *software* comercial de prateleira (COTS) e instruções para testes. 1ª ed. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); 2008.
12. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 12.207: Engenharia de Sistemas e *Software* - Processos de ciclo de vida de *software*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); 2009.
13. Viescas J. Microsoft Access 2000 - Guia Autorizado. São Paulo: Makron Books; 2000.
14. Cybis WBAH, Faust R. Ergonomia e Usabilidade: Conhecimentos, Métodos e Aplicações. São Paulo: Navatec Editora; 2007.
15. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 9.126-1:2003 Engenharia de *Software* Qualidade de produto, parte 1: Modelo de qualidade. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); 2003.
16. Silveira C, Heidrich RO, Bassani PBS. Avaliação das tecnologias de *softwares* existentes para a Inclusão Digital de Deficientes visuais por meio da utilização de requisitos de qualidade. *Workshop em Informática na Educação (SBIE)*; 2007.
17. Silberchatz, A.; Korth, H. F.; Sudarshan, S. Sistema de Banco de Dados. Tradução da 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. 782 p.
18. Brasil. Decreto nº 3.505, de 13 de junho de 2000. Institui a Política de Segurança da Informação nos órgãos e entidades da Administração Pública Federal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 jun. 2000.
19. Ponte MJM, Silveira AM. Uma metodologia para avaliação da usabilidade de *softwares* de automação industrial utilizando redes neurais artificiais: um estudo de caso Eletrobrás. Programa de Pós-graduação em Ciência da Computação (PPGCC). Universidade, Federal do Pará (UFPA). III Seminário de Andamento do PPGCC; 2008.
20. Brasil. Lei nº 9.609, de 19 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre a proteção da propriedade intelectual de programa de computador, sua comercialização no país e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 19 fev.1998. Seção I, p.3.

Comparação de técnicas imunológicas *in-house* empregadas na rotina diagnóstica de cisticercose humana

Comparative analysis on in-house immunologic assays used for performing the routine laboratorial diagnosis of human cysticercosis

RIALA6/1389

Sílvia Yukari TOGORO, Edna Malone de SOUZA, Maria Salete ROSA, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO, Neuza Satomi SATO

*Endereço para correspondência: Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, Av Dr. Arnaldo, 355, 10º e 11º andar, Cerqueira César, São Paulo. CEP: 01246-000, tel: 3068 2898, e-mail: neuzasat@uol.com.br.

Recebido: 26.03.2011 - Aceito para publicação: 27.07.2011

RESUMO

Neste estudo foram analisados os resultados obtidos do diagnóstico de cisticercose no Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL), no período de março/2007 a julho/2010. A detecção de anticorpos específicos em 522 amostras de soro e líquido cefalorraquidiano (LCR) foi realizada pelas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI). A frequência de amostras reagentes foi de 11,0% no LCR e 8,2% no soro. Em 50% das amostras não houve informações sobre suspeita clínica de neurocisticercose dos pacientes, sendo disponíveis nos 18,3% e 16,4%, em amostras, respectivamente, de LCR e soro. Nas amostras de paciente com suspeita de neurocisticercose, a positividade foi de 22,6% (LCR) e de 18,4% (soro). Houve associação entre a suspeita clínica e a positividade dos testes ($p > 0.05$). A maioria das amostras testadas foi proveniente do Estado de São Paulo, e 16,9% de amostras de LCR e 35,9% de amostras séricas foram enviados de outros Estados do país. Os ensaios de IFI e HAI apresentaram teste de concordância *Kappa* de 86%. Pela indisponibilidade de *kits* de reagentes diagnósticos de cisticercose em amostras de LCR no mercado, os testes *in-house* produzidos no IAL têm sido de grande relevância para os serviços de saúde pública.

Palavras-chave. cisticercose, *Cysticercus cellulosae*, imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta.

ABSTRACT

The present study aimed at analyzing the results from serologic assays performed for cysticercosis diagnosis at Immunology Center of Instituto Adolfo Lutz (IAL), during the period from March 2007 to July 2010. A total of 522 blood and cerebrospinal fluid (CSF) samples were tested for detecting the specific antibodies using indirect immunofluorescence (IFA) and passive hemagglutination (PHA) assays; the frequency of positivity was 11.0% in CSF and 8.2% in serum samples. No clinical information were reported in 50% of medical requests sent to laboratory; 18.3% of CSF and 16.4% of serum samples were from patients with available data on suspected clinical neurocysticercosis. In samples from patients with suspected neurocysticercosis, the positive results were observed in 22.6% of CSF and 18.4% of serum samples. Association between the clinical suspected neurocysticercosis and the testing positivity was detected ($p > 0.05$). The majority analyzed samples were from São Paulo State and 16.9% of CSF and 35.9% of serum samples were sent by others Brazilian states. The *Kappa* agreement index between IFI and HA assays was 86%. On account of *kits* for diagnosing neurocysticercosis in CSF samples are commercially unavailable, the in-house assays produced at IAL have been relevant for public health services.

Keywords. cysticercosis, *Cysticercus cellulosae*, indirect immunofluorescence, passive hemagglutination.

INTRODUÇÃO

Teníase e cisticercose são infecções causadas, respectivamente, pelas formas adulta e larval de parasitas do gênero *Taenia*. O ciclo de vida da *T. solium* envolve o suíno como hospedeiro intermediário, contendo o cisticercos e o humano como hospedeiro definitivo da forma adulta. Quando o homem torna-se hospedeiro intermediário por meio da ingestão do ovo de *T. solium*, adquire a cisticercose.

O cisticercos pode apresentar-se sob a forma cística, que consiste em uma vesícula contendo escólex em seu interior, conhecida como *Cysticercus cellulosae* e/ou na forma racemosa, com numerosas vesículas em cachos, mas sem o escólex, denominada *Cysticercus racemosus*. O embrião hexacanto pode migrar para diferentes partes do organismo, mas quando esse se aloja no sistema nervoso central, causa a neurocisticercose, a forma mais grave e frequente da doença¹.

As manifestações clínicas da neurocisticercose podem se apresentar de diversas maneiras ou isoladamente, sendo as mais comuns convulsões, epilepsias, cefaleias, hidrocefalia, meningites, distúrbios psiquiátricos entre outras. As crises epilépticas são a apresentação mais comum de neurocisticercose e, geralmente, representam a principal ou única manifestação da doença. A manifestação, ou não, de sintomas é resultante da interação parasita-hospedeiro e depende da intensidade da resposta inflamatória do hospedeiro¹.

A cisticercose é uma doença considerada negligenciada e de ocorrência global, estando presente na América Latina, África e Ásia, em que as condições sanitárias precárias contribuem para a sua permanência. A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) considera uma região endêmica aquela que apresenta índices de 1% para teníase humana, 0,1% para cisticercose humana e 5% para cisticercose animal².

No Brasil, não existem dados oficiais da prevalência de neurocisticercose em âmbito nacional. Os dados de prevalência disponíveis no Brasil variam de acordo com a abordagem do estudo e o tamanho da amostragem estudada.

Agapejev et al³ realizaram uma análise crítica de 136 trabalhos publicados no Brasil no período de 1915 a 2002 e calcularam a prevalência média nacional de 4,56 casos para 100 mil habitantes com base em estudos clínicos e necroscópicos. Em estudo realizado com

amostragem superior a 30 mil pacientes, a prevalência foi de 0,2%, na análise de dados clínico, imunológico e radiológico de pacientes internados⁴ ou de pacientes examinados por tomografia computadorizada (TC)⁵.

Em estudos de necropsias a prevalência variou de 1,5% a 2,4%^{6,7}. Já em pacientes internados com epilepsia foi diagnosticado neurocisticercose em 24% por TC⁸. Em Curitiba, a prevalência foi cerca de 9% em diagnóstico realizado por TC em dois períodos distintos^{9,10}.

O diagnóstico da cisticercose pode ser realizado por técnicas de imagens como a TC e a ressonância magnética (RM), ferramentas consideradas por alguns autores como padrão ouro no diagnóstico da neurocisticercose¹¹. No entanto, quando os cisticercos estão localizados nas cisternas basais subaracnóide, a TC e a RM não conseguem detectá-los. Nesses casos os dados clínicos, epidemiológicos e sorológicos ajudam na confirmação de cisticercose. Além disso, a demonstração histológica do parasita a partir de biópsia de uma lesão cerebral ou medular ou do exame de fundo de olho, em casos de cisticercose intraocular, também podem ser conclusivos no diagnóstico da doença¹¹.

As técnicas imunológicas são frequentemente utilizadas para confirmar o diagnóstico de neurocisticercose. Vários testes imunológicos têm sido utilizados na detecção de anticorpos específicos. Entre eles destacam-se: a hemaglutinação (HA), a imunofluorescência indireta (IFI), a técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e de *immunoblot* como *Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer blot* (EITB).

No Instituto Adolfo Lutz (IAL), há mais de 40 anos as técnicas HA e IFI vêm sendo utilizadas na rotina diagnóstica para a pesquisa de anticorpos *anti-C. cellulosae* em amostras de líquido e soro^{12,13}. A técnica de IFI apresenta sensibilidade e especificidade de cerca de 80% a 98%^{13,14} e a reação de HA, apresenta sensibilidade de 81% em amostras de líquido e de 85% em amostras de soro¹³.

Ultimamente as técnicas imunoenzimáticas utilizadas no diagnóstico da cisticercose empregam o antígeno nativo, homólogo ou heterólogo; outras utilizam os antígenos recombinantes ou sintéticos. Quanto ao antígeno nativo de *C. cellulosae*, as frações purificadas a partir de fluido vesicular, escólex ou produto de secreção/excreção apresentam melhores resultados que o extrato salino de antígeno bruto. De um modo geral, a sensibilidade varia de 80% a 100% no soro e 92% a 100%

no líquido, enquanto a especificidade varia de 97% a 100% em ambos os tipos de amostras clínicas¹⁵⁻¹⁷. Dos antígenos recombinantes, o GP50, T24H e TS14 apresentaram resultados promissores, com sensibilidade de 94% a 100% e especificidade de 99% a 100%, considerando os dois tipos de amostras, soro e líquido¹⁸⁻²⁰. Quanto ao antígeno sintético, derivado da família de proteínas de 8 kDa, os resultados são contraditórios. Alguns autores reportam bom desempenho diagnóstico, com sensibilidade e especificidade próxima de 100%^{18, 21}. Por outro lado, Schell et al. observaram baixa sensibilidade no ELISA e melhor desempenho no Western Blot²².

O antígeno heterólogo de *Cysticercus longicollis*, o metacéstódio da *T. crassiceps*, vem sendo explorado como fonte alternativa de antígeno. As frações antigênicas de baixo peso molecular de 14 e 18 kDa, extraídas do fluido vesicular, mostraram-se úteis para o diagnóstico da neurocisticercose humana. A sensibilidade variou de 95% a 100% em amostras de líquido e soro, e a especificidade foi de 99% a 100% no líquido e 80% a 100% no soro²³⁻²⁵.

Não obstante, os bons resultados obtidos com os testes imunoenzimáticos ainda não foram introduzidos no IAL. Por isso o presente trabalho tem como objetivo comparar os resultados da técnica de IFI e HA, da rotina diagnóstica de cisticercose do Centro de Imunologia (CIM) do IAL, realizada no período de março de 2007 a julho de 2010 e analisar a correlação dos resultados imunodiagnósticos com alguns aspectos clínicos e gênero dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram analisados resultados de 522 amostras, sendo 290 líquidos e 232 soros, não pareados, da rotina diagnóstica de cisticercose do CIM do IAL, do período de março de 2007 a julho de 2010. As amostras de líquido e soro eram procedentes de outros serviços de saúde pública da cidade e Estado de São Paulo e outras regiões do Brasil.

Amostras controle

As amostras controle reagente e não reagente usadas para a validação dos testes de IFI e HA foram obtidas a partir de amostras da rotina diagnóstica de cisticercose no CIM do IAL. Foram utilizados dois líquidos e dois soros para validação da IFI, quatro líquidos e quatro soros para HA.

Diagnóstico sorológico

As técnicas utilizadas para o diagnóstico sorológico da cisticercose do CIM do IAL foram IFI e HA, kits preparados *in-house*, seguindo os procedimentos padronizados nesse laboratório^{13, 14}. O *C. cellulosae* foi extraído de músculo de suínos, o antígeno particulado obtido por maceração dos cisticercos em gral e peneirados em peneira tipo *Tyler* 48 com tamis 0,0297 nm foi usado na reação de IFI. Para a reação de HA foi utilizado antígeno solúvel obtido por sonicação dos cisticercos obtidos de músculo de suínos.

Reação de Imunofluorescência Indireta (IFI)

A lâmina foi preparada pela aplicação de 15µl de suspensão do antígeno em tampão PBS 0,15M pH 7,2 de modo que o sobrenadante tivesse cerca de 15 partículas de antígeno por campo, em objetiva de 20 vezes, em microscopia de campo claro. Depois as lâminas foram secas à temperatura ambiente e armazenadas à -20 °C.

A diluição das amostras e a lavagem das lâminas foram realizadas com PBS 0,15M pH 7,2. A reação foi realizada inicialmente com soros em diluições de 1/10, 1/20, 1/40 e 1/80 e os líquidos, depositados puros. Para as amostras reagentes foram realizadas diluições adicionais na razão 2 até 1/320 no soro e 1/32 no líquido. Foram depositados 12µL de cada diluição ou de cada amostra sobre a lâmina que foi incubada por 30 minutos a 37 °C em câmara úmida. As lâminas foram lavadas três vezes com PBS em cuba de Coplin por cinco minutos cada e, secas em estufa por cinco minutos a 37 °C. O conjugado, cujo título foi 300, foi diluído em Azul de Evans 0,001% e depositado 12 µL em cada área da reação. As lâminas foram incubadas, lavadas com PBS e secas como descrito anteriormente. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência com aumento de 400 vezes (Olympus).

Reação de hemaglutinação (HA)

Para a reação de HA foi utilizada hemácia de ganso macho formalizada como suporte para o antígeno solúvel de *C. cellulosae*. O kit foi preparado de acordo com a técnica padronizada anteriormente¹³.

A reação de HA foi realizada em placa de poliestireno de fundo V de 96 poços, sendo as amostras e os controles diluídos em PBS 0,15M pH 6,4 a partir da diluição 1/10 a 1/160 para soros e de 1/2 a 1/32 para líquidos. Para cada diluição, foram utilizadas duas colunas da placa, adicionando 25 µL de hemácias sensibilizadas em uma

coluna e 25 µL de hemácias controle em outra. A placa foi agitada por cinco minutos, seguida de incubação por uma hora em câmara úmida à temperatura ambiente.

Análise dos resultados

A análise estatística dos dados foi efetuada utilizando-se o programa EpiInfo, versão 6.0 para o cálculo do Qui-quadrado, sendo adotado um nível de significância de 5%. Foram calculados índices de co-positividade, co-negatividade e *Kappa* para os ensaios de IFI e HA²⁶.

RESULTADOS

No período de março de 2007 a julho de 2010 foram analisadas 522 amostras não pareadas, sendo 290 líquors e 232 soros, para o diagnóstico sorológico de cisticercose. De acordo com a distribuição das amostras (Figura 1a), o número de amostras de líquido foi superior ao de soro, com exceção do ano de 2010, em que o número de amostras de soro foi proporcionalmente maior que o dos anos anteriores, quando analisados sete meses da rotina. A frequência de amostras reagentes no líquido (Figura 1b) foi de 11,02%, com variação de 10,4% a 12,1%, e no soro (Figura 1c) foi de 8,17%, com variação de 0% a 17,2%. Os resultados foram considerados confiáveis uma vez que as amostras controle positivo e negativo deram os resultados esperados em ambos os testes, HA e IFI (dados não apresentados).

A procedência das amostras de líquido foi principalmente do Estado de São Paulo (43,8%) e da cidade de São Paulo/Grande SP (39,3%), enquanto que as amostras de soro predominaram na cidade de São Paulo/Grande SP (37,5%) e outros Estados do Brasil (35,9%).

A suspeita clínica foi dividida em neurocisticercose, cisticercose, HIV, distúrbios neurológicos incluindo convulsões e epilepsias, outras sintomatologias, como febre e meningites, e suspeita clínica não informada. A análise da distribuição das amostras de acordo com a suspeita clínica mostrou que cerca de 50% dos pedidos de exames não informam a suspeita clínica, independente do tipo da amostra. Dos pedidos em que se obteve a informação de suspeita clínica, a que prevaleceu foi a neurocisticercose, sendo 18,3% para líquido e 16,4% para soro, seguido de cisticercose com 6,2% e 11,6%, respectivamente para líquido e soro e nos portadores de HIV, 8,6% para líquido e 1,7% para soro.

Os resultados reagentes nos testes de IFI e HA foram observados em somente 11% das amostras de

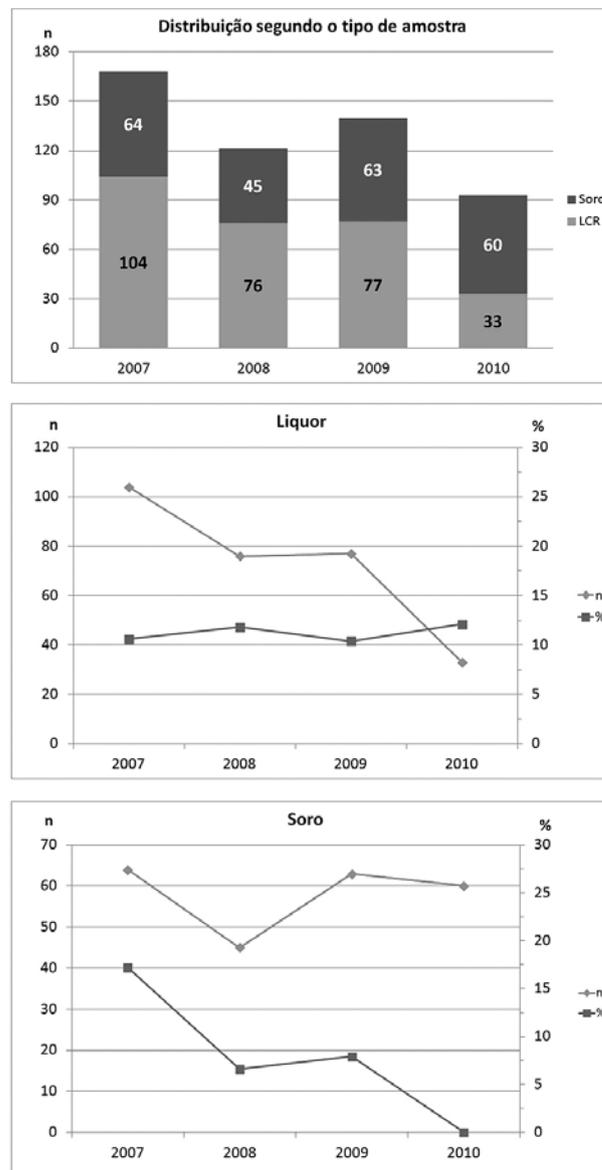


Figura 1. Distribuição das amostras (a), a frequência de positivities e o número de amostras de líquido (b) e soro (c) encaminhadas ao IAL para o diagnóstico de cisticercose, analisadas no período de março de 2007 a julho de 2010 (n= número de amostras e %= frequência de amostra reagente)

líquor e 8,2% das amostras de soro. Entre as amostras de líquido cuja suspeita clínica não foi informada, a frequência de amostras com resultado reagente foi de 7,7%. Dos pacientes com suspeita clínica de cisticercose, cinco amostras de soro e três de líquido apresentaram resultado reagente. Nenhuma amostra de paciente com HIV resultou reagente para cisticercose.

Em relação à suspeita clínica de neurocisticercose, a frequência de amostras reagentes foi de 22,6% no líquido e 18,4% no soro e verificou-se associação estatisticamente

significante entre a suspeita clínica de neurocisticercose e a positividade dos testes em ambas as amostras, líquido ($p = 0,003$) e soro ($p = 0,028$).

A análise da distribuição das amostras de acordo com o gênero foi equilibrada no período analisado. De um modo geral, 54% das amostras, líquido (157/290) e soro (126/232), provinham de pacientes do gênero masculino. Quanto aos resultados, as amostras pertencentes ao gênero feminino apresentaram maior proporção de reatividade no líquido (12,6%) e soro (11,9%); enquanto no gênero masculino a positividade observada foi de 10,4% e 5,5%, respectivamente para líquido e soro. No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa nos dois tipos de amostras, líquido ($p=0,562$) e soro ($p=0,080$).

Com relação ao desempenho dos testes IFI e HA, o índice *Kappa* apresentou concordância quase perfeita entre os testes, sendo de aproximadamente 86% no líquido e 87% no soro. Quanto à co-positividade e co-negatividade nas amostras de líquido e de soro ficaram em torno de 86% e 99%, respectivamente.

A Figura 2 ilustra a reação de imunofluorescência indireta. Na ausência de anticorpos específicos contra o antígeno do *C. cellulosae*, a reação apresenta uma coloração avermelhada (Figura 2a) e na presença de anticorpos específicos a superfície do antígeno apresenta fluorescência verde (Figura 2b).

DISCUSSÃO

A cisticercose humana representa importante problema de saúde pública em áreas carentes de condições sanitárias e de políticas de saúde e também em países desenvolvidos que recebem imigrantes de regiões

com elevada prevalência de teníase. A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) considera a ausência de dados epidemiológicos de cisticercose um dos principais obstáculos para o planejamento satisfatório de campanhas para a prevenção e a erradicação da doença²⁷. No Brasil, a notificação compulsória para esse agravo foi instituída por meio da Portaria nº 1.100, de 24 de maio de 1996, quando foram implantadas medidas para o controle da endemia. No entanto, nem todos os Estados/regiões seguem o que preconiza a Portaria e a subnotificação ainda é um problema real^{3,28}.

No presente estudo foram analisados os resultados da rotina diagnóstica para cisticercose/neurocisticercose realizada no período de março de 2007 a dezembro de 2010. O total de amostras reagentes nos testes de IFI e HA foram de 32 líquidos e 19 soros e a frequência média de resultados positivos foi de 11,0% no líquido e 8,2% no soro.

Em estudo realizado anteriormente, a frequência de resultados positivos observada no líquido foi de 5,5% para o período de janeiro de 2003 a dezembro de 2006 e de 11,3% em 2007²⁹. Curiosamente observamos um aumento estatisticamente significativo na proporção de amostras reagentes de líquido a partir de 2007. Quanto às amostras de soro ocorreu o inverso. A frequência média de amostras reagentes no período de 2003 a 2007 foi de 12,8%, segundo Souza et al.²⁹, com uma redução considerável no período analisado no presente estudo.

Em relação ao ano de 2010, não houve resultado reagentes em amostras de soro, entretanto a frequência de resultados positivos em amostras de líquido foi alta (12,1%), considerando que foi analisado somente sete meses da rotina diagnóstica. Nesse período foi observado aumento

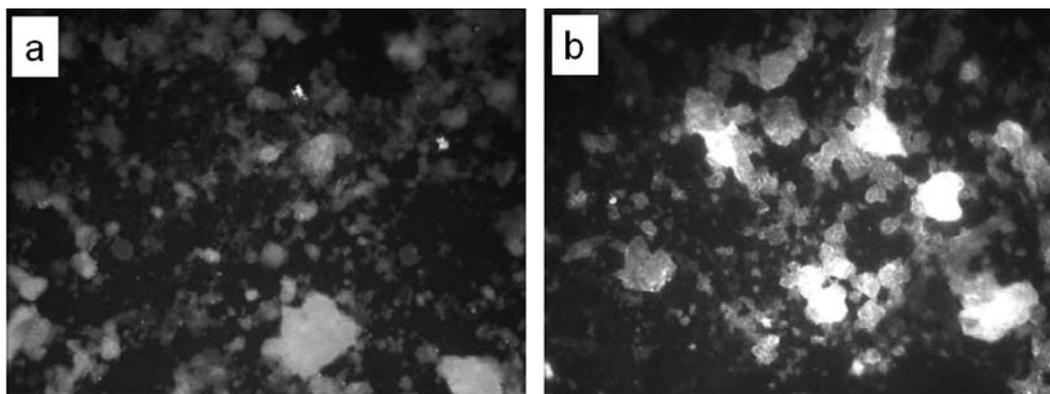


Figura 2. Aspecto na reação de IFI para pesquisa de anticorpos específicos para cisticercose (a) amostra não reagente e (b) amostra reagente, em microscopia de fluorescência com aumento de 400X. Fotografia: câmera QColor 3 - Cooled RTV (Olympus) e programa Image - Pro Plus (Media Cybernetics)

na demanda de soro de outros Estados, particularmente do Estado do Rio Grande do Sul (35/60) para investigação de possível surto da doença na região.

Os testes utilizados nesta rotina apresentam sensibilidade em torno de 80% em amostras de líquido^{13, 30}, no entanto, somente 22,6% dos pacientes com suspeita clínica de neurocisticercose apresentaram resultado reagente. A falta de maiores informações clínicas dos pacientes dificulta a interpretação desses resultados. A análise pelo teste de Qui-quadrado, contudo, mostrou que existe associação entre a suspeita clínica de neurocisticercose e a positividade dos testes, em ambas as amostras.

A influência da infecção por HIV na história natural da cisticercose precisa ainda de estudos mais profundos. Serpa et al.³¹ realizaram uma revisão de literatura em 2006 e identificaram 27 relatos de casos sobre a co-infecção HIV e neurocisticercose, dos quais 61% apresentaram lesões múltiplas no parênquima cerebral. No presente estudo, nenhuma amostra de pacientes com suspeita clínica de HIV apresentou teste reagente para cisticercose, quer seja no líquido ou soro. Uma vez que a neurocisticercose é uma doença que apresenta uma diversidade de manifestações clínicas, podendo ser confundida com outras patologias que acometem o sistema nervoso, o imunodiagnóstico para cisticercose pode ser requisitado como diagnóstico diferencial de infecção do sistema nervoso central em pacientes com HIV.

Estudos recentes revelam que os hormônios sexuais podem interferir na infecção por teníase e cisticercose. Em suínos observa-se maior frequência de cisticercose durante a gestação, quando os níveis de progesterona estão significativamente aumentados. A castração de animais machos naturalmente infectados, com *T. solium*, induz ao aumento da prevalência de cisticercose³². Em um estudo *in vitro* foi demonstrado que a progesterona induz a invaginação do escólex e estimula o crescimento do cisticercose de *T. solium*³³.

Em humanos, alguns estudos indicam que a resposta imune do hospedeiro na infecção do sistema nervoso central pelo cisticercose pode ser influenciada pelo gênero. No estudo conduzido por Kelvin et al.³⁴ em 171 pacientes com neurocisticercose, os autores observaram associação entre o número de cistos na fase de degeneração e o gênero; o número de cistos foi 1,8 vezes maior em pacientes do gênero feminino.

No presente estudo, a proporção de resultados reagentes foi maior nos pacientes do gênero feminino, em ambas as amostras, 1,2 vezes no líquido e 2,1 vezes

no soro. No entanto, essas diferenças não foram estatisticamente significantes.

Agapejev et al.³ constataram o predomínio de neurocisticercose no gênero masculino, mas uma manifestação clínica mais grave nas pacientes femininas. Esses resultados podem ter um viés decorrente da abordagem de cada estudo ou mesmo das diferenças no acesso aos serviços de saúde.

Os testes sorológicos realizados no CIM/IAL, IFI e HA, apresentaram concordância quase perfeita de acordo com a classificação do índice *Kappa*, sendo 85,9% para o líquido e 87,2% para o soro. A co-positividade foi de 86% e a co-negatividade maior que 98%.

As técnicas imunoenzimáticas têm sido utilizadas para o diagnóstico de cisticercose e apresentam maior sensibilidade e especificidade^{15, 18, 23} e os imunoenaios utilizando antígenos recombinantes apresentam desempenho diagnóstico promissor^{18-20,35}. Atualmente o *Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer blot* (EITB) é considerado um dos testes imunológicos mais confiáveis para o diagnóstico da cisticercose, que utiliza antígenos purificados por cromatografia com lectina. A avaliação inicial do ensaio EITB indica sensibilidade de 98% e especificidade de 100% em amostras de soro e líquido³⁶.

Nenhum desses testes, todavia, está disponível no comércio. Atualmente no Brasil apenas dois kits de ELISA para o diagnóstico de cisticercose estão aprovados pela Anvisa, ambos para detecção de anticorpos IgG anti-*T. solium* e anti-*C. cellulosae* em amostras de soro³⁷. Um de procedência nacional e outro de fabricação alemã, esse último com sensibilidade de 100% e especificidade de 93%, segundo o fabricante.

A falta de um teste padronizado para amostras de líquido faz com que o diagnóstico laboratorial realizado no IAL tenha um papel importante no diagnóstico da neurocisticercose, pois utiliza kits *in-house* originalmente padronizados para os dois tipos de amostras, líquido e soro. Desse modo, esses testes têm sido de suma importância para os serviços de saúde pública nos últimos 40 anos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação do Desenvolvimento Administrativo (FUNDAÇÃO) pela bolsa concedida à Sílvia Y. Togoro. Trabalho de Conclusão de Curso de Aprimoramento Profissional (PAP-1) do Programa Técnicas de Imunodiagnóstico e Controle de Qualidade do IAL – 2010, de autoria de Sílvia Y. Togoro.

REFERÊNCIAS

1. Takayanagui OM, Odashima NS. Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitol Int*. 2006;55(Suppl 1):S111-5.
2. OPAS. Organização Panamericana de Saúde. Epidemiologia y control de la teníase / cisticercosis en América Latina. Washington; 1994. Versão 3.0.
3. Agapejev S. Clinical and epidemiological aspects of neurocysticercosis in Brazil: a critical approach. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2003;61(3B):822-8.
4. Machado AB, Pialarissi CS, Vaz AJ. Human cysticercosis diagnosed at a general hospital, São Paulo, SP (Brazil). *Rev Saúde Pública*. 1988;22(3):240-4.
5. Mendes EC, Silva SS, Fonseca EA, Souza HR, Carvalho RW. Human neurocysticercosis in Baixada Fluminense, Rio de Janeiro State, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2005;63(4):1058-62.
6. Chimelli L, Lovalho AF, Takayanagui OM. Neurocysticercosis: contribution of autopsies in the consolidation of mandatory notification in Ribeirão Preto-SP, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(3B):577-84.
7. Lino-Junior RS, Faleiros AC, Vinaud MC, Oliveira FA, Guimarães JV, Reis MA, et al. Anatomopathological aspects of neurocysticercosis in autopsied patients. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2007;65(1):87-91.
8. Trevisol-Bittencourt PC, Silva NC, Figueredo R. Prevalence of neurocysticercosis among epileptic in-patients in the west of Santa Catarina-southern Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(1):53-8.
9. Grazziotin AL, Fontalvo MC, Santos MB, Monego F, Kolinski VH, Bordignon RH, et al. Epidemiologic pattern of patients with neurocysticercosis diagnosed by computed tomography in Curitiba, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2010;68(2):269-72.
10. Narata AP, Arruda WO, Uemura E, Yukita S, Blume AG, Suguiura C, et al. Neurocysticercosis. A tomographic diagnosis in neurological patients. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(2):245-9.
11. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis: an update. *Rev Infect Dis*. 1988;10(6):1075-87.
12. Livramento JA. Contribution of immunofluorescent reactions in the cerebrospinal fluid to the study of neurocysticercosis. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1981;39(3):261-78.
13. Ferreira AP, Vaz AJ, Nakamura PM, Sasaki AT, Ferreira AW, Livramento JA. Hemagglutination test for the diagnosis of human neurocysticercosis: development of a stable reagent using homologous and heterologous antigens. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1997;39(1):29-33.
14. Pialarissi CS, Vaz AJ, de Souza AM, Nakamura PM, Camargo ED, Silva MV, et al. Comparative study of serological tests in the immunological diagnosis of neurocysticercosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1987;29(6):367-73.
15. Costa JM. Immunoenzymatic test (ELISA) in the diagnosis of neurocysticercosis: study of various antigenic extracts in the detection of IgG antibodies in serum and cerebrospinal fluid samples. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1986;44(1):15-31.
16. Molinari JL, Garcia-Mendoza E, de la Garza Y, Ramirez JA, Sotelo J, Tato P. Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by metacestode excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;66(6):777-81.
17. Zimic M, Pajuelo M, Rueda D, Lopez C, Arana Y, Castillo Y, et al. Utility of a protein fraction with cathepsin L-Like activity purified from cysticercus fluid of *Taenia solium* in the diagnosis of human cysticercosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80(6):964-70.
18. Bueno EC, Scheel CM, Vaz AJ, Machado LR, Livramento JA, Takayanagui OM, et al. Application of synthetic 8-kD and recombinant GP50 antigens in the diagnosis of neurocysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(3):278-83.
19. Silva MRM, Maia AAM, Espindola NM, Machado LR, Vaz AJ, Silva FH. Recombinant expression of *Taenia solium* TS14 antigen and its utilization for immunodiagnosis of neurocysticercosis. *Acta Trop*. 2006;100(3):192-8.
20. Lee YM, Handali S, Hancock K, Pattabhi S, Kovalenko VA, Levin A, et al. Serologic Diagnosis of Human *Taenia solium* Cysticercosis by Using Recombinant and Synthetic Antigens in Quick ELISATM. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(4):587-93.
21. Hancock K, Khan A, Williams FB, Yushak ML, Pattabhi S, Noh J, et al. Characterization of the 8-kilodalton antigens of *Taenia solium* metacestodes and evaluation of their use in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis. *J Clin Microbiol*. 2003;41(6):2577-86.
22. Scheel CM, Khan A, Hancock K, Garcia HH, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Serodiagnosis of neurocysticercosis using synthetic 8-kD proteins: comparison of assay formats. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;73(4):771-6.
23. Bueno EC, Vaz AJ, Machado LD, Livramento JA. Neurocysticercosis: detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2000;58(1):18-24.
24. Peralta RH, Vaz AJ, Pardini A, Macedo HW, Machado LR, De Simone SG, et al. Evaluation of an antigen from *Taenia crassiceps cysticercus* for the serodiagnosis of neurocysticercosis. *Acta Trop*. 2002;83(2):159-68.
25. Espindola NM, Iha AH, Fernandes I, Takayanagui OM, Machado LR, Livramento JA, et al. Cysticercosis immunodiagnosis using 18- and 14-kilodalton proteins from *Taenia crassiceps cysticercus* antigens obtained by immunoaffinity chromatography. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3178-84.
26. Fleiss A. The architecture of clinical research. Saunders, 1985. In: Ferreira AW, Ávila SLM, editors. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
27. Murrell KO, editor. WHO-FAO-OIE Guidelines for the surveillance prevention and control of taeniosis - cysticercosis. Paris-France: WHO/OIE/FAO; 2005.
28. Benedeti MR, Falavigna DL, Falavigna-Guilherme AL, Araujo SM. Epidemiological and clinical profile of neurocysticercosis patients assisted by the Hospital Universitário Regional de Maringá, Paraná, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2007;65(1):124-9.
29. Souza EM, Rosa MA, Levi AMA. Perfil sorológico das amostras com suspeita de cisticercose enviadas ao Instituto Adolfo Lutz Central - São Paulo- período de 2003 a 2007. 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 7 de março de 2008. Porto Alegre, RS; 2008. p. 145.

30. Simonetti AB, Teixeira J. Behavior of the indirect immunofluorescence reaction and of cerebrospinal fluid parameters in neurocysticercosis. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1987;45(1):33-43.
31. Serpa JA, Moran A, Goodman JC, Giordano TP, White AC, Jr. Neurocysticercosis in the HIV era: a case report and review of the literature. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(1):113-7.
32. Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltran C et al. Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Vet Parasitol*. 2002;108(1):41-8.
33. Escobedo G, Camacho-Arroyo I, Hernandez-Hernandez OT, Ostoa-Saloma P, Garcia-Varela M, Morales-Montor J. Progesterone induces scolex evagination of the human parasite *Taenia solium*: evolutionary implications to the host-parasite relationship. *J Biomed Biotechnol*. 2010; (ID-591079): 1-10.
34. Kelvin EA, Carpio A, Bagiella E, Leslie D, Leon P, Andrews H, et al. The association of host age and gender with inflammation around neurocysticercosis cysts. *Ann Trop Med Parasitol*. 2009;103(6):487-99.
35. Hancock K, Patabhi S, Whitfield FW, Yushak ML, Lane WS, Garcia HH, et al. Characterization and cloning of T24, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol*. 2006;147(1):109-17.
36. Tsang VC, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis*. 1989;159(1):50-9.
37. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa – Pesquisa de produtos para saúde registrados. [acesso 2011 Jan 11]. Disponível em: [http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/rconsulta_produto_internet.asp].

Qualidade higiênico-sanitária da ração utilizada em piscicultura

Sanitary and hygienic quality of fish feed used in aquaculture

RIALA6/1390

Francisco das Chagas CARDOSO FILHO*, Verbena Carvalho ALVES, Cristiane Evangelista LIMA, Cecília Melo Macedo GUIMARÃES, Maria Marlúcia Gomes PEREIRA, Maria Christina Sanches MURATORI

*Endereço para correspondência: Universidade Federal do Piauí - UFPI, Campus da Socopo, Teresina, PI, Brasil, e-mail: veterinário_filho@hotmail.com

Recebido: 29.04.2011 - Aceito para publicação: 06.07.2011

RESUMO

Atualmente a qualidade dos produtos utilizados na alimentação de peixes de viveiro tornou-se um fator limitante para a atividade e a avaliação dessa característica deve ser uma das prioridades para evitar perdas econômicas. Para avaliar as condições higiênico-sanitárias da ração utilizada na piscicultura na cidade de Teresina (PI), foram analisadas 36 amostras de ração para peixes, sendo estas com duas composições protéicas (crescimento/juvenil), e em duas formas de uso (lacrado/aberto). As seguintes análises foram realizadas: contagem de bactérias heterotróficas, enumeração de coliformes a 35 °C e a 45 °C e pesquisa de *Salmonella* spp. A contagem de bactérias mesófilas variou de 1,69 a 4,69 UFC.g⁻¹ em log₁₀. Foi identificada presença de coliformes a 35 °C e a 45 °C, respectivamente, em nove (25,0%) e oito (22,2%) amostras e os valores variaram de <3 a 23 NMP.g⁻¹ de coliformes a 35 °C e de <3 a 9 NMP.g⁻¹ para coliformes a 45 °C. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. As rações usadas por piscicultores em Teresina apresentaram qualidade higiênico-sanitária satisfatória.

Palavras-chave. coliformes, *Salmonella*, mesófilos, higiene, alimentos.

ABSTRACT

Nowadays the quality of products used for feeding farmed fish has become a limiting factor for this activity, and the evaluation of this characteristic should be one of the priorities to avoid economic losses. This study assessed the sanitary and hygienic conditions of the feed used in fish farming located in the city of Teresina, Piauí. Thirty six samples of fish feed based on two protein compositions (growth/juvenile), and two forms of use (sealed/open) were analyzed. The following analyses were carried out: heterotrophic bacteria counting, enumeration of coliforms at 35 °C and 45 °C, and identification of *Salmonella* spp. Mesophilic bacteria counting ranged from 1.69 to 4.69 CFU.g⁻¹ log₁₀. Coliforms at 35 °C and 45 °C were identified in nine (25.0 %) and eight (22.2 %) samples, respectively, and coliforms at 35 °C ranged from <3 to 23 MPN.g⁻¹ and from <3 to 9 MPN.g⁻¹ for coliforms at 45 °C. No *Salmonella* spp was detected. The feeds used by fish farmers in Teresina showed satisfactory sanitary and hygienic qualities.

Keywords. coliforms, *Salmonella*, mesophilic, hygiene, food.

INTRODUÇÃO

A piscicultura no Estado do Piauí está em fase de desenvolvimento, devido o aumento crescente do interesse dos consumidores por peixes. No entanto, a qualidade dos produtos utilizados na alimentação de peixes de viveiro tornou-se um fator limitante, pois a procura por alimentos de qualidade se tornou essencial¹. Os piscicultores dispõem de rações comerciais formuladas especialmente para atender às necessidades nutricionais dos peixes nas diversas fases de crescimento. A ração representa um dos principais custos operacionais na produção e para sua formulação são empregados diversos ingredientes balanceados para garantir um bom desempenho na produtividade animal.

Os ingredientes das rações podem servir de vias de contaminação por bactérias aos animais. Essa infecção pode causar doenças clínicas, prejuízos no desempenho dos animais e também torná-los vetores assintomáticos da contaminação para o homem².

A quantificação de coliformes pode ser utilizada como indicativo de condições inadequadas de manipulação do produto³, os coliformes a 45 °C podem indicar contaminação fecal durante o processamento, indicando também a presença dos possíveis patógenos⁴. A contagem total de bactérias mesófilas de um produto pode ser utilizada como indicativo do histórico de manipulação a que ele foi submetido, com reflexo na qualidade da matéria-prima empregada, bem como na vida de prateleira do produto final⁵.

Salmonella spp. é o agente etiológico que mais causa infecções entéricas nos animais de produção, podendo acarretar no aumento dos custos para as indústrias alimentícias e riscos para a saúde do consumidor⁶. A presença de salmonelas nos ingredientes de rações constitui um problema, pois, embora esses micro-organismos não causem comumente doença em animais adultos, podem provocar gastroenterites em animais jovens⁷. Os ingredientes de rações dos animais apresentam frequentemente contaminação por *Salmonella* spp.⁸

O controle microbiológico da ração destinada à alimentação animal é de suma importância, visto que a ingestão dessa matéria-prima contaminada por bactérias pode ser a causa de sérios problemas para os animais que as ingerem⁹. Os registros referentes à caracterização bacteriológica de rações para animais são escassos.

Diante do exposto e da dificuldade de se encontrar estudos a respeito, objetivou-se avaliar as condições higiênico-sanitárias de rações utilizadas na

piscicultura, na cidade de Teresina, Piauí, por meio das análises microbiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

Em Teresina, existem 16 propriedades piscicultoras. Dessas, foram sorteadas três para fornecerem as amostras. Após coleta, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos, do Núcleo de Estudos e Pesquisas de Processamento em Alimentos (NUEPPA), da Universidade Federal do Piauí (UFPI), para as análises.

Coleta e análise das amostras

Em cada coleta, por propriedade foram obtidas 12 amostras de 150 g de ração, sendo seis amostras da fase juvenil (três embalagens em uso e três lacradas) e seis da fase de crescimento (três embalagens em uso e três lacradas). Como foram três propriedades analisadas, no total obteve-se 36 amostras. Foram realizadas as seguintes análises: contagem de bactérias heterotróficas, enumeração de coliformes totais e termotolerantes (45 °C) e pesquisa de *Salmonella* spp., de acordo com o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*¹⁰.

Análise estatística

Os resultados das contagens foram transformados em log₁₀, correlacionados e realizada a análise de variância com significância ($p < 0,05$), aos tratamentos que apresentaram diferenças significativas foi aplicado o teste SNK para a comparação de médias, utilizando o programa estatístico Sigma Stat¹¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontram-se a quantidade de amostras com coliformes totais e termotolerantes, a média das contagens de bactérias mesófilas e se houve presença de *Salmonella* em 25 g das rações analisadas.

Não houve diferença estatística ($P = 0,789$) entre as amostras para contagem de bactérias mesófilas, nem relacionando os tipos (juvenil/crescimento), nem quanto às condições (lacrada/aberto). Com relação aos dados de cada amostra, individualmente, por tratamento (tipos/condições), o que demonstrou a maior variação de valores foram nas amostras que pertenciam à juvenil

Tabela 1. Quantidades de amostras positivas para coliformes totais e termotolerantes, médias das contagens de bactérias mesófilas e *Salmonella* em 25 g de rações para peixes – Teresina (PI)

Tipos/Condições	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	Bactérias mesófilas UFC g-1	<i>Salmonella</i> em 25 g
J/L (n=9)	3	3	3,54	Ausência
J/A (n=9)	6	5	3,45	Ausência
C/L (n=9)	0	0	3,25	Ausência
C/A (n=9)	0	0	3,27	Ausência

e estavam lacradas, variando de 1,69 a 4,69 UFC.g⁻¹ em log₁₀. Andriguetto et al.⁹ citam em seu trabalho que para uma ração ser considerada de boa qualidade, deve ter contagens de bactérias mesófilas inferiores a 6,0 UFC.g⁻¹ em log₁₀, aceitável com contagens até 7,0 UFC.g⁻¹ em log₁₀ e inaceitável quando apresenta contagens superiores a 8 UFC.g⁻¹ em log₁₀. Todas as 36 amostras analisadas nesse trabalho foram consideradas de boa qualidade, dentro do padrão de qualidade estipulado por Andriguetto et al.⁹ para as contagens de bactérias mesófilas. Santos et al.¹² analisando com ração avícola, constatou que 100 % das amostras apresentavam boa qualidade.

Na Turquia, um estudo realizado com 24 amostras de ração para peixes demonstrou valores de mesófilos que oscilaram entre 4,10 e 4,26 UFC.g⁻¹ em log₁₀¹³. As médias de bactérias mesófilas encontradas no presente estudo (Tabela 1) foram inferiores, embora algumas amostras apresentassem valores superiores. Já Guerra et al.¹⁴ analisando rações para equinos em Portugal, obtiveram a média para bactérias mesófilas de 3,60 UFC.g⁻¹ em log₁₀, sendo que eles trabalharam com 50 amostras. Neste trabalho foi identificada a presença de coliformes a 35 °C e a 45 °C em 9 (25,0 %) e 8 (22,2 %) amostras respectivamente, sendo que os valores variaram de <3 a 23 NMP.g⁻¹ de coliformes a 35 °C e <3 a 9 NMP.g⁻¹ para coliformes a 45 °C, o isolamento de coliformes nessas amostras pode indicar que os ingredientes ou a própria ração pode ter tido contado com material de natureza fecal, podendo assim ter a eventual presença de *E.coli*. Já Guerra et al.¹⁴ ainda verificaram a presença de coliformes em 26 amostras de alimentos para equinos, totalizando 52 %, demonstrando que as amostras de ração em Portugal apresentaram uma qualidade inferior a deste estudo. Em trabalho realizado por Santos et al.¹² com ração para aves produzida em Minas Gerais, foi relatada a ocorrência de coliformes fecais em 44,4 % das amostras,

resultados superiores aos encontrados neste trabalho. A presença desses micro-organismos tanto na matéria-prima como em rações, podem desencadear doenças aos animais que as ingerem.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi negativa nas 36 amostras de ração para peixes, resultados semelhantes aos obtidos por Guerra et al.¹⁴ trabalhando com ração para equinos, também não constatou a presença dessa bactéria.

Essa situação pode decorrer devido ao tratamento térmico utilizado na formulação da ração (granulação) que pode ser eficaz na inativação de *Salmonella*¹⁴. Diferentemente Santos et al.¹² encontraram 36,36 %, das amostras contaminadas por *Salmonella* spp.

Na Espanha um estudo demonstrou a ocorrência de 3,5% de *Salmonella* em rações de 308 fábricas durante o ano de 2007¹⁵.

Pela escassez de trabalhos sobre a qualidade higiênico-sanitária de rações utilizadas na alimentação animal e pelos riscos e prejuízos que as contaminações por bactérias podem trazer a produção animal, pesquisas sobre o tema são relevantes.

CONCLUSÃO

Do ponto de vista da proteção da saúde de peixes, os dados revelaram que em Teresina, as rações destinadas à alimentação desses animais, não oferecem perigos de natureza microbiológica e apresentaram qualidade higiênico-sanitária satisfatória.

REFERÊNCIAS

1. Naylor RL, Goldburg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, et al. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*. 2000;405:1017-24.
2. Longo FA. Por que controlar as contaminações microbiológicas de rações? [acesso 2010 Dez 12]. Disponível em: [http://www.euvou.net/evento/anais/P12T.pdf].

3. Carneiro RM, Bezerra GM, Pereira MB, Jaques AA, Pereira LMR, Rocha CHM. Qualidade higiênico-sanitária da carne de sol comercializada nos estabelecimentos de produção artesanal da zona leste de Teresina-PI. *Rev Interdiscipl*. 2008;1(1):38-42.
4. Agnese AP, Oliveira VM, Silva PPO, Oliveira GA. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no Município de Seropédica, RJ. *Rev Hig Aliment*. 2001;15(88):67-70.
5. Costa EL, Silva JA. Avaliação microbiológica da carne de sol elaborada com baixos teores de cloreto de sódio. *Ciênc Tecnol Alim*. 2001;21(2):149-53.
6. Almeida AS, Gonçalves PMR, Franco RM. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. *Hig Aliment*. 2002;16(96):77-81.
7. Hinton M, Mead GC. Bacterial pathogens in animal feed and their control. *World's Poult Sci J*. 1972;48(1):72-3.
8. Davies RH, Breslin M. Persistence of *Salmonella enteridis* phage type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. *Env Microbiol*. 2003;5:79-84.
9. Andriguetto JM, Perly L, Minardi I, Gemael A. As bases e os fundamentos da nutrição animal. 4ª ed. São Paulo: Nobel; 2002.
10. APHA. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, 2001; 4ª ed.
11. Sigma Stat for windows version 1.0. Jandel Corporation, 1994
12. Santos EJ, Carvalho EP, Sanches RL, Barrios BEB. Qualidade microbiológica de farinha de carne e ossos produzidas no Estado de Minas Gerais para produção de ração animal. *Ciênc Agrotecn*. 2000;24(2):425-33.
13. Cakmak MN, Kazim A. Mycological and bacteriological survey on fish feed ingredients and mixed feeds in Elazığ Province. *Online J Biol Sci*. 2002;2:757-8.
14. Guerra MM, Martins HM, Gouveia MF, Bernado F. Aspectos da segurança sanitária dos alimentos compostos para cavalos. *Rev Port Zootec*; 2005. XII(2):63-75.
15. Sobrino O. Plan Nacional de investigación de presencia de Microorganismos em matérias primas y piensos. II Congreso de Seguridad Alimentaria;2008. Murcia, Spain.

Avaliação da qualidade da água de abastecimento no período 2007- 2009

Evaluation of the quality of water supplied in the period of 2007-2009

RIALA6/1391

Maria Anita SCORSAFAVA¹, Arlete de SOUZA¹, Harumi SAKUMA², Monica STOFER¹, Claudete Azevedo NUNES¹, Thaís Valéria MILANEZ*

*Endereço para correspondência: ¹Núcleo de Águas e Embalagens, Centro de Contaminantes, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, nº 355, CEP: 01246-902, São Paulo, SP, Brasil, e-mail: thaismil@ial.sp.gov.br

² Núcleo de Microbiologia, Centro de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz

Recebido: 31.05.2011 - Aceito para publicação: 20.07.2011

RESUMO

A água de abastecimento foi avaliada seguindo-se os parâmetros estabelecidos pela Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (MS), que dispõe as normas de qualidade em sistemas de abastecimento público e soluções alternativas. Foram analisados os seguintes parâmetros: ferro, cor aparente, turbidez, nitrato, flúor, presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes ou *E. coli*. No período de 2007-2009 foram coletadas 6.778 amostras de águas da Grande São Paulo para a avaliação da qualidade. Destas amostras, 25,2% estavam em desacordo com a legislação, ou seja, uma em cada quatro amostras não apresentava condições aceitáveis para o consumo. A principal causa da não conformidade estava associada aos teores de fluoreto fora da faixa recomendada de 0,6-0,8 mg/L, evidenciada em 12,8% das amostras. Este achado demonstra a falha no processo de fluoretação e, portanto, o não cumprimento do objetivo específico deste procedimento que é a prevenção da cárie dentária. Por conseguinte, torna-se de grande importância o monitoramento da qualidade dessas águas para o consumo humano.

Palavras-chave. água, flúor, coliformes totais, *E. coli*, saúde pública.

ABSTRACT

Drinking water samples were analyzed following the guidelines established by Decree nº 518 of the Ministry of Health which provides the national quality standards for water public supply systems and alternatives. The drinking water was investigated by assessing the parameters on iron, apparent colour, turbidity, nitrate, fluoride contents, and also total coliforms and thermotolerant coliforms or *E. coli* analyses. During the period from 2007 to 2009, 6,778 water samples were collected from the Great Sao Paulo area for performing the quality assessment. Of the total samples, 25.2% did not comply with the legislation, that is, one out of four samples was unacceptable for being consumed. The main reason of non-compliance was related to the fluoride contents which were out of the recommended range from 0.6 to 0.8 mg/L, detected in 12.8% of samples. This study demonstrated a failure in the fluoridation process, therefore the specific purpose of this tooth decay-preventive procedure has not been accomplished. According to these findings, it is emphasized the relevance in monitoring the quality of drinking water for providing its safe consumption.

Keywords. water, fluoride, total coliforms, *E. coli*, public health.

INTRODUÇÃO

A água de abastecimento público é objeto de preocupação, pois a sua qualidade depende de diversos fatores. Os mananciais estão sujeitos ao lançamento de efluentes e resíduos; os reservatórios podem precisar de manutenção e as instalações hidráulico-sanitárias da rede de distribuição até os domicílios podem estar precárias. Dessa forma, a água deve ser monitorada para que não se torne veículo de doenças e seja prejudicial aos consumidores¹.

Além disso, a água também é usada como veículo ao flúor com o objetivo de prevenir a cárie dental; no decorrer dos anos ela se mostrou segura, de baixo custo e de grande abrangência no controle e prevenção. Seus níveis mínimos e máximos foram fixados pela Resolução da Secretaria de Estado da Saúde SP nº 250 de 15/8/1992, pois se a falta de flúor está ligada à incidência de cárie, o seu excesso pode provocar a fluorose dentária.

Em 1992, foi iniciado o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano do Estado de São Paulo (Pró-Água) com o objetivo de desenvolver ações para a melhoria das condições sanitárias dos sistemas de abastecimento de água do estado de São Paulo, ou seja, reduzir a morbi-mortalidade por doenças de veiculação hídrica, identificar e avaliar o potencial de riscos dos sistemas de abastecimento à população, entre outros³.

O Núcleo de Águas e Embalagens e o Núcleo de Microbiologia do Instituto Adolfo Lutz contribuem para esse programa com a avaliação das características físico-químicas e bacteriológicas da água coletada. Entre os parâmetros avaliados está a verificação da fluoretação da água, os teores de ferro, nitrato, cor, turbidez e pH. No que tange a avaliação microbiológica estão os parâmetros coliformes totais, coliformes termotolerantes ou *Escherichia coli* (*E. coli*).

A água é considerada própria para o consumo humano quando seus parâmetros microbiológicos e físico-químicos atendem aos padrões de potabilidade estabelecidos e não oferecem risco à saúde da população. Os padrões de controle da qualidade da água são regidos pela Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde⁴. A avaliação sistemática do padrão de qualidade da água vai mostrar como está o processo de tratamento, a distribuição da mesma, se existem reservatórios mal conservados e a situação ao longo da rede de distribuição e pontos de consumo¹. O objetivo deste trabalho foi

reunir dados para avaliação da potabilidade das águas de consumo provenientes de municípios da Grande São Paulo localizados nas regiões abrangidas pelas Diretorias Regionais de Saúde (DIR) III de Mogi das Cruzes, DIR IV de Franco da Rocha e DIR V de Osasco, no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2009, levando em consideração os seguintes parâmetros: ferro, cor aparente, turbidez, nitrato, fluoreto (flúor) e presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes ou *E. coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de 2007 a 2009 foram coletadas 6778 amostras de águas, sendo 1374 da DIR III de Mogi das Cruzes, que abrange os municípios de Biritiba Mirim, Ferraz de Vasconcelos, Guararema, Itaquaquecetuba, Mogi das Cruzes, Poá, Salesópolis, Santa Isabel e Suzano; 598 amostras da DIR IV de Franco da Rocha, que compreende os municípios de Caieiras, Cajamar, Francisco Morato, Franco da Rocha e Mairiporã e 4806 provenientes dos municípios da DIR V de Osasco: Barueri, Carapicuíba, Cotia, Embu, Embu-Guaçu, Itapeverica da Serra, Itapevi, Jandira, Juquitiba, Osasco, Pirapora do Bom Jesus, Santana de Parnaíba, São Lourenço da Serra, Taboão da Serra e Vargem Grande Paulista. O plano de amostragem levou em consideração a densidade populacional, locais com grande afluência de público e estratégicos como hospitais, creches e escolas (população vulnerável), locais de baixa pressão no sistema de distribuição e distribuição espacial de doenças de transmissão hídrica entre outros⁵.

As amostras foram coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias Municipais de acordo com os requisitos básicos de coleta, transporte e acondicionamento que constam no Manual de Coleta, Conservação e Transporte de Amostras de Água do Centro de Vigilância Sanitária⁶.

As metodologias aplicadas para essas determinações foram: espectrofotometria de absorção atômica para ferro; espectrofotometria UV/VIS para nitrato; turbidimetria para turbidez; nefelometria para cor e potenciometria para determinação de fluoreto. Os métodos utilizados estão descritos no livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁷. A avaliação de coliformes totais, coliformes termotolerantes ou *E. coli* foi realizada de acordo com as metodologias descritas no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater pela técnica do teste Substrato enzimático e teste de Presença – Ausência (P-A) de coliformes⁸.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises das águas da Grande São Paulo no período 2007-2009 estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. Eles estão expressos em termos de porcentagens das amostras em desacordo com a Portaria nº 518⁴. Já no caso do flúor, estão em desacordo com a Resolução nº 250 de 15/8/1995².

A contaminação química foi uma das maiores fontes de não conformidade das amostras (31,4%), em especial os níveis de fluoreto, que atingiram cerca de 12,8% das amostras analisadas. A concentração de fluoreto na água de abastecimento na maior parte das vezes estava abaixo do limite mínimo recomendado de 0,6 mg/L (11,6%), no entanto, em algumas cidades, 1,2% do total, esse valor superou o máximo que é de 0,8 mg/L.

Nos municípios abrangidos pela DIR III a contaminação química atingiu cerca de 21,4% das amostras e quanto ao fluoreto houve 16,8% de desacordo (Tabela 1), o maior desacordo entre todas as áreas avaliadas. A maior parte das ocorrências, cerca de 14,0%, se referiu a concentrações menores que 0,6 mg/L. Em 2007, Biritiba-Mirim apresentou 51,2% das amostras de águas em desacordo com os teores de fluoreto recomendados e cerca de 57,0% dessas amostras com valores superiores a 0,8 mg/L. Em 2008, houve uma queda no número de amostras em desacordo, mas mesmo assim cerca de 25,7% das amostras apresentaram valores de fluoreto acima do permitido. Em 2009, 31,2% das amostras ainda estavam em desacordo, sendo que 60,0% delas com altos teores de fluoreto e 40,0% com baixos teores.

Observa-se uma dificuldade na fluoretação da água de abastecimento deste município em particular. Em Santa Isabel também houve muitas amostras em desacordo com os valores de fluoreto: em 2007 foram 64,0% das amostras coletadas; em 2008, cerca de 46,0% e, em 2009, 50,0%. Nos municípios da DIR IV 7,8% das amostras de água coletadas estava em desacordo em relação ao conteúdo de fluoreto e na DIR V o percentual atingiu 12,3%, mas dois municípios mostraram ter os maiores problemas de fluoretação: Juquitiba (43,2, 31,6 e 47,0% respectivamente) e São Lourenço, sendo que este último apenas em 2007 e 2008 (31,9 e 62,0% de desacordo).

A fluoretação é um problema que já foi observado em outros estudos. Brígido et al.⁹ avaliaram águas de abastecimento da região da DIR de Piracicaba no período de 2001 a 2005 e verificaram que 48,0% das amostras analisadas estavam com fluoreto dentro

dos limites estabelecidos. Scorsafava et al.¹⁰ analisaram no período de 2004 a 2006 amostras provenientes das mesmas regiões avaliadas nesse estudo, as DIR III, IV e V. Nesse levantamento verificaram que 7,3% das amostras analisadas estavam em desacordo com os teores de fluoreto, ou seja, há uma dificuldade em manter a concentração de fluoreto dentro da faixa 0,6-0,8 mg/L. De 2004/2006 para 2007/2010 a fluoretação não evoluiu, pois neste estudo a porcentagem de desacordo atingiu 12,8 das amostras contra 7,3% no período anterior. Aventa-se a presença natural de fluoreto nas águas de alguns municípios, isso deve ser levado em consideração no processo de fluoretação.

A fluoretação constitui um problema em outros Estados, como foi observado por Moraes et al.¹¹ no Paraná, em que a faixa permitida é 0,8 a 1,2 mg/L. Os autores verificaram oscilações nos níveis de fluoreto, isto é, houve uma descontinuidade no processo de fluoretação.

A presença de flúor deve ser rigorosamente controlada, pois tanto sua falta está relacionada à cárie dental,¹² como o seu excesso pode causar a fluorose dentária (manchas esbranquiçadas nos dentes) e além disso, o excesso é considerado um dos fatores que provocam a gengivite e a fluorose do esqueleto¹². O fator protetor do flúor se limita à faixa de 0,5 até 2,0 mg/L. No entanto, foi observado que em uma concentração entre 0,9 e 1,2 mg/L, dependendo da quantidade de água ingerida, da exposição à outras fontes de flúor, já se observa uma leve fluorose dentária¹³. Fluorose do esqueleto pode ser observada quando a água de consumo apresenta de 3 a 6 mg de fluoreto por litro, principalmente quando o consumo desta água é alto¹². A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o valor máximo de flúor na água em 1,5 mg/L¹³.

Outro contaminante analisado foi o nitrato, encontrado em apenas uma amostra da DIR IV e em 15 amostras de municípios da DIR V (Tabela 2), sendo que todas também apresentaram contaminação bacteriológica. Em 2007, foram três amostras em Itapevi com nitrato e coliformes termotolerantes e uma de Embu com coliformes totais. Em 2008, novamente em Itapevi, quatro amostras com nitrato e coliformes totais, duas de Taboão da Serra com *E. coli*, uma de Vargem Grande Paulista com coliformes totais. Jandira apresentou uma amostra de nitrato e *E. coli* em 2007 e também em 2009, porém em 2008 foram duas amostras com nitrato e *E. coli*. De todas as amostras analisadas, apenas uma delas (Mairiporã/2009) apresentou nitrato,

Tabela 1. Distribuição das amostras dos municípios das DIR III, IV e V em referência à concentração de fluoreto na água de abastecimento de 2007 a 2009

DIR III	Ano	Nº amostras	Amostras 0,6<fluoreto<0,8 (%)	Amostras fluoreto>0,8 (%)	Amostras fluoreto<0,6 (%)
Biritiba Mirim	2007	41	20 (48,7)	12 (29,3)	9 (22,0)
	2008	74	55 (74,3)	19 (25,7)	nd
	2009	32	22 (68,7)	6 (18,8)	4 (12,5)
Ferraz de Vasconcelos	2007	103	94 (91,3)	nd	9 (8,7)
	2008	103	98 (95,1)	nd	5 (4,9)
	2009	54	53 (98,1)	nd	1 (1,9)
Guararema	2007	10	9 (90,0)	nd	1 (10,0)
	2008	7	7 (100,0)	nd	nd
	2009	3	3 (100,0)	nd	nd
Itaquaquecetuba	2007	83	81 (97,6)	nd	2 (2,4)
	2008	75	70 (93,3)	nd	5 (6,7)
	2009	44	43 (97,7)	nd	1 (2,3)
Mogi das Cruzes	2007	64	59 (92,2)	nd	5 (7,8)
	2008	53	39 (73,6)	1 (1,9)	13 (24,5)
	2009	23	17 (73,9)	nd	6 (26,1)
Poá	2007	26	23 (88,5)	nd	3 (11,5)
	2008	24	24 (100,0)	nd	nd
	2009	14	13 (92,9)	nd	1 (7,1)
Salesópolis	2007	46	36 (78,3)	nd	10 (21,7)
	2008	55	50 (90,9)	nd	5 (9,1)
	2009	30	26 (86,7)	nd	4 (13,3)
Santa Isabel	2007	64	23 (35,9)	nd	41 (64,1)
	2008	89	48 (53,9)	nd	41 (46,1)
	2009	48	24 (50,0)	nd	24 (50,0)
Suzano	2007	84	82 (97,6)	nd	2 (2,4)
	2008	98	96 (98,0)	nd	2 (2,0)
	2009	27	27 (100,0)	nd	nd

DIR IV	Ano	Nº amostras	Amostras 0,6<fluoreto<0,8 (%)	Amostras fluoreto>0,8 (%)	Amostras fluoreto<0,6 (%)
Cajamar	2007	16	14 (87,5)	nd	2 (12,5)
	2008	12	10 (83,3)	nd	2 (16,7)
	2009	28	23 (82,1)	nd	5 (17,9)
Caieiras	2007	15	15 (100,0)	nd	nd
	2008	4	4 (100,0)	nd	nd
	2009	25	21 (84,0)	nd	4 (16,0)
Francisco Morato	2007	42	41 (97,6)	nd	1 (2,4)
	2008	48	48 (100,0)	nd	nd
	2009	68	68 (100,0)	nd	nd
Franco da Rocha	2007	68	63 (92,6)	nd	5 (7,4)
	2008	66	61 (92,4)	nd	5 (7,6)
	2009	104	94 (90,4)	nd	10 (9,6)
Mairiporã	2007	31	28 (90,3)	nd	3 (9,7)
	2008	27	25 (92,6)	nd	2 (7,4)
	2009	44	36 (81,8)	nd	8 (18,2)

DIR V	Ano	Nº amostras	Amostras 0,6<fluoreto<0,8 (%)	Amostras fluoreto>0,8 (%)	Amostras fluoreto<0,6 (%)
Barueri	2007	222	208 (93,7)	nd	14 (6,3)
	2008	259	241 (93,0)	2 (0,8)	16 (6,2)
	2009	109	75 (68,8)	nd	34 (31,2)
Carapicuíba	2007	246	211 (85,8)	nd	35 (14,2)
	2008	310	303 (97,7)	nd	7 (2,3)
	2009	113	79 (70,0)	nd	34 (30,0)
Cotia	2007	133	130 (97,7)	nd	3 (2,3)
	2008	200	187 (93,5)	nd	13 (6,5)
	2009	26	17 (65,4)	nd	9 (34,6)
Embu	2007	133	119 (89,5)	nd	14 (10,5)
	2008	147	140 (95,2)	2 (1,4)	5 (3,4)
	2009	82	69 (84,1)	2 (2,5)	11 (13,4)
Embu Guaçu	2007	44	42 (95,5)	nd	2 (4,5)
	2008	39	37 (94,9)	nd	2 (5,1)
	2009	25	18 (72,0)	nd	7 (28,0)
Itapeçerica da Serra	2007	199	181 (91,0)	nd	18 (9,0)
	2008	214	201 (93,9)	nd	13 (6,1)
	2009	100	74 (74,0)	nd	26 (26,0)
Itapevi	2007	142	139 (97,9)	1 (0,7)	2 (1,4)
	2008	284	261 (91,9)	9 (3,2)	14 (4,9)
	2009	106	98 (92,5)	nd	8 (7,5)
Jandira	2007	74	73 (98,6)	nd	1 (1,4)
	2008	79	77 (97,4)	1 (1,3)	1 (1,3)
	2009	31	23 (74,2)	nd	8 (25,8)
Juquitiba	2007	37	21 (56,8)	nd	16 (43,2)
	2008	76	52 (68,4)	4 (5,3)	20 (26,3)
	2009	34	18 (53,0)	6 (17,6)	10 (29,4)
Osasco	2007	128	102 (79,7)	nd	26 (20,3)
	2008	131	118 (90,1)	nd	13 (9,9)
	2009	63	42 (66,7)	nd	21 (33,3)
Pirapora	2007	80	70 (87,5)	1 (1,3)	9 (11,2)
	2008	54	48 (88,9)	nd	6 (11,1)
	2009	42	39 (92,9)	1 (2,3)	2 (4,8)
Santana de Parnaíba	2007	46	36 (78,3)	1 (2,2)	9 (19,5)
	2008	48	42 (87,5)	nd	6 (12,5)
	2009	3	2 (66,7)	nd	1 (33,3)
São Lourenço	2007	94	64 (68,1)	11 (11,7)	19 (20,2)
	2008	58	22 (37,9)	2 (3,5)	34 (58,6)
	2009	34	33 (97,1)	1 (2,9)	nd
Taboão da Serra	2007	168	149 (88,7)	nd	19 (11,3)
	2008	190	182 (95,8)	nd	8 (4,2)
	2009	77	62 (80,5)	nd	15 (19,5)
Vargem Grande Paulista	2007	51	47 (92,2)	nd	4 (7,8)
	2008	52	50 (96,2)	nd	2 (3,8)
	2009	22	12 (54,5)	nd	10 (45,5)

nd= não detectado

Tabela 2. Distribuição das amostras contaminadas segundo os parâmetros: ferro, cor, fluoreto, turbidez, coliformes e o percentual de potáveis no período 2007-2009

DIR III	Ano	Nº amostras	Ferro ^a (>0,3 mg/L)	Cor ^b (>15 uH)	Fluoreto ^c >0,8 e <0,6mg/L	Turbidez ^d (> 5 UT)	Coliformes ¹	Potáveis(%)
Biritiba Mirim	2007	41	0	0	21	0	2	18 (43,9)
	2008	74	0	1	19	0	3	51 (68,9)
	2009	32	0	0	10	0	0	22 (68,8)
Ferraz de Vasconcelos	2007	103	2 1 ^c	0	9 1 ^a	0	0	93 (90,3)
	2008	103	8	0	5	0	3	87 (84,5)
	2009	54	0	0	1	0	2	51 (94,5)
Guararema	2007	10	0	0	1	0	2	7 (70,0)
	2008	7	0	0	0	0	0	7 (100,0)
	2009	3	0	0	0	0	0	3 (100,0)
Itaquaquecetuba	2007	83	1	0	2	0	2	78 (94,0)
	2008	75	6 1 ^d 1 ^{b,d,e}	3 1 ^{a,d,e}	5 1 ^e	3 1 ^a 1 ^{a,b,e}	8 1 ^{a,b,d} 1 ^c	56 (70,9)
	2009	44	0	0	1	0	4	39 (88,6)
Mogi das Cruzes	2007	64	4 1 ^b	1 ^{a,c}	5 1 ^a	0	1	55 (85,9)
	2008	53	7 1 ^{b,d} 1 ^b	2 1 ^{a,d} 1 ^a	13 1 ^e	1 ^{a,b}	6 1 ^c	28 (52,8)
	2009	23	5 1 ^c	1 ^{a,c}	6 1 ^a 1 ^{a,c}	0	1	12 (52,2)
Poá	2007	26	0	0	3	0	2	21 (80,8)
	2008	24	1	0	0	0	0	23 (96,8)
	2009	14	1 ^b	1 ^a	1	0	0	12 (85,7)
Salesópolis	2007	46	1	0	10	0	0	35 (76,1)
	2008	55	4 1 ^c 1 ^b	1 ^a	5 1 ^a	0	4	43 (78,2)
	2009	30	1 ^{b,c,d}	2 1 ^{a,c,d}	4 1 ^{a,b,d}	1 ^{a,b,c}	0	25 (83,3)
Santa Isabel	2007	64	13 ^c 1 ^{b,c}	4 1 ^{a,c} 3 ^{c,d}	41 13 ^a 3 ^{b,d} 1 ^{a,b}	6 3 ^{b,c}	3 ^d	20 (31,3)
	2008	89	16 3 ^c 2 ^b 1 ^{b,e} 3 ^{b,d} 2 ^{b,c} 2 ^e	10 3 ^{a,d} 1 ^{a,e} 1 ^{c,e} 2 ^{a,c} 2 ^a	41 1 ^{b,e} 3 ^a 2 ^{a,b}	3 ^{a,b}	4 2 ^c 1 ^{a,b} 1 ^{b,c}	36 (40,5)
	2009	48	11 3 ^{b,c} 3 ^c	7 3 ^{a,c}	24 3 ^{a,b} 3 ^a	0	4	11 (22,9)
Suzano	2007	84	2	1 ^{c,d}	2 1 ^{b,d}	1 ^{b,c}	0	80 (95,2)
	2008	98	7	1	2	1	16	71 (72,4)
	2009	27	0	0	0	0	2	25 (92,6)

DIR IV	Ano	Nº amostras	Ferro ^a (>0,3 mg/L)	Cor ^b (>15 uH)	Fluoreto ^c >0,8 e <0,6mg/L	Turbidez ^d (> 5 UT)	Coliformes ¹	Potáveis(%)
Cajamar	2007	16	1	0	2	0	0	13 (81,2)
	2008	12	0	0	2	0	1	9 (75,0)
	2009	28	0	0	5	0	2	21 (75,0)
Caieiras	2007	15	0	0	0	0	0	15 (100,0)
	2008	4	0	0	0	0	0	4 (100,0)
	2009	25	0	0	4	0	0	21 (84,0)
Francisco Morato	2007	42	0	0	1	0	4	37 (88,1)
	2008	48	0	0	0	0	3	45 (93,8)
	2009	68	0	0	0	0	2	66 (97,0)
Franco da Rocha	2007	68	0	0	5	0	2	61 (89,7)
	2008	66	1 ^{b,d}	1 ^{a,d}	5	1 ^{a,b}	4	56 (84,8)
	2009	104	1	0	10	0	3	90 (86,5)
Mairiporã	2007	31	0	0	3	0	4	24 (77,4)
	2008	27	1 ^{b,c,d}	1 ^{a,c,d}	2 1 ^{a,b,d}	1 ^{a,b,c}	0	25 (92,6)
	2009	44	1 ^{b**}	1 ^{a**}	8	1 ^{a,b**}	7	28 (63,6)

DIR V	Ano	Nº amostras	Ferro ^a (>0,3 mg/L)	Cor ^b (>15 uH)	Fluoreto ^c >0,8 e <0,6mg/L	Turbidez ^d (> 5 UT)	Coliformes ¹	Potáveis(%)
Barueri	2007	222	9	4	14	2	8	185 (83,3)
	2008	259	4 2 ^c 2 ^e	0	18 2 ^a 3 ^e	0	23 3 ^c 2 ^a	221 (85,3)
	2009	109	1	0	34	0	3	71 (65,1)
Carapicuíba	2007	246	3	0	35	0	21	187 (76,0)
	2008	310	3 1 ^b	1 ^a	7	0	74	226 (72,9)
	2009	113	0	0	34	0	15	64 (56,6)
Cotia	2007	133	2	0	3	0	2	126 (94,7)
	2008	200	4	0	13	0	14	169 (83,7)
	2009	26	0	0	9	0	0	17 (84,5)
Embu	2007	133	1	0	14	0	2 ^{**} 1	116 (87,2)
	2008	148	4	1	7	0	26	110 (74,8)
	2009	82	3	0	13	0	12	54 (66,7)
Embu Guaçu	2007	44	2	1 ^d	2	1 ^b	6	33 (75,0)
	2008	39	0	0	2	0	2	35 (89,7)
	2009	25	0	0	7	0	6	12 (48,0)
Itapecerica da Serra	2007	199	5 3 ^b 1 ^c	3 ^a	18 1 ^a	0	5	172 (86,4)
	2008	214	5	2	13 1 ^e	0	18 1 ^c	177 (82,7)
	2009	100	1	1	26	0	9	63 (63,0)
Itapevi	2007	142	3	0	3	0	48 ^{**} 3	88 (62,0)
	2008	284	5 3 ^c 1 ^b	1 ^a	23 3 ^a	0	115 ^{**} 4	143 (50,3)
	2009	106	12 7 ^b 1 ^c 1 ^{b,d,e}	11 7 ^a 1 ^{b,d,e}	8 1 ^a	1 ^{a,b,e}	4 1 ^{a,b,d}	80 (75,4)
Jandira	2007	74	10 1 ^c 3 ^b	3 ^a	1 ^a	0	9 1 ^{**}	55(73,3)
	2008	79	4 2 ^b	4 2 ^a 1 ^d	2	1 ^b	25 4 ^c 2 ^a 2 ^{**}	46 (44,2)
	2009	31	1	0	8	0	5 ^{**} 1	17 (54,8)
Jquitiba	2007	37	1 ^c	0	16 1 ^a	0	0	21 (56,8)
	2008	76	11 3 ^{b,d} 6 ^c	3 ^{a,d}	24 6 ^a	3 ^{a,b}	0	47 (61,8)
	2009	34	2 ^{b,c}	2 ^{a,c}	16 2 ^{a,b}	0	5	13 (38,2)
Osasco	2007	128	2 ^c	1 ^c	26 2 ^a 1 ^b	0	4	98 (76,6)
	2008	131	1	0	13	0	3	114 (87,0)
	2009	63	2 ^c	1	21 2 ^a	0	1	40 (63,5)
Pirapora	2007	80	0	0	10	0	6	64 (80,0)
	2008	54	0	0	6	0	2	46 (85,2)
	2009	42	0	0	3	0	14	25 (56,5)
Santana de Parnaíba	2007	46	1 ^c	1 ^c	10 1 ^a 1 ^b	0	0	36 (78,3)
	2008	48	1	0	6	0	6	35 (72,9)
	2009	3	0	0	1	0	0	2 (66,7)
São Lourenço	2007	94	4 2 ^c	0	30 2 ^a	0	1	61 (64,9)
	2008	58	3 1 ^{b,c} 1 ^b	2 1 ^{a,c} 1 ^a	36 1 ^{a,b}	0	0	20 (34,5)
	2009	34	0	0	1	0	0	33 (97,1)
Taboão da Serra	2007	168	3 2 ^c	0	19 2 ^a	0	12	136 (81,0)
	2008	190	3 1 ^b	1 ^a	8	0	19 ^{**} 2	160 (84,2)
	2009	77	0	0	15	0	0	62 (80,5)
Vargem Grande Paulista	2007	51	1 ^c	0	4 1 ^a	0	3	44 (86,3)
	2008	52	0	0	2	0	12 ^{**} 1	38 (73,1)
	2009	22	0	0	10	0	3	9 (40,9)

Coliformes¹: estão incluídas amostras com coliformes totais, coliformes termotolerantes ou *E. coli*

* significa que a mesma amostra apresentou outros contaminantes, sendo o número de amostra seguido de * e o código:

^a: ferro; ^b: cor; ^c: fluoreto e ^d: turbidez

** significa que o número a seguir é número de amostras com nitrato

mas foi negativa para coliformes; todas as demais estavam com algum tipo de contaminação bacteriológica. O nitrato é tóxico aos seres humanos e se ingerido em excesso pode provocar a metahemoglobinemia infantil mais conhecida por “doença do sangue azul” dos bebês, em que ele é reduzido no organismo a nitrito, que por sua vez compete com o ferro pelo oxigênio livre na corrente sanguínea¹³. Além disso, ele também pode ser transformado em nitrosaminas e nitrosamidas, ambas carcinogênicas¹³. O valor máximo permitido para nitrato é 10 mg/L⁴ e sua presença sugere condições higiênicas sanitárias insatisfatórias. Isso pode indicar que a rede de abastecimento esteja recebendo descargas de nitrogênio orgânico e amoniacal de efluentes, por exemplo, de indústrias químicas, siderúrgicas, farmacêuticas, alimentícias, frigoríficos e matadouros¹⁴. Os parâmetros cor aparente e turbidez são indicativos da presença de sólidos dissolvidos, em suspensão ou material em estado coloidal, sejam eles orgânicos ou inorgânicos (areia e argila). Muitas vezes, porém eles podem estar relacionados com a elevada concentração de ferro. A turbidez, que pode ser de caráter estético, na água de abastecimento torna-se um indicador sanitário, pois pode indicar a eficiência ou não da desinfecção da água, ou seja, a eliminação de micro-organismos pela filtração.

Amostras de água dos municípios da DIR III apresentaram 2,5% de desacordo em relação à cor e cerca de 1,2% referente à turbidez da água no período de 2007 a 2009, dez das 16 amostras em desacordo com o parâmetro turbidez apresentaram teores acima do VMP. Na água dos municípios da DIR IV estes parâmetros foram ainda menos relevantes: 0,5% para cor e turbidez e quanto aos municípios da DIR V houve 0,9% em relação à cor e 0,2% à turbidez, mas das oito amostras com turbidez acima do VMP, sete delas apresentaram cor acima do VMP, sempre no mesmo período. Muitas vezes a cor e a turbidez estão relacionadas à quantidade de ferro presente; nos municípios da DIR III, das 16 amostras que apresentaram turbidez, seis continham ferro e cor acima do VMP. Das 35 amostras com cor acima do permitido pela legislação, 20 delas continham ferro. Com relação à DIR IV, todas as amostras com excesso de cor também apresentaram excesso de ferro e das 43 amostras da DIR V, 21 delas continham ferro acima do VMP. A cor nas amostras de águas pode ser devido à presença de ferro e também devido à turbidez, pois o que se avalia é a cor aparente e não a cor verdadeira da mesma, por

isso as relações entre cor, turbidez e ferro. A cor da água, além de um impacto estético e causar repulsa imediata pelo consumidor, pode provocar manchas nas roupas e utensílios, alterar o sabor da mesma e trazer problemas como depósitos em tubulações^{14,15}.

Ferro foi outro parâmetro avaliado, segundo os dados da Tabela 2; ele esteve presente em valores acima do permitido em cerca de 6,5% das amostras de águas da DIR III, em 0,8% da DIR IV e 2,4% da DIR V. O município de Santa Isabel (DIR III) foi o que apresentou o maior número de amostras com ferro acima do permitido. Em 2007, foram 20,3%, em 2008, 18,0% e em 2009, 22,9%. Isso indica uma necessidade de troca e revisão das redes de distribuição. No total dos anos e das amostras foram 212. Ou seja, cerca de 3,0% de amostras com ferro acima do permitido, quando comparamos este resultado com o do levantamento realizado no triênio anterior quando foram 288 amostras do total de 7775 (3,7%)⁷, observamos um pequeno declínio das amostras em desacordo. No entanto, isso não significa que houve melhoria na rede de distribuição, pois as amostras podem ser coletadas em qualquer ponto da mesma e o ferro pode ser proveniente da má condição do encanamento (encanamento enferrujado). O consumo excessivo de ferro pode causar a hematocromatose, que se caracteriza pelo depósito desse metal nos tecidos de órgãos como fígado, pâncreas, coração e hipófise.^{14,15} Sua presença pode favorecer o desenvolvimento das “ferro-bactérias”, que não são prejudiciais à saúde, mas conferem cor e odor à água. Dessa forma sua determinação é essencial e o valor máximo permitido é 0,3 mg/L.

Bactérias do grupo coliformes totais, com exceção de *E. coli*, ocorrem tanto no esgoto como em águas naturais, no solo e na vegetação. A presença de coliformes totais nos sistemas de distribuição e nos suprimentos de água armazenada pode revelar sua multiplicação em um possível biofilme formado ou contaminação por meio da entrada de material externo, incluindo solo ou planta¹³. Por outro lado, a presença de *E. coli* ou de coliformes termotolerantes, fornece evidência de contaminação fecal recente, e sua detecção deve levar em consideração mais ação, que pode incluir mais amostragem e investigação de origens potenciais tais como: tratamento inadequado ou falhas na integridade do sistema de distribuição¹³. Isso pode explicar o número elevado de amostras de água de abastecimento não potáveis pela presença de

coliformes totais e/ou de coliformes termotolerantes ou *E. coli* no município de Itapevi (Tabela 2).

CONCLUSÃO

Como a qualidade da água é variável em função do tempo e do espaço, e o tratamento da mesma não é garantia final de sua potabilidade, o seu *status* pode-se alterar da distribuição até o consumo. Considerando os resultados levantados, principalmente no que tange à fluoretação da água, torna-se evidente a importância de uma padronização nessa operação, pois não se está cumprindo adequadamente a prevenção da saúde bucal. O monitoramento da água deve ser constante não só visando a melhoria das condições sanitárias, mas também para propiciar um consumo seguro.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Qualidade da Água para Consumo Humano. Serie C. Projetos, Programas e Relatórios. Brasília, DF; 2005. 106 p. [atualizado 2005; acesso 2010 Out 22]. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/politicas/programa_agua.pdf].
2. São Paulo (Estado). Resolução Estadual SS – 250, de 15 de agosto de 1995. Define teores de concentração do íon fluoreto nas águas para consumo humano, fornecidas por sistemas públicos de abastecimento. Diário Oficial [do] Estado, São Paulo, SP. 1995 Ago 15; Seção 1:11.
3. São Paulo (Estado). Resolução Estadual SS nº 45, de 31 de janeiro de 1992. Institui o Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano – PROÁGUA e aprova diretrizes para a sua implantação no âmbito da Secretaria da Saúde. Diário Oficial [do] Estado, São Paulo, SP. 1992 Fev 1; Seção 1:27.
4. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Diário Oficial [da] União. 26 Mar 2004; Seção 1:266.
5. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Diretriz Nacional do Plano de Amostragem da Vigilância Ambiental em Saúde relacionada à Qualidade da Água para Consumo Humano VIGIÁGUA. Brasília, DF, maio 2005. [acesso 2010 Out 21]. Disponível em: [www.saude.mt.gov.br/.../diretriz-nacional-do-plano-de-amostragem-do-vigiagua-%5B54-090709-SES-MT%5D.pdf].
6. São Paulo (Estado). Secretaria da Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. Manual de Coleta, Conservação e Transporte de Amostras de Água. [acesso 2010 Out 22]. Disponível em: [http://www.cvs.saude.sp.gov.br/download.asp?tipo=zip&arquivo=man_coleta.zip].
7. Scorsafava MA, Lichtig J, Brígido BM, Yokosawa CE, Dias Jr FL, Okada IA et al. Águas. In: Zenebon O, Pascuet NS, coordenadores. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. p.347-404.
8. Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW, Greenberg AE, editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington DC:APHA;2005.
9. Brígido BM, Mazon EMA, Freitas VPS. Avaliação da fluoretação das águas de abastecimento público nos municípios abrangidos pela DIR de Piracicaba, no período de 2001 a 2005. Bol Inst Adolfo Lutz. 2005;15(2):33-5.
10. Scorsafava MA, Souza A, Stofer M, Nunes CA. Controle físico-químico da qualidade da água para consumo humano na região da Grande São Paulo. Bol Inst Adolfo Lutz. 2008;18(1/2):91-4.
11. Moraes JE, Quináia SP, Takata NH, Fürstenberguer CB. Determinação do índice de fluoreto em água de abastecimento público em municípios da região centro-sul do Paraná. *Ambiência*. 2009;5(2):233-46.
12. Fawell J, Bailey K, Chilton J, Dahi E, Fewtrell L, Magara Y, editors. Fluoride in Drinking-water. World Health Organization/WHO Drinking-water Quality Series. London:World Health Organization; 2006.
13. World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. including 1st and 2nd addenda. v.1, Recommendations. 3ª ed. Geneva: WHO;2008.
14. Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo. Apêndice A. Significado Ambiental e Sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. São Paulo: CETESB; 2008.
15. Battalha BHL, Parlatore AC, editores. Controle da qualidade da água para consumo humano. Bases Conceituais e Operacionais. São Paulo: CETESB; 1993.

Leite cru de regiões leiteiras: perspectivas de atendimento dos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51/2002

Raw milk from dairy regions: the perspectives to comply with the requirements established by the Normative Instruction nº 51/2002

RIALA6/1392

Maria Cristina Delgado da SILVA*, Juliana de Oliveira MORAES, Cantídio Francisco de Lima NETO

*Endereço para correspondência: Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas - UFAL, Maceió, Alagoas. Av. Lourival Melo Mota, S/N- Campus Universitário, BR 104, Km 97. Tabuleiro do Martins, CEP: 57072-970. tel: 82-32141801. E-mail: mcdelgadosilva@gmail.com

Recebido: 25.05.2011 - Aceito para publicação: 24.08.2011

RESUMO

Com o objetivo de avaliar se o leite cru oriundo da bacia leiteira de Alagoas estaria em condições de cumprir com os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51/2002 (IN51), 165 amostras foram coletadas diretamente de tanques coletivos de armazenamento. Foram realizadas análises quanto aos parâmetros microbiológicos (contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas) de acordo com a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SDA 62/2003), e os parâmetros físico-químicos (acidez, índice de crioscopia e densidade) segundo as técnicas analíticas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz. Cento e nove (66,1%) amostras estavam em desacordo quanto ao padrão microbiológico e 74 (44,9%) quanto às determinações físico-químicas estabelecidas pela IN51. Sugere-se a adoção de programas regionais de assistência aos produtores leiteiros a fim de efetivar os ajustes necessários para atendimento dos requisitos estabelecidos pela IN51.

Palavras-chave. leite cru, qualidade, Instrução Normativa nº 51.

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate whether the raw milk produced in dairy region of Alagoas, Brazil are accomplishing with the official standards Normative Instruction (NI51/2002) A total of 165 samples collected from collective bulk tanks were analyzed on physicochemical and microbiological characteristics, according to Instituto Adolfo Lutz techniques and following the Ministry of Agriculture, Cattle Breeding and Supply standards (SDA 62/2003), respectively. It was observed that 109 (66.1%) samples were in disagreement with the microbiological criteria, and that 74 (44.9%) samples did not comply with the physicochemical standards. It is suggested that dairy producers need to be assisted by the specific regional programs in order to support them for adapting their practices to accomplish with the requirements of NI51/2002.

Keywords. raw milk, quality, NI51.

INTRODUÇÃO

O Estado de Alagoas destaca-se como sendo um dos principais produtores de leite do Nordeste brasileiro, ocupando a sexta posição, segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2008)¹. Dispõe de duas bacias leiteiras significativas. A primeira e maior delas, também conhecida como “Bacia Leiteira Tradicional”, situa-se na região do agreste e no sertão alagoano, tendo os municípios de Batalha e Major Isidoro como os maiores expoentes na produção de leite. Essa bacia estende-se pelo território alagoano abrangendo uma área de aproximadamente 6 mil Km² e uma população estimada em mais de 300 mil habitantes, dos quais 25 mil são vinculados à produção de leite².

O leite é um alimento rico em diversos nutrientes, tornando-se um alimento vulnerável a alterações físico-químicas e organolépticas, limitando assim a sua durabilidade. A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma preocupação de saúde pública, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados. A garantia de sua qualidade depende de vários fatores nas diferentes etapas de manipulação e processamento.

Nos últimos anos, tem-se observado a adoção acelerada de programas de refrigeração do leite cru nas propriedades rurais logo após a ordenha, com posterior coleta e transporte do leite em caminhões-tanque isotérmicos, conforme recomendação do Ministério da Agricultura por meio da Instrução Normativa nº 51 (IN51)³. Essas medidas vêm sendo amplamente incentivadas, uma vez que há considerável aumento na qualidade do leite e derivados quando o mesmo é imediatamente refrigerado, em comparação com o leite não refrigerado coletado e transportado em latões. De acordo com a IN51², o leite cru deve ser refrigerado já na propriedade e possuir contagem de aeróbios mesófilos e psicotróficos máxima de 10⁶ UFC/mL, acidez em g de ácido láctico/100 mL (0,14 a 0,18), densidade, 15/15 °C, g/mL (1,028 a 1,034) e índice de crioscopia (máx. -0,530 °H).

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos fornece informações gerais sobre as condições sanitárias durante a ordenha, manejo, transporte e armazenamento do leite cru. Enquanto que a multiplicação de micro-organismos psicotróficos no leite cru está diretamente associada ao abuso

no tempo e na temperatura de armazenamento desse produto nos tanques de refrigeração e a má higienização dos mesmos.

O objetivo desta pesquisa, portanto, foi o de verificar se o leite cru produzido na bacia leiteira de Alagoas estaria em condições de cumprir com os padrões microbiológicos e físico-químicos previstos pela Instrução Normativa nº 51.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

As coletas de leite cru foram realizadas durante os meses de setembro de 2007 a abril de 2008. Em condições assépticas, foram coletadas 165 amostras de leite cru procedentes de tanques coletivos de armazenamento, diretamente de propriedades rurais do estado de Alagoas. As amostras foram transportadas em caixa de isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos (UFAL), para análise imediata.

Análise da qualidade microbiológica dos leites

As determinações microbiológicas para a enumeração de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas foram realizadas segundo metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)⁴. Foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade (*pour plate*) para enumeração de bactérias mesófilas e a de semeadura em superfície para enumeração de micro-organismos psicotróficos. As semeaduras foram realizadas em duplicata e, após o período de incubação, a população foi determinada e expressa em Unidades Formadora de Colônias (UFC) por mililitros de amostra.

Análise da qualidade físico-química dos leites

As amostras foram também submetidas às análises físico-químicas segundo técnicas analíticas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz⁵, quanto aos parâmetros de acidez, densidade e índice de crioscopia. Os teores de acidez foram obtidos pelo método titulométrico e os resultados expressos em gramas de ácido láctico/100 mL de leite, utilizando uma solução Dornic (NaOH, N/9). Para a determinação da densidade a 15 °C, utilizou-se o termolactodensímetro de Quevenne com o auxílio da tabela do fator de correção, quando necessário. A pesquisa de adição de água foi efetuada em crioscópio eletrônico Laktron, modelo LK-7000.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Instrução Normativa nº 51³ pode-se constatar que do total de amostras analisadas, 109 (66,1%) apresentaram-se em desacordo quanto aos padrões microbiológicos e 74 (44,9%) quanto às determinações físico-químicas. Entre os parâmetros microbiológicos avaliados, 100 (60,6%) e 38 (23,0%) amostras apresentaram-se com contagens de aeróbios mesófilos e psicotróficos acima do permitido pela legislação², respectivamente, sendo que 30 (18,2%) estavam fora do padrão para ambos os parâmetros, 75 (45,5%) somente para mesófilos e quatro (2,4%) apenas para psicotróficos. As populações de micro-organismos aeróbios mesófilos apresentaram resultados variando de $3,0 \times 10^2$ a $3,0 \times 10^8$ UFC/mL, enquanto as de psicotróficos variaram de <10 a $6,3 \times 10^7$ UFC/mL.

Esse resultado deve-se ao fato do leite coletado em tanques coletivos, em geral, estar exposto a uma grande variedade de fontes de contaminação. O resfriamento do leite cru é ineficiente se for realizado muito tempo após a ordenha, pois a microbiota já estará elevada e o resfriamento apenas retardará nova multiplicação.

Durante a coleta *in loco* das amostras de leite cru, diretamente de tanques coletivos de armazenamento, verificou-se que não havia registro de controle efetivo da temperatura do leite, o que pode explicar a elevada contagem de bactérias mesófilas. Outros fatos relevantes eram a distância entre as propriedades rurais e esses tanques, sendo o leite cru ordenhado e transportado à temperatura ambiente, além da precária higienização dos tanques. Esses resultados evidenciam que além de um resfriamento eficiente, é preciso evitar condições que favoreçam populações bacterianas elevadas, tanto durante a ordenha, como no transporte e armazenamento. Vários pesquisadores⁶⁻⁸ têm demonstrado que, quando o leite é mantido a 4 °C, não há aumento significativo da população microbiana.

A contaminação do leite cru por micro-organismos psicotróficos deve-se possivelmente ao precário suprimento de água na região do sertão de Alagoas, falhas nos procedimentos de higienização dos tanques, ocorrência de mastite e/ou a falta de controle do binômio tempo/temperatura empregado na cadeia produtiva do leite. Conseqüentemente a presença desses micro-organismos indica baixa qualidade do leite e

condições insatisfatórias de armazenamento, além de atingir negativamente o seu valor nutritivo e o rendimento comercial de produtos lácteos.

Ainda que um alimento esteja isento de patógenos e que não tenha ocorrido alterações em suas características organolépticas, a presença de um número elevado de mesófilos e/ou psicotróficos é indicativa de sua insalubridade. Além disso, uma alta contagem de indicadores pode indicar a exposição do alimento a condições que possam ter permitido a introdução e multiplicação de patogênicos⁹.

Quanto às análises físico-químicas, obteve-se 74 (44,9%) amostras fora dos padrões físico-químicos recomendados pela Instrução Normativa nº 51³ em pelo menos um dos parâmetros avaliados. No entanto, algumas amostras apresentaram-se em desacordo somente para o índice de crioscopia, outras para a acidez e outras para a densidade (Figura 1). Já 11 (6,7%) amostras encontravam-se não conforme tanto para o índice de crioscopia como para acidez, 4 (2,4%) para o índice de crioscopia e a densidade e 2 (1,2%) em desacordo para os três parâmetros simultaneamente (Figura 1).

Os resultados obtidos quanto ao índice de crioscopia concordam com Polegato e Rudge¹⁰, que encontraram a fraude por adição de água em 19,3% de amostras de leite cru oriundas de Marília-SP. Mas, além da adição de água, fatores como raça, alimentação, período do dia em que foi realizada a ordenha, clima, mastite e acidez poderão interferir nos valores do índice de crioscopia¹¹. Já em relação à acidez, Polegato e Rudge¹⁰ encontraram resultados bem inferiores, de 3,2% de amostras em desacordo com o padrão recomendado³. Enquanto Almeida *et al.*¹², obtiveram 71,4% de amostras fora do padrão para acidez. Baixos níveis de acidez no leite podem estar relacionados aos valores abaixo do padrão para índice de crioscopia, visto

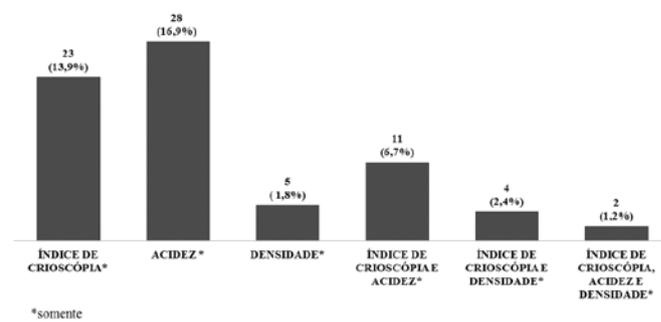


Figura 1. Percentual de amostras em desacordo com as determinações físico-químicas avaliadas segundo a IN 51

que o volume de água adicionado, pode levar à redução proporcional nos valores de acidez. Outra justificativa é a alta população bacteriana ($>10^6$ UFC/mL) encontrada nas amostras de leite cru que também apresentaram acidez elevada ($>0,18$ °D), considerando que a multiplicação de bactérias mesófilas e/ou psicotróficas pode promover a produção de ácido láctico e assim alterar a acidez do leite.

Os valores de densidade obtidos nesta pesquisa, foram inferiores aos de Freitas et al.¹³, que detectaram 39,4% de amostras inaceitáveis. Valores de densidade abaixo do permitido ($<1,028$), pode ser justificado devido a fraude por adição de água e/ou gordura nas amostras ou ainda mastite e alterações na lactação¹⁴.

Temperaturas acima de 4 °C favorecem a multiplicação de psicotróficos, que assumem grande importância nesse contexto uma vez que podem ser produtores de proteases e lipases, enzimas que comprometem a qualidade da matéria-prima. Os resultados aqui apresentados indicam que a qualidade do leite produzido em Alagoas não varia muito da de outras regiões do país, indicando que a revisão dos procedimentos adotados nas propriedades leiteiras é fundamental para a efetiva melhoria da qualidade e segurança desse produto.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a granelização em tanques coletivos de armazenamento pode comprometer a qualidade do leite e seus derivados se os produtores não adotarem práticas higiênicas eficientes durante toda cadeia produtiva. Sugere-se a adoção de programas regionais de assistência aos produtores leiteiros a fim de contribuir para os ajustes necessários ao atendimento dos requisitos estabelecidos pela IN51.

AGRADECIMENTOS

À Cooperativa de Produção Leiteira de Alagoas pelo suporte financeiro concedido e à Dra. Maria Teresa Destro pelas sugestões apresentadas e que colaboraram para a elaboração deste artigo.

REFERÊNCIAS

1. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Pecuária Municipal; 2008. [acesso 2011 Ago 23]. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2008/default.shtm].
2. Neto AP, Marques RLM, França FMC. Documento Referencial do Polo de Desenvolvimento Integrado Bacia Leiteira de Alagoas. Fortaleza: Banco do Nordeste; 2000.
3. Brasil. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1. p 13.
4. Brasil. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura. Departamento de Inspeção de produtos de origem animal, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 26 ago. 2003. Seção 1.
5. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo-Brasil). Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos: Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. Brasília (DF): Anvisa; 2005.
6. Moraes RC et al. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Scient Vet*. 2005;33(3):259-64.
7. Pinto CLO, Martins ML, Vanetti MCD. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. *Cienc Tecnol Aliment*. 2006;26(3):645-65.
8. Martins MEP, Nicolau ES, Mesquita AJ, Neves RBS, Arruda MT. Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques. *Ciênc Animal Bras*. 2008;9(4):1152-8.
9. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 1996.
10. Polegato EPS, Rudge AC. Estudo das Características Físico-químicas e Microbiológicas dos Leites Produzidos por Mini-usinas da região de Marília – São Paulo/Brasil. *Hig Aliment*. 2003;17(110):49-55.
11. Fonseca LM, Rodrigues R, SOUZA MR. Índice Crioscópico do leite. *Caderno Técnico da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG*. 1995;13:73-83.
12. Almeida AC, Silva GLM, Silva DB, Fonseca YM, Buelta TTM, Fernandes EC. Características Físico-químicas e Microbiológicas do Leite Cru Consumido na Cidade de Alfenas, MG. *Rev Univ Alfenas*. 1999;5(5):165-8.
13. Freitas JA, Silva RAG, Nascimento JAC. Características do leite fluido consumido em Belém, Pará. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1995;47(3):435- 45.
14. Behmer AML. Tecnologia do leite. 15ª ed. São Paulo: Nobel; 1985; p. 53-120.

Avaliação de hexaclorociclohexano em águas nas circunvizinhanças de um passivo ambiental

Evaluation of liability from environmental contamination with hexachlorocyclohexane in water in the surroundings areas

RIALA6/1393

Tereza Atsuko KUSSUMI*, Vera Regina Rossi LEMES, Viviane Emi NAKANO, Sonia Bio ROCHA, Iracema de Albuquerque KIMURA, Irani Cristiane da SILVA

*Endereço para correspondência: Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Centro de Contaminantes, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 355, Cerqueira César, São Paulo, SP, Brasil, tel: 11 3068-2945, e-mail: tkussumi@ial.sp.gov.br.

Recebido: 06.05.2011 - Aceito para publicação: 21.09.2011

RESUMO

A ocorrência de hexaclorociclohexano (HCH) foi avaliada em amostras de água coletadas nas proximidades de um passivo ambiental, abrangendo os municípios de Franco da Rocha, Caieiras e Cajamar (Estado de São Paulo - Brasil). Nesse passivo foram encontrados resíduos desse agrotóxico, embora o seu uso agropecuário esteja proibido desde 1985 e em campanhas de saúde pública ou como domicílios sanitários desde 1998. Foram analisadas 12 amostras de água destinadas ao consumo humano provenientes de poços e mananciais superficiais e subterrâneos. A determinação dos isômeros α , β , γ e δ -HCH foi realizada de acordo com a metodologia descrita no American Public Health Association (1995) com adaptações e analisados por cromatografia a gás com microdetector de captura de elétrons (μ ECD). Os valores de lindano (γ -HCH) estavam de acordo com a legislação brasileira. No entanto, os resultados dessa investigação mostraram níveis detectáveis de isômeros de HCH em cinco amostras, representando 42% do total e o maior valor detectado foi para o isômero β -HCH (0,075 μ g/L), o que indica uma possível contaminação técnica por HCH.

Palavras-chave. água, hexaclorociclohexano, agrotóxicos organoclorados, meio ambiente, saúde pública.

ABSTRACT

Hexachlorocyclohexane (HCH) contents were evaluated in water samples collected from the vicinity areas of an environmental liability covering the municipalities of Franco da Rocha, Caieiras and Cajamar (State of São Paulo - Brazil). HCH residues were found in this environmental liability, although its use in agribusiness has been forbidden since 1985 and in the public health campaigns or for domicile sanitizing product since 1998. Twelve drinking water samples were analyzed, including the surface and underground samples from wells and fountains. The determination of isomers α , β , γ and δ -HCH was carried out in accordance with the methodology described in the American Public Health Association (1995) with modification and the analyses were performed in gas chromatography with electron capture micro-detector (μ ECD). The detected lindane (γ -HCH) contents were in accordance with Brazilian legislation. However, detectable contents of HCH isomers were found in five samples, representing 42% of the total analyzed samples and the highest value (0,075 μ g/L) was for a β -HCH isomer, indicating a possible technical HCH contamination.

Keywords. water, hexachlorocyclohexane, organochlorine pesticides, environment, public health.

O estudo teve como objetivo avaliar os níveis de HCH em amostras de águas nas circunvizinhanças de uma fonte pontual contaminada pelo agrotóxico organoclorado hexaclorociclohexano (HCH). Em 1992, foi desativada uma instalação industrial de fabricação de detergentes, responsabilizada ambientalmente pela contaminação proveniente da indústria anterior de defensivos agrícolas no município de Franco da Rocha, no bairro Serra dos Cristais, na região limítrofe de Caieiras e Cajamar (Estado de São Paulo). Apesar das ações da Companhia de Tecnologia Ambiental e Saneamento do Estado de São Paulo (CETESB) determinando a remoção dos resíduos como medida de emergência e implantando a restrição de uso do solo e águas superficiais na região¹, ainda verifica-se a presença de resíduos de HCH no local na forma de torrões de cor branca, conforme a Figura 1. Os meios considerados impactados foram: solo superficial, subsolo (dentro do terreno) e águas subterrâneas (áreas internas e adjacências).



Figura 1. Disposição de HCH em forma de torrões a céu aberto no solo do passivo ambiental em Franco da Rocha (SP). Foto de autoria de Francisco C. de Campos (Divisão Técnica de Ações Sobre o Meio Ambiente do Centro de Vigilância Sanitária - SAMA/CVS), jan./2009

O HCH técnico, composto por 53% a 70% de alfa-hexaclorociclohexano (α -HCH), 3% a 14% de beta-hexaclorociclohexano (β -HCH), 11% a 18% de gama-hexaclorociclohexano (γ -HCH), 6 a 10% de delta-hexaclorociclohexano (δ -HCH) e 3% a 5% épsilon-hexaclorociclohexano (ϵ -HCH)² é possível carcinogênico para humanos³. Seu uso agropecuário está proibido desde 1985, de acordo com a Portaria nº 329 do Ministério da Agricultura e em campanhas de saúde pública ou como domissanitários desde 1998,

segundo a Portaria nº 11 de 8 de janeiro do Ministério da Saúde.

O histórico no Brasil mostra que uma grande quantidade desses resíduos foi descartada incorretamente ou abandonada. Um exemplo é a Cidade dos Meninos em Duque de Caxias (RJ), em que a desativação de uma fábrica de hexaclorociclohexano provocou alta contaminação ambiental², com níveis de HCH de até 6.200 mg/kg, 7.320 mg/kg, 140 mg/kg e 530 mg/kg, respectivamente para os isômeros α , β , γ e δ , segundo amostras analisadas de solo do local⁴.

Segundo a legislação brasileira referente às áreas contaminadas, o poluidor é o agente penalizado. Em muitos casos, a solução se torna difícil porque as empresas fazem investimento com créditos bancários deixando em troca seus títulos de propriedade do solo. Nesses casos, os custos de remediação da contaminação são maiores que o preço do terreno, tornando a cobrança inviável⁵.

De acordo com o último levantamento da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em 2010¹, existiam 255 áreas contaminadas decorrentes de atividade industrial, entre os 3.675 registros presentes do Estado de São Paulo.

Os mais importantes aspectos da mobilidade do HCH são a sua transferência, na forma de vapor, para a atmosfera (95%) e os posteriores mecanismos de deposição, principalmente por meio da chuva⁶.

Os contaminantes podem atingir águas superficiais por meio de escoamento das águas da chuva e da irrigação ou subterrâneas pela drenagem e percolação no solo. Quando há a contaminação em ambiente aquático, os tratamentos de águas convencionais são inefetivos na remoção de pesticidas organoclorados⁷. As águas superficiais são fontes vitais de água potável e a qualidade dessas têm recebido considerável atenção das legislações internacionais e brasileiras (Portaria nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, de 17 de março de 2005 e nº 518 do Ministério da Saúde -MS, de 25 de março de 2004).

Foram analisadas 12 amostras de água de poços e mananciais superficiais e subterrâneos destinados ao consumo humano, nas proximidades da fonte pontual da contaminação, em Franco da Rocha, no Bairro Serra dos Cristais, na região limítrofe de Caieiras e Cajamar (SP), coletadas pelos grupos de Vigilância Sanitária dos respectivos municípios.

A determinação dos isômeros α , β , γ e δ -HCH nas amostras de água foi realizada de acordo

com o método descrito no American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, com adaptações⁸. A extração dos isômeros de HCH nas amostras de água (alíquotas de mil mL) foi efetuada, em triplicata, por partição líquido-líquido, com 60 mL de uma mistura diclorometano-n-hexano(1:4), filtrada em sulfato de sódio anidro grau resíduo e concentrada a 5 mL. A análise foi realizada por cromatografia a gás com microdetector de captura de elétrons (μ ECD), nas seguintes condições: coluna de fase estacionária 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m; temperatura do injetor: 250 °C; temperatura do detector: 310 °C; programação da temperatura do forno: 60 °C a 190 °C (25 °C/min), 190 °C a 280 °C (5 °C/min), 280 °C (10 min); gás de arraste: nitrogênio ultra puro; fluxo: 1 mL/min; injeção: modo sem divisão e volume de 2 μ L. Foram construídas curvas analíticas para cada isômero em oito níveis e a faixa de trabalho foi de 0,2 pg/uL a 10,0 pg/uL para α , γ e δ -HCH e de 0,4 pg/uL a 20,0 pg/uL para β -HCH, com coeficiente de correlação igual ou superior a 0,999 para todos os isômeros estudados. A seletividade do método foi avaliada utilizando-se matriz de água ultrapura.

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos dos isômeros de HCH nas amostras de água dos municípios estudados. Os limites de detecção (LD) do método foram 0,002 ug/L para α -HCH e δ -HCH, 0,003 ug/L para γ -HCH e 0,004 ug/L para o β -HCH. Os limites de quantificação do método (LQ) foram 0,005 ug/L para α -HCH e δ -HCH e 0,010 ug/L para β -HCH e γ -HCH.

Os valores de lindano (γ -HCH) encontrados (Tabela 1) estão de acordo com a legislação brasileira, Portarias nº 357 do CONAMA e nº 518 do Ministério da Saúde (MS), que determina as concentrações de 0,02 μ g/L e 2,0 μ g/L, respectivamente, em águas destinadas ao consumo humano.

Os resultados dessa investigação apresentaram níveis detectáveis dos isômeros de HCH, α , β e δ , no local da fonte de contaminação em Franco da Rocha, Poço 1, o que não ocorreu no Poço 2 por estar mais distante. Os poços artesianos da mesma região, provavelmente por estarem mais protegidos, não apresentaram concentrações detectáveis de isômeros de HCH. As análises das amostras de Cajamar indicaram que não houve contaminação nos locais de coleta. Os resultados de maior incidência da presença de isômeros de HCH foram dos mananciais da região de Caieiras. Somente a amostra do Manancial Subterrâneo 2 não apresentou níveis detectáveis de isômeros de HCH, possivelmente por estar mais distante da região de contaminação. O maior valor encontrado foi para o isômero β -HCH (0,075 μ g/L) do Manancial Subterrâneo 1. Segundo Zhou et al.⁹, os isômeros do HCH possuem propriedades físico-químicas diferentes, sendo o β -HCH mais estável, com baixa solubilidade em água e pressão de vapor e relativamente resistente à degradação microbiana. Por ser o mais persistente na natureza, geralmente o isômero β é encontrado em concentrações maiores, tanto em solo e água como no tecido adiposo e leite de animais¹⁰.

Tabela 1. Resultados da quantificação dos isômeros de hexaclorociclohexano (HCH) em amostras de água dos municípios de Franco da Rocha, Caieiras e Cajamar (SP)

Município	Local de Coleta	α -HCH (μ g/L)	β -HCH (μ g/L)	γ -HCH (μ g/L)	δ -HCH (μ g/L)
Franco da Rocha	Poço 1	+	+	nd	+
Franco da Rocha	Poço Artesiano 1	nd	nd	nd	nd
Franco da Rocha	Poço 2	nd	nd	nd	nd
Franco da Rocha	Poço Artesiano 2	nd	nd	nd	nd
Franco da Rocha	Poço Artesiano 3	nd	nd	nd	nd
Cajamar	Poço 1	nd	nd	nd	nd
Cajamar	Poço 2	nd	nd	nd	nd
Caieiras	Manancial Superficial - NC, NT	+	+	+	+
Caieiras	Manancial Subterrâneo 1 - C, NT	+	0,075	+	0,007
Caieiras	Manancial Subterrâneo - NC, NT	0,007	nd	nd	nd
Caieiras	Manancial Subterrâneo - C, T	+	+	nd	+
Caieiras	Manancial Subterrâneo 2 - C, NT	nd	nd	nd	nd

+: Resíduos \geq LD e $<$ LQ, nd: Não Detectado (menor que o limite de detecção)
NC: Não Canalizada, NT: Não Tratada, C: Canalizada, T: Tratada

Estudos mostram o uso da relação dos resultados das concentrações de α -HCH/ γ -HCH para predizer e deduzir a fonte originária de HCH no meio ambiente para água⁹. A relação no intervalo de 0,2 a 1,0 em água indica uma transformação fotoquímica do γ -HCH em α -HCH na atmosfera e posterior deposição na superfície aquática. Os valores da razão entre 4 a 7 indicam a presença de uma fonte intermitente de HCH técnico, como o uso de agrotóxico HCH nas proximidades da área estudada. Os valores maiores que 7 indicam uma poluição atmosférica a longa distância. De acordo com os resultados, algumas amostras apresentaram níveis detectáveis de isômeros de α e γ HCH, porém não quantificáveis para prognosticar a origem da fonte de contaminação.

Os resultados obtidos indicam uma possível contaminação por HCH técnico. Para concluir sobre a exposição da população, contudo, sugere-se um monitoramento dos níveis de HCH, incluindo análise de amostras nos receptáculos como: água, solo, sedimento de cursos d'água, bem como a avaliação dos moradores nas circunvizinhanças da área estudada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Reinaldo A. Ribeiro, Antonia de L. Silva e Janete Alaburda pelo suporte técnico para a realização do trabalho e aos Srs. Francisco C. de Campos e Arnaldo M. Elmec (Divisão Técnica de Ações Sobre o Meio Ambiente do Centro de Vigilância Sanitária - SAMA/ CVS) pelo fornecimento de materiais e informações complementares.

REFERÊNCIAS

1. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB. Relação de áreas contaminadas. [acesso 2011 Ago 9]. Disponível em: [<http://www.cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/relacoes-de-areas-contaminadas/15-publicacoes>].
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Gerência Geral de Toxicologia - ANVISA/GGTOX. Nota técnica sobre a reavaliação toxicológica do ingrediente ativo lindano. [acesso 2011 Ago 9]. Disponível em: [<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c99bf100474595769d6bdd3fbc4c6735/lindano.pdf?MOD=AJPERES>].
3. International Agency for Research on Cancer/World Health Organization - IARC/WHO. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Hexachlorocyclohexane (technical HCH and lindane), p.5-6 [acesso 2011 Ago 9]. Disponível em: [<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol20/volume20.pdf>].
4. Oliveira RM, Bastos LHP, Dias AEXO, Silva AS, Moreira JC. Concentração residual de hexaclorociclohexano em área contaminada na Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil, após tratamento com óxido de cálcio. *Cad Saúde Pública*. 2003;19(2):447-53.
5. Foladori G. Desengenharia. O passivo ambiental na desativação de empreendimentos industriais. *Ambient soc*. [Internet]. 2002;10:137-41. [acesso 2011 Ago 9]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-753X2002000100009&lng=en&nrm=iso].
6. Turnbull A. Chlorinated Pesticides. In: Hester RE, Harrison RM (eds) *Chlorinated organic micropollutants. Issues in environmental science and technology*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 1996.p.113-35.
7. Rissato SR, Libânio M, Grafferis GP, Gerenutti M. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial potável e solo da região de Bauru (SP). *Quim Nova*. 2004;27(5):739-43.
8. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. Brasília (DF): Anvisa; 2005.
9. Zhou R, Zhu L, Yang K, Chen Y. Distribution of organochlorine pesticides in surface water and sediments from Qiantang River, East China. *J Hazard Mater*. 2006;137:68-75.
10. Kinyamu JK, Kanja LW, Skaare JU, Maitho TE. Levels of organochlorine pesticides residues in milk of urban mothers in Kenya. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1998;60:732-8.

Teores de minerais de paçoquinhas elaboradas com matérias-primas regionais alternativas

Mineral contents of tradicional candy *paçoquinha* prepared with alternative regional raw materials

RIALA6/1394

Patrícia Elaine Alencar BELLINI-SILVA¹, Marcelo Antonio MORGANO², Marcos Antônio da Mota ARAÚJO³, Regilda Saraiva dos Reis MOREIRA-ARAÚJO^{1*}

*Endereço para correspondência: ¹ Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Campus: Ministro Petrônio Portela, S/N, Bloco 13, Ininga, Teresina, PI, Brasil, CEP: 64049-550, e-mail: regilda@ufpi.br

² Instituto de Tecnologia de Alimentos

³ Fundação Municipal de Saúde de Teresina

Recebido: 01.03.2010 – Aceito para publicação: 12.08.2011

RESUMO

Os teores de minerais de formulações de paçoquinha à base de matérias-primas regionais alternativas do Nordeste Brasileiro (farinha de castanha de caju, farinha de mandioca, fubá de milho, rapadura, e mel), foram determinados e comparados com os das paçocas de amendoim existentes no mercado. Foram preparadas paçoquinhas com fígado bovino (FB) em diferentes concentrações e formulações sem fígado bovino (PIFB). Os teores de minerais foram analisados por espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo. Os valores obtidos (mg/100 g) em produtos com 5%, 7,5% e 10% de FB foram, respectivamente: Mg (112,5; 112,0; 111,0); Mn (1,10; 1,13; 1,06); P (299; 315; 321) Fe (4,0; 4,75; 4,59); Na (378; 369; 361); Zn (3,24; 3,4; 3,4); Se (0,1; 0,1; 0,1); e nos produtos PIFB, Mg (111,0); Mn (1,10); P (278,0); Fe (4,1); Na (346,0); Zn (2,85). Paçoquinhas com 5% de FB apresentaram maiores teores de Na, P, Zn e Se, do que PIFB. Paçoquinhas de 5% de FB e PIFB demonstraram maiores teores de Mg, P, Fe, Na, K, Cu, Zn, em relação às de amendoim das Tabelas de Composição Química dos Alimentos Nacionais. Paçoquinhas elaboradas com matérias primas regionais apresentam viabilidade de produção pelos teores mais elevados de minerais do que de amendoim.

Palavras-chave. produto regional, paçoca doce, micronutrientes.

ABSTRACT

This study aimed at analyzing the mineral contents of *paçoquinha* formulations employing regional raw materials from northeastern Brazil: cashew nut flour, cassava flour, corn meal, molasses and honey. And these mineral contents were compared with marketed peanut *paçoquinha*. Two *paçoquinha* formulations were prepared, one adding bovine liver (BL) at different concentrations and other was bovine liver-free (BLF). The minerals contents were analyzed by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma. The mean values (mg/100g) detected in product containing 5%, 7.5%, 10% BL were respectively: Mg (112.5; 112.0; 111.0); Mn (1.10; 1.13; 1.06); P (299; 315; 321) Fe (4.0; 4.75; 4.59); Na (378; 369; 361); Zn (3.24; 3.4; 3.4); Se (0.1; 0.1; 0.1); and for BLF: Mg (111.0); Mn (1.10); P (278.0); Fe (4.1); Na (346.0); Zn (2.85). *Paçoquinha* with 5% BL showed higher contents of Na, P, Zn and Se than formulation BLF. Also highest contents of Mg, P, Fe, Na, K, Cu, Zn were found in *paçoquinhas* 5% BL and BLF when compared with peanut paçocas stated in of Chemical Composition of National Food Tables. *Paçoquinhas* produced with regional raw materials show potential for large scale production owing to higher minerals contents than peanut paçocas.

Keywords. regional product, sweet nut candy, micronutrients.

O acesso a uma grande variedade de vegetais e frutas que podem ser comprados na própria região onde são produzidos, deve despertar a importância da valorização de uma das maiores riquezas do Brasil, que são os alimentos regionais e de safra, em que o incentivo ao seu consumo, além de desenvolver ações em defesa do meio ambiente e a preservação sustentável do planeta, também promove hábitos alimentares saudáveis¹.

Muitos produtos têm sido desenvolvidos para atender às necessidades nutricionais, de crianças em fase pré-escolar e escolar. A paçoca está incluída nessa categoria de alimento, devido à sua aceitabilidade geral. O amendoim é a matéria-prima principal nas formulações para o seu preparo. Além dele, outros ingredientes, como fubá, açúcar, mel e gordura participam também em maiores ou menores proporções².

Como um produto de boa aceitação pela população, a fortificação da paçoquinha faz-se pertinente para utilização na alimentação infantil e no controle de deficiências de ferro.

A elaboração do cardápio do *Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE)* deve ser feita de modo a promover hábitos alimentares saudáveis, respeitando-se a vocação agrícola da região, os produtos locais, a preferência por produtos básicos, incentivando assim a sustentabilidade.

Tendo em vista a grande produção de mel, rapadura, castanha de caju, farinha de mandioca e milho na cidade de Picos (PI) e regiões adjacentes e a relevância da suplementação do ferro em populações comprovadamente deficientes ou em risco de deficiência, os objetivos do presente estudo foram determinar o conteúdo de minerais de formulações elaboradas à base de matérias-primas regionais alternativas com ou isenta de fígado bovino, comparar o conteúdo de ferro entre elas e os valores dos minerais dos produtos elaborados com os comerciais tradicionais existentes nas Tabelas de Composição Química de Alimentos Nacionais.

Com relação à matéria-prima, a farinha da amêndoa da castanha de caju desidratada (FACCD), o mel (ML), a rapadura (RP) e a farinha de mandioca (FM), foram fornecidos pela Cooperativa dos Produtores de Castanha de Caju do Piauí (COCAJUPI) e adquiridos na região do semi-árido nordestino, na microrregião da cidade de Picos – PI; o sal (SL), o fubá de milho pré-cozido (FMPC) e o fígado bovino (FB) foram adquiridos no mercado consumidor de Teresina(PI).

As paçoquinhas foram elaboradas no Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Análise Sensorial do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e os minerais foram analisados no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), em Campinas (SP).

Foram elaboradas quatro formulações de paçoquinhas: a PIFB isenta de FB e três com FB sendo FB1, FB2 e FB3 respectivamente nas concentrações de 5%, 7,5% e 10%.

A formulação básica das “paçoquinhas” - a PIFB - foi adaptada da considerada padrão, encontrada à venda no mercado, a “paçoca de amendoim”. Substituiu-se o amendoim torrado e moído pela farinha da amêndoa da castanha de caju desidratada, o açúcar refinado pela rapadura e o mel e a fécula de mandioca pelo fubá de milho pré-cozido. A farinha de mandioca e o sal foram mantidos.

As formulações das paçoquinhas foram (em %): PIFB - FACC, ML, RP e SL (45, 14, 20 e 1) FM (10), FMPC (10) e FB (0) respectivamente; FB1 - FACC, ML, RP e SL (45, 14, 20 e 1) FM (7,5), FMPC (7,5) e FB (5) respectivamente; FB2 - FACC, ML, RP e SL (45, 14, 20 e 1) FM (6,25), FMPC (6,25) e FB (7,5) respectivamente; FB3 - FACC, ML, RP e SL (45, 14, 20 e 1) FM (5), FMPC (5) e FB (10) respectivamente.

Para a obtenção da paçoquinha, inicialmente a RP foi primeiramente quebrada em pedaços menores e posteriormente moída em moinho portátil Marca IKA modelo A 11 Basic S1 até ter uma granulação menor. O FMPC foi torrado e, posteriormente, foi adicionado às matérias-primas. O FB foi cozido, triturado no moinho portátil Marca IKA modelo A 11 Basic S1 e peneirado até obter menor granulação também. A FM foi peneirada três vezes.

A massa foi processada manualmente. Foram misturadas todas as matérias-primas secas: a FACCD, a FM, o FMPC, a RP, o SL e o FB. A seguir, foi adicionado o ML e misturado manualmente até formar uma massa homogênea. Depois a massa foi pesada e dividida em porções menores (25 g) e a moldagem das paçoquinhas foi feita com auxílio de forma circular. Após a moldagem foram acondicionadas em sacos pequenos de polipropileno. Esses foram conservados em ambiente refrigerado a 20 °C, até se realizarem as análises químicas. As formulações das paçoquinhas estudadas foram: a PIFB e três com FB nas concentrações de 5%, 7,5% e 10%.

As determinações dos minerais Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Fósforo (P), Ferro (Fe), Sódio (Na), Potássio (K), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Selênio (Se), foram realizadas em triplicata nas amostras. As amostras das paçoquinhas foram misturadas até a homogeneização.

Na digestão por via seca (cinzas)³, foram pesados ($5,0000 \pm 0,0011$) g de cada amostra das seguintes matérias-primas: FB, RP, FACC, FM e FMPC e de cada paçoquinha desenvolvida em três cápsulas de porcelana. As amostras foram pré-carbonizadas em chapa à temperatura 250 °C e posteriormente incineradas em forno mufla à temperatura de 450 °C por 24 horas. As cinzas foram dissolvidas com 2,1 mL de ácido clorídrico concentrado e diluídas em balões volumétricos de 50 mL com água bidestilada. Outras três cápsulas foram utilizadas como branco.

Na digestão por via úmida, foi utilizado um bloco digestor, modelo TG 040 (SARGE) com seis tubos, sendo três para amostras e três para os brancos. Um grama de cada amostra de mel, sal e fubá foi transferido para cada tubo e, a seguir, acrescentou-se 10 mL de ácido nítrico concentrado. Após 12 horas de repouso, adicionaram-se 3 mL de peróxido de hidrogênio. Iniciou-se o aquecimento do bloco digestor a 50 °C aumentando-se a temperatura de 10 °C em 10 °C até 120 °C, em intervalos de trinta minutos. As amostras foram transferidas quantitativamente para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com solução de ácido clorídrico 0,5 mol/L³.

A quantificação dos minerais presentes nas amostras de cada matéria-prima e nas paçoquinhas foi obtida empregando-se um espectrômetro de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES), simultâneo, da BAIRD, modelo ICP 2000^{4,5}, equipado com uma fonte de radiofrequência de 40 MHz, uma bomba peristáltica, uma câmara de nebulização e um nebulizador concêntrico. O sistema usado é controlado pelo *software* PlasmaComp 5 e utiliza como gás o argônio líquido 99,996% de pureza (Air Liquid - SP).

As condições de operação do ICP OES foram: potência - 900 W; vazão de amostra - 2,55 mL/min; vazão de argônio e vazão de gás auxiliar - 15 L/min e 1,5 L/min; tempos de integração, de leitura e número de replicatas - três. Os comprimentos de onda usados foram: Ca - 317,933 nm; Cu - 324,754 nm; Fe - 259,940 nm; K - 766,491 nm; Mg - 279,553 nm; Mn - 257,610 nm; Na - 589,92 nm; P - 178,28 nm; Zn - 213,86 nm e Se - 196,026 nm.

Os limites de detecção (LOD = 3 x desvio padrão) e de quantificação (LOQ = 10 x desvio padrão) foram determinados a partir do desvio padrão de 10 preparações de branco para a curva analítica empregada na leitura das amostras. Os valores encontrados para os LODs e LOQs, em mg/100mL, foram, respectivamente: Ca (0,012 e 0,041); Cu (0,0003 e 0,001); Fe (0,0003 e 0,001); K (0,018 e 0,06); Mg (0,004 e 0,014); Mn (0,0003 e 0,001); Na (0,012 e 0,041); P (0,036 e 0,12); Zn (0,0001 e 0,002) e Se (0,002 e 0,006). Para cada matriz foi considerado o fator de diluição na preparação para a expressão dos resultados não detectados.

Os resultados foram submetidos aos testes estatísticos. Elaborou-se um banco de dados no Programa EPI-INFO, versão 6.09 b. Utilizou-se também o Statistics Package of the Social Science - SPSS/PC. Aplicou-se o Teste de Tukey para comparação das médias. O nível de significância adotado foi de 5%.

De acordo com a Tabela 1, as paçoquinhas estudadas apresentaram elevado teor mineral de magnésio (84%), manganês (75%), fósforo (56%), ferro (40%) e zinco (56%), visto que cobrem mais de 30% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) por 100g para esses minerais^{6,7}.

Entre os resultados, verificou-se na Tabela 2 que a paçoquinha com 5% de FB obteve os maiores valores (mg/100 g) para Na ($378,0 \pm 9,0$), P ($299,0,0 \pm 1,0$), Zn ($3,24 \pm 0,05$) e Se ($0,1 \pm 0,00$), quando comparada com a PIFBonde: Na ($346,0 \pm 8,0$), P ($279,0 \pm 3,0$), Zn ($2,85 \pm 0,04$) e Se (0,00).

No entanto, com relação ao Ferro o conteúdo foi igual para as duas formulações. O mesmo ocorrendo para Ca, Mg e Mn. Considerando-se as faixas de variação nos teores dos minerais detectados nas paçoquinhas analisadas neste trabalho, pode-se observar que foram mais altos do que os publicados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)⁸ para a paçoca de amendoim e mais alto também para o P e Fe quando comparados aos publicados na Tabela de Composição de Alimentos de Philippi⁹.

Segundo Philippi⁹, por 100 g de paçoca deve haver: 147 mg de P, 45 mg de Ca e 2,3 mg de Fe. Somente o Ca apresentou menores valores quando comparado com a referida Tabela de Composição de Alimentos.

Segundo a TACO⁸, a paçoca de amendoim contém, por 100 g de produto, 22 mg de cálcio, 101 mg de magnésio, 1,06 mg de manganês, 198 mg de fósforo, 1,1mg de ferro, 167 mg de sódio, 348 mg de potássio, 0,38 mg de cobre

Tabela 1. Quantidade de minerais por porção de paçoquinha (mg/25g) e % de cobertura da IDR, para pré-escolares

Minerais	PIFB		FB 5%		FB 7,5%		FB 10%	
	Quant./porção	%IDR*	Quant./porção	%IDR	Quant./porção	%IDR	Quant./porção	%IDR
Cálcio	7,78	1	7,48	1	7,53	1	6,75	1
Magnésio	27,75	21	28,13	22	28,00	22	27,75	21
Manganês	0,28	19	0,28	19	0,28	19	0,27	18
Fósforo	69,5	14	74,75	15	78,75	16	80,25	16
Ferro	1,03	10	1,00	10	1,19	12	1,15	12
Sódio	86,5	7	94,5	8	92,25	8	90,25	8
Potássio	98,0	6	102,0	6	100,25	6	97,75	6
Cobre	0,24	-	0,36	-	0,43	-	0,47	-
Zinco	0,71	14	0,81	16	0,85	17	0,85	17
Selênio	-	-	0,03	-	0,03	-	0,03	-

* Considerou-se a IDR – Ingestão Diária Recomendada - de 3 a 8 anos. *Padovani, et al.; 2006*

Tabela 2. Comparação da quantidade de minerais (mg/100g) nas paçoquinhas estudadas com as Tabelas de Composição de Alimentos

Minerais	FB 5%	PIFB	TACO Paçoca de amendoim	Philippi Paçoca bar
Cálcio (mg/100g)	29,9 ± 0,3 ^a	31,1 ± 0,2 ^a	22 ^b	45 ^c
Magnésio (mg/100g)	112,5 ± 0,8 ^a	111,0 ± 1,0 ^a	101 ^b	-
Manganês (mg/100g)	1,10 ± 0,01 ^a	1,10 ± 0,01 ^a	1,06 ^a	-
Fósforo (mg/100g)	299,0 ± 1,0 ^a	278,0 ± 3,0 ^b	198 ^b	147 ^c
Ferro (mg/100g)	4,0 ± 0,13 ^a	4,1 ± 0,24 ^a	1,1 ^b	2,3 ^c
Sódio (mg/100g)	378,0 ± 9,0 ^a	346,0 ± 8,0 ^b	167 ^c	-
Potássio (mg/100g)	408,0 ± 4,0 ^a	392,0 ± 2,0 ^a	348 ^c	-
Cobre (mg/100g)	1,44 ± 0,02 ^a	0,95 ± 0,02 ^a	0,38 ^b	-
Zinco (mg/100g)	3,24 ± 0,05 ^a	2,85 ± 0,04 ^b	1,6 ^c	-
Selênio (mg/kg)	0,1 ± 0,00	-	-	-

Teste de Tukey

Letras iguais nas colunas não apresentam diferença estatística

e 1,6 mg de zinco. Esses valores constituem médias dos resultados analíticos de, no mínimo, três e, no máximo, cinco amostras das principais marcas comerciais dos produtos coletadas em supermercados e hipermercados em diferentes regiões do país. Para o mineral selênio da amostra estudada, não foi possível estabelecer comparação, por não constar na TACO⁸.

Estudo realizado com paçoca de amêndoa de baru com rapadura obtiveram valores menores para Zn (2,38 mg / 100 g), quando comparados com a paçoca com 5% de FB e a PIFB¹⁰. Os teores de Cu foram similares entre as paçocas de 5% de FB (1,4 mg/ 100 g) e para a PIFB (0,95 mg/100 g). Os minerais Na e Se não puderam ser comparados com essa literatura por não terem sido analisados. Para os demais minerais analisados, todos apresentaram maiores valores quando comparados com

as paçoquinhas 5% de FB e a PIFB (P 381 mg / 100 g, K 4000 mg / 100 g, Ca 200 mg / 100 g, Mg 400 mg / 100 g, Fe 64,1 mg / 100 g, Mn 4,5 mg / 100 g).

Os resultados revelaram que a amostra da paçoquinha FB1 apresentou os maiores valores para Na, P, Zn e Se. No entanto, para os demais minerais, inclusive o ferro, não houve diferença significativa. A amostra FB3 não apresentou maiores teores de minerais e de Fe, tendo a PIFB apresentado um teor elevado de ferro.

Os teores elevados de minerais e Fe na PIFB em relação as demais, pode estar relacionado a maior adição do FMPC que é enriquecido com Fe, elevando o conteúdo do mineral da PIFB, tornando-o semelhante ao da paçoca com FB.

Os resultados também revelaram que a paçoquinha FB1 e a PIFB apresentaram os maiores

valores para Mg, P, Fe, Na, K, Cu, Zn quando comparadas às paçocas de amendoim das Tabelas de Composição Química dos Alimentos^{8,9}.

Os resultados permitem sugerir que a paçoquinha à base de matérias-primas regionais, com FB, não é viável, pois não foi observado aumento significativo nos teores de Fe. Além disso, sua adição contribui para a contaminação microbiológica e possivelmente para a redução da vida de prateleira do produto. A PIFB é um produto viável, com teores elevados de minerais, destacando-se o ferro, para o aproveitamento das matérias-primas regionais alternativas na alimentação infantil e auxiliar no controle da anemia ferropriva. Como a fonte de ferro encontrado na PIFB é de origem vegetal, recomendam-se estudos futuros para verificar a biodisponibilidade dessas fontes de ferro.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Piauí (UFPI), ao Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos (CQA -ITAL), de Campinas (SP), pelas determinações dos minerais e à Cooperativa dos Produtores de Castanha de Caju do Piauí (COCAJUPI), pelas doações.

REFERÊNCIAS

1. Revista do Conselho Federal de Nutricionistas; CFN (Brasília – DF). Uso de Alimentos regionais na alimentação; Brasília (Brasil). Brasília: CFN; set./dez. 2009. n° 29.2. Wang SH, Cabral LC, Borges GG. *Pesq Agropec Bras*. 1999; 34(7):1305-11.
2. AOAC. (Washington). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17^a ed. Washington; 2002.
3. Slavin S, Petersen GE, Lindhal PC. Atomic absorption. *Newslett*. 1975;14: 57.
4. Horwitz W, Latimer JR G. (Eds.) Official Methods of Analysis of AOAC International. 18^a ed. Gaithersburg, Maryland;2005. Cap. 50, methods 985.35 e 984.27; Current Through Revision 1; 2006.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 33, de janeiro de 1998. Ingestão Diária Recomendada (IDR) para Proteínas, Vitaminas e Minerais. Secretaria de Vigilância Sanitária. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 jan.1998.
6. Padovani RM, Amaya-Farfan J, Colugnati FAB, Domene SMA. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. *Rev Nutr*. 2006;19(6):741-60.
7. Núcleo De Estudos e Pesquisas em Alimentação da Universidade Estadual de Campinas (NEPA/Unicamp). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).1^a ed. Campinas (SP);2004.
8. Philippi, ST. Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para decisão nutricional. 2^a ed. São Paulo (SP): Coronário;2002.
9. Nunes SF, Canedo MS, Fernandes TH, Damiani C, Silva FA, Vera R et al. Perfil de Minerais da Paçoca de Amêndoa de Barú com Rapadura (Baruçoca). VIII Simpósio Latino Americano de Ciências dos Alimentos - SLACA; novembro de 2009; Campinas: CD-ROM.

Avaliação do Programa Nacional de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias

Assessment of National Neonatal Screening Program for Hemoglobinopathies

RIALA6/1395

Thaiana da Costa LOPES¹, Leiliane Delgado Mahmud SARMENTO¹, Rosilene Cutrim FRÓZ², Heliana Trindade MARINHO¹, Elda Pereira NORONHA¹, Raimundo Antônio Gomes OLIVEIRA^{1*}

*Endereço para correspondência: ¹ Laboratório de Pesquisa Clínica, Centro de Pesquisa Clínica, Hospital Universitário, Universidade Federal do Maranhão, Rua Almirante Tamandaré, 1, Centro, CEP: 65020-600, São Luís, MA, Brasil, e-mail: rago@usp.br

² Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais do Maranhão (APAE-MA)

Recebido: 07.02.2011 - Aceito para publicação: 13.09.2011

RESUMO

As hemoglobinopatias representam grave problema de saúde pública em virtude de alta frequência e pelas consequências fisiopatogênicas. No presente estudo foi avaliado o *Programa Nacional de Triagem Neonatal* para hemoglobinopatias no Maranhão no ano de 2008. Utilizando-se relatórios obtidos do serviço de referência e Secretaria de Saúde do Estado, foram analisados os dados da implantação do programa em todos os municípios maranhenses, bem como a consonância com o Ministério da Saúde quanto aos recursos humanos e divulgação do serviço. Na coleta das amostras, 60,4% das crianças tinham entre oito dias a um mês de idade. O tempo médio entre a coleta e o recebimento da amostra foi de 37 dias. Foram realizados 99.498 testes para hemoglobinopatias, dos quais 4,8% apresentaram perfis alterados. A alteração mais frequente foi o traço falciforme (1/25,4). A cobertura do programa foi de 81,57%. Conclui-se que há necessidade de melhorias no serviço de triagem quanto aos indicadores de gerenciamento, bem como maior atenção no diagnóstico e intervenção precoce das doenças hemoglobínicas que apresentam alta frequência no Maranhão.

Palavras-chave. recém-nascido, triagem neonatal, hemoglobinopatias.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies represent a severe public health problem due to its high frequency and pathogenic consequences. This investigation aimed at evaluating the Neonatal Screening National Program for Hemoglobinopathies in Maranhão State, in 2008, by analyzing reports at disposal at public services and State Secretary of Health. The features analyzed were the program implementation in all of the cities of Maranhão and the consonance with the Federal Health Ministry for the human resources and the service disclosure. At the sample collection, 60.4% of children aged from eight days to one month. The mean period of time between the sample collection and its receipt was 37 days. A total of 99.498 hemoglobinopathies tests were carried out, and 4.8% of them showed abnormal profiles. The most frequent alteration was falciform trace (1/25.4). In 2008, the program coverage was of 81.57%. This study indicated the need in improving both the screening service and the management indicators, also to ameliorate the hemoglobin diseases diagnosis and the preventive intervention, considering the high frequency of these diseases in Maranhão State.

Keywords. newborn, neonatal screening, hemoglobinopathies.

As doenças falciformes representam o grupo de doenças hereditárias mais comuns no Brasil. Constituem-se num grupo de alterações genéticas caracterizadas pela presença de hemoglobina S (Hb S). As doenças falciformes mais freqüentes são a anemia falciforme (HbSS), as doenças SC, SD, SE (duplos heterozigotos) e outras mais raras, as quais fazem parte das hemoglobinopatias. Apesar das particularidades que distinguem as doenças falciformes e de graus variados de gravidade, todas essas doenças têm o perfil epidemiológico e de manifestações clínicas e hematológicas semelhantes¹.

De acordo com dados do *Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN)*, nascem atualmente no Brasil cerca de 3 mil crianças/ano com doença falciforme e 180 mil portadoras do traço falciforme. Está distribuída de forma heterogênea na população, sendo mais prevalente nos Estados que possuem maior concentração de afrodescendentes, com recorte social entre os mais pobres¹.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), no Brasil, sem assistência específica, 25% dos portadores de anemia falciforme morrem antes dos 5 anos e 70% antes de completar os 25 anos de idade. Dessa forma, a melhor estratégia para o problema tão grave das hemoglobinopatias é o diagnóstico precoce por meio dos programas de triagem neonatal, que possibilitam a identificação dos portadores em tempo oportuno e a sua inclusão em programas de assistência especializada, o que reduz expressivamente a morbimortalidade da doença².

Os principais objetivos do *PNTN* consistem na busca da cobertura de 100% dos nascidos vivos e a definição de uma abordagem mais ampla da questão, determinando que o processo de triagem neonatal envolva várias etapas, tais como: a realização do exame laboratorial, a busca ativa dos casos suspeitos, a confirmação diagnóstica, o tratamento e o acompanhamento multidisciplinar especializado dos pacientes. Procura-se, dessa forma, criar mecanismos para que seja alcançada a meta principal, que é a prevenção e redução da morbimortalidade provocada pelas patologias triadas².

A partir dos aspectos demonstrados e da constatação da inexistência de trabalhos prévios sobre o perfil do *Programa de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias no Maranhão*, faz-se necessária a realização de estudos descrevendo e analisando as características desse programa, bem como os resultados por ele obtidos. Assim, a presente pesquisa visa demonstrar o perfil de funcionamento desse programa

no Maranhão no ano de 2008, bem como elucidar as freqüências de hemoglobinas variantes nesse Estado.

Este trabalho trata-se de um estudo descritivo do tipo transversal baseado no banco de dados do Serviço de Referência de Triagem Neonatal do Maranhão, localizado na Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), em São Luís, Maranhão, Brasil, tendo como amostra todos os recém-nascidos que realizaram o teste de triagem neonatal na rede de coleta conveniada no período de janeiro a dezembro de 2008.

Os dados foram obtidos a partir de relatórios fornecidos pelo banco de dados do serviço de referência. Foram analisados dados referentes ao serviço de triagem neonatal preconizados pelo *Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal* (2002), como: número de postos de coleta do estado, o fluxo de exames por mês, número estimado de crianças nascidas vivas no Estado, número de crianças testadas pelo serviço, idade das crianças na primeira coleta e indicadores de gerenciamento (intervalo médio de tempo entre a coleta e o envio de amostras ao laboratório e intervalo médio de tempo entre a coleta e entrega/retirada dos resultados às famílias). Para o cálculo da cobertura foi utilizada a seguinte fórmula: n° de crianças testadas \div n° de crianças nascidas vivas \times 100.

O método utilizado para a pesquisa de hemoglobinas é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), por meio do aparelho denominado VARIANT Sickle TM Cell Short Program (BioRad Laboratories), que utilizando o programa Sickle Cell identifica as hemoglobinas F, A, S, D, C e E. O perfil de hemoglobinas é determinado como normal (FA\AA) ou alterado (heterozigose simples: FAS\AS, FAC\AC, FAD\AD; homozigose: FCC\CC, FSS\SS; dupla heterozigose: FSC\SC e hemoglobinas variantes raras: HBV). A hemoglobina fetal (F) apresenta-se praticamente em todas as amostras, pois segundo Oliveira e Poli-Neto³, trata-se de um importante subtipo de hemoglobina da vida fetal, que após o nascimento deve ser totalmente substituída pela hemoglobina A aos seis meses de vida.

Para a avaliação da cobertura do programa, foram utilizados dados referentes ao número de nascidos vivos do ano de 2008, indicados pelo Sistema Nacional de Nascidos Vivos (SINASC), cujos dados foram obtidos pela Secretaria Estadual de Vigilância Epidemiológica do Maranhão. Dados do serviço de referência correspondente aos anos anteriores não foram utilizados devido o mesmo não dispor de informações

de todas as variáveis analisadas nesta nota científica. Até o término deste estudo, o SINASC dispunha de consolidado completo somente até o ano de 2008, fatos que justificam o recorte temporal do trabalho.

A pesquisa, desenvolvida dentro dos padrões éticos segundo a Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196/96 e suas complementares, foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão sob o nº 6192/09 em 10 de junho de 2010.

Os resultados encontrados apontam o Maranhão na “Fase II” do *Programa Nacional de Triagem Neonatal*, encarregando-se da triagem para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e hemoglobinopatias. A APAE de São Luís é responsável por toda a cobertura do “testes do pezinho” do Estado do Maranhão e conta com o serviço complementar do Hemocentro do Maranhão (HEMOMAR).

O SRTN segue o fluxograma de triagem até o primeiro tratamento do usuário identificado com perfil alterado, de acordo com a Figura 1. As estratégias utilizadas para a capacitação de recursos humanos que trabalham na coleta de amostras envolvem treinamento com enfermeiros e técnicos uma vez ao ano na APAE São Luís, além de seminários de capacitação nas macrorregiões estaduais quando solicitados pelo Ministério da Saúde.

Para o atendimento de pacientes com anemia falciforme, a equipe é constituída de assistente social, enfermeiro, médico hematologista, pediatra e médico geneticista.

Todos os 217 municípios que compõem o Estado do Maranhão estão conveniados ao *PNTN*, dispondo de um total de 377 postos de coleta, indicando uma média de 1,72 postos por município.

Durante a coleta da amostra para triagem neonatal, a maior parte dos recém-nascidos (60,4%) estava na faixa etária entre oito dias e um mês. O restante correspondia aos recém-nascidos com idade até sete dias após o nascimento (31,5%) e com mais de 30 dias de vida (8,1%). O tempo médio entre a coleta e a chegada da amostra no serviço para a realização dos testes foi de 22 dias e entre a coleta e o recebimento do resultado pela família foi de 37 dias, incluindo a emissão do laudo.

O número total de análises para pesquisa de hemoglobinas realizadas pela APAE foi de 99.498, correspondendo a uma média de 8.291,5 testes por mês. Como resultado, 94.136 amostras apresentaram perfil normal de hemoglobinas (FAA/AA), correspondendo à 94,6% da população analisada, enquanto 4.798 amostras (4,8%) apresentaram perfil alterado. As demais 564 amostras (0,60%) correspondem às amostras inconclusivas, não eluentes e os casos em que houve necessidade de reconvocação para nova coleta.

Entre as amostras alteradas, 4.618 (96,2%) indicam heterozigose simples, 26 (0,5%) dupla heterozigose, 65 amostras (1,4%) em homozigose e 89 hemoglobinas variantes raras (1,9%).

Na Tabela 1 estão representadas as frequências de cada perfil hemoglobínico alterado encontrados na população analisada.

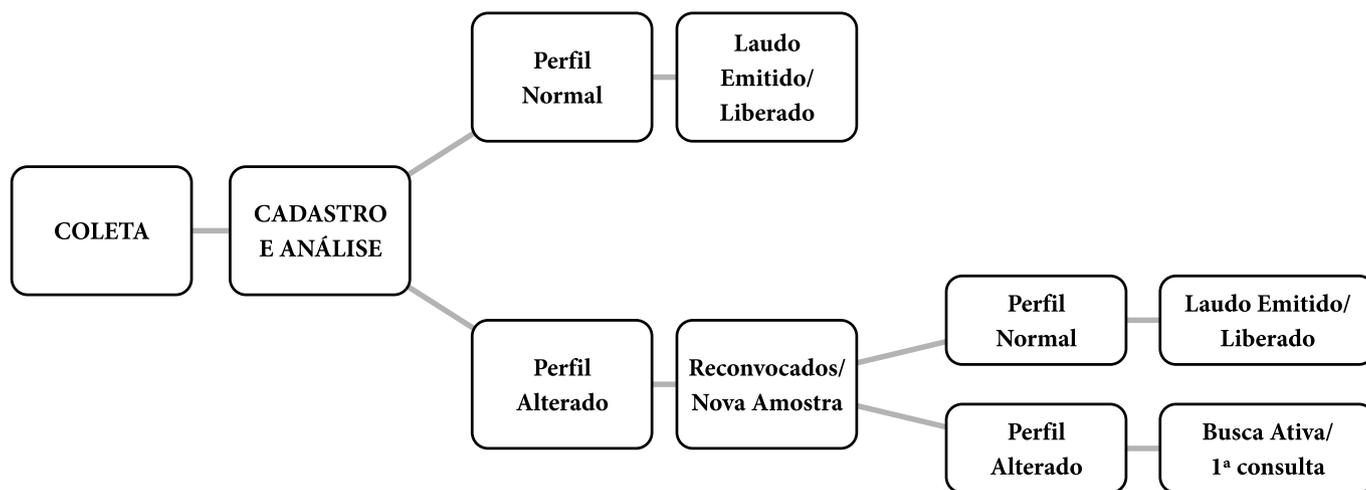


Figura 1. Fluxograma de atendimento do PNTN no Maranhão.

Tabela 1. Número, porcentagem e frequência dos diferentes perfis de hemoglobinas diagnosticadas pelo PNTN no Maranhão no ano de 2008

Perfis de HB	Nº	%	Frequência
Heterozigose simples			
FAS/AS	3.917	4,96	1/25,4
FAC/AC	656	0,66	1/151,7
FAD/AD	45	0,05	1/ 2. 211
Homozigose			
FSS/SS	62	0,06	1/ 1.604
FCC/CC	3	0,003	1/ 33.168
Dupla Heterozigose			
FSC/SC	26	0,03	1/ 3.826
HBV raras	89	0,09	1/ 1.117

O número de crianças nascidas vivas no Maranhão em 2008 foi de 121.981, segundo dados do Sistema Nacional de Nascidos Vivos (SINASC). Considerando o número de crianças triadas para a pesquisa de hemoglobinas (99.498), a cobertura do PNTN no Maranhão no ano de 2008 foi de 81,57%.

Observa-se que as atividades realizadas pela APAE-MA relacionadas ao fluxograma, à composição e capacitação da equipe, além da divulgação das informações referentes à triagem neonatal condizem com as normas técnicas e rotinas operacionais do *PNTN*, bem como a constituição da equipe multiprofissional, o número de postos por município estão em conformidade com a Portaria nº 822/014. A idade das crianças na coleta e o tempo médio para análise e liberação do resultado constituem parâmetros a serem priorizados pelo programa de triagem no Maranhão, uma vez a maioria dos recém-nascidos estava com idade na faixa tolerável pelo *PNTN*, além de terem recebido seus resultados de exames após um mês da data da coleta. Deve-se considerar que os portadores de anemia falciforme são assintomáticos nos primeiros seis meses de vida, devido à presença de hemoglobina fetal (HbF), cuja capacidade protetora impede a manifestação dos sinais e sintomas da doença⁵. Um diagnóstico precoce e eficaz, portanto pode favorecer ao paciente uma intervenção adequada e em tempo hábil.

A frequência de heterozigotos do gene da hemoglobina S encontrada neste trabalho é observada na estimativa de muitos autores, concluindo que essa doença hereditária constitui um problema de saúde pública em nosso país. Os indivíduos com perfil FAS/AS, mesmo sendo considerados não patológicos requerem acompanhamento clínico e em algumas situações, intervenção terapêutica⁶.

Já os indivíduos portadores do fenótipo SS e SC, que juntos apresentaram uma frequência de 1/1.130,7, possuem inúmeras alterações fisiopatológicas, por isso a necessidade de tratamento adequado e intervenção precoce⁷. Como mostra a Tabela 1, existe ainda uma elevada frequência de hemoglobinas variantes raras, apresentando-se maior do que a frequência para o perfil FSS/SS. Segundo a literatura, atualmente existem mais de 900 variantes estruturais de hemoglobinas descritas⁸ que, devido à limitação dos tipos de hemoglobinas variantes diagnosticados nos serviços de triagem, não podem ser caracterizadas.

Diversas medidas podem ser adotadas visando à dispersão de perfis hemoglobínicos alterados. O aconselhamento genético apresenta-se como uma medida preventiva em um contexto de educação, pois pode contribuir para reduzir a incidência a partir da geração de filhos de pais heterozigotos⁶, além de impedir futuramente indivíduos portadores de anemias hemolíticas crônicas e incuráveis, embora tratáveis⁷.

Embora o regimento da portaria preconize um compromisso formal de 100% de cobertura dos nascidos vivos em cada estado, o *PNTN* no Maranhão, cuja cobertura foi de 81,57%, mostra-se apto para mudança para a “Fase III”, em que se exige uma cobertura mínima de 70%.

Este trabalho reforça o significado dos programas de triagem, além de retratar o perfil hemoglobínico do Estado do Maranhão em 2008. Por meio da avaliação do programa maranhense, podemos evidenciar que, embora o serviço não tenha obtido 100% de cobertura, garante o diagnóstico de 81,57% dos nascidos vivos, possuindo além do nível mínimo exigido pela Portaria nº 822/01. Outros aspectos concordantes com a portaria são a equipe de atendimento e os procedimentos diagnósticos.

No entanto, parâmetros de qualidade como idade da criança na coleta, tempo entre a coleta da amostra e a entrega dos resultados são ainda problemas críticos nesse Serviço. Estudos prospectivos são necessários a fim de acompanhar os parâmetros avaliados neste estudo e dessa forma avaliar a qualidade no Estado.

Conclui-se que o Maranhão apresenta uma elevada frequência de hemoglobinas variantes, sendo mais preocupante o número de indivíduos tanto heterozigotos quanto homozigotos para hemoglobina S, o que torna necessária maior atenção nas estratégias epidemiológicas como incentivo às famílias sobre a importância da triagem neonatal, melhorias no serviço do *PNTN* desde o diagnóstico precoce e eficaz até o tratamento, além de aconselhamento genético e capacitação das equipes de serviços de unidades de saúde para atendimento de indivíduos em crise. Atenção também deve ser dedicada às pesquisas e às metodologias eficazes que identifiquem as hemoglobinas variantes raras, considerando a alta frequência encontrada neste estudo.

AGRADECIMENTOS

À Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais do Maranhão (APAE-MA) e à Secretaria de Saúde do Estado do Maranhão (SES-MA).

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Autocuidado na Doença Falciforme. (Manual de Educação em Saúde, v. 1). Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
2. Ministério da Saúde. Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.
3. Oliveira RAG, Poli Neto A. Anemias e leucemias: conceitos básicos por diagnóstico e técnicas laboratoriais. 1ª ed. São Paulo: Roca; 2004.
4. Ministério da Saúde. Portaria nº GM 822. Institui o Programa Nacional de Triagem Neonatal, no âmbito do Sistema Único de Saúde, para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, fibrose cística e hemoglobinopatias. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 6 jun. 2001.
5. Daudt LE, Zechmaister D, Portal L, Camargo Neto E, Silla LMR, Giugliani R. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2002;18(3):833-41.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes. Brasília, DF: Anvisa; 2002.
7. Fisher GB, Rathke CAF, Friedrish JR, Job FM. Características clínicas dos portadores de hemoglobinopatias. *J Bras Med São Paulo*. 1999;77:39-42.
8. Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, Patrinos GP, Anagnou N et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. *Hum Mutat*. 2002;19(3):225-33.

Detecção de parasitos veiculados pela água e solo em aldeias Guarani dos municípios de Angra dos Reis e Paraty do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Barbosa AS. **Detection of parasites transmitted by water and soil in Guarani villages of the cities of Angra dos Reis and Paraty in the State of Rio de Janeiro, Brazil.** Niterói, RJ, 2011. [Dissertação de Mestrado - Área de Concentração: Parasitologia, Laboratório de Parasitologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia - MIP, Instituto Biomédico - CMB, Universidade Federal Fluminense - UFF]. Orientador: Dr Otilio Machado Pereira Bastos

A presença de enteropatógenos em meio ambiente constitui-se em bioindicador de má qualidade sanitária. A maioria dos parasitos é veiculada pela água ou solo, representando um risco para a transmissão de bioagentes, principalmente entre populações socioeconomicamente desfavorecidas, situação comum a grande parte dos indígenas Guarani.

O objetivo deste estudo foi detectar protozoários e helmintos em amostras de água de abastecimento e solo de peridomicílios das aldeias Guarani nos municípios de Angra dos Reis, RJ (aldeia Sapukai) e Paraty, RJ (aldeias de Paraty-Mirim, Araponga e Rio Pequeno), aplicando diferentes técnicas laboratoriais para conhecer o ambiente em que vivem os indígenas e possíveis fontes de infecção parasitária.

O abastecimento de água nas aldeias constitui-se em captação da água, que é conduzida em canos de policloreto de vinila para reservatórios de polietileno, onde ocorre a cloração. Filtros de areia e pedra são utilizados no sistema de abastecimento de Rio Pequeno e filtros lentos de areia em Sapukai. As aldeias possuem módulos sanitários comunitários fornecidos pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

No período de fevereiro a outubro de 2010, foram coletadas 24 amostras de água nas captações das nascentes que abastecem as aldeias com filtro contendo cartucho com um micrômetro de porosidade e 24 de reservatórios d'água clorada por sifonação, sendo o material obtido armazenado em garrafas plásticas previamente higienizadas. As 48 amostras de solo foram obtidas por raspagem superficial com pá metálica no peridomicílio de edificações das aldeias e agregadas em *pool*.

As amostras de água e solo foram processadas pelas técnicas de Ritchie modificada por Young et al., Sheather modificada por Huber et al. e ensaios imunoenzimáticos para pesquisa de *Cryptosporidium* spp., *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*, associando-se para solo a técnica de Baermann. Além disso, a turbidez foi mensurada em todas as amostras de água com turbidímetro portátil. Obteve-se maior frequência de positividade nas amostras de água e solo na estação do verão. Paraty Mirim e Sítio Rio Pequeno apresentaram sete amostras de água positivas com alta turbidez, sendo evidenciados: cistos de *Giardia* sp., cistos de amebídeos, ovos e larvas de nematódeos, coproantígenos de *G. lamblia*, *E. histolytica* e *Cryptosporidium* spp.

Em solo, destaca-se a aldeia Sapukai, que apresentou doze amostras positivas contendo: larvas de nematódeos, cistos de amebídeos, ovos de *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., coproantígenos de *Cryptosporidium* spp. e *E. histolytica*. Esses resultados demonstram elevada contaminação ambiental, deficiência no tratamento da água de consumo, o que potencialmente pode gerar endemicidade de enteroparasitoses.

Palavras-chave. parasitos, água doce, solo, meio ambiente.

Dissertação disponível na Biblioteca do CMB (Instituto Biomédico) – Universidade Federal Fluminense (UFF/RJ).
E-mails: bib@ndc.uff.br e alynnedsb@vm.uff.br

Molecular epidemiology of rubella virus isolated in São Paulo during 1997-2004

Figueiredo, C.A. **Epidemiologia molecular do vírus da rubéola isolados no Estado de São Paulo no período de 1997 a 2004**, Ano de Obtenção: 2010. São Paulo; 2010. [Tese de Doutorado – Área de Concentração: Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - USP]. Orientador: Prof^o Dr. Edison Luis Durigon

Rubella is an acute infectious disease with normally a mild clinical course. However, infections during pregnancy, especially before week 12 of gestation (WG), can cause severe birth defects known as congenital rubella syndrome (CRS). Genetic characterization of wild-type rubella virus is based on sequence analysis of a hypervariable region of the glycoprotein E1 gene.

This study presents the first molecular characterization of isolates from São Paulo, Brazil. Samples (blood, urine, oropharyngeal swab, explanted liver, product of conception and cerebrospinal fluid) were collected between 1997 and 2004 from patients with clinical symptoms of rubella. The rubella virus E1 gene coding region was amplified by reverse transcriptase polymerase chain reaction directly from clinical specimens and isolates and the resulting DNA fragments were sequenced.

Sequences were assigned to genotypes by phylogenetic analysis with rubella virus reference sequences. Twenty-nine isolates were obtained, including isolates from acute liver failure, encephalitis and congenital infections. Phylogenetic analysis showed that 19 out of 29 isolated in the São Paulo strains of rubella virus belonged to genotype 1a and 10 strains to genotype 1G.

This work demonstrated two genotypes of RV circulated simultaneously between years 1997 and 2004 in the state of São Paulo. The information reported in this paper may be useful for contributes to understand better the molecular epidemiology of RV in São Paulo, Brazil.

Tese disponível na Biblioteca do Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São Paulo (USP)
E-mail: figueiredocris@uol.com.br

Produção de nisin em leite desnatado diluído por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 em biorreator

Arauz, LJ Nisin production in diluted skimmed milk utilizing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 in bioreactor. São Paulo, SP. 2011 [Tese de Doutorado - Área de Concentração: Tecnologia de Fermentações - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - FCF/USP]. Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Thereza Christina Vessoni Penna

Nisin is a natural antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 during its exponential growth phase. The bacteriocin is used as natural food preservative due to its antimicrobial activity against Gram-positive bacteria and outgrowth of spores. This property allows its application in numerous fields (pharmaceutical, veterinary and cosmetic).

The aim of this work was to study the bacterial growth kinetics of *L. lactis* and respective nisin production in bioreactor, using diluted skimmed milk as an inexpensive medium. During the production, the consumption of sugar and protein, lactic acid formation and nisin adsorption on the producer strain cells were evaluated. Pre-cultivation with 10^7 UFC.mL⁻¹ of *L. lactis* were expanded in a 2 L bioreactor containing 25% diluted skimmed milk in water (1.5 L, pH 6.7). The assays were performed at 30 °C for 52 hours, varying agitation and airflow rate: (i) 200 rpm (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 L.min⁻¹) and (ii) 100 rpm (0.0, 0.5 L.min⁻¹).

Nisin activity was evaluated through diffusion assays using *Lactobacillus sakei* ATCC 15521 as sensitive strain. The best nisin concentration (62.68 mg.L⁻¹ or 2511.89 AU.mL⁻¹), was achieved at 16 hours, 200 rpm and with no airflow rate ($k_L a = 5.29 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$). The quantity of nisin adsorbed by the producer cells were low (6.8 -15.1%) when compared to the quantity released in the supernatant. These results showed that diluted skimmed milk supported cell growth and growth-associated nisin. Preliminary assays of lyophilization (biopreservation) and purification by chromatography of nisin produced in bioreactor were performed. Lyophilization presented a loss of nisin activity (24.8%) while purification by hydrophobic interaction chromatography with Butyl-Sepharose column recovered 40% of the activity, showing that both processes can be applied to the bacteriocin.

Keywords. Lantibiotic, antimicrobial, bacteriocin, food preservative, lactic acid bacteria.

Tese Disponível no endereço eletrônico:
<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9134/tde-05082011-171618/>
E-mail: lucianaja@usp.br

Errata

RIAL 70(2), 2011

Página 244

Onde se lê: RIAL 70(1), 2011-11-22

Leia-se: RIAL 70(1), 2011

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), iniciada em 1941, é uma publicação trimestral com a missão de divulgar resultados de investigações científicas relacionadas às ações de promoção à saúde, prevenção e controle de agravos e doenças de interesse em saúde pública, além de incentivar a produção de artigos científicos nas áreas de vigilância epidemiológica e sanitária e de proporcionar a atualização e aprimoramento de profissionais da área em âmbito nacional e internacional.

A RIAL é inter e multidisciplinar, arbitrada, aberta a contribuições de autores nacionais e estrangeiros. Publica prioritariamente pesquisas originais com contribuições relevantes na área laboratorial em saúde pública, realizadas com rigor científico e que possam ser replicadas e generalizadas.

POLÍTICA EDITORIAL

Editada nos formatos impresso e eletrônico, a RIAL tem interesse por trabalhos originais em todas as áreas laboratoriais em saúde pública. São também publicadas outras contribuições inéditas, desde que sobre temas atuais e importantes – revisões de literatura, comunicações breves e notas científicas – além de resumos de teses e dissertações.

Os manuscritos devem destinar-se exclusivamente à RIAL, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. As contribuições podem ser apresentadas em português ou inglês.

Os manuscritos submetidos são analisados inicialmente pelos editores quanto ao atendimento aos padrões da RIAL e às normas para o envio dos originais. Aqueles manuscritos selecionados são encaminhados para avaliação por pares externos de área pertinente, sempre de instituições distintas àquela da origem do manuscrito, sendo garantido o anonimato e a confidencialidade durante todo o processo de avaliação. Após receber os pareceres, o Corpo Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do texto, avalia a aceitação do texto sem modificações, a recusa ou a devolução ao autor com as sugestões apontadas pelos relatores.

Os manuscritos submetidos devem atender à política editorial da RIAL e às Instruções aos Autores, que seguem os *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* (<http://www.icmje.org>).

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados. Os autores devem explicitar em MÉTODOS que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsink e aprovada por comissão de ética (CEP) reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) – vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS) – bem como registro dos estudos de ensaios clínicos em base de dados, conforme recomendação aos editores da Lilacs e Scielo, disponível em: <http://bvsmodelo.bvsalud.org/site/lilacs/homepage.htm>. O nome da base de dados, sigla e/ou número do ensaio clínico, assim como o número do processo e o nome da comissão de ética que aprovou o projeto, deverão ser colocados ao final do RESUMO. Nos casos de ensaios envolvendo animais, estes deverão atender a Lei Federal 9605 contra crimes ambientais, a Lei Federal 6638/76 e a Lei 11.794/08, que normatiza a utilização de animais em pesquisa científica. Os autores deverão ter em seu poder todos os documentos referentes a este procedimento, que poderão ser solicitados em qualquer momento pelos editores.

Os autores serão responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros, de interesse comercial e/ou associativo, relacionados ao material de trabalho ou outros que possam influenciá-los, apresentando uma declaração sobre a existência ou não de tais conflitos. Os relatores também devem revelar aos editores qualquer conflito que possa influir ou impedir as suas avaliações.

Os manuscritos publicados são de propriedade da RIAL. A transferência de direitos autorais será solicitada após a aprovação do manuscrito para publicação.

INFORMAÇÕES GERAIS

Os manuscritos submetidos à publicação na RIAL devem ser apresentados de acordo com as Instruções aos Autores.

São aceitos manuscritos nos idiomas: português e inglês.

O manuscrito deve ser encaminhado em formato eletrônico (e-mail) ou impresso, aos cuidados do editor-chefe da RIAL, no seguinte endereço:

Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL)

Núcleo de Acervo

Av. Dr. Arnaldo, 355 - Cerqueira César - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 01246-902

Ou por meio eletrônico em rial@saude.sp.gov.br

Pormenores sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos a seguir.

I. CATEGORIA DE ARTIGOS

1.1 ARTIGOS ORIGINAIS: Incluem estudos relacionados à prevenção e controle de agravos e à promoção à saúde. Devem ser baseados em novos dados ou perspectivas relevantes para saúde pública. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES:

▪ Devem ter até 20 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

- As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 05 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. Devem ser apresentadas em arquivo separado.
- As referências bibliográficas, limitadas a 40, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.
- Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).

A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão, embora outros formatos possam ser aceitos, mas respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

1.2 ARTIGOS DE REVISÃO: Dedicados à apresentação e à discussão de temas de interesse científico e de relevância para a saúde pública. Devem apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Devem ser elaborados por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

Informações complementares:

- Devem ter até 25 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.
- As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 03 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. Devem ser apresentadas em arquivo separado.
- As referências bibliográficas, limitadas a 50, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.
- Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).

1.3 COMUNICAÇÕES BREVES: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos significativos no campo da pesquisa de interesse em saúde pública e que não comportam uma análise mais abrangente.

Informações complementares:

- Devem ter até 10 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.
- As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. Devem ser apresentadas em arquivo separado.
- As referências bibliográficas, limitadas a 15, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.
- Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).
- Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais.

1.4 NOTAS CIENTÍFICAS: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos relevantes de uma pesquisa experimental que justifique a publicação de resultados parciais.

Informações complementares:

- Devem ter até 06 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.
- As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. Devem ser apresentadas em arquivo separado.
- As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.
- Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).
- Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais, porém na forma de texto único.

1.5 RELATOS DE CASO: São textos que contemplam principalmente a área médica, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Informações complementares:

- Devem ter até 03 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.
- As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. Devem ser apresentadas em arquivo separado.

- As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.
- Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).
- Devem apresentar Introdução, Relato de caso, Discussão e Conclusão, na forma de texto único.

1.6 RESUMOS DE TESES E DISSERTAÇÕES: São aceitos resumos de teses e dissertações até um ano após a defesa.

Informações complementares:

- Devem ter até 400 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*).
- Sua apresentação deve conter o nome do autor e do orientador, título do trabalho em português e em inglês, nome da instituição em que foi apresentado, área de concentração e ano da defesa.

2. APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO: Os textos devem ser redigidos em processador de texto *Word for Windows* 2003 ou compatível, no formato A4, espaço duplo, fonte *Times New Roman*, tamanho 12. Devem ser evitados arquivos compactados. A estrutura do manuscrito deve estar em conformidade com as normas do Sistema Vancouver – Título; Autores e Instituições; Resumo e Abstract; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimentos; Referências; Tabelas; Figuras e Fotografias.

2.1 PÁGINA DE IDENTIFICAÇÃO: Deve constar:

Título em português e em inglês: O título deve ser conciso, completo e conter informações. Se o manuscrito for submetido em inglês, deve ser fornecido um título em português.

Autores: De acordo com o *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), são considerados autores aqueles que contribuíram substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; contribuíram significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo e participaram da aprovação da versão final do mesmo. Somente a aquisição de financiamento, a coleta de dados ou supervisão geral de grupos de pesquisa não justificam autoria – maiores esclarecimentos sobre autoria podem ser encontrados na página do ICMJE (<http://www.icjme.org>). Deve constar o nome completo, sem abreviações e com último sobrenome em caixa alta (exemplo: Ana Maria Camargo da SILVA) e o e-mail do autor responsável. O autor responsável para troca de correspondência deve estar assinalado com asterisco (*) e apresentar também o endereço completo.

Afiliação: Deve ser indicada a instituição à qual cada autor está afiliado, na seguinte ordem de hierarquias institucionais de afiliação: laboratório, setor, seção, serviço, divisão, departamento, instituto, faculdade e universidade.

Financiamento da pesquisa: Se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

Apresentação prévia: Quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e instituição onde foi apresentada. Quando apresentado em evento científico, indicar o nome do evento, local e ano da realização.

2.2 PREPARO DO MANUSCRITO:

Resumo/Abstract: Todos os textos deverão ter resumos em português e inglês, dimensionados para ter até 200 palavras. Como regra geral, o resumo deve incluir objetivos do estudo, principais procedimentos metodológicos, principais resultados e conclusões.

Palavras-chave/keywords: Devem ser indicados entre 3 a 6 descritores do conteúdo, extraídos do vocabulário Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Bireme (disponível em <http://www.bireme.br>) nos idiomas português e inglês. Em inglês, com base no *Medical Subject Headings* (MeSH).

Caso não sejam encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos não existentes nos conjuntos citados.

Estrutura do texto:

A) Introdução: Deve ser breve, relatando o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, sintetizando a importância e destacando as lacunas do conhecimento abordadas. Não deve incluir dados ou conclusões do estudo em referência

B) Material e Métodos: Os procedimentos adotados devem ser descritos claramente, bem como as variáveis analisadas, com a respectiva definição, quando necessária, e a hipótese a ser testada. Devem ser descritas a população e a amostra, instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade e conter informações sobre a coleta e processamento de dados. Deve ser incluída a devida referência para os métodos e técnicas empregados, inclusive os métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, justificando as razões para seu uso e mencionando suas limitações. Os critérios

éticos da pesquisa devem ser respeitados; os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro de padrões éticos e foi aprovada por comitê de ética, indicando o nome do comitê de ética, número e data do registro.

C) Resultados: Devem ser apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

D) Discussão: A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os novos e importantes aspectos observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As conclusões podem finalizar essa parte, retomando o objetivo do trabalho ou serem apresentadas em item separado.

E) Agradecimentos: Este item é opcional e pode ser utilizado para mencionar os nomes de pessoas que, embora não preencham os requisitos de autoria, prestaram colaboração ao trabalho. Será preciso explicitar o motivo do agradecimento, por exemplo, consultoria científica, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados etc. Deve haver permissão expressa dos nomeados e o autor responsável deve anexar a Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos. Também pode constar desta parte apoio logístico de instituições.

2.3 CITAÇÃO NO TEXTO: A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Devem ser indicadas pelo seu número na listagem, na forma de expoente, sem uso de parênteses, colchetes e similares. Nos casos em que há citação do nome do autor, o número da referência deve ser colocado a seguir do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por “e”. Nos outros casos apresentar apenas o primeiro autor (seguido de et al, em caso de autoria múltipla).

Exemplos: Nos Estados Unidos e Canadá, a obrigatoriedade da declaração dos nutrientes no rótulo do alimento é mais antiga e foram desenvolvidos métodos hidrolíticos, como o AOAC 996.061, de extração e determinação da GT por cálculo a partir dos AG obtidos por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/DIC)^{2,3}.

Segundo Chang et al³¹, o aumento do tamanho das partículas resulta numa redução da área de superfície conferindo uma melhora na retenção e estabilidade das mesmas.

2.4 REFERÊNCIAS: Listadas ao final do texto, devem respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. As referências devem ser normalizadas de acordo com o estilo *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication*, numeradas consecutivamente na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto.

Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Medline, disponível no endereço <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals>. Para consultar periódicos nacionais e latino-americanos: <http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>.

No caso de publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências de um mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente.

Exemplos:

Artigos de periódicos:

Aued-Pimentel S, Zenebon O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(2):121-6.

Weihrauch JL, Posati LP, Anderson BA, Exler J. Lipid conversion factors for calculating fatty acids contents of foods. *J Am Oil Chem Soc*. 1977;54:36-40.

Hennington EA. Acolhimento como prática interdisciplinar num programa de extensão. *Cad Saude Coletiva* [Internet]. 2005;21(1):256-65. Disponível em: [<http://www.scielo.br/pdf/csp/v21n1/28.pdf>].

Livros:

Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*. 2ª ed. Albany (NY):Delmar Publishers;1996.

Lopez D, organizador. *Estudos epidemiológicos qualitativos*. São Paulo: James Martim; 2009.

Institute of Medicine (US). *Looking at the future of the Medicaid program*. Washington (DC): The Institute; 1992.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer. Washington: National Academy Press; 2001 [acesso 2003 Jul 13]. Disponível em: [http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149].

Capítulos de livro:

Wirdh L. História da Epidemiologia. In: Lopez D, organizador. Estudos epidemiológicos qualitativos. São Paulo: James Martim; 2009.p.64-76.

Dissertações, teses e monografias:

Santos EP. Estabilidade química da manteiga da terra [dissertação de mestrado]. Bananeiras (PB): Universidade Federal da Paraíba;1995.

Moreschi ECP. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.

Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

Barboza et al. Descentralização das políticas públicas em DST/AIDS no Estado de São Paulo. III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; agosto de 2004; São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz. p. 34 [resumo 32-SC].

Dados eletrônicos:

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP. O que fazemos/Qualidade da água. [acesso 2008 Set 17]. Disponível em: [http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&doc].

Legislação:

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.

Autoria institucional:

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. [1ª ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. [acesso 2008 nov 25]. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=select&orderby=1&Itemid=7].

Organización Mundial de la Salud – OMS. Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Patente:

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors: Novoste Corporation, assignee. Methods for procedures related to eletrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação do *Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver)*, disponível em: <http://www.cmje.org>.

Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

2.5 NÚMEROS DE FIGURAS E TABELAS: A quantidade de figuras e tabelas de cada manuscrito deve respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. Todos os elementos gráficos ou tabulares apresentados serão identificados como *figura* ou *tabela*, e numerados sequencialmente a partir de um, e não como *quadros*, *gráficos* etc.

A) Tabelas: Devem ser redigidas em processador de texto *Word for Windows* 2003 ou compatível e serem apresentadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou, para sua reprodução.

B) Figuras: As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como Figuras, apresentadas em arquivos separados e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que foram citadas no texto. Devem conter título e legenda apresentados na parte inferior da figura. Só serão admitidas para publicação figuras suficientemente claras e com qualidade digital que permitam sua impressão, preferencialmente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Figuras em cores serão publicadas quando for necessária à clareza da informação e os custos deverão ser cobertos pelos autores. Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

3. DECLARAÇÕES E DOCUMENTOS SOLICITADOS: Em conformidade com as diretrizes do *International Committee of Medical Journal Editors*, são solicitados alguns documentos e declarações do(s) autor(es) para a avaliação de seu manuscrito. Observe a relação dos documentos abaixo e, nos casos em que se aplique, anexe o documento ao processo. O momento em que tais documentos serão solicitados é variável:

Documento/declaração	Quem assina	Quando anexar
Carta de Apresentação	Todos	Submissão
Responsabilidade pelos Agradecimentos	Autor responsável	Aprovação
Transferência de Direitos Autorais	Todos	Aprovação

A carta de Apresentação do manuscrito, assinada por todos os autores, deve conter:

- Um parágrafo declarando a responsabilidade de cada autor: ter contribuído substancialmente para a concepção e planejamento ou análise e interpretação dos dados; ter contribuído significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e ter participado da aprovação da versão final do manuscrito. Para maiores informações sobre critérios de autoria, consulte a página do ICMJE (<http://www.icjme.org>).
- Um parágrafo contendo a declaração de potenciais conflitos de interesses dos autores.
- Um parágrafo contendo a declaração que o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico. Todos os autores devem ler, assinar e enviar documento transferindo os direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando esse documento estiver de posse da RIAL.

4. VERIFICAÇÃO DOS ITENS EXIGIDOS NA SUBMISSÃO:

1. Nome e instituição de afiliação de cada autor, incluindo e-mail e telefone do autor responsável.
2. Título do manuscrito, em português e inglês.
3. Texto apresentado em letras *Times New Roman*, corpo 12, em formato *Word* ou similar (doc, txt, rtf).
4. Resumos em dois idiomas, um deles obrigatoriamente em inglês.
5. Carta de Apresentação assinada por todos os autores.
6. Nome da agência financiadora e número(s) do processo(s).
7. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição/Programa, grau e o ano de defesa.
8. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas pela citação no texto e numeradas, e se todas estão citadas no texto.
9. Tabelas numeradas sequencialmente, com título e notas, e no máximo com 12 colunas, em formato *Word* ou similar (doc, txt, rtf).
10. Figura no formato vetorial ou tif, ou jpeg, ou bmp, com resolução mínima 300 dpi.

5. REVISÃO DA REDAÇÃO CIENTÍFICA: Para ser publicado, o manuscrito aprovado é submetido à revisão da redação científica, gramatical e de estilo. A RIAL se reserva o direito de introduzir alterações nos originais, visando a manutenção da homogeneidade e qualidade da publicação, respeitando, porém, o estilo e as opiniões dos autores. Inclusive a versão em inglês do artigo terá esta etapa de revisão.

6. PROVAS: Após sua aprovação pelos editores, o manuscrito será revisado quanto à redação científica. O autor responsável pela correspondência receberá as provas gráficas para revisão por correio eletrônico em formato pdf (*portable document format*). O prazo máximo para a revisão da prova é de dois dias. É importante cumprir os prazos de revisão para garantir a publicação no fascículo programado. Atrasos nesta fase poderão resultar em remanejamento do artigo para fascículos subsequentes.

7. PUBLICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO: Os artigos serão publicados em ordem cronológica de aprovação. As datas de recebimento e de aprovação do artigo constarão obrigatoriamente no mesmo.

É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na RIAL, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, de conformidade com a legislação sobre os direitos autorais.

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais ou em permuta de periódicos nacionais ou estrangeiros.

Assessoria Editorial:



www.rspress.com.br



Instituto Adolfo Lutz



SECRETARIA
DA SAÚDE



ISSN 0073-9855



9 770073 985009