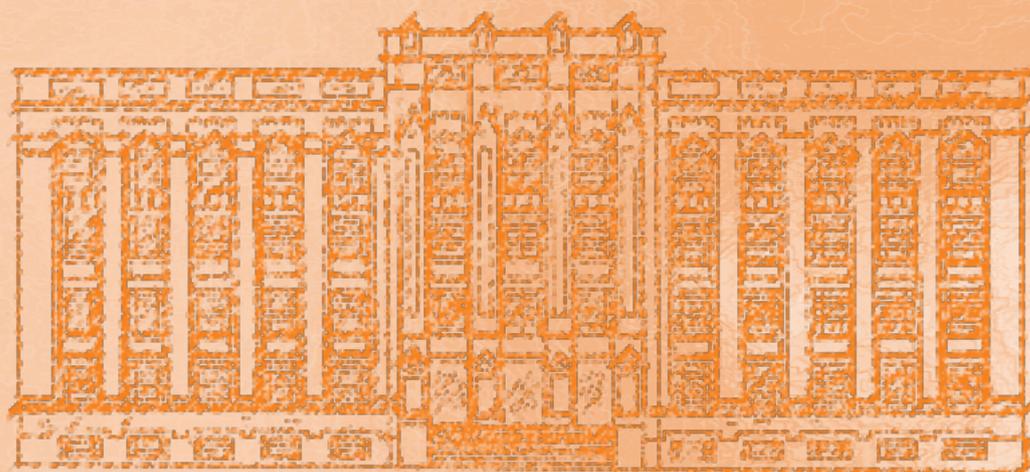


ISSN: 1983-3814 (on-line)
RIALA6



REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ



Volume 80 número único, 2021





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

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Volume 80, 2021

Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz

Adriana Bugno

Editores Assistentes

Adriana Aparecida Buzzo Almodovar
Adriana Palma de Almeida
Aurea Silveira da Cruz Garçon
Daniela Etlinger Colonelli
Eliete Candida de Lima Cortez
Leonardo José Tadeu Araújo
Mahyara Markievicz Mancio Kus Yamashita
Maria Aparecida Moraes Marciano
Maria de Fátima Costa Pires
Paula Ordonhez Rigato
Rosemeire Cobo Zanella Ramos
Ruth Estela Gravato Rowlands
Simone Alves da Silva

Editor Chefe

Pedro Luiz Silva Pinto

Editor Adjunto

Adriana Bugno

Núcleo de Acervo

Rocely Aparecida Bueno Moita

Diagramação

Irony Therezinha Pires
Acará Estúdio Gráfico

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.
Lígia 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.
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.
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
2021, 80

CDD₁₈ 614.07205

RIALA 6
ISSN 1983-3814 versão on line
ISSN 0073-9855 versão impressa
ISSN 2176-3844 CD-ROM

(*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos. Normas para catalogação de publicações seriadas especializadas, São Paulo, Ed. Polígono, 1072.

Os artigos publicados na Revista do Instituto Adolfo Lutz são indexados por: Index Medicus Global; LILACS; Latindex; BVS-Vet; BVS-RIC; Toxicology Abstracts; Google Acadêmico.

Acesso on line / on line access. Texto integral / full text.
[hhttps://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/login](https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/login)

Portal de Revistas em Veterinária e Zootecnia
<https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-do-instituto-adolfo-lutz/>

Portal de Revistas Científicas da Secretaria da Saúde - SP
<https://ses.sp.bvs.br/periodicosp/>

Cartas ao editor:
Endereço / Address
Núcleo de Acervo Av. Dr. Arnaldo, 355
01246-000 São Paulo/ SP – Brasil
Tel. + 55 11 3068-2867/2869
E-mail: rial@saude.sp.gov.br

■ ARTIGO DE REVISÃO/ REVIEW ARTICLE

e37249

Isoflavonas como tratamento alternativo na sintomatologia climatérica: uma revisão sistemática

Isoflavones as alternative treatment in climacteric symptomatology: a systematic review

Maiara FRIGO, Evayne de BARROS, Paola Cristine de Bortoli dos SANTOS, Eloá Angélica KOEHNLEIN

e37585

Study of the scientific production of the antibacterial activity of the chemical compounds of the essential oil of *Lippia sidoides*

Estudo da produção científica da atividade antibacteriana dos componentes químicos do óleo essencial de *Lippia sidoides*

Ana Lúcia PENTEADO

■ ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

e37087

Alimentos processados e Diabetes Mellitus: avaliação de rotulagem de alimentos industrializados indicados para diabéticos

Processed foods and Diabetes Mellitus: labeling evaluation of processed foods indicated for diabetics

Beatris Ballardín Martins BOLZAN, Jaqueline Driemeyer Correia HORVATH

e37247

Composição nutricional de frutos do Cerrado mato grossense: cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.) e inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul)

Nutritional composition of the fruits from Midwestern Cerrado: cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) and inharé (*Brosimum gaudichaudii*)

Júlio Samuel CARELLE, Gicélio Ramos da SILVA, Reginaldo Vicente RIBEIRO, João VICENTE NETO, Érica Luiz dos SANTOS

e37251

Comparação de rótulos de doces *diet* e convencionais disponíveis aos consumidores: estudo exploratório descritivo com base na legislação federal vigente

Comparison of labels of twelve diets and conventional ones available to consumers: descriptive exploratory study based on current federal legislation

Natália de Oliveira CAETANO, Rejane da Conceição COIMBRA, Anne Danieli Nascimento SOARES, Nathalia Sernizon GUIMARÃES, Rosimar Regina da Silva ARAUJO

e37246

Qualidade da água utilizada em serviços de hemodiálise antes e após passar por sistema de tratamento em Santarém, Oeste do Pará, Amazônia

Quality of the water used in hemodialysis services before and after going through a treatment system in Santarém, Western Pará, Amazonia
Valeria de Sousa BENTES, Marina Smidt Celere MESCHEDE

e37275

Perfil epidemiológico de *Staphylococcus* spp. isolados de hemoculturas de pacientes internados em um hospital de atenção terciária da rede pública do Ceará

Epidemiological profile of *Staphylococcus* spp. isolated from hemocultures of interned patients in a tertiary attention hospital of the Ceará public network

Ana Luiza Ribeiro AGUIAR, Morgana Maria de Oliveira BARBOZA, Anderson da Cunha COSTA, Mariana Souza Bezerra HOLANDA, André Jhonathan DANTAS, Glairta de Souza COSTA, Gleiciane Moreira DANTAS, Paulo César Pereira de SOUSA

e37277

Valores normais da atividade da colinesterase plasmática em anseriformes, com destaque para *Alopochen aegyptiacus*

Normal values of plasma cholinesterase activity in anseriformes, with emphasis on *Alopochen aegyptiacus*

Estella Zago BECEGATO, Elizabeth Visone Nunes WESTPHALEN, Sansão da Rocha WESTPHALEN, José Eduardo TOLEZANO, Marilena OSHIRO, Cristiani Martinez SALZONE, Natália Coelho Couto de Azevedo FERNANDES, Juliana Mariotti GUERRA

e37280

Leites e seus substitutos de origem vegetal: avaliação e comparação da qualidade nutricional de seus rótulos

Milk and its vegetable substitutes: evaluation and comparison of nutritional quality of its labels

Isabella NICOLAU, Jéssica Moraes MENDONÇA, Susete Dresch, Fernanda Garcia Semião PEDRA, Christiane Mileib VASCONCELOS

e37291

Contaminação microscópica por matérias estranhas em noz-moscada, cúrcuma, gengibre, colorífico, pimenta-do-reino e páprica comercializados no estado de São Paulo, Brasil. (Parte I)

Microscopic contamination by foreign matter in nutmeg, turmeric, ginger, colorific, black pepper and paprika marketed in the State of Sao Paulo, Brazil. (Part I)

Sonia de Paula Toledo PRADO, Matheus Leandro RODRIGUES, Cinthia Iara de AQUINO, Maria Helena IHA

e37287

Verificação de adulterações em cúrcuma, gengibre, noz-moscada, páprica, pimenta-do-reino e colorífico, comercializados no estado de São Paulo, Brasil. (Parte II)

Verification of adulterations in turmeric, ginger, nutmeg, paprika, black pepper and colorífico marketed in the state of São Paulo, Brazil. (Part II)

Sonia de Paula Toledo PRADO, Matheus Leandro RODRIGUES, Cinthia Iara de AQUINO, Isaura Akemi OKADA, Maria Helena IHA

e37356

Análise da adequação do termo *detox* nos rótulos de bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais

Analysis of the adequacy of the term detox on the labels of industrialized drinks based on fruits and vegetables

Sarah Morais Senna PRATES, Juliana Sampaio NESPOLO, Natália Adan SABION, Luciene ALVES, Lucilene Rezende ANASTÁCIO

e37320

Study of the effects of freezing process on nutritional value of 17 fish species marketed in São Paulo State, Brazil

Estudo dos efeitos do processo de congelamento sobre o valor nutricional de 17 espécies de peixes comercializadas no Estado de São Paulo, Brasil

Rúbia Yuri TOMITA, Síbillia dos Santos CARVALHO

e37420

Elaboration of reference material for cadmium and arsenic in hydrobiological products, for the purpose of being used in a laboratory intercomparison program

Elaboración de un material de referencia para cadmio y arsénico en productos hidrobiológicos, para propósito de ser utilizado em un programa de intercomparación de laboratorios

Soraya SANDOVAL, Karina GONZÁLEZ, Luis Humberto MUÑOZ

e36747

Isolamento e identificação microscópica de elementos histológicos vegetais: contribuições para o controle de qualidade e segurança dos alimentos

Isolation and microscopic identification of vegetable histological elements: contributions to quality control and food safety

Laís Fernanda de PAULI-YAMADA, Márcia Nogueira DIMOV, Augusta Mendes da SILVA, Regina Sorrentino Minazzi RODRIGUES, Maria Aparecida Moraes MARCIANO

■ **COMUNICAÇÃO BREVE/ BRIEF COMMUNICATION**

e37286

Veracidade da rotulagem quanto a presença de amido baseado em um teste laboratorial em iogurtes nacionais comercializados no sul de Santa Catarina

Veracity of labeling as the presence of starch based on a laboratory test in national yogurts commercialized in southern Santa Catarina

Ricardo FERREIRA NETO, Andriele Aparecida da Silva VIEIRA

e37478

Comparação entre métodos de pré-tratamento para determinação de sujidades leves em amostras de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e páprica (*Capsicum annuum* L.)

Comparison between pretreatment methods for determination of light filth in samples of turmeric (*Curcuma longa* L.) e paprika (*Capsicum annuum* L.)

Sonia de Paula Toledo PRADO, Matheus Leandro RODRIGUES, Maria Helena IHA

■ **RESUMOS DE TESES E DISSERTAÇÕES**

e37252

Estudo da contaminação por bifenilas policloradas e parâmetros de qualidade do mel orgânico e do mel convencional do Rio Grande do Sul

Study of contamination by polychlorinated biphenyls and quality parameters of organic honey and conventional honey from Rio Grande do Sul Dos Santos M.

■ **COLABORADORES**

■ **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

<https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/about/submissions>



Isoflavonas como tratamento alternativo na sintomatologia climatérica: uma revisão sistemática

Isoflavones as alternative treatment in climacteric symptomatology: a systematic review

Maiara FRIGO¹, Evayne de BARROS², Paola Cristine de Bortoli dos SANTOS², Eloá Angélica KOEHNLEIN^{1,2*} 

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, PR, Brasil.

²Curso de Nutrição, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, PR, Brasil.

RESUMO

O climatério é uma fase natural da vida da mulher que ocorre entre os 40 e 65 anos de idade e é caracterizado pela transição entre a fase reprodutiva e não reprodutiva. Neste período, devido às alterações hormonais, ocorrem alterações biológicas, endócrinas e clínicas. Sintomas vasomotores são típicos do hipoestrogenismo e podem interferir negativamente na qualidade de vida das mulheres. Este estudo teve como objetivo revisar os resultados dos estudos de intervenção que utilizaram isoflavonas na sintomatologia de mulheres climatéricas não usuárias de Terapia de Reposição Hormonal (TRH). Realizou-se uma revisão sistemática de artigos publicados entre os anos de 2008 e 2019 na base de dados *PubMed*. Foram encontrados 169 estudos, e considerando os critérios de inclusão, 18 artigos foram selecionados, em que houve intervenção com isoflavonas por meio de cápsulas e/ou suplementos ou alimentos para tratamento da síndrome climatérica. Foram verificados resultados positivos nos sintomas globais, com destaque para sintomas vasomotores, em mais da metade dos estudos avaliados, em que doses entre 45 mg a 160 mg diárias de isoflavonas por pelo menos 12 semanas foram administradas, especificadamente nas mulheres no período da pós-menopausa.

Palavras-chave. Menopausa, Fitoestrógenos, Alimento Funcional, Suplementos Nutricionais.

ABSTRACT

The climacteric is a natural phase during women's life, which occurs between 40 and 65 years. It is characterized by the transition from their reproductive to non-reproductive phase. In this period, due to hormonal changes, biological, endocrine and clinical modifications also occur. Vasomotor symptoms are characteristic of hypoestrogenism and can negatively affect women's quality of life. This study aimed to review the results of intervention studies which used isoflavones to treat the symptoms of climacteric women who did not undergo Hormone Replacement Therapy (HRT). A systematic review of articles published between 2008 and 2019 in the *PubMed* database was carried out. 169 studies were found, and considering the inclusion criteria, 18 articles were selected, in which it was described isoflavones intervention with capsules and/ or supplements or foods for the treatment of climacteric syndrome. Positive results were observed regarding to global symptoms, with emphasis on vasomotor symptoms in more than half of the studies, in which daily doses of isoflavones, between 45 mg to 160 mg, for at least 12 weeks, were administered specifically in postmenopausal women.

Keywords. Menopause, Phytoestrogens, Functional Food, Dietary Supplements.

*Autor de correspondência/Corresponding author: eloa.koehnlein@uffs.edu.br

Recebido/Received: 15.04.2020 - Aceito/Accepted: 31.01.2021

INTRODUÇÃO

O climatério é uma fase fisiológica da vida da mulher que se inicia por volta dos 40 anos e termina aos 65 e divide-se em três fases: pré-menopausa, perimenopausa e pós-menopausa. É caracterizado pela transição da fase reprodutiva para a não reprodutiva, em que ocorrem diversas mudanças biológicas, endócrinas e clínicas devido às alterações hormonais, mais especificamente em função da diminuição gradativa da produção de estrogênio^{1,2}. Os sintomas do climatério mais comumente citados incluem os vasomotores, como ondas de calor e suores noturnos, insônia, sintomas urogenitais, cardiovasculares e sintomas do sistema ósseo, como osteoporose³. Como resultado do exposto, o período do climatério é vivenciado de uma forma negativa pelas mulheres, como um processo de perdas e que pode interferir na qualidade de vida das mesmas¹.

Como forma de aliviar os sintomas do climatério pode haver a prescrição da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) por meio da administração de hormônios sintéticos à base de estrogênio e progesterona⁴. A TRH possui benefícios em curto prazo, como a melhoria ou o alívio dos sintomas vasomotores, sintomas ligados ao sistema nervoso central e urogenitais. Porém, apesar destes benefícios, estudos demonstram que os riscos apresentados por este tipo de terapia, como riscos cardiovasculares, tromboembolias, acidente vascular cerebral e o desenvolvimento de câncer de mama e endométrio, superam os benefícios^{5,6}.

Diante desse cenário, alternativas de tratamento têm sido estudadas com o objetivo de evitar os efeitos adversos da TRH. Dentre essas alternativas surgiu o interesse na utilização de fitoestrógenos, a partir da observação de menor frequência de sintomas vasomotores em mulheres asiáticas, que apresentavam dieta rica em fitoestrógenos, em comparação com as mulheres da Europa⁷.

Os fitoestrógenos são compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal, que possuem ação estrogênica ou antiestrogênica, dependendo da concentração endógena de estrogênio. As duas principais classes de compostos bioativos que possuem essa característica são as isoflavonas e as lignanas⁸. Estes dois grupos fazem parte dos fitoestrógenos fenólicos, que apresentam estrutura química semelhante à dos estrógenos produzidos pelo organismo feminino, sendo assim, tornam-se capazes de interagir diretamente com os receptores estrogênicos das células humanas⁶.

Uma meta-análise realizada em 15 estudos para avaliar a efetividade da utilização de isoflavonas em curto prazo no alívio dos sintomas climatéricos e na melhora da qualidade de vida de mulheres mostrou que, apesar de não ter ocorrido alteração do Índice de Kuppermann (IK) (instrumento de avaliação clínica da sintomatologia climatérica) em comparação ao grupo placebo, houve redução significativa dos sintomas vasomotores⁷. Uma revisão da literatura sobre estudos de intervenção com fitoestrógenos de linhaça no período do climatério e alterações no perfil lipídico demonstrou que a maioria obteve resultado satisfatório na redução dos níveis plasmáticos de colesterol⁹.

A partir do exposto, nesta revisão pretendeu-se reunir de forma sistematizada evidências científicas que permitam identificar a eficácia do uso de isoflavonas na melhoria dos sintomas climatéricos.

METODOLOGIA

Para a realização dessa pesquisa empregou-se o método de revisão sistemática¹⁰ utilizando-se as seguintes palavras-chave: “Isoflavones and climacteric”, sendo essas combinadas para assegurar alcance mais eficiente de diferentes estudos. Foram considerados elegíveis os artigos publicados em periódicos indexados na base de dados *PubMed*. A busca pelos artigos se deu no mês de março de 2020.

Os critérios de inclusão dos artigos na revisão foram: 1) artigos que estivessem disponíveis de forma completa *on-line*, em inglês, português ou espanhol; 2) artigos publicados no período

de 2008 a 2019; 3) estudos clínicos que avaliaram os efeitos da intervenção com isoflavonas em mulheres entre 40 a 65 anos, que se encontravam no período do climatério, em relação à sintomatologia dessa fase. Os critérios de exclusão foram: dissertações, teses e capítulos de livros.

Para a extração dos dados desejados dos estudos, utilizaram-se os seguintes critérios: identificação, características metodológicas e resultados dos estudos.

RESULTADOS

Após a realização da busca dos artigos, de acordo com os descritores, obteve-se um total de 169 estudos. O processo de seleção realizado está representado no fluxograma (**Figura**).

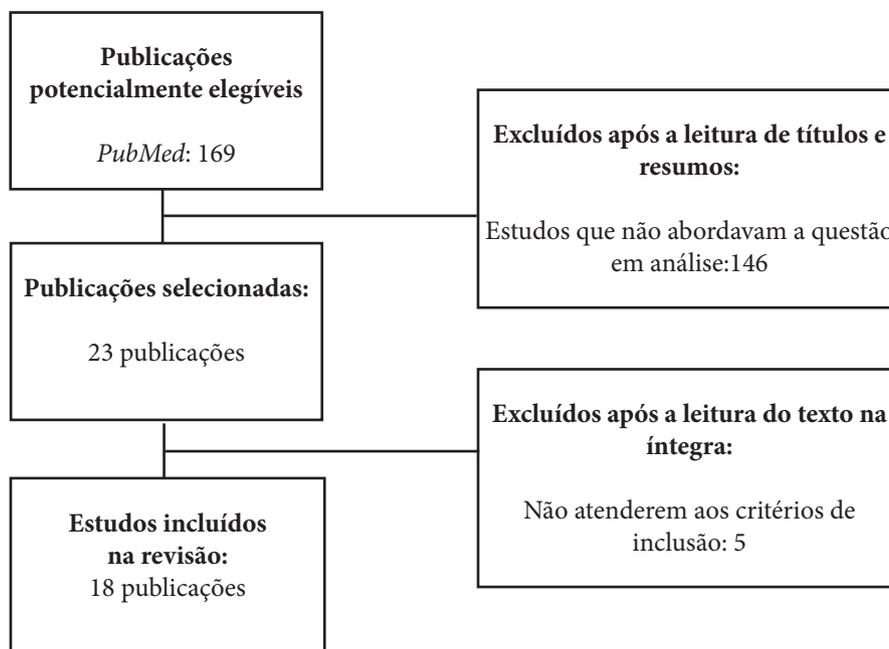


Figura. Fluxograma representativo da seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática

Um total de 18 estudos foram selecionados, correspondente a 10,7% do total de artigos encontrados, em que 14 realizaram intervenção com isoflavonas administradas por meio de cápsulas e/ou suplemento em pó (77,8%) e 4 por meio de alimentos (22,2%). Os artigos encontravam-se na língua portuguesa, inglesa e espanhola. O **Quadro** mostra uma síntese dos estudos selecionados¹¹⁻²⁸.

Quadro. Síntese dos estudos incluídos na revisão sistemática, considerando intervenção com cápsulas, suplementos ou alimentos contendo isoflavonas

Autor e ano	Público Estudado	Parâmetros avaliados (Instrumentos)	Período de Consumo	Tipo de Intervenção	Resultados Encontrados
Intervenção com Suplementos e Cápsulas					
<i>Estudos com Grupo Placebo</i>					
Ferrari (2009) ¹¹	176 mulheres Perimenopáusicas e Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (diário) - Sintomas climatéricos (IK)	12 semanas	- Grupo 1: 80 mg/dia de isoflavonas - Grupo 2: Placebo	- Redução significativa das ondas de calor em ambos os grupos ao final do período de teste*, porém maior no grupo que recebeu isoflavonas**; - Redução dos sintomas climatéricos em ambos os grupos, ao final do período de teste*, porém sem diferença estatística entre os grupos**.
Lipovac et al (2010) ¹²	109 mulheres Pós-menopáusicas	- Ansiedade e Depressão (Hospital Anxiety and Depression Scale e Zung's Self Rating Depression Scale)	12 semanas	- Grupo 1: 80 mg/dia de isoflavonas - Grupo 2: Placebo	- Redução significativa dos sintomas de ansiedade e depressão em ambos os grupos ao final do período de teste*, porém maior no grupo que recebeu isoflavonas**.
Hachul et al (2011) ¹³	37 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (frequência) - Sintomas climatéricos (IK) - Polissonografia	16 semanas	- Grupo 1: 80 mg/dia de isoflavonas - Grupo 2: Placebo	- Redução significativa do número de ondas de calor e de insônia no grupo isoflavonas**; - Redução significativa dos sintomas climatéricos nos dois grupos, ao final do período de teste*, porém sem diferença entre os grupos; - Aumento significativo da eficiência do sono no grupo isoflavonas**.

Continua na página 5/14

Lipovac et al (2011) ¹⁴	109 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor e suores noturnos (Frequência) - Sintomas climatéricos (IK)	12 semanas	- Grupo 1: 80 mg/dia de isoflavonas por 12 semanas; 1 semana de descanso; Placebo por 12 semanas - Grupo 2: Placebo por 12 semanas; 1 semana descanso; 80mg/dia de isoflavonas por 12 semanas	- Redução significativa da frequência das ondas de calor, de suores noturnos e dos sintomas climatéricos após uso das isoflavonas comparado com período de placebo**.
Ye et al. (2012) ¹⁵	84 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (Frequência) - Sintomas climatéricos (IK)	24 semanas	- Grupo Baixa dose: 84 mg/dia de isoflavonas - Grupo Alta dose: 126 mg/dia de isoflavonas - Grupo Placebo	- Redução significativa da frequência de ondas de calor e sintomas climatéricos em todos os grupos, ao final do período de teste*, porém maior nos grupos Baixa e Alta dose**.
Amato et al (2013) ¹⁶	365 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (MENQOL)	96 semanas	- Grupo 1: 80 mg/dia de isoflavonas - Grupo 2: 120 mg/dia de isoflavonas - Grupo 3: Placebo	- Não houve redução significativa de nenhum dos sintomas nos grupos estudados**.
Malik et al (2016) ¹⁷	189 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (Frequência e intensidade) - Sintomas Geniturinários - Sintomas climatéricos (GCS)	24 semanas	Grupo A: Placebo - Grupo B: 0,5mg/dia de Valerato de Estradiol - Grupo C: 0,3mg/dia de Estrogênio Conjugado - Grupo D: 60mg/dia de isoflavonas	- Redução significativa na frequência e intensidade de ondas de calor em todos os grupos*, porém maior nos grupos B e C**; - Redução significativa dos sintomas genitourinários nos grupos B, C e D ao final do período de teste*, porém maior nos grupos B e C**; - Redução dos sintomas climatéricos em todos os grupos ao final do período de teste*.

Continua na página 6/14

Carmignani et al (2010) ¹⁸	60 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (MRS)	16 semanas	- Grupo Terapia Hormonal: 1mg de estradiol e 0,5mg de acetato de noretisterona + 2 porções de placebo em pó por dia - Grupo Soja: 1 cápsula com placebo em pó + 2 porções de um suplemento em pó contendo 24 g de proteína de soja e 90 mg/dia de isoflavonas - Grupo Placebo: 1 cápsula de placebo em pó + 2 porções de placebo em pó por dia	- Redução significativa dos sintomas somáticos (ondas de calor, desconforto cardíaco, problemas de sono, musculares e articulares) e urogenitais no grupo TH e soja em comparação ao placebo**.
<i>Estudos com Grupo Controle</i>					
Battaglia et al (2009) ¹⁹	26 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (diário mensal)	12 semanas	- Grupo 1: 45 mg/dia de isoflavonas - Grupo 2: Controle	- Redução significativa do número de ondas de calor no grupo isoflavonas ao final do período de teste* e em comparação com o controle**.
<i>Estudos apenas com Grupo Teste</i>					
Jenks et al (2012) ²⁰	88 mulheres Pós-menopáusicas	- Ondas de calor e suores noturnos (diário) - Sintomas climatéricos (GCS).	8 semanas	- Grupo S-Equol 1: 10 mg/dia de S-Equol - Grupo S-Equol 2: 20mg/dia de S-Equol - Grupo S-Equol 3: 40mg/dia de S-Equol - Grupo Isoflavonas: 48mg/dia de isoflavonas	- Redução significativa na frequência de ondas de calor e dos sintomas climatéricos em todos os grupos ao final do período de teste*; - A redução das ondas de calor foi maior nos grupos S-Equol**.

Continua na página 7/14

Yang et al (2012) ²¹	107 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (GCS modificada)	24 semanas	- Grupo 1: 35 mg de extrato de soja contendo 17,5 mg/dia de isoflavonas de soja - Grupo 2: 35 mg/dia de isoflavonas de soja	- Redução significativa nos sintomas climatéricos em ambos os grupos ao final do período de teste*, porém sem diferença significativas entre os grupos**.
Palma et al (2019) ²²	72 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (GCS e MENQUOL)	12 semanas	- Grupo Terapia Hormonal: 0,3 mg/dia de estrogênio conjugado. - Grupo Acupuntura: Acupuntura uma vez na semana. - Grupo Fitoestrogênios: 150 mg/dia de isoflavonas	- Redução significativa dos sintomas vasomotores em todos os grupos ao final do período de teste*, porém maior no grupo Terapia Hormonal**.
Chedraui et al (2011) ²³	45 mulheres Pré-menopáusicas, Perimenopausicas e Pós-menopáusicas	- Ondas de calor (Frequência e intensidade); - Sintomas climatéricos (MRS)	12 semanas	- Administração de 100mg/dia de isoflavonas para todas as participantes	- Redução significativa do número e severidade das ondas de calor ao final do período de teste*. - Redução significativa dos sintomas climatéricos ao final do período de teste*.
Palacios et al (2017) ²⁴	68 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas vasomotores (diário)	16 semanas	- Grupo 1: 2 cápsulas de 425 mg/dia de ômega-3 - Grupo 2: 2 comprimidos com 54,4 mg/dia de isoflavonas = 108,8 mg/dia	- Redução significativa da severidade das ondas de calor em ambos os grupos, ao final do período de teste*. - Não foi observada diferença significativa na redução do número de ondas de calor em ambos os grupos*.

Continua na página 8/14

Intervenção com Alimentos					
<i>Estudos com Grupo Placebo</i>					
Husain et al (2015) ²⁵	61 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (IK)	8 semanas	- Grupo Experimental: 2 biscoitos/dia com soja, contendo 54 mg/dia de isoflavonas - Grupo Placebo: 2 biscoitos por dia, sem soja	- Redução significativa da intensidade e severidade dos sintomas no grupo experimental ao final do período de teste*.
Basaria et al (2009) ²⁶	84 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (MENQOL)	12 semanas	- Grupo Intervenção: 20 g de proteína de soja contendo 160 mg/dia de isoflavona - Grupo Placebo: 20 g/dia de proteína do leite	- Redução significativa dos sintomas somente no grupo intervenção, ao final do período de teste*.
Liu et al (2014) ²⁷	253 mulheres Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (checklist de sintomas validado)	24 semanas	- Grupo Soja: 40 g de farinha de soja contendo 49,8 mg de isoflavonas - Grupo Daidzeína: 40 g de leite em pó desnatado + 63 mg de daidzeína - Grupo Placebo: 40g de leite com baixo teor de gordura em pó	- Não houve redução significativa dos sintomas ao comparar os grupos**.
<i>Estudos com Grupo Controle</i>					
Tranche et al (2016) ²⁸	90 mulheres Perimenopáusicas e Pós-menopáusicas	- Sintomas climatéricos (MRS)	12 semanas	- Grupo 1 Controle/ Intervenção: 12 semanas de controle, 6 semanas de <i>washout</i> e mais 12 semanas de 500 ml/dia de uma bebida de soja, contendo 50mg de isoflavonas - Grupo 2 Intervenção/ Controle: 12 semanas de 500 ml/dia de uma bebida de soja, contendo 50 mg de isoflavonas, 6 semanas de <i>washout</i> e mais 12 semanas de controle	- Redução significativa dos sintomas no período de intervenção com isoflavonas em ambos os grupos**.

mg: miligramas; MFSQ: McCoy Female Sexuality Questionnaire; IK: Índice de Kupperman; MRS: Menopause Rating Scale; MENQOL: Menopause-specific Quality of Life Questionnaire; GCS: Greene Climacteric Scale; S-Equol: metabólito da daidzeína, que é um tipo de isoflavona. *análise intragrupo; **análise intergrupo

Os artigos selecionados pertenciam à categoria de ensaios clínicos, sendo estes estudos realizados nos Estados Unidos^{16,20,26}, Itália^{11,19,22}, Áustria¹⁴, China^{15,27}, Índia¹⁷, Espanha^{24,28}, Brasil^{13,18}, Equador^{12,23}, Taiwan²¹ e Irã²⁵.

Com relação ao período do climatério que as mulheres estudadas encontravam-se, verificou-se que 15 estudos (83,3%) realizaram intervenção com isoflavonas nas mulheres pós-menopáusicas^{12-22,24-27}, 2 estudos (11,1%) incluíram além de pós-menopáusicas, mulheres perimenopáusicas^{11,28} e apenas 1 (5,6%) avaliou também mulheres na pré-menopausa²³.

Referente aos métodos de avaliação dos sintomas climatéricos, observou-se que 9 estudos (50%) utilizaram escalas/índices de avaliação de sintomas climatéricos e/ou de qualidade de vida^{12,16,18,21,22,25-28}, 2 estudos (11,1%) utilizaram diário para registro de frequência e/ou intensidade de sintomas vasomotores^{19,24} e 7 (38,9%) utilizaram diário e escala de avaliação de sintomas^{11,13-15,17,20,23}. No que diz respeito ao controle dos ensaios clínicos, foi possível observar que 11 estudos (61,1%) avaliaram os efeitos das isoflavonas nos sintomas climatéricos comparativamente com um grupo placebo^{11-18,25-27}, 2 (11,1%) com um grupo controle^{19,28} e 5 (27,8%) não possuíam grupo placebo ou controle para comparação²⁰⁻²⁴.

Dentre os sintomas climatéricos avaliados, 15 estudos (83,3%) avaliaram sintomas globais^{11,13-18,20-23,25-28}, 9 (50%) avaliaram sintomas vasomotores isoladamente^{11,13-15,17,19,20,23,24} e 3 (16,7%) avaliaram outros sintomas^{12,13,17}.

A respeito dos principais achados dos efeitos das isoflavonas nos sintomas climatéricos globais (avaliados em 15 estudos), verificou-se que 6 estudos (40%) observaram redução significativa dos sintomas comparado com um grupo placebo ou controle ao final do período de teste (análise intergrupo), ou observaram redução significativa dos sintomas apenas no grupo que recebeu a intervenção com o composto bioativo^{14,15,18,25,26,28}, sendo que destes, em 3 (50%) foi realizada a intervenção com isoflavonas por meio de alimentos^{25,26,28}. Ainda observou-se que 7 estudos (46,7%) verificaram redução significativa dos sintomas ao final do período de teste (análise intragrupo), sendo 42,8% com comparação com um grupo placebo^{11,13,17} e 57,2% sem comparação com grupo placebo ou controle²⁰⁻²³. Dois estudos (13,3%) não observaram efeitos das isoflavonas nos sintomas climatéricos, sendo a intervenção com isoflavonas realizada por meio de suplemento e/ou cápsulas¹⁶ e alimento²⁷.

Já a análise dos sintomas vasomotores, principal classe de sintomas avaliados nas pesquisas, permitiu observar que 5 estudos (55,6%) registraram redução significativa dos mesmos comparado com o grupo placebo ou controle, ao final do período de teste (análise intergrupo)^{11,13-15,19} e 4 estudos (44,4%) observaram redução significativa dos sintomas ao final do período de teste (análise intragrupo)^{17,22-24}. A avaliação dos sintomas vasomotores foi realizada apenas em estudos em que a intervenção com isoflavonas foi administrada por meio de suplementos e/ou cápsulas.

Ainda foi possível identificar que 2 estudos que avaliaram outros sintomas climatéricos, além dos vasomotores e os globais, observaram redução significativa de sintomas depressivos, de ansiedade, e relacionados ao sono, em comparação com o grupo placebo ou controle ao final do período de teste (análise intergrupo)^{12,13}. O estudo que avaliou sintomas geniturinários observou redução significativa destes em mulheres climatéricas, ao final do período de teste (análise intragrupo)¹⁷. Todos os 3 estudos realizaram intervenção com isoflavonas por meio de suplementos e/ou cápsulas^{12,13,17}.

Nos estudos em que a administração de isoflavonas ocorreu por meio de suplementos e/ou cápsulas, as quantidades variaram entre 17,5 mg e 150 mg de isoflavonas ao dia, por um período de administração entre 8 e 96 semanas¹¹⁻²⁴. Já nos estudos em que a intervenção foi realizada por meio de alimentos verificou-se que 3 (75%) administraram quantidades entre 50 e 63 mg de isoflavonas/dia^{25,27,28} e apenas 1 administrou 160 mg/dia²⁶. O tempo de intervenção variou entre 8 e 30 semanas.

Com relação ao período do climatério avaliado, dos 3 estudos (16,7%) que incluíram mulheres perimenopáusicas e/ou pré-menopáusicas na avaliação dos efeitos das isoflavonas^{11,23,28}, 2 verificaram redução significativa dos sintomas climatéricos em comparação com um grupo placebo ou controle^{11,28}, sendo 1 realizado com suplementos e/ou cápsulas¹¹ e 1 com alimento²⁸. O outro estudo realizou intervenção

sem comparação com grupo placebo e/ou controle e verificou redução significativa dos sintomas ao final do período de teste²³.

DISCUSSÃO

Investigações sobre formas de tratamento que possam amenizar a sintomatologia climatérica, ressaltando-se o uso de terapias alternativas e mais seguras, entre elas, as isoflavonas têm crescido devido ao aumento da expectativa de vida em todo o mundo, especialmente maior longevidade feminina, e passagem destas pelo climatério^{2,29}. Assim, este estudo de revisão se fundamentou na busca de artigos que abordassem a utilização das isoflavonas no tratamento da sintomatologia característica do período climatérico, a fim de explorar formas para promoção da qualidade de vida das mulheres que são acometidas pelos sintomas dessa fase.

Os fitoestrógenos são compostos bioativos que apresentam afinidade seletiva com receptores estrogênicos, desempenhando função semelhante a este. Como moduladores de receptores, as isoflavonas são consideradas uma das principais classes que possuem esta característica, já que sua estrutura permite esta ligação nos receptores estrogênicos, possuindo afinidade marcante nos β -receptores, demonstrando características similares ao hormônio endógeno. As isoflavonas são geralmente utilizadas para o tratamento do climatério, principalmente por meio do uso de soja e seus produtos⁸. Ao consumir esses alimentos, as isoflavonas presentes são hidrolisadas no intestino por glicosidases intestinais, liberando as agliconas: daidzeína, genisteína e gliciteína, que são as formas biologicamente ativas, que irão atuar no organismo humano³⁰ e podem fornecer benefícios para a saúde óssea, doenças cardiovasculares e redução da incidência de patologias, como o câncer³¹.

Por meio da presente revisão pode-se verificar que dos 10 estudos (55,6%) que observaram efeitos positivos da administração de isoflavonas nos sintomas climatéricos, em comparação com um grupo placebo ou controle, as doses variaram entre 45 e 160 mg e o tempo de administração variou entre 12 a 24 semanas^{11-15,18,19,25,26,28}.

Quanto à forma de administração, observou-se que a literatura ainda é escassa na avaliação de intervenções com isoflavonas por meio de alimentos. No entanto, os 4 estudos analisados possuíam placebo ou controle para comparação, utilizaram doses e períodos de intervenção similares aos dos suplementos e/ou cápsulas e 3 deles (75%) apresentaram efeitos positivos (análise intergrupo ou redução significativa de sintomas apenas no grupo que recebeu intervenção com isoflavonas)^{25,26,28}. É importante salientar que a administração de isoflavonas por meio de alimentos constitui uma alternativa viável que poderia possibilitar o consumo de forma crônica desse composto bioativo, considerando-se que os efeitos positivos demonstrados pelos estudos foram observados por períodos superiores a três meses de administração de suplementos ou consumo de alimentos.

Os resultados positivos obtidos para os sintomas de ansiedade, depressão, distúrbios do sono, avaliados por meio de escalas ou equipamentos específicos, que afetam com frequência as mulheres na peri e pós-menopausa apontam para possibilidade de explorar os efeitos das isoflavonas em outros sintomas específicos do climatério.

Apesar do indicativo dos efeitos positivos das isoflavonas na sintomatologia climatérica demonstrados por mais da metade dos estudos avaliados, é importante destacar que a outra parcela importante não permitiu concluir da mesma forma. Esse retrato também foi observado para os sintomas vasomotores, que incluem as ondas de calor e os suores noturnos. Esses sintomas são os mais comuns do climatério e estão intimamente associados com o hipoestrogenismo e com mudanças dos mecanismos de termorregulação³². Alternativas para alívio destes são relevantes, pois afetam a qualidade de vida das mulheres e motivam a procura por atendimento médico nesse período³³.

Os diversos achados dos estudos com isoflavonas podem ser explicados pela heterogeneidade

das pesquisas, incluindo vários produtos de soja e ou tipos de isoflavonas, variedade de instrumentos para avaliar os sintomas, característica das participantes, incluindo individualidade do metabolismo das isoflavonas, frequência e gravidade das ondas de calor antes do período de intervenção, níveis hormonais, capacidade de conversão de daidzeína em S-Equol (um composto estruturalmente semelhante ao estrogênio) pela microbiota intestinal, além do efeito placebo^{27,33}.

No que diz respeito aos diferentes instrumentos de avaliação dos sintomas climatéricos que podem ser utilizados, cabe esclarecer que as manifestações clínicas que ocorrem no período do climatério formam um conjunto de sintomas, que pode ser caracterizado como “síndrome climatérica”. Embora estes sejam inespecíficos quando relacionados à deficiência estrogênica, quando analisados juntamente com outros fatores, como idade e sexo, eles são classificados como sintomas climatéricos. Para a mensuração de tais sintomas na prática clínica e de pesquisa em climatério, as escalas ou índices menopausais são largamente utilizados para avaliação dos sintomas do climatério e a efetividade da terapêutica de reposição hormonal, apesar de não serem isentos de limitações. O IK é um índice menopausal que contém informações compiladas e que caracterizam as várias manifestações clínicas, sejam elas somáticas ou psicológicas, e como trata-se de um relato do paciente, o próprio indivíduo possui melhor aptidão para descrever seus sentimentos e sintomas³⁴.

CONCLUSÃO

Após análise dos estudos incluídos na presente revisão, foi possível verificar que o uso de isoflavonas no tratamento da síndrome climatérica ainda não possui conclusão consensual, apesar dos indicativos de sua viabilidade na redução da sintomatologia das mulheres nessa fase da vida. Efeitos positivos nos sintomas globais e com destaque para sintomas vasomotores foram observados em mais da metade dos estudos avaliados, considerando as mulheres na pós-menopausa.

Cabe ressaltar a necessidade de mais estudos que explorem os efeitos do uso de isoflavonas inseridas na dieta das mulheres por meio de alimentos, uma vez que viabilizariam o consumo crônico desse composto bioativo. Ainda, outras variáveis precisam ser melhor exploradas nos estudos, como avaliação em mulheres nos diferentes períodos do climatério, especialmente na pré e perimenopausa, além da ampliação da avaliação dos efeitos das isoflavonas em outros tipos de sintomas climatéricos, que não apenas os globais ou vasomotores.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse

FINANCIAMENTO

Não declarado

AGRADECIMENTO

Não declarado

REFERÊNCIAS

1. Souza SS, Santos RL, Santos ADF, Barbosa MO, Lemos ICS, Machado MFAS. Mulher e climatério: concepções de usuárias de uma unidade básica de saúde. *Reprod Clim*. 2017;32(2):85-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2017.01.001>
2. Silva HCS, Prata JN, Rezende LMS. Efeitos das isoflavonas de soja sobre os sintomas climatéricos. *Cient Ciênc Biol Saúde*. 2013;15(3):239-44. Disponível em: <https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/687>

3. Bień A, Rzońca E, Iwanowicz-Palus G, Pańczyk-Szeptuch M. The influence of climacteric symptoms on women's lives and activities. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(4):3835-46.
<https://doi.org/10.3390/ijerph120403835>
4. Oliveira PC, Cerqueira EMM, Meireles JRC. Avaliação de danos genéticos e apoptose em mulheres menopausadas que fazem uso da terapia de reposição hormonal. *Reprod Clim*. 2016;31(3):163-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2016.08.005>
5. Souto NF, Moreira CB, Barros PAS, Fernandes AFC, Santos MCL. Hormone replacement therapy in menopause as a risk factor for developing breast cancer. *J res.: fundam care. Online*. 2014;6(3):1302-12.
<http://dx.doi.org/10.9789/2175-5361.2014v6n3p1302>
6. Colli MC, Bracht A, Soares AA, Oliveira AL, Bôer, CG, Souza CGM et al. Evaluation of the efficacy of flaxseed meal and flaxseed extract in reducing menopausal symptoms. *J Med Food*. 2012;15(9):840-5.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0228>
7. Liu ZM, Ho CS, Chen YM, Woo J. Can soy intake affect serum uric acid level? Pooled analysis from two 6-month randomized controlled trials among Chinese postmenopausal women with pre diabetes or prehypertension. *Eur J Nutr*. 2015;54(1):51-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00394-014-0684-1>
8. Bedell S, Nachtigall M, Naftolin F. The pros and cons of plant estrogens for menopause. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;139:225-36.
<http://doi.org/10.13037/rbcs.vol14n49.3545>
9. Guerra TRB, Boaventura GT. Consumo de fitoestrógeno linhaça e níveis lipídicos na menopausa: o que há de evidência? *Rev Aten Saúde*. 2016;14(49):92-7. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/publication/312343518>
10. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. Brasília (DF): Editora do Ministério da Saúde, 2012. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_elaboracao_sistemica.pdf
11. Ferrari A. Soy extract phytoestrogens with high dose of isoflavones for menopausal symptoms. *J Obstet Gynaecol Res*. 2009;35(6):1083-90.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1447-0756.2009.01058.x>
12. Lipovac M, Chedraui P, Gruenhut C, Gocan A, Stammer M, Imhof M. Improvement of postmenopausal depressive and anxiety symptoms after treatment with isoflavones derived from red clover extracts. *Maturitas*. 2010;65:258-61.
<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2009.10.014>
13. Hachul H, Brandão LC, D'Almeida V, Bittencourt LRA, Baracat EC, Tufik S. Isoflavones decrease insomnia in postmenopause. *Menopause*. 2011;18(2):178-84.
<https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3181ecf9b9>
14. Lipovac M, Chedraui P, Gruenhut C, Gocan A, Kurz C, Neuber B et al. The effect of red clover isoflavone

supplementation over vasomotor and menopausal symptoms in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(3):203-7.

<http://dx.doi.org/10.3109/09513590.2011.593671>

15. Ye YB, Wang ZL, Zhuo SY, Lu W, Liao HF, Verbruggen M et al. Soy germ isoflavones improve menopausal symptoms but have no effect on blood lipids in early postmenopausal Chinese women: a randomized placebo-controlled trial. *Menopause*. 2012;19(7):791-8.

<http://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e31823dbeda>

16. Amato P, Young RL, Steinberg FM, Murray MJ, Lewis RD, Cramer MA et al. Effect of soy isoflavone supplementation on menopausal quality of life. *Menopause*. 2013;20(4):443-7.

<http://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e318275025e>

17. Malik S, Pannu D, Prateek S, Sinha R, Gaikwad H. Comparison of the symptomatic response in Indian menopausal women with different estrogen preparations for the treatment of menopausal symptoms: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(6):1325-33.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00404-016-4034-9>

18. Carmignani LO, Pedro AO, Costa-Paiva LH, Pinto-Neto AM. The effect of dietary soy supplementation compared to estrogen and placebo on menopausal symptoms: a randomized controlled trial. *Maturitas*. 2010;67(3):262-9.

<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.07.007>

19. Battaglia C, Cianciosi A, Mancini F, Fabbri R, Busacchi P, Nappi RE et al. Genistein supplements might not induce clitoral modifications in postmenopausal women: a prospective, pilot study. *J Sex Medic*. 2009;6(11):3132-8.

<https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2009.01427.x>

20. Jenks BH, Iwashita S, Nakagawa Y, Ragland K, Lee J, Carson WH et al. A pilot study on the effects of S-Equol compared to soy isoflavones on menopausal hot flash frequency. *J Womens Health*. 2012;21(6):674-82.

<http://dx.doi.org/10.1089/jwh.2011.3153>

21. Yang TS, Wang SY, Yang YC, Su CH, Lee FK, Chen SC et al. Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2012;51(2):229-35.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tjog.2012.04.011>

22. Palma F, Fontanesi F, Facchinetti F, Cagnacci A. Acupuncture or phy (F) toestrogens vs. (E) strogen plus progestin on menopausal symptoms. A randomized study. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(11):995-8.

<https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1621835>

23. Chedraui P, San Miguel G, Schwager G. The effect of soy-derived isoflavones over hot flushes, menopausal symptoms and mood in climacteric women with increased body mass index. *Gynecol Endocrinol*. 2011;27(5):307-13.

<https://doi.org/10.3109/09513590.2010.490614>

24. Palacios S, Lilue M, Mejia A, Menendez C. Omega-3 versus isoflavones in the control of vasomotor symptoms in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33(12):951-7.

<https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1332588>

25. Husain D, Khanna K, Puri S, Haghighizadeh M. Supplementation of soy isoflavones improved sex hormones, blood pressure, and postmenopausal symptoms. *J Am Coll Nutr*. 2015;34(1):42-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2013.875434>
26. Basaria S, Wisniewski A, Dupree K, Bruno T, Song M, Yao F et al. Effect of high-dose isoflavones on cognition, quality of life, androgens, and lipoprotein in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest*. 2009;32(2):150-5.
<https://doi.org/10.1007/BF03345705>
27. Liu ZM, Ho SC, Woo J, Chen YM, Wong C. Randomized controlled trial of whole soy and isoflavone daidzein on menopausal symptoms in equol-producing Chinese postmenopausal women. *Menopause*. 2014;21(6):653-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/gme.000000000000102>
28. Tranche S, Brotons C, Pisa BP, Macías R, Hevia E, Marzo-Castillejo M. Impact of a soy drink on climacteric symptoms: an open-label, crossover, randomized clinical trial. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(6):477-82.
<http://dx.doi.org/10.3109/09513590.2015.1132305>
29. Santos TR, Pereira SVM, Santos RL. Intensity of climacteric symptoms in postmenopausal women. *Rev Rene*. 2016;17(2):225-32.
<http://dx.doi.org/10.15253/2175-6783.2016000200010>
30. Souza VA, Nakamura CV, Corrêa AG. Atividade antichásica de lignanas e neolignanas. *Rev Virtual Quim*. 2012;4(3):197-207.
<http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120017>
31. Zakir MM, Freitas IR. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. *J Bioen Food Sci*. 2015;2(3):107-16. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/publication/282893057>
32. ACOG Practice Bulletin No. 141: management of menopausal symptoms. *Obstet Gynecol*. 2014;123(1):202-16.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.AOG.0000441353.20693.78>
33. Chen LR, Ko NY, Chen KH. Isoflavone supplements for menopausal women: a systematic review. *Nutrients*. 2019;11(11):2649.
<https://dx.doi.org/10.3390/nu11112649>
34. Sousa RLD, Sousa ESS, Silva JCB, Filizola RG. Fidedignidade do Teste-Retestes na Aplicação do Índice Menopausal de Blatt e Kupperman. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2000;22(8):481-7.
<https://doi.org/10.1590/S0100-72032000000800003>





Study of the scientific production of the antibacterial activity of the chemical compounds of the essential oil of *Lippia sidoides*

Estudo da produção científica da atividade antibacteriana dos componentes químicos do óleo essencial de *Lippia sidoides*

Ana Lúcia PENTEADO 

Laboratório de Microbiologia Ambiental, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Jaguariúna, SP, Brasil.

ABSTRACT

Lippia sidoides Cham. has widespread use in folk medicine because its essential oil (EO) presents great antibacterial properties. In Brazil, this plant has been introduced in governmental programs for herbal medicine, due to its recognized therapeutic activities. This promoted greater interest in the search for new molecules with antimicrobial activity in this EO which have been described by several authors. Thus, this work aimed to present a study of the scientific production of antibacterial activity of the chemical compounds from *L. sidoides* essential oil (LSEO). The inclusion criteria were articles which assessed the chemical components and antibacterial activity through the inhibition diameter, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimal Bactericidal Concentration (MBC), published between 2000 and 2020. Of the 996 studies identified, 55 met the inclusion criteria. In descending order, the most frequently detected chemical components found in LSEO were: thymol, *p*-cymene, and caryophyllene. Regarding to the origin, the results showed that the extraction of EO were carried out mainly in the Northeast (55.5%) and Southeast (19%) regions of Brazil; and the part of the plant most used for the production were the leaves. In addition, the essential oil showed strong antibacterial activity against most of the bacteria tested.

Keywords. Essential Oil, *Lippia sidoides*, Antimicrobial Agent, Microbial Sensitivity Tests.

RESUMO

Lippia sidoides Cham. é amplamente utilizada na medicina popular devido às propriedades antibacterianas atribuídas ao seu óleo essencial (OE). No Brasil, esta planta tem sido introduzida em programas governamentais de fitoterapia, por causa de suas atividades terapêuticas. Isso promoveu um maior interesse na busca por novas moléculas com atividade antimicrobiana presentes neste óleo, as quais foram relatadas por diversos autores. Assim, este trabalho objetivou apresentar um estudo da produção científica da atividade antibacteriana dos compostos químicos do OE da *L. sidoides*. Para tanto, foram utilizados artigos que abordaram os componentes químicos e atividade antibacteriana por meio de dados de diâmetro de inibição, Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), publicados entre 2000 e 2020. De um total de 996 estudos identificados, 55 preencheram os critérios de inclusão. Em ordem decrescente, os componentes químicos mais comumente encontrados no OE da *L. sidoides* foram: timol, *p*-cimeno e cariofileno. Com relação à origem, os resultados mostraram que a extração do OE foi realizada principalmente nas regiões Nordeste (55,5%) e Sudeste (19%) do Brasil; e a parte da planta mais utilizada para a produção foram as folhas. Além disso, o OE apresentou uma forte atividade antibacteriana contra a maioria das bactérias testadas.

Palavras-chave. Óleo Essencial, *Lippia sidoides*, Agente Antimicrobiano, Testes de Sensibilidade Microbiana.

*Corresponding author/Autor de correspondência: analucia.penteado@embrapa.br

Received/Recebido: 01.04.2021 - Accepted/Aceito: 25.10.2021

INTRODUCTION

Essential Oils (EOs) are volatile, natural complex compounds characterized by a strong odor. They are liquid, limpid, rarely coloured and soluble in lipid and organic solvents with a generally lower density than that of water¹. They can be synthesized as secondary metabolites by all plant organs, i.e., buds, flowers, leaves, stems, twigs, seeds, fruits, roots, wood, or bark; and are stored in secretory cells, cavities, canals, epidermic cells, or glandular trichomes¹. These aromatic plants generally grow in warm temperate countries, such as Mediterranean and tropical countries, where they represent an important part of the traditional pharmacopeia¹.

Secondary metabolites are responsible for the synthesis of numerous bioactive substances, protect against insects, pathogens and limit the growth of other plants species². EOs contain a multitude of bioactive substances, including alkaloids, cyanogenic glycosides, glucosinolates, lipids, phenolics, terpenes, polyacetylenes, and polythienyls², and are usually obtained by steam or hydrodistillation, which was first developed in the Middle Ages by the Arabs¹. Known for their antiseptic, i.e., bactericidal, virucidal, fungicidal, medicinal properties and also for their fragrance, they have been used in embalmment, preservation of foods; and as antimicrobial, analgesic, sedative, anti-inflammatory, spasmolytic, and anaesthetic agent in medicine¹. This have not changed much over the years, but more has been discovered about some of their mechanisms of action, particularly at the antimicrobial level¹.

The genus *Lippia* is composed of approximately 200 species of herbs, shrubs, and small trees belonging to the family Verbenaceae that are distributed throughout Africa, South and Central America^{3,4}. *L. gracillis* H.B.K., *L. sidoides* Cham., *L. alba* Mill N.E. Brown, *L. mycrophylla* Cham., *L. gravelous*, *L. alnifolia*, *L. aristata*, *L. grata*, *L. triphylla*, *L. thymoides*, *L. citriodora*, *L. adoensise*, and *L. schimperi* are important species of this genus³.

L. sidoides belongs to the division Magnoliophyta (flowering plants), class Magnoliopsida (Dicotyledoneae), and is commonly known as pepper-rosmarin, “alecrim-pimenta”, “alecrim-grande”, “alecrim-bravo”, “alecrim-do-nordeste”, and “estrepá cavalo” and was first found in North-Eastern Brazil, where it is extensively used in traditional medicine. It is an aromatic plant typically found in regions with a semiarid climate, such as the Northern part of Minas Gerais state and the Brazilian Northeast, especially in the states of Ceará and Rio Grande do Norte^{3,5}. Its EO was first characterized by researchers from the Federal University of Ceará, who collected samples of this plant in Jucuri city (Rio Grande do Norte state) in August 1977³. Many studies have been done with the *L. sidoides* Essential Oil (LSEO), which has a high content of isomeric compounds, such as thymol and carvacrol³. *L. sidoides* extracts, particularly the EO extracted from its aerial parts, have shown many biological activities such as antioxidant, larvicidal, molluscicidal, antifungal, antibacterial, and insecticidal properties³.

This plant is used in Brazilian folk medicine⁶ and widely used in the social medicine program named “Live Pharmacies”, a social phytotherapy program, created by Professor Matos, a pharmacognosist from the Federal University of Ceará State, Brazil⁴. This program is run by the municipal governments of country towns to help poor people with phytotherapy and is performed with local plants that are inexpensive but very effective⁴. As an antiseptic, due to its strong action against many microorganisms⁴, the plant extract or its oil is usually applied topically to the skin, mucous membranes, mouth, and throat or used for vaginal washings and its therapeutic effects are attributed to the presence of thymol^{4,6,7}.

Because of the commercialization of the LSEO, there has been an increased interest in the cultivation

of this species⁸. However, factors such as climate and environment, harvest season, and time, post-harvest processing, developmental stage, and plant age that influence the chemical composition and the yield of the EO need to be studied⁸.

Variations in the chemical composition of the LSEO occur due to different extraction methods and may also be influenced by abiotic. Therefore, the objective of this study was to locate published studies on the main chemical compounds of the LSEO, with antibacterial activity, in the last 20 years.

METHODOLOGY

For the present article, an electronic search for articles on antibacterial activity and chemical components of the LSEO were carried out in the databases Web of Science, Science Direct, Scopus, Medline and Lilacs. The search was conducted from April 2000 to June 2020.

The search strategy was to group the descriptors as follows: *Lippia sidoides*, antibacterial, antimicrobial, essential oil, chromatography, chemical composition, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and Inhibition Zone Diameter. A total of nine different combinations were used: 1) *Lippia sidoides* AND antibacterial, 2) *Lippia sidoides* AND antimicrobial, 3) *Lippia sidoides* AND essential oil AND chromatography, 4) *Lippia sidoides* AND essential oil AND chemical composition, 5) *Lippia sidoides* AND antibacterial AND essential oil, 6) *Lippia sidoides* AND antimicrobial AND essential oil, 7) *Lippia sidoides* AND essential oil AND Minimum Inhibitory Concentration, 8) *Lippia sidoides* AND essential oil AND Inhibition Zone Diameter, 9) *Lippia sidoides* AND essential oil AND Minimum Bactericidal Concentration.

Inclusion criteria included any study with antibacterial activity and chemical constitution of the LSEO.

The exclusion criteria included studies that: 1) used oil dilutions for the disc diffusion tests to determine antibacterial activity; 2) tested the antimicrobial effects of components in their volatile form; 3) used the extraction and analysis of the chemical composition data, which was published in other studies; 4) analysed only certain components of the EO; 5) did not specify the amount (%) of each component found in the EO; 6) showed the result of only the main component of EO; 7) did not present any of the keywords; 8) did not have the full-text available; 9) did not describe the chemical composition; 10) were published as dissertations, thesis, books or conference papers; and 11) analysed only a chemical fraction of the EO.

To standardize the susceptibility patterns of microorganisms against the LSEO, for antimicrobial studies, MIC range was used as a parameter to determine the intensity of antibacterial activity as mentioned by Freires et al⁹.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 996 articles were retrieved from the five consulted databases for a preliminary review, through search strategy with the appropriate terms.

The majority of articles containing the combination of descriptors were found in Science Direct (52%), following by Web of Science/Scopus (18%), Medline (9%), and Lilacs (4.7%).

After the removal of articles according to the exclusion criteria, 55 articles underwent a full-text review for the antibacterial activity and chemical composition of the LSEO.

The distribution of the remaining 55 articles for each database alone or in combination is shown in **Figure**.

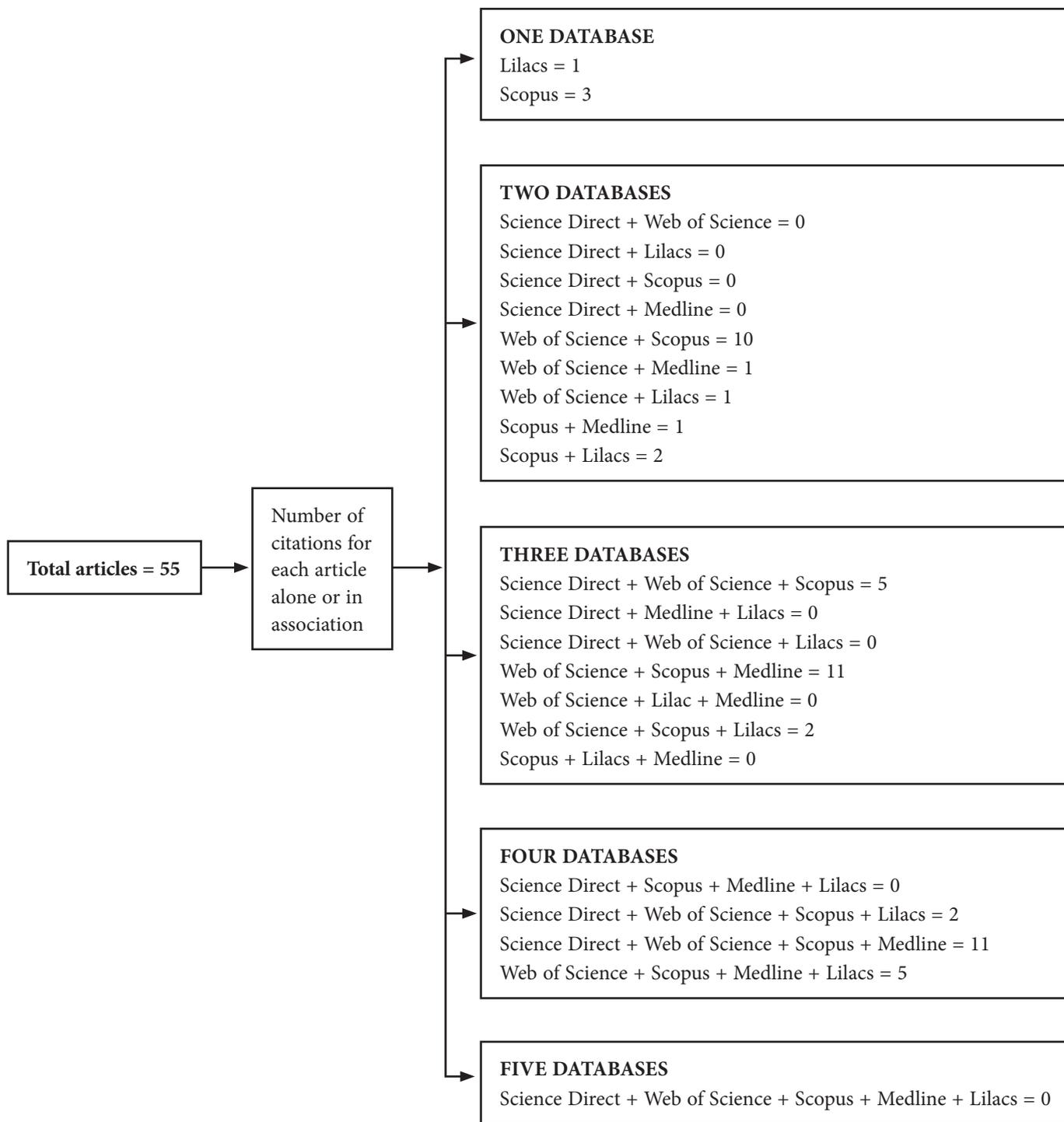


Figure. Distribution of articles for chemical composition and antibacterial activity of *L. sidoides* essential oil for each database alone or in combination

As shown in **Table 1**, for antibacterial activity, the search resulted in 11 articles, of which, only three performed the disk diffusion test. The Broth Microdilution Method (BMM) with the results expressed as MIC and defined as the lowest concentration at which no growth is observed, was the most performed test. Two studies performed only the Agar Plating Technique (APT) for the determination of the MBC, defined as the lowest concentration without bacterial growth assay, and six performed both BMM and APT with

the results expressed as MIC and MBC. Two studies were performed with the disk diffusion test, BMM and APT assays; and only one study performed both the disk diffusion test and BMM assay, recent literature has shown that the disc diffusion method is no longer a commonly used antimicrobial method to determine the antimicrobial activity of medicinal plants, and when used, it is usually complemented by the MIC assay¹⁰. The most frequently used method for antimicrobial screening according to the 2008 review, was the MIC assay.

Table 1. Antibacterial activity of essential oil of *L. sidoides*

Local and part of the plant used	Microorganism	Volume oil per disk** inhibition zone (mm)	MIC	MBC	MIC Score ^{9***} (ug/mL)	Reference
Manaus, Amazonas (dried leaves and inflorescences)	<i>A. hydrophila</i>	Not done	1.250 ug/mL	1.250 ug/mL	+***	Majolo et al ¹¹
Fortaleza, Ceará (leaves)		10 uL				Botelho et al ¹²
	<i>S. mutans</i>	18.7	5.000 ug/mL	20.000 ug/mL	-	
	<i>Streptococcus miti</i>	10.0	10.000 ug/mL	40.000 ug/mL	-	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	8.5	10.000 ug/mL	40.000 ug/mL	-	
	<i>Strep sanguis</i>	12.0	10.000 ug/mL	40.000 ug/mL	-	
Montes Claros, Minas Gerais (NMPPU*)		20 uL				Castro et al ¹³
	<i>S. aureus</i>	26.0	13 uL/mL	25 uL/mL	Not applicable****	
	<i>E. coli</i>	23.0	13 uL/mL	25 uL/mL		
Campinas, São Paulo (fresh leaves)	<i>Streptococcus mutans</i>	Not done	62.5-125 ug/mL	125-250 ug/mL	++++ to +++	Galvão et al ¹⁴
João Pessoa, Paraíba (NMPPU*)	<i>S. aureus</i> (12 strains)	20 uL 15.0-21.0	0.4 uL/mL all the strains	Not done	Not applicable	Oliveira et al ¹⁵
Crato, Ceará (fresh leaves)	<i>S. aureus</i>		128 ug/mL		+++	Veras et al ¹⁶
	<i>Streptococcus mutans</i>		256 ug/mL		+++	
	<i>Enterococcus faecalis</i>		512 ug/mL		++	
	<i>Escherichia coli</i>		512 ug/mL		++	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Not done	256 ug/mL	Not done	+++	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		256 ug/mL		+++	
	<i>Pseudomon aeruginosa</i>		512 ug/mL		++	
<i>Providencia retinerai</i>		256 ug/mL		+++		
Manaus, Amazonas (dried leaves and inflorescences or rhizomes)	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Not done	312.5 ug/mL	416.7 ug/mL	+++	Majolo et al ¹⁷

MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC (Minimal Bactericidal Concentration)

* NMPPU = Not Mention the Part of the Plant Used

** Disks with 6 mm diameter

*** + weak activity; ++ moderate activity; +++ strong activity; ++++ very strong activity and - no activity

**** Not applicable: measures different from those used in the reference

Continues on the next page

Continuation

Local and part of the plant used	Microorganism	Volume oil per disk** inhibition zone (mm)	MIC	MBC	MIC Score ^{9***} (ug/mL)	Reference
Campinas, São Paulo (leaves and branches)	Two <i>S. aureus</i> strains (S8 and S10)	Not done	Not done	0.025% v/v for S8 0.050% for S10	Not applicable	Vázquez et al ¹⁸
Campinas, São Paulo (leaves and branches)	Two <i>L. monocytogenes</i> strains (L2 and L8)	Not done	Not done	v/v = 0.1% for L2 and 0.5% for L8)	Not applicable	Vázquez et al ¹⁹
Hidrolândia, Goiás (dried leaves)	<i>Bacillus cereus</i>	Not done	1.000 ug/mL	Not done	++	Morais et al ⁶
	<i>B. subtilis</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>Micrococcus roses</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>M. luteis</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>Staphylococcus epidermis</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>P. aeruginosa</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>Salmonellaspp</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>Serratiamarcenscens</i>		1.000 ug/mL		++	
	<i>S. aureus</i>		500 ug/mL		+++	
	<i>S. aureus</i>		500 ug/mL		+++	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>		2.000 ug/mL		+	
	<i>E. cloacae</i>		2.000 ug/mL		+	
	<i>E. coli</i>		2.000 ug/mL		+	
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	2.000 ug/mL	+				
Campinas, São Paulo (fresh leaves)	<i>Streptococcus sanguis</i>	Not done	125 ug/mL	500 ug/mL	+++	Bersan et al ²⁰
	<i>Streptococcus mitis</i>		250 ug/mL	>1.000 ug/mL	+++	
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>		250 ug/mL	250 ug/mL	+++	
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>		125 ug/mL	125 ug/mL	+++	

MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC (Minimal Bactericidal Concentration)

* NMPPU = Not Mention the Part of the Plant Used

** Disks with 6 mm diameter

*** + weak activity; ++ moderate activity; +++ strong activity; ++++ very strong activity and - no activity

**** Not applicable: measures different from those used in the reference

One aspect of antimicrobial analysis from the natural product which is generally lacking is the reporting of the MBC. It consists in a simple addition to the MIC assay but yields information that demonstrates the killing effect rather than just the inhibitory effects¹⁰.

It has been well established that the chemistry of the plant has an impact on the antimicrobial activity, and as the chemistry may vary from season to season; as well as between geographical populations, the antimicrobial effects may also vary¹⁰.

According to the results, most studies evaluated the effect of the LSEO against *Staphylococcus aureus*. Most of the LSEOs showed a strong antibacterial activity as described by Freires et al⁹. Only one demonstrated no activity and negative MIC score. Four studies were excluded because the MIC was not evaluated or the concentration of the was in a different unit (uL/mL) than that specified by Freires et al⁹ (ug/mL). The plants originated from the North, Northeast, and Southeast of Brazil.

Articles describing the antimicrobial activity of LSEO were found more often in the Web of Science and Scopus databases (n = 9) than Medline (n = 5), Lilacs (n = 3), and Science Direct (n = 3).

All these studies were published in Brazilian scientific journals and most of them were originated from the state of Ceará (n = 19), followed by São Paulo (n = 9) and Sergipe (n = 8).

The Federal University of Sergipe-SE was the one that published the most articles (n = 8), followed by the State University of Ceará-CE (n = 7), the Federal University of Ceará Fortaleza-CE (n = 5) and the Regional University Cariri Crato-CE (n = 5).

Chemical composition of LSEO

Several constituents can be obtained from leaves or others parts of *L. sidoides*, including: α -Thujene, α -Pinene, β -Pinene, 2- β -Pinene, Mircene, β -Mircene, α -Terpinene, γ -Terpinene, *p*-Cymene, *o*-Cymene, Limonene, (E)- β -Ocimone, Thymol methyl ether, Thymol, Methyl thymol, α -Copaene, δ -Cadinene, Ar-curcumene, (E)-Caryophyllene, α -Caryophyllene, Caryophyllene oxide, β -Caryophyllene, Aromadendrene, α -Humuleno, Ipsdienol, Umbelulone, α -Terpineol, Sylvestrene, Deidro-aromadendreno, α -Felasadreno, Carvacrol, Carvacrol-methyl ether, Ether ethyl carvacrol, Ethyl-methyl-carvacrol, Methyl carvacrol, δ -(3)-Carene, Cis-thujopsene, α -Himachalene, Terpinen-4-ol, α -Copaene, 1,8-Cineole, α -Selinene, β -Selinene, Sabinene, Cis-sabinene hydrate, Camphor, Borneol, Isoborneol, Bornyl acetate, α -Cedrene, Artemisia triene, Cis-calamenene, Zierone, Rosifoliol, Cytronellyl pentanoate, Alo-himachalol, Octen-3-ol, β -Elemene, γ -Elemene, *Trans*- β -caryophyllene, Iso-caryophyllene, Cyclohexanone, Camphene, α -Fenchene, Eucalyptol, Thyone, Benzene, Anisole, carvone, Iedene, Verbene, *P*-menth-2,4(8)-diene, α -Guaiene, Germacrene a, Tricyclene, 3-Octanone, α -Phelandrene, β -(Z)-ocimene, β -(E)-ocimene, Terpinolene, β -(Z)-farnese, α -Terpineol, Neral, γ -Muuroleno, Amorfa-4,7-(11)-dieno, 7-Epi-alfa-selineno, Bicyclo [3.1.1]hept-2-ene, Bicyclo [3.1.0]hex-3-en-2-one, 2,6,6-Trimethyl, 1-Phellandrene, 1-Methyl-4-(1-methylethyl), Bornylene, 1,3,6-Octatriene, 3,7-Dimethyl-, (Z)-(CAS), 3,7-Dimethyl-, (E)-(CAS), Linalyl acetate, 2-(Chloromethyl) tetrahydropyran, 4-Methyl, 3-Cyclohexen-1-ol, 4-Methyl-1-(1-methylethyl), and Iedene^{6,21-25}.

According to Bakkali et al¹, EOs are complex natural mixtures that can contain 20–60 components at different concentrations and are characterized by the presence of two or three major components at higher concentrations (20–70%) compared to the other components present in trace amounts.

Among the selected studies, the main chemical-element in most cases was Thymol, and its concentration ranged from 6.0 to 84.95%, followed by *p*-Cymene (1.82–34.1%), γ -Terpinene (1.32–16.60%); Myrcene (1.1–6.5%), and Caryophyllene (0.19–30.20%), as shown in **Table 2**.

Table 2. Data of *L. sidoides* essential oil

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Crato, Ceará (fresh leaves)	Hydrodistillation	CG-MS/comparison the spectra with NIST/Wiley	Thymol (84.9%) <i>p</i> -Cymene (5.33%) Ethyl-methyl-carvacrol (3.01%) 1,8-Cineole (1.68%) γ -Terpinene (1.32%)	Veras et al ⁷
Manaus, Amazonas (dried leaves and inflorescences)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra and retention indices with Wiley and literature data	Thymol (76.6%) <i>o</i> -Cymene (6.3%) β -Caryophyllene (5.0%) γ -Terpinene (2.0%) Myrcene (1.1%)	Carvalho et al ²⁶
Fortaleza, Ceará (leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra and retention indices with computer data	Thymol (56.67%) Carvacrol (16.73%) <i>p</i> -Cymene (7.13%) Thymol methyl ether (5.06%) Aromadendrene (2.79%)	Botelho et al ¹²

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Campinas, São Paulo (aerial fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of retention indices with data in the literature/NIST	Thymol (65.8%) <i>p</i> -Cymene (17.3%) <i>Trans</i> -caryophyllene (10.5%) Cyclohexanone (6.5%)	Galvão et al ¹⁴
Manaus, Amazonas (dried leaves and inflorescences or rhizomes)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of retention indices with Wiley and literature data	Thymol (76.6%) <i>p</i> -Cymene (6.3%) β -Caryophyllene (5.0%) γ -Terpinene (2.0%) Myrcene (1.1 %)	Majolo et al ¹⁷
Hidrolândia, Goiás (dried leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/use of digital libraries of mass spectral data and by comparison of their retention indices and authentic mass spectra, relative to C8–C32 n-alkane series in a temperature-programmed run	1,8-Cineole (26,67%) Isoborneol (14,60%) Bornyl acetate (10,77%) Camphene (6,19%) α -Humulene (5,66%)	Morais et al ²⁵
São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais (powdered leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra and retention indices to literature	Isoborneol (14.66%) Bornyl acetate (11.86%) α -Humulene (11.23%) α -Fenchene (9.32%) 1,8-Cineole (7.05%)	Morais et al ⁶
São Cristovão, Sergipe (dried leaves) (4 different types of <i>L. sidoides</i>)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra with NIST data library and retention indices (RI) to literature	Thymol (7.25-70.36%) Carvacrol (0.30-46.09%) <i>p</i> -Cymene (8.36-15.06%) β -Caryophyllene (0.19-8.81%)	Cavalcanti et al ²³
Itumirim, Minas Gerais (leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra and retention indices with Wiley and literature data	Carvacrol (26.44%) 1,8-Cineole (22.63%) <i>p</i> -Cymene (9.89%) γ -Terpinene (7.27%) Sabinene (3.57%)	Guimarães et al ²⁴
Fortaleza, Ceará (leaves and branches)	Steam distillation	GC-MS/performed by computer library search, retention indices and visual interpretation of the mass spectra	Thymol (80.8%) <i>p</i> -Cymene (8.6%) <i>Trans</i> -caryophyllene (5.1%) γ -Terpinene (1.6%) 1,8-Cineole (1.3%)	Cavalcanti et al ²²
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS comparison the spectra with Wiley electronic library and Kovats index (IK) with literature	Thymol (68,22%) <i>p</i> -Cymene (9.43%), <i>Trans</i> -caryophyllene (7.72%) β -Myrcene (2.84%) γ -Terpinene (2.71%)	Balдим et al ²¹
Campinas, São Paulo (leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparing of linear retention index (LRI) and spectra with literature, NIST or Wiley	Thymol (53.54%) <i>p</i> -Cymene (13.29%) β -Caryophyllene (7.16%) γ -Terpinene (6.75%) Thymol methyl ether (3.05%)	Vázquez et al ¹⁹

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Fortaleza, Ceará (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/not reported	Caryophyllene (30.2%) <i>p</i> -Cymene (28.7%) γ -Terpinene (9.8%) Eucalyptol (7.5%) Thymol (6.3%)	Mota et al ²⁷
Mossoró, Natal (dried leaves)	Steam distillation	GC-MS/comparison the mass spectrums with GC-MS system data bank and retention index with literature	Thymol (22.37%) 1,8-Cineole (18.69%) (E)- β -Ocimene (9.86%) α -Humulene (7.84%) Aromadendrene (5.35%)	Sousa et al ²⁸
Crato, Ceará (fresh leaves)	Hydrodistillation	LC-MS/comparison of MS with data bank and literature	Thymol (43.5%) α -Felandrene (22.4%) β -Caryophyllene (9.7%) <i>p</i> -Cymene (8.6%) Myrcene (6.5%)	Costa et al ²⁹
Horizonte, Ceará (leaves)	Steam distillation	GC-MS/comparison of spectra and retention indices with computer data library	Thymol (59.65%) E-Caryophyllene (10.60%) <i>p</i> -Cymene (9.08%) Myrcene (5.43%) γ -Terpinene (3.83%)	Fontenelle et al ³⁰
Commercial sample PRONAT – Natural Products (not specified)	Not specified	GC-MS/comparison of spectra and retention indices with computer data library	Thymol (59.65%) E-Caryophyllene (10.60%) <i>p</i> -Cymene (9.08%) Myrcene (5.43%) γ -Terpinene (3.83%)	Camurça et al ³¹
Fortaleza, Ceará (fresh leaves)	Steam distillation	GC-MS/by comparison with library data, retention indices	Thymol (66.67%) E-Caryophyllene* (β -Caryophyllene) (11.73%) <i>p</i> -Cymene (7.13%) γ -Terpinene (4.06%) Carvacrol (γ -Elemene*) (1.81%)	Girão et al ³² *Monteiro et al ⁴
Teresina, Piauí (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra with Willey library	Thymol (68.3%) <i>p</i> -Cymene (14.4%)	Oliveira et al ³³
Lavras, Minas Gerais (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the mass spectra with spectra library Wiley and the Kovats retention index to literature	Carvacrol (31.68%) <i>p</i> -Cymene (19.58%) 1,8-Cineole (9.26%) γ -Terpinene (9.21%) Sabinene (5.26%)	Lima et al ³⁴
Teresina, Piauí (fresh aerial parts)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the experimental gas chromatographic retention indices and mass spectrum with literature and Willey library	Thymol (78,37%) <i>p</i> -Cymene (6.32%) E-Caryophyllene (6.17%) (-) Caryophyllene oxide (1.68%) 1,8-Cineole (1.60%)	Medeiros et al ³⁵
Teresina, Piauí (not specified)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra obtained with the data bank (Willey) and the retention index (RI) to literature	Thymol (78.4%) E-Caryophyllene (6.2%) 1,8-Cineole (1.6%) Thymol methyl ether (1.4%) γ -Terpinene (1.1%)	Borges et al ³⁶

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Poço Redondo, Sergipe (dried and powdered leaves) <i>L. sidoides</i> LSD102	Hydrodistillation	CG-MS/comparison of the spectra to NIST data library and from the literature	<i>p</i> -Cymene (34.1%) γ -Terpinene (6.8%) Methyl thymol (9.4%) Thymol (38.7%) Myrcene (3.3%)	Farias et al ³⁷
Poço Redondo, Sergipe (dried and powdered leaves) <i>L. sidoides</i> LSD104	Hydrodistillation	CG-MS/comparison the spectra to NIST data library and from the literature	<i>p</i> -Cymene (17.8%) γ -Terpinene (16.6%) Methyl thymol (4.1%) Carvacrol (43.7%) Thymol (6.0%)	Farias et al ³⁷
Fortaleza, Ceara (fresh leaves)	Hydrodistillation	CG-MS/comparison the spectra with the literature and NIST data base, as well the retention indices with literature	Thymol (67.60%) Carvacrol (6.3%) E-Caryophyllene (2.36%) 1,8-Cineole (2.35%) <i>p</i> -Cymene (1.82%)	Gomes et al ³⁸
Cariri, Ceará (fresh leaves)	Hydrodistillation	CG-MS/based on spectral fragmentation, using Wiley data library, plus: retention index and comparison with literature data	Thymol (84.90%) <i>p</i> -Cymene (5.33%) Carvacrol-methyl ether (3.01%) 1,8-Cineole (1.68%) γ -Terpinene (1.32%)	Marco et al ³⁹
Crato, Ceará (dry leaves)	Hydrodistillation	CG-MS/based on spectral fragmentation, using Wiley data library, retention indices and comparison with literature data	Thymol (84.87%) <i>p</i> -Cymene (5.33%) Thymol methyl ether (3.01%) Limonene (1.68%) α -Terpinene (1,32%)	Mota et al ⁴⁰
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS/comparison of retention indices and mass spectra to a database from literature	Thymol (59.65%) β -Caryophyllene (10.60%) Cymene (9.08%)	Rondon et al ⁴¹
São Cristóvão, Sergipe (dried leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of their spectra, retention rates and NIST with literature	Thymol (42.33%) <i>p</i> -Cymene (11.97%) β -Caryophyllene (11.03%) Methyl thymol (9.35%) γ -Terpinene (5.44%)	Carvalho et al ⁴²
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS/comparison of the spectra with computer data and retention indices	Thymol (83.24%) <i>Trans</i> -Caryophyllene (5.77%) <i>p</i> -Cymene (4.46%) Caryophyllene oxide (4.07%) β -Myrcene (1.69%)	Lima et al ⁴³
Montes Claros, Minas Gerais (fresh leaves)	Steam distillation	CG-MS/comparison of the spectra with Wiley, literature and injection of standard substances and indice Kovats	Thymol (30.24%) Benzene (14.49%) <i>Trans</i> - β -caryophyllene (11.82%) Borneol (11.38%) γ -Terpinene (8.05%)	Aquino et al ⁴⁴

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Commercial sample (not specified)	Steam distillation	GC-MS/comparison of mass spectra with literature and NIST, and retention indices with literature	Thymol (69.91%) o-Cymene (14.84%) E-Caryophyllene (4.04%) Myrcene (3.57%) Thymol methyl ether (0.84%)	Gomes et al ⁴⁵
Commercial sample (leaves)	Steam distillation	GC-MS/based on the information of analytic methods, and comparison of the data with NMR 1 H of the oil	Thymol (69.91%) o-Cymene (14.84%) E-Caryophyllene (4.04%) Myrcene (3.57%) Thymol methyl ether (0.84%)	Monteiro et al ⁵
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS/performed by computer-based library search, retention indices and visual interpretation of the spectra	Thymol (70.97%) Caryophyllene (8.30%) p-Cymene (7.51%) Myrcene (2.12%) Caryophyllene oxide (1.59%)	Oliveira et al ⁴⁶
Campinas, São Paulo (leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of Kovats Indexes/ spectra with literature, NIST and Willey	Thymol (49.46%) Cymene (11.40%) Iso-caryophyllene (8.80%) γ-Terpinene (8.06%) Anisole (4.08%)	Zillo et al ⁴⁷
Campinas, São Paulo (fresh parts)	Hydrodistillation	GC and GC-MS/comparison of retention indices with reference data, and spectra with NIST	Thymol (65.76%) p-Cymene (17.28%) α-Caryophyllene (10.46%) Cyclohexanone (6.50%)	Bersan et al ²⁰
Crato, Ceará (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra with NIST, retention indices and literature	Thymol (84.95%) p-Cymene (5.33%) Éter metil carvacrol (3.01%) 1,8-Cineole (1.68%) α-Terpinene (1.31%)	Brito et al ⁴⁸
Fortaleza, Ceará (dried leaves)	Steam distillation	GC-MS not reported	Thymol/Carvacrol (93.36%) Caryophyllene (3.59%) Benzene (2.07%) Cycloheptatriene (0.98%)	Lobo et al ⁴⁹
Manaus, Amazonas (dry leaves and inflorescences)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of the spectra and retention indices with Wiley and literature	Thymol (64.5%)* p-Cymene (11.7%)* (E)-Beta-Caryophyllene (4.9%) Carvone (4.6%) γ-Terpinene (3.6%)	*Chagas et al ⁵⁰ and Soares et al ⁵¹
Commercial sample (leaves)	Not specified	GC-MS comparison of retention indices and spectra with literature	Thymol (68.45%) p-Cymene (10.66%) E-Caryophyllene (7.28%) Myrcene (2.58%) γ-Terpinene (2.12%)	Oliveira et al ⁵²

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS and GC-FID/ comparison of retention index with literature and spectra with Wiley/NIST	Thymol (76,3%) <i>p</i> -Cymene (10.0%) β -Caryophyllene (6.80%) Myrcene (2.09%) γ -Terpinene (1.39%)	Santos et al ⁵³
Fortaleza, Ceará (leaves)	Hydrodistillation	GC-MS and GC-FID/not reported	Thymol (77.8%) <i>p</i> -Cymene (5.6%) β -Caryophyllene (5.41%)	Pinto et al ⁵⁴
São Cristóvão, Sergipe (dry leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of retention indices with literature	Thymol (44.55%) <i>p</i> -Cymene (25.21%) Thymol methyl ether (16.87%) Thymol acetate (4.97%) Myrcene (3.35%)	Bacci et al ⁵⁵
Araxá, Minas Gerais (dried aerial parts)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra with NIST data library and retention index with literature data	Thymol (68.40%) <i>p</i> -Cymene (8.72%) β -Caryophyllene (5.90%) Caryophyllene oxide (2.55%) Eucalyptol (1.46%)	Silva et al ⁵⁶
Jardinópolis, São Paulo (dried aerial parts)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra with NIST data library, and retention index with literature	Carvacrol (67.89%) <i>p</i> -Cymene (21.76%) β -Caryophyllene (3.90%) Caryophyllene oxide (1.68%) Ipsdienol (0.90%)	Silva et al ⁵⁶
Juiz de Fora, Minas Gerais (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison of retention times with a standard n-alkanes solution, and the literature	Thymol (38.42%) <i>o</i> -Cymene (30.08%)	Gomide et al ⁵⁷
São Cristóvão, Sergipe (dried leaves)	Hydrodistillation	GC-MS comparison of the spectra with NIST and literature, and retention indices with literature	Thymol (44.55%) <i>p</i> -Cymene (25.25%) Methyl thymol ether (16.87%)	Lima et al ⁵⁸
Juiz de Fora, Minas Gerais (fresh leaves)	Hydrodistillation	GC-MS comparison of retention indexes (RI) with literature	Thymol (63.20%) <i>o</i> -Cymene (10.89%) α -Humulene (5.06%) γ -Terpinene (4.61%) Thymol methyl ether (3.82%)	Gomide et al ⁵⁹
Not specified	Steam distillation	GC-MS/comparison of the spectra with literature/NIST data library, and retention indices with literature	Thymol (69.91%) <i>o</i> -Cymene (14.84%) E-Caryophyllene (4.04%) Myrcene (3.57%) Thymol methyl ether (0.84%)	Figueiredo et al ⁶⁰
Poço Redondo, Sergipe (dried and powdered leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra with NIST/Wiley	Carvacrol (43.7%) <i>p</i> -Cymene (17.8%) γ -Terpinene (16.6%) Thymol (6.0%) Methyl thymol (4.1%)	Santos et al ⁶¹

Continues on the next page

Continuation

Origin (part of the plant used)	Extraction method	Separation/identification method	Compounds	Reference
Manaus, Amazonas (dried leaves)	Hydrodistillation	GC-MS/comparison the spectra with Wiley and retention index with literature data	Thymol (72.2%) <i>p</i> -Cymene (8.15%) E-Caryophyllene (4.9%) γ -Terpinene (2.23%) Myrcene (1.49%)	Brasil et al ⁶²
Teresina, Piauí (dried leaves)	Steam distillation	CG-MS/comparison of the elution orders with literature	Thymol (33.52%) <i>Trans</i> -Caryophyllene (17.47%) <i>p</i> -Cymene (13.07%) γ -Terpinene (4.34%) Caryophyllene oxide (3.71%)	Dias et al ⁶³
Commercial sample (not specified)	Not specified	GC-MS/comparison of the spectra and Kovats indices with literature and Wiley data library	Thymol (71.8%) <i>o</i> -Cymene (9.8%) Caryophyllene oxide (5.4%) β -Myrcene (4.1%) γ -Terpinene (2.4%)	Fernandes et al ⁶⁴
Differents locals* (dried leaves of several <i>L. sidoides</i> genotypes)	Hydrodistillation	CG-MS/comparison of the spectra with NIST and Wiley, and retention index with literature	Several compounds*	Santos et al ⁸

*Annex 1

Annex 1.

Origin/genotype	Compounds (%)																			
	year old plants																			
	Thymol		<i>p</i> -Cymene		(E) Caryophyllene		Caryophyllene oxide		Myrcene		γ -Terpinene		α -Terpinene		Thymol-methyl-ether		Carvacrol		Terpine-4-ol	
	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8	2	8
Mossoró, RGN* LSID002	77.95	69.33	7.24	5.07	4.74	7.92	1.19	1.93	0.85	0.57	0.69	1.58	0.51	0.49	0.65	1.39	0.30	2.04	0.74	1.76
Mossoró, RGN* LSID003	79.30	72.29	8.44	5.54	5.23	7.55	1.13	2.21	0.83	0.78	0.63	2.07	0.39	0.60	0.36	1.23	0.42	2.42	0.67	1.77
Quixeré, Ceará LSID004	79.60	73.56	8.13	4.13	4.86	6.12	0.98	1.80	0.91	0.45	0.71	1.25	0.48	0.38	0.57	1.07	0.32	2.57	0.69	0.94
Limoneiro do Norte, Ceará LSID005	76.22	69.74	7.70	4.69	5.21	6.32	1.18	2.04	1.03	0.57	1.74	1.68	0.71	0.43	0.66	1.07	0.42	2.56	0.87	1.36
Tabuleiro do Norte, Ceará LSID006	80.91	71.56	8.00	3.93	4.81	5.74	0.97	1.96	0.85	0.56	0.57	1.43	0.40	0.37	0.51	2.41	0.16	2.16	0.67	1.12
Poço Redondo, Sergipe LSID102	56.65	68.80	23.26	8.82	0.42	0.79	0.08	0.22	2.59	0.58	3.57	2.34	0.91	0.32	0.50	9.82	0.19	2.39	0.69	1.05
Poço Redondo, Sergipe LSID103	83.20	73.28	8.18	6.62	0.32	0.93	0.00	0.51	2.57	2.42	1.45	2.06	0.38	0.57	0.74	1.62	0.20	1.92	0.59	1.24
Poço Redondo, Sergipe LSID104	8.41	8.88	13.81	4.42	0.08	0.16	0.00	0.20	2.44	0.61	9.49	3.60	1.46	0.41	3.96	3.70	55.39	72.39	0.81	0.91
Poço Redondo, Sergipe LSID105	77.39	62.60	7.68	7.00	0.27	0.89	0.35	0.37	2.29	2.65	0.41	1.91	0.23	0.51	8.13	15.0	0.34	1.96	0.72	1.86
Recife, Pernambuco LSID301	76.70	75.79	6.67	6.45	6.84	5.09	1.54	1.03	0.87	1.28	0.59	2.25	0.40	0.87	0.58	0.79	0.21	0.00	0.78	0.18

*RGN: Rio Grande do Norte

Barbosa et al⁶⁵ also showed that the major constituents of LSEO were thymol, *p*-Cymene, myrcene, and caryophyllene, and thymol was described as a major component and a strong antiseptic among the phenol group^{28,54}.

In contrast to Botelho et al¹², Araújo et al⁶⁶, Benelli et al⁶⁷, Costa et al⁶⁸, Gomes et al³⁸, this study showed *p*-Cymene instead of carvacrol as being the second major component.

Environmental factors such as the climate, fertility, temperature, luminosity, and latitude, as well as the age of the plant and harvest time have direct influences on agronomic responses and in their chemical constitution, which include EOs. Thus, knowledge of these factors subsidises the decisions of agronomic practices, favouring the content and yield of essential oil content at the moment of harvest^{8,69}.

The northeast of Brazil (56.92%) had the highest origin of *L. sidoides* for EO extraction, followed by the southeast (20.00%), north (6.15%), and central west (1.53%). Commercial oil of *L. sidoides* was found in 17.46% of the articles cited.

As shown in **Table 2**, thymol and *p*-Cymene were the predominant components in LSEO. Thymol (2-isopropyl-5-methylphenol) is the main monoterpene phenol occurring in EOs isolated from plants belonging to the Lamiaceae family (*Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, and *Monarda genera*) and other plants such as those belonging to the Verbenaceae, Scrophulariaceae, Ranunculaceae, and Apiaceae families. Thymol is recognised for its positive antioxidant, anti-inflammatory, local anaesthetic, cicatrizing, antiseptic, antibacterial, and antifungal properties, as well as for its beneficial effects on the cardiovascular system⁷⁰.

The component *p*-Cymene [1-methyl-4-(1-methylethyl)-benzene] is a monoterpene found in over 100 plant species, which is used in medicine and alimentation. It shows a range of biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, anxiolytic, anticancer, and antimicrobial effects. This last property has been widely investigated due to the urgent need for new substances with antimicrobial properties to be used as a treatment for communicable diseases whose diffusion in developed countries has been facilitated by globalization and the evolution of antimicrobial resistance⁷¹.

The third most common component was caryophyllene, a synonym of E-Caryophyllene, β -Caryophyllene, and *Trans*-Caryophyllene. It is a natural bicyclic sesquiterpene compound existing in the EO of many plants and has exhibited a wide range of biological activities⁷².

Timol presented an average presence in the analyzed EOs of 61.86%, with a standard deviation of 21.61%, which shows heterogeneous results among the researched articles.

The other chemical compounds were found in lower average percentages as shown in **Table 3**.

Table 3. Statistical analysis of the main chemical components of *L. sidoides* essential oil

	Mean (%)	Standard Deviation	Median (%)	Absolute Frequency	Relative Frequency
Thymol	61.86	21.61	68.80	*59.65%; 69.91% = 3	*59.65%; 69.91% = 4.28%
<i>p</i>-Cymene	10.76	6.66	8.44	5.33% = 3	5.33% = 5.08%
Caryophyllene	6.30	4.91	5.74	*4.04%; 10.6% = 3	*4.04%; 10.6% = 5.66%
γ-Terpinene	3.96	3.96	2.34	*2.0%; 2.34%; 3.6%; 3.83%; 6.6% = 2	*2.0%; 2.34%; 3.6%; 3.83%; 6.6% = 3.92%
Myrcene	2.11	1.51	1.63	3.57% = 3	3.57% = 9.64%

*Each one

The differences in the chemical composition of EOs are determined by genetic factors, however, others factors can lead to significant changes in production of secondary metabolites. The secondary metabolites represent an interface between plants and the environment. The stimuli arising from the environment, in which the plant is found, can redirect the metabolic route, causing the biosynthesis of different compounds. Among these factors, we can highlight the plant/microorganisms, plant/insects and plant/plant; age and stage of development, abiotic factors such as luminosity, temperature, rainfall, nutrition, time and time of collection, as well as techniques for harvest and post-harvest⁷³.

CONCLUSION

The difference in the chemical composition of *L. sidoides* essential oil described in this paper highlights the need for further studies to assess the variation in the chemical composition of this plant in different environments. The broth microdilution method with the results expressed as MIC was the most frequently used experimental method to determine antimicrobial activity, and *Staphylococcus aureus* was the most frequently tested bacteria. Unfortunately, few studies have been published showing the antibacterial activity of the LSEO, which has shown promise against most of the evaluated bacteria. To analyse it is important to standardize the concentration measurements.

CONFLICT OF INTEREST

The Authors declare that there is no conflict of interest.

FUNDING

The authors did not declare.

ACKNOWLEDGMENT

The authors did not declare.

REFERENCES

1. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. Food Chem Toxicol. 2008;46(2):446-75.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
2. Borges DF, Lopes EA, Moraes ARF, Soares MS, Visôto LE, Oliveira CR et al. Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. Crop Prot. 2018;110:135-40.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.04.003>
3. Guimarães LGL, Silva MLM, Reis PCJ, Costa MTR, Alves LL. General characteristics, phytochemistry and pharmacognosy of *Lippia sidoides*. Nat Prod Commun. 2015;10(11):1861-5.
<https://doi.org/10.1177/1934578X1501001116>
4. Monteiro MVB, Melo Leite AKR, Bertini LM, Morais SM, Nunes-Pinheiro DCS Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. J Ethnopharmacol. 2007;111(2):378-82
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.036>

5. Monteiro CMO, Araújo LX, Gomes GA, Senra TOS, Calmon F, Daemon E et al. Entomopathogenic nematodes associated with essential oil of *Lippia sidoides* for control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res. 2014;113(1):189-95.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-013-3643-5>
6. Morais SR, Oliveira TL, Oliveira LP, Tresvenzol LM, Conceição EC, Rezende MH et al. Essential oil composition, antimicrobial and pharmacological activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) from São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais, Brazil. Pharmacogn Mag. 2016;12(48):262-70.
<http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.192197>
7. Veras HNH, Rodrigues FFG, Colares AV, Menezes IRA, Coutinho HDM, Botelho MA et al. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol Fitoterapia. 2012;83(3):508-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.024>
8. Santos CP, Oliveira TC, Pinto JAO, Fontes SS, Cruz EMO, Arrigoni-Blank MF et al. Chemical diversity and influence of plant age on the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. germplasm. Ind Crops Prod. 2015;76(15):416-21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.017>
9. Freires IA, Denny C, Benso B, Alencar SM, Rosalen, PL. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. Molecules. 2015;20(4):7329-58.
<http://dx.doi.org/10.3390/molecules20047329>
10. Van Vuuren S, Holl D. Antimicrobial natural product research: a review from a South Africa perspective for the years 2009-2016, J Ethnopharmacol. 2017;208:236-52.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.07.011>
11. Majolo C, Rocha SIB, Chagas EC, Chaves FCM, Bizzo HR. Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. Aquac Res. 2017;48(5):2380-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/are.13073>
12. Botelho MA, Nogueira NAP, Bastos GM, Fonseca SGC, Lemos TLG, Matos FJA et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. Braz J Med Biol Res. 2007;40(3):349-56.
<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2007000300010>
13. Castro CE, Ribeiro JM, Diniz TT, Almeida AC, Ferreira LC, Martins ER et al. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Rev Bras Plantas Med. 2011;13(3):293-7.
<https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000300007>
14. Galvão LCC, Furletti VF, Bersan SMF, Cunha MG, Ruiz AL, Carvalho JE et al. Antimicrobial activity of essential oils against *Streptococcus mutans* and their antiproliferative effects. Evid Based Complement Alternat Med. 2012;2012:1-12,751435.
<https://doi.org/10.1155/2012/751435>

15. Oliveira FP, Lima EO, Siqueira Júnior JP, Souza EL, Santos BHC, Barreto HM. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. Rev Bras Farmacogn. 2006;16(4):510-6.
<https://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000400013>
16. Veras HNH, Rodrigues FFG, Botelho MA, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. Arab J Chem. 2017;10(Suppl. 2):S2790-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.030>
17. Majolo C, Pilarski F, Chaves FCM, Bizzo HR, Chagas EC. Antimicrobial activity of some essential oils against *Streptococcus agalactiae*, an important pathogen for fish farming in Brazil. J Essent Oil Res. 2018;30(5):388-97.
<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2018.1487343>
18. Vázquez-Sánchez D, Galvão JA, Mazine MR, Gloria EM, Oetterer M. Control of *Staphylococcus aureus* biofilms by the application of single and combined treatments based in plant essential oils Int J Food Microbiol. 2018;286(2):128-38.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.007>
19. Vázquez-Sánchez D, Galvão JA, Ambrosio CMS, Gloria EM, Oetterer M. Single and binary applications of essential oils effectively control *Listeria monocytogenes* biofilms Ind Crops Prod. 2018;121(1):452-60.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.045>
20. Bersan SMF, Galvão LCC, Goes VFF, Sartoratto A, Figueira GM, Rehder VLG et al. Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. BMC Complement Altern Med. 2014;14(1):1-12,451.
<https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-451>
21. Baldim I, Tonani L, von Zeska Kress MR, Oliveira WP. *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. Ind Crops Prod. 2019;127:73-81.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.064>
22. Cavalcanti ESB, Morais SM, Lima MAA, Santana EWP. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(5):541-4.
<https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000500015>
23. Cavalcanti SCH, Niculau Edos S, Blank AF, Câmara CAG, Araujo IN, Alves PB. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Bioresour Technol. 2010;101(2):829-32.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.053>
24. Guimarães LGL, Cardoso MG, Souza RM, Zarconi AB, Santos GR. Essential oil of *Lippia sidoides* native to Minas Gerais: composition, secretory structures and antibacterial activity. Rev Ciênc Agron. 2014;45(2):267-75.
<http://dx.doi.org/10.1590/s1806-66902014000200006>

25. Morais SR, Oliveira TLS, Bara MTF, Conceição EC, Rezende MH, Ferri PH et al. Chemical constituents of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) leaves cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. Int J Anal Chem. 2012;2012:1-4,363919.
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/363919>
26. Carvalho CO, Chagas ACS, Cotinguiba F, Furlan M, Brito LG, Chaves FCM et al. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. Vet Parasitol. 2012;183(3-4):260-8.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.051>
27. Mota APP, Dantas JCP, Frota CC. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis* Cienc Rural, Santa Maria. 2018;48(6):1-9,e20170697.
<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170697>
28. Sousa EMBD, Chiavone-Filho O, Moreno MT, Silva DN, Marques MOM, Meireles MAA. Experimental results for the extraction of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. using pressurized carbon dioxide. Braz J Chem Eng. 2002;19:229-41.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66322002000200003>
29. Costa JGM, Rodrigues FFG, Angélico EC, Silva MR, Mota ML, Santos NKA et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. Rev Braz Pharmacog. 2005;15(4):304-9.
<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400008>
30. Fontenelle ROS, Morais SM, Brito EHS, Kerntopf MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. J Antimicrob Chemother. 2007;59(5):934-40.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm066>
31. Camurça-Vasconcelos ALF, Bevilaqua CML, Morais SM, Maciel MV, Costa CTC, Macedo ITF et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. Vet Parasitol. 2007;148(3-4):288-94.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.012>
32. Girão VCC, Nunes-Pinheiro DCS, Morais SM, Sequeira JL, Gioso MA. A clinical trial of the effect of a mouth-rinse prepared with *Lippia sidoides* Cham. essential oil in dogs with mild gingival disease. Prev Vet Med. 2003;59(1-2):95-102.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00051-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00051-5)
33. Oliveira VCS, Moura DMS, Lopes JAD, Andrade PP, Silva NH, Figueiredo RCBQ. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Lippia sidoides* Cham. and *Ocimum gratissimum* L. on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. Parasitol Res. 2009;104(5):1053-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-008-1288-6>

34. Lima RK, Cardoso MG, Morais JC, Carvalho SM, Rodrigues VG, Guimarães LGL. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Ciênc Agrotec. 2011;35(4):664-71.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000400004>
35. Medeiros MGF, Silva AC, Citó AMGL, Borges AR, Lima, SG, Lopes JAD et al. *In vitro* antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Parasitol Int. 2011;60(3):237-41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2011.03.004>
36. Borges AR, Aires JRA, Higino TMM, Medeiros MGF, Citó AMGL, Lopes JAD et al. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. Exp Parasitol. 2012;132(2):123-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2012.06.003>
37. Farias-Junior PA, Rios MC, Moura TA, Almeida RP, Alves PB, Blank AF et al. Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Biol Res. 2012; 45(4):399-402.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602012000400012>
38. Gomes GA, Monteiro CMO, Senra TOS, Zeringota V, Calmon F, Matos RS et al. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res. 2012;111(6):2423-30.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-3101-9>
39. Marco CA, Teixeira E, Simplício A, Oliveira C, Costa J, Feitosa J. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Chilean J Agric Res. 2012;72(1):157-60.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000100025>
40. Mota ML, Lobo LTC, Costa JGM, Costa LS, Rocha HA, Rocha e Silva LF et al. *In vitro* and *In vivo* antimalarial activity of essential oils and chemical components from three medicinal plants found in Northeastern Brazil. Planta Med. 2012;78(7):658-64.
<http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1298333>
41. Rondon FC, Bevilaqua CM, Accioly MP, Morais SM, Andrade-Junior HF, Carvalho CA et al. *In vitro* efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. Rev Bras Parasitol Vet. 2012;21(3):185-91.
<http://doi.org/10.1590/S1984-29612012000300002>
42. Carvalho RR, Laranjeira D, Filho JLSC, Souza PE, Blank AF, Alves PB et al. *In vitro* activity of essential oils of *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their major chemical components against *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of stem bleeding in coconut palms. Quím Nova. 2013;36(2): 241-4.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000200007>
43. Lima GPG, Souza TM, Freire GP, Farias DF, Cunha AP, Silva NMP et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and Croton species against *Aedes aegypti* L. Parasitol Res. 2013;112(5):1953-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-013-3351-1>

44. Aquino CF, Sales NLP, Soares EPS, Martins ER. Chemical characterization and action of essential oils in the management of anthracnose on passion fruits. Rev Bras Frutic. 2012;34(4):1059-67.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452012000400012>
45. Gomes GA, Monteiro CMO, Julião LS, Maturano R, Senra TOS, Zeringóta V et al. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Iodidae). Exp Parasitol. 2014;(137):41-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2013.12.003>
46. Oliveira MLM, Bezerra BMO, Leite LO, Girão VCC, Nunes-Pinheiro DCS. Topical continuous use of *Lippia sidoides* Cham. essential oil induces cutaneous inflammatory response, but does not delay wound healing process. J Ethnopharmacol. 2014;153(1):283-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.030>
47. Zillo RR, Silva PPM, Oliveira J, Glória EM, Spoto MHF. Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life. Sci Hortic. 2018;239(15):70-7.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.025>
48. Brito DIV, Moraes-Braga MFB, Cunha FAB, Albuquerque RS, Carneiro JNP, Lima MSF et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. Rev Bras Plantas Med. 2015;17(4):836-44.
https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_060
49. Lobo PLD, Fonteles CSR, Marques LARV, Jamacaru FVF, Fonseca SGC, Carvalho, CBM et al. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: a randomized, double-blind, controlled study. Phytomedicine. 2014;21(8-9):1043-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2014.04.021>
50. Chagas ACS, Oliveira MCS, Gigliotia R, Santana RCM, Bizzo HR, Gama PE et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Ticks Tick Borne Dis. 2016;7(3):427-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.01.001>
51. Soares BV, Neves LR, Ferreira DO, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EC et al. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). Vet Parasitol. 2017;234:49-56.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.12.012>
52. Oliveira AP, Santana AS, Santana EDR, Lima APS, Ruan RN, Faro RS et al. Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Ind Crop Prod. 2017;107(15):198-205.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.046>

53. Santos AA, Oliveira BMS, Melo CR, Lima APS, Santana EDR, Blank AF et al. Sub-lethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* on dry wood termite *Cryptotermes brevis* (Blattodea: Termitoidea). Ecotoxicol Environ Saf. 2017;145:436-41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.057>
54. Pinto NOF, Rodrigues THS, Pereira RCA, Silva LMA, Cáceres CA, Azeredo HMC et al. Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Ind Crops Prod. 2016;86:279-88.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.013>
55. Bacci L, Lima JKA, Araujo APA, Blank AF, Silva IMA, Santos AA et al. Toxicity, behavior impairment, and repellence of essential oils from pepper-rosmarin and patchouli to termites. Entomol Exp Appl. 2015;156(1): 66-76.
<https://doi.org/10.1111/eea.12317>
56. Silva LL, Silva DT, Garlet QI, Cunha MA, Mallmann CA, Baldisserotto B et al. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). Neotrop Ichthyol. 2013;11(2):443-51.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252013000200014>
57. Gomide M, Lemos F, Reis D, José G, Lopes M, Machado MA et al. Identification of dysregulated microRNA expression and their potential role in the antiproliferative effect of the essential oils from four different *Lippia* species against the CT26.WT colon tumor cell line. Rev Bras Farmacogn. 2016;26(5):627-33.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.04.003>
58. Lima JKA, Albuquerque ELD, Santos ACC, Oliveira AP, Araújo APA, Blank AF et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). Ind Crops Prod. 2013;47:246-51.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.03.018>
59. Gomide MS, Lemos FO, Lopes MTP, Alves TMA, Viccini LF, Coelho CM. The effect of the essential oils from five different *Lippia* species on the viability of tumor cell lines. Rev Bras Farmacogn. 2013;23(6):895-902.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2013000600006>
60. Figueiredo MB, Gomes GA, Santangelo JM, Pontes EG, Azambuja P, Garcia ES et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2017;112(1):63-9.
<http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760160388>
61. Santos IGA, Scher R, Rott MB, Menezes LR, Costa EV, Cavalcanti SCH et al. Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia* spp. (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. Parasitol Res. 2016;115(2):535-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-015-4769-4>

62. Brasil EM, Figueiredo AB, Cardoso L, de Santos MQC, de Bertaghila EA, Furtado WE et al. *In vitro* and *In vivo* antiparasitic action of essential oils of *Lippia* spp. in koi carp (*Cyprinus carpio*) fed supplemented diets. Braz J Vet Pathol. 2019;12(3):88-100.
<https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v12i3p88-100>
63. Dias LRC, Santos ARB, Filho ERP, Silva PHS, Sobrinho CA. Study of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. (alecrim pimenta) for control of *Macrophomina phaseolina* in cowpea. Rev Cuba Plantas Medicinales. 2019;24(1):1-17.
64. Fernandes LP, Oliveira WP, Sztatisz J, Novák Cs. Thermal properties and release of *Lippia sidoides* essential oil from gum arabic/maltodextrin microparticles. J Therm Anal Calorim. 2008; 94(2):461-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10973-008-9170-4>
65. Barbosa R, Cruz-Mendes Y, Silva-Alves KS, Ferreira-da-Silva FW, Ribeiro NM, Morais LP et al. Effects of *Lippia sidoides* essential oil, thymol, p-cymene, myrcene and caryophyllene on rat sciatic nerve excitability. Braz J Med Biol Res. 2017;50(12):1-6,e6351.
<http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20176351>
66. Araújo JMS, Siqueira ACP, Blank AF, Narain N, Santana LCLA. A cassava starch-chitosan edible coating enriched with *Lippia sidoides* Cham. essential oil and pomegranate peel extract for preservation of italian tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) stored at room temperature. Food PBIoproc Tech. 2018;11(9):1750-60.
<https://doi.org/10.1007/s11947-018-2139-9>
67. Benelli L, Souza CRE, Oliveira WP. Spouted bed performance on drying of an aromatic plant extract. Powder Technol. 2013;239:59-71.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2013.01.058>
68. Costa AS, Arrigoni-Blank MF, Blank AF, Mendonça AB, Amancio VF, Ledo AS. Estabelecimento de alecrim-pimenta *in vitro* Horti Bras. 2007;25(1):68-72.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362007000100013>
69. Melo MTP, Ribeiro JM, Meira MR, Figueiredo LS, Martins ER. Essential oil content of pepper-rosmarin as a function of harvest time. Cienc Rural. 2011;41(7):1166-9.
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000700010>
70. Marchese A, Orhan IE, Daghia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF et al. Antibacterial and antifungal activities of thymol: a brief review of the literature. Food Chem. 2016;210(1):402-14.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
71. Marchese A, Arciola CR, Barbieri R, Silva AS, Nabavi SF, Tsetegho Sokeng AJ et al. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: a particular focus on p-Cymene. Materials (Basel). 2017;10(8):1-15,947.
<http://dx.doi.org/10.3390/ma10080947>

72. Liu H, Yang G, Tang Y, Cao D, Qi T, Qi Y et al. Physicochemical characterization and pharmacokinetics evaluation of β -caryophyllene/ β -cyclodextrin inclusion complex. Int J Pharm. 2013;450(1-2):304-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.013>
73. Morais LAS Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. 49 Congresso Brasileiro de Olericultura; Águas de Lindóia, SP: Horti Bras. 2009;27(Supl 2):S4050-63.





Alimentos processados e Diabetes Mellitus: avaliação de rotulagem de alimentos industrializados indicados para diabéticos

Processed foods and Diabetes Mellitus: labeling evaluation of processed foods indicated for diabetics

Beatrís Ballardín Martins BOLZAN¹, Jaqueline Driemeyer Correia HORVATH^{2*} 

¹Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade de Caxias do Sul (UCS), Fundação Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil.

²Responsabilidade Social (Proadi-SUS), Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil.

RESUMO

O Diabetes *Mellitus* (DM) afeta cerca de 400 milhões de pessoas em todo o mundo. É de senso comum que esses indivíduos devem priorizar o consumo de alimentos minimamente processados e *in natura*. No entanto, o consumo racional de alimentos processados torna-se um desafio devido ao estilo de vida ocidental e a alta oferta desses produtos, incluindo aqueles específicos para pacientes diabéticos. Esse trabalho visa verificar a adequação dos rótulos de alimentos dietéticos industrializados. Avaliou-se rótulos de biscoitos, doces e pães destinados para diabéticos, disponíveis em supermercados, lojas de produtos naturais e lojas de suplementos alimentares. Além das informações nutricionais, foi avaliada a adequação da rotulagem segundo a Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998. Foram analisados 98 alimentos, sendo 57 doces, 27 biscoitos e 14 pães. Observamos que há uma grande inadequação desses produtos, bem como falta de informações acerca de importantes nutrientes. É necessária a adequação da rotulagem e a conferência de cada item, e os profissionais de saúde, principalmente os nutricionistas, devem estar atentos ao recomendar esses alimentos aos pacientes.

Palavras-chave. Alimentos Processados, Diabetes Mellitus, Rotulagem Nutricional, Alimentos Industrializados, Recomendações Nutricionais.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) affects about 400 million people worldwide. It is common knowledge that diabetic individuals should prioritize the consumption of fresh foods or minimally processed foods. However, the rational consumption of processed foods becomes a challenge due to the western lifestyle and the high source of these products, including those specific for diabetic people. This manuscript aims to verify the label adequacy of processed dietary foods. We performed the evaluation of diabetic cookies, candy and bread labels available at supermarkets, health food stores and food supplement stores. The adequacy of the nutritional items, and the labeling was evaluated according the Brazilian current legislation. A total of 98 items were analyzed: 57 candies, 27 cookies and 14 breads. We observed that there was a great inadequacy of these products, as well as a lack of information about important nutrients. It is necessary to adapt the labeling and to perform the conference of each item, and the health professionals, especially the nutritionists, must pay close attention before recommending these foods to their patients.

Keywords. Processed Foods, Diabetes Mellitus, Nutritional Labeling, Industrialized Foods, Recommended Dietary Allowances.

*Autor de correspondência/Corresponding author: jaqueline.horvath@hmv.org.br

Recebido/Received: 07.10.2019 - Aceito/Accepted: 27.01.2021

INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* (DM) é um dos maiores problemas de saúde pública mundial, afetando mais de 400 milhões de pessoas em todo o mundo, no entanto, somente metade conhece e trata esta situação¹. O DM e suas complicações são a causa de cerca de 5 milhões de óbitos, sendo que mais de 80% dessas mortes ocorrem em países de baixa e média renda^{1,2}. Estima-se que em 2040, o diabetes afetará mais de 642 milhões de pessoas em todo o mundo. O Brasil configura em 4º lugar no ranking dos países com maior número de casos, salientando a importância do cuidado dessa doença em nossa população³.

Muitos estudos robustos que encontraram sucesso na prevenção da progressão para DM identificaram a intervenção precoce e intensiva, com base em um modelo individualizado, como fator-chave para o tratamento do diabetes *mellitus*⁴. Parte dessa prevenção é focada no cuidado alimentar, pois os hábitos alimentares são fundamentais para controlar o perfil glicêmico e, assim, evitar o surgimento de complicações associadas ao DM⁵.

O aumento no consumo de alimentos industrializados⁶, devido ao estilo de vida ocidental, e a insegurança alimentar⁷ impactam no manejo do DM. Muitos consumidores não conhecem a rotulagem nutricional e têm grande dificuldade em identificar o que há de fato no alimento. A legislação que regulamenta a rotulagem é uma estratégia que deveria ter um efeito positivo para a prevenção de vários problemas de saúde relacionados ao consumo de alimentos^{8,9}. Em tese, a rotulagem deveria ajudar aos consumidores a fazer escolhas razoáveis ao comprar alimentos, com base em seu valor nutricional^{10,11}, já que permite um autogerenciamento de pacientes diagnosticados com diversas doenças^{9,12}.

O aumento da incidência de pessoas com diabetes *mellitus* incentiva o crescimento do setor alimentício para a produção de alimentos adequados às necessidades desta população, gerando uma grande oferta de produtos destinados especificamente a esses pacientes. Com o intuito de verificar o perfil dos alimentos dietéticos processados disponíveis no mercado e de averiguar se esses podem ser consumidos por pacientes diabéticos, foi elaborada essa pesquisa, analisando os tipos de ingredientes e a composição nutricional presentes nestes produtos, conferindo a adequação dos rótulos a legislação vigente.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa exploratória descritiva, onde foram avaliados alimentos indicados para diabéticos, disponíveis em 59 estabelecimentos, sendo eles supermercados, lojas de produtos naturais e lojas de suplementos alimentares. Foram selecionados os alimentos tipicamente recomendados para população diabética (descrição no rótulo ou indicação de alimento *diet* ou integral), encontrados em prateleiras identificadas para o consumo do público DM. Foram avaliados itens de composição nutricional e rotulagem, distribuídos em três grupos alimentares, a saber: biscoitos (cookies, salgados, recheados, integrais), doces (gelatinas, geleias, pudim em pó, leite condensado, achocolatados, chocolates e sorvetes) e pães (integrais, *diets*).

A avaliação dividiu-se em dois eixos: composição nutricional e rotulagem. Na avaliação da composição nutricional foram avaliadas as seguintes variáveis dos rótulos: declaração de maltodextrina na lista de ingredientes; tipo de edulcorante utilizado na composição dos alimentos; quantidade de açúcares totais presente nos alimentos; percentual e quantidade de carboidratos encontrados nos alimentos; quantidade e tipo de fibras e gorduras presentes nos alimentos.

A adequação da rotulagem seguiu a Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998¹³, através da avaliação dos seguintes itens descritos no painel principal: designação do alimento, seguida da finalidade a que se destina em letras da mesma cor e tamanho; a presença do termo “*diet*” especificamente para dieta de ingestão controlada de açúcares.

Também foram avaliadas as frases obrigatórias e suas formas de declarações (destaque e negrito) constantes na referida portaria, tais como, “diabéticos: contém. (especificar o mono e/ou dissacarídeos)”, “este produto pode ter efeito laxativo” (alimentos com ingestão diária superior a 20 g de manitol, 50 g de sorbitol, 90 g de polidextrose ou outros polióis que podem ter efeito laxativo) e “consumir preferencialmente sob orientação nutricional ou médica”¹³. A referida Portaria em suas considerações gerais trata sobre a diferenciação das embalagens ou rótulos dos alimentos convencionais ou similares correspondentes da mesma empresa. A partir destas informações foram considerados adequados aqueles que preenchiam pelo menos 80% da indicação da legislação, pouco adequados aqueles que preenchiam pelo menos 60%, inadequados aqueles que preenchiam menos de 60%.

Os dados são apresentados como média e desvio padrão ou percentuais. Foram avaliadas as diferenças entre os grupos de produtos (biscoitos, doces e pães) através do teste ANOVA (post hoc Tukey) para as variáveis de caráter quantitativo com distribuição gaussiana e através de testes não paramétricos (Kruskal-Wallis) para as variáveis de caráter qualitativo e para as variáveis de caráter quantitativo com distribuição não gaussiana. A normalidade foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram tabulados no programa Excel e posteriormente importados para o programa SPSS v 20. Foram considerados valores estatisticamente significativos aqueles $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram visitados 59 estabelecimentos e analisados 98 rótulos, sendo 57 rótulos de produtos do grupo dos doces, 27 produtos do grupo de biscoitos, 14 produtos do grupo de pães. Em relação aos grupos alimentares avaliados, em 100 g de produto, a média do percentual de carboidratos observada foi de 17,56%. A quantidade média de fibras observada em 100 g do produto foi de 9,32 g ($\pm 31,78$), embora os tipos de fibras não tenham sido descritos em nenhum produto. Não foram observadas diferenças em relação a quantidade de fibras e carboidratos ($p=0,318$ e $p=0,140$, respectivamente) entre os grupos de produtos (pães, doces e biscoitos).

Dentre os 98 produtos analisados, 26,53% ($n=26$) declararam maltodextrina em sua composição, sendo que em 15 destes alimentos a maltodextrina estava entre os três primeiros ingredientes. A distribuição de maltodextrina foi diferente entre os grupos ($p < 0,01$), sendo que o grupo dos doces foi o que mais apresentou a declaração de maltodextrina em sua composição. Em relação à quantidade de edulcorantes, 21,42% do total de produtos analisados declaravam conter açúcar simples (sacarose) como primeiro edulcorante entre os ingredientes, 13,26% dos produtos declaravam sucralose como o segundo edulcorante utilizado; já em 15,68% ($n=16$) a sucralose era o terceiro edulcorante mais declarado. De forma qualitativa, observou-se que a sucralose estava declarada na composição de 40,18%, a polidextrose em 33,32%, a sacarose em 24,5% e o maltitol em 23,5% dos produtos incluídos nesse estudo.

Em relação aos grupos alimentares avaliados, à média de gordura total em 100 g de produto foi de 12,84 g ($\pm 10,34$). Somente 36,7% dos produtos declaravam a quantidade específica de gordura monoinsaturada e gorduras poli-insaturadas. Entre essas, a média da gordura monoinsaturada observada foi de 2,17 g ($\pm 3,32$) e poli-insaturada de 2,22 g ($\pm 4,62$). Ainda em relação às gorduras, os biscoitos declaravam em média 16,01 g ($\pm 5,8$) de gorduras totais, os doces 13,32 g ($\pm 12,11$) e os pães 4,79 g ($\pm 2,78$), ($p < 0,001$). A descrição dos resultados se encontra na **Tabela**.

Tabela. Descrição de Rotulagem Nutricional em produtos indicados a diabéticos

	Biscoitos e Bolachas	Pães	Doces	<i>p</i>
Carboidratos (%)	20,14%	14,47%	17,15%	0,140
Fibras (g)	6,19 ± 3,4	6,99 ± 1,5	6,43 ± 6,8	0,318
Gordura total (g)	16,01 ± 5,8	4,79 ± 2,8	13,32 ± 12,1	<0,001 *
Gordura M. (g)	6,58 ± 3,8	1,22 ± 1,09	0,44 ± 0,92	<0,001 *
Gordura P. (g)	4,11 ± 2,6	1,33 ± 0,70	1,68 ± 6,0	<0,001 *

Dados são apresentados em média ± desvio padrão ou frequência

*Valores considerados significativos ($p < 0,05$). M= Monoinsaturada; P= Poli-insaturada

Em relação à adequação da rotulagem, entre os doces processados analisados, 94,7% continham a denominação destinada ao público DM, embora 32,0% não estivessem adequados a Portaria. Ainda, 24,5% dos produtos declaravam sacarose na composição nutricional, sem a descrição do aviso previsto pela Portaria (“Diabéticos: contém sacarose”); esse fato foi observado mesmo naqueles que eram de indicação específica para o público DM.

No grupo de biscoitos e bolachas, apenas 18,5% declaravam a denominação destinada ao público DM. Destes, 63% estavam inadequados à Portaria. Ainda, 33,3% declaravam sacarose na composição nutricional, sem o aviso “Diabéticos: contém sacarose”, previsto pela Portaria. No grupo de pães, 28,5% continham a denominação destinada ao público DM, sendo a maioria (85,7%) inadequada de acordo com a Portaria.

Em relação ao custo dos produtos analisados, observamos que o preço total da embalagem dentro do mesmo grupo (ou seja, entre produtos similares) varia entre os valores de R\$ 4,00 a R\$ 9,00 no grupo de pães, R\$ 2,00 a R\$ 8,00 no grupo de biscoitos e bolachas e de R\$ 2,00 a R\$ 28,00 no grupo dos doces ($p < 0,001$).

DISCUSSÃO

Os resultados apresentados por esse trabalho reforçam a necessidade de uma adequada orientação nutricional. Diversos produtos com indicação específica para indivíduos diabéticos apresentam-se inadequados para o consumo, especialmente se o fizerem em quantidades elevadas ou com grande frequência.

Os edulcorantes não nutritivos são encontrados em grande parte desses alimentos. Nessa avaliação, apenas 7,14% dos produtos processados não declararam nenhum tipo de edulcorante na sua composição. O uso a longo prazo de edulcorantes se mantém controverso. Alguns estudos sugerem que o uso destes edulcorantes pode resultar em câncer de bexiga¹⁴, doença cardíaca¹⁵ e risco de diminuição da função renal em mulheres¹⁶. Por outro lado, o uso de edulcorantes é uma estratégia chave para redução de consumo de energia, além de proporcionar maiores escolhas alimentares para indivíduos com necessidades específicas¹⁷.

Fato preocupante foi à inclusão de sacarose em muitos alimentos avaliados por esse estudo, sem a descrição clara no rótulo. Outro carboidrato usado em alimentos dietéticos com frequência é a maltodextrina, declarado em 26,53% dos alimentos avaliados. Em média, somente 10% da maltodextrina é composta por maltodextrina resistente (fibra não digerível) que poderia reduzir o índice glicêmico¹⁸ desse carboidrato. No entanto, a maltodextrina é altamente digerível e rapidamente absorvida no organismo, o que pode resultar em uma resposta glicêmica elevada, especialmente se consumida em grandes quantidades¹⁹, devido

a possibilidade desse pico glicêmico, não seria indicado o consumo de alimentos com maltodextrina para pacientes diabéticos.

Em relação às fibras, é senso comum que alimentos integrais sejam fontes de fibras, sendo descrito amplamente que o consumo deste nutriente auxilia na prevenção e no controle do DM, no entanto, a maioria dos indivíduos diabéticos tem um consumo inadequado de fibras²⁰. Além da quantidade, a escolha do tipo de fibra ingerida também é importante. Alguns estudos sugerem que o consumo de fibras solúveis resulta em efeitos favoráveis na glicemia de pacientes portadores de DM²¹, pois pode modular a glicose sérica e controlar a necessidade de insulina no organismo²². Observamos que quantidade de fibras é bastante variável nos alimentos processados, a avaliação de rótulos mostrou, também, que 100% dos alimentos não especificam o tipo de fibras, embora essa declaração não seja obrigatória pela Portaria, isso resulta em prejuízo na escolha alimentar e, conseqüentemente, no controle glicêmico,

A maioria dos indivíduos (91%) tem um consumo inadequado de gordura monoinsaturada²⁰. Nesse estudo, observou-se que alimentos processados destinados a diabéticos, em sua maioria (63,3%), não descrevem adequadamente as gorduras na composição dos alimentos, dividindo-a em saturadas, mono e poli-insaturadas, tampouco descrevem o tipo de gordura poli-insaturada, embora essa informação também não seja obrigatória pela Portaria. Os ácidos graxos ômega 6 e 3 são essenciais na alimentação porque não podem ser sintetizados, porém há uma competição pela mesma enzima de dessaturação, assim, é essencial o consumo destes ácidos na proporção adequada²³, de 5:1 (ômega 6: ômega 3)²⁴. Para diabéticos, tem sido descrito que alterando-se a qualidade da gordura dietética é possível influenciar a sensibilidade à insulina a curto prazo²⁵.

Devido ao exposto nesse estudo, acreditamos que um dos fatores mais importantes no consumo de alimentos para portadores de diabetes sejam a leitura e interpretação de rótulos para a escolha do alimento mais saudável²⁶. Mas, cerca de 58,3% dos indivíduos diabéticos não tem o hábito da leitura de rótulos, especialmente porque não têm interesse ou porque não sabem ler. Ainda, somente 37,5% sabem diferenciar alimentos *diet* e *light*²⁷. Outro ponto importante a ser apontado é o valor do alimento industrializado indicado para o consumo de portadores de diabetes, que mostrou grande variação, especialmente entre os doces. O impacto do preço é substancial, estima-se que uma redução de 10% no preço aumentaria o consumo de alimentos saudáveis em 12% (IC 95% = 10 – 15%)²⁸.

Essa pesquisa relatou a importância de informações claras e completas nos rótulos de alimentos para a garantia do consumo de alimentos mais indicados para este público. No presente estudo, constatou-se que poucos produtos se adequavam a essa Portaria, além dos produtos processados, especialmente os ultra-processados causarem diversos efeitos negativos na saúde^{29,30}, a inadequação dos rótulos dificulta a escolha desses alimentos. A exclusão de alguns alimentos processados tem um resultado bastante positivo, seja reduzindo o peso ($p < 0,001$), bem como melhorando o controle glicêmico ($p = 0,001$)³¹, reforçando a necessidade de redução desses produtos e, quando ocorrer o consumo, que seja de forma bem orientada. A adequação de rótulos é indispensável para avaliação do alimento, sendo importante para educação nutricional e a escolha do produto que atende as necessidades do indivíduo³².

Assim, esse estudo apresenta resultados importantes, devido à grande quantidade de inadequações observadas, servindo como um alerta para a necessidade de adequação desses alimentos para fins especiais, bem como para a necessidade de uma adequada e criteriosa orientação nutricional, fatos que podem impactar profundamente no tratamento desses pacientes. Ainda, serve de alerta para a comunidade científica ter um olhar mais criterioso a estas categorias de alimentos e assim aplicar e/ou desenvolver metodologias mais sensíveis para detecção de pequenas quantidades de ingredientes e/ou substâncias que possam ser prejudiciais à saúde da população.

CONCLUSÃO

Ao avaliarmos rótulos de alimentos com indicação para pacientes diabéticos, constatou-se uma grande inadequação desses produtos, bem como falta de informações acerca de importantes nutrientes. Esse estudo aponta para a necessidade de alterações na regulamentação desses alimentos visando auxiliar na escolha alimentar e, assim, auxiliar no tratamento nutricional desses indivíduos.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse

FINANCIAMENTO

Não declarado

AGRADECIMENTO

Não declarado

REFERÊNCIAS

1. Guideline for Type 2 Diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;104(1):1–52.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2012.10.001>
2. Aschner P. New IDF clinical practice recommendations for managing type 2 diabetes in primary care. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;132:169–70.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.09.002>
3. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018 / Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo (SP): Editora Clannad, 2017.
4. Ibrahim M, Tuomilehto J, Aschner P, Beseler L, Cahn A, Eckel RH et al. Global status of diabetes prevention and prospects for action: A consensus statement. *Diabetes Metab Res Rev.* 2018;34(6):e3021.
<https://doi.org/10.1002/dmrr.3021>
5. Hamdy O, Barakatun-Nisak MY. Nutrition in Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2016;45(4):799–817.
<https://doi.org/10.1016/j.ecl.2016.06.010>
6. Noll PRES, Noll M, de Abreu LC, Baracat EC, Silveira EA, Sorpreso ICE. Ultra-processed food consumption by Brazilian adolescents in cafeterias and school meals. *Sci Rep.* 2019;9(1):7162.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-43611-x>
7. Bawadi HA, Ammari F, Abu-Jamous D, Khader YS, Bataineh S, Tayyem RF. Food insecurity is related to glycemic control deterioration in patients with type 2 diabetes. *Clin Nutr.* 2012;31(2):250–4.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2011.09.014>
8. Smith ACL, Almeida-Muradian LB. Rotulagem de alimentos: avaliação da conformidade frente à legislação e propostas para a sua melhoria. *Rev Inst Adolfo Lutz.* São Paulo, 2011;70(4):463-72.
Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32501/31332>

9. Post RE, Mainous AG, Diaz VA, Matheson EM, Everett CJ. Use of the nutrition facts label in chronic disease management: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Diet Assoc.* 2010;110(4):628–32.
<https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.12.015>
10. Park HK. Nutrition policy in South Korea. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17(Suppl 1):343-5. Disponível em:
<https://apjcn.nhri.org.tw/server/APJCN/17%20Suppl%201/343.pdf>
11. Han KT, Kim SJ, Kim DJ, Kim SJ. Does the active use of nutrition labeling reduce the risk of diabetes mellitus? Results of insulin resistance using Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Prim Care Diabetes.* 2018;12(5):445–52.
<https://doi.org/10.1016/j.pcd.2018.05.003>
12. Kim JY, Kweon KH, Kim MJ, Park EC, Jang S-Y, Kim W et al. Is nutritional labeling associated with individual health? The effects of labeling-based awareness on dyslipidemia risk in a South Korean population. *Nutr J.* 2016;15(1):81.
<https://doi.org/10.1186/s12937-016-0200-y>
13. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº 29 de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. *Diário Oficial da União.* Brasília, DF, 30 mar 1998. Seção 1(60):2-3.
14. Weihrauch MR, Diehl V. Artificial sweeteners - do they bear a carcinogenic risk? *Ann Oncol.* 2004;15(10):1460–5.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdh256>
15. Fung TT, Malik V, Rexrode KM, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Sweetened beverage consumption and risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(4):1037–42.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27140>
16. Lin J, Curhan GC. Associations of sugar and artificially sweetened soda with albuminuria and kidney function decline in women. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(1):160–6.
<https://doi.org/10.2215/CJN.03260410>
17. Gardner C, Wylie-Rosett J, Gidding SS, Steffen LM, Johnson RK, Reader D et al. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2012;35(8):1798–808.
<https://doi.org/10.2337/dc12-9002>
18. Livesey G, Tagami H. Interventions to lower the glycemic response to carbohydrate foods with a low-viscosity fiber (resistant maltodextrin): meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(1):114-25.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26842>
19. Knapp BK, Parsons CM, Bauer LL, Swanson KS, Fahey GC. Soluble fiber dextrins and pullulans vary in extent of hydrolytic digestion in vitro and in energy value and attenuate glycemic and insulinemic responses in dogs. *J Agric Food Chem.* 2010;58(21):11355–63.
<https://doi.org/10.1021/jf102397r>
20. Batista M da CR, Priore SE, Rosado LEFPL, Tinôco ALA, Franceschini SCC. Avaliação dietética dos

- pacientes detectados com hiperglicemia na “Campanha de Detecção de Casos Suspeitos de Diabetes” no município de Viçosa, MG. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006;50(6):1041–9.
<https://doi.org/10.1590/S0004-27302006000600010>
21. Mello VD de, Laaksonen DE. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;53(5):509–18.
<https://doi.org/10.1590/S0004-27302009000500004>
22. Mira GS, Graf H, Cândido LMB. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes. *Braz J Pharm Sci*. 2009;45(1):11-20.
<https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000100003>
23. Martin CA, Almeida VV de, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE de et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr*. 2006;19(6):761-70.
<https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>
24. Santos R, Gagliardi A, Xavier H, Magnoni C, Cassani R, Lottenberg A et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. *Arq Bras Cardiol*. 2013;100(1 suppl 3):1-40.
<https://doi.org/10.1590/S0066-782X2013000900001>
25. Risérus U, Willett W, Hu FB. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res*. 2009;48(1):44–51.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.10.002>
26. Cavada G da S, Paiva FF, Helbig E, Borges LR. Rotulagem nutricional: você sabe o que está comendo? *Braz J Food Technol*. 2012;15(spe):84–8.
<https://doi.org/10.1590/S1981-67232012005000043>
27. Oliveira PB de, Franco LJ. Consumo de adoçantes e produtos dietéticos por indivíduos com diabetes melito tipo 2, atendidos pelo Sistema Único de Saúde em Ribeirão Preto, SP. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2010;54(5):455–62.
<https://doi.org/10.1590/S0004-27302010000500005>
28. Afshin A, Peñalvo JL, Del Gobbo L, Silva J, Michaelson M, O’Flaherty M et al. The prospective impact of food pricing on improving dietary consumption: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(3):e0172277.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172277>
29. Fardet A, Rock E, Bassama J, Bohuon P, Prabhasankar P, Monteiro C et al. Current food classifications in epidemiological studies do not enable solid nutritional recommendations for preventing diet-related chronic diseases: the impact of food processing. *Adv Nutr*. 2015;6(6):629–38.
<https://doi.org/10.3945/an.115.008789>
30. Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr*. 2018;21(1):5-17.
<https://doi.org/10.1017/S1368980017000234>
31. Courie R, Gaillard M, Lainas P, Hansel B, Naveau S, Dagher I et al. Weight outcome after 2 years of a diet

that excludes six processed foods: exploratory study of the “1,2,3 diet “ in a moderately obese population. Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther. 2018;11:345-55.
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S165598>

32. Garcia PPC, Carvalho LPS. Análise da rotulagem nutricional de alimentos *diet* e *light*. Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. 2011;15(4):89-103. Disponível em:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=26022135007>





Composição nutricional de frutos do Cerrado mato grossense: cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.) e inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul)

Nutritional composition of the fruits from Midwestern Cerrado: cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk) and inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul)

Júlio Samuel CARELLE¹, Gicélio Ramos da SILVA¹, Reginaldo Vicente RIBEIRO¹ , João VICENTE NETO¹, Érica Luiz dos SANTOS^{1*} 

¹Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Avançado Lucas do Rio Verde, MT, Brasil.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a caracterização nutricional (umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e açúcares totais), quantificação do Valor Energético Total (VET) e determinação do teor de carotenoides totais dos frutos de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk) e inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul), do Cerrado mato grossense. No intuito de oferecer uma alternativa de dieta nutritiva e incentivar o reaproveitamento de alimentos, foram analisadas polpas e cascas destes frutos. O cajuzinho do cerrado apresentou expressiva quantidade de carotenoides totais nas polpas (5,95 mg/100g) e cascas (6,55 mg/100g). Já a curriola apresentou um valor considerável de cinzas (0,66%) nas polpas e mostraram quantidade significativa de Valor Energético Total (80,96 Kcal/100g). O inharé destacou-se por apresentar elevado teor de proteínas nas cascas (3,76%) e polpas (3,19%). Estes resultados mostraram que polpas e cascas dos frutos analisados, podem ser utilizadas como fonte de nutrientes ou como ingredientes na elaboração de novos alimentos com potencial funcional. Este é o primeiro estudo que avalia o potencial nutricional e carotenoides totais nas cascas destes frutos do Cerrado mato grossense.

Palavras-chave. *Anacardium humile*, *Pouteria ramiflora*, *Brosimum gaudichaudii*, Cerrado, Frutos.

ABSTRACT

This study aimed at performing the nutritional characterization (moisture, protein, lipid, ashes and total sugar), quantification of the Total Energy Value (TEV) and determination of carotenoid content of cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk) and inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul), of the Midwestern Cerrado. Aiming at offering a nutritious alternative of diet and motivating the reuse of foods, the pulps and peels of fruits were analyzed. Cajuzinho do cerrado showed expressive amount of total carotenoids in the pulps (5.95 mg/100g) and peels (6.55 mg/100g). The curriola presented a considerable amount of ash (0.66%) in the pulps and a significant amount of Total Energy Value (80.96 Kcal/100g). On the other hand, the inharé had a high amount of protein in the peels (3.76%) and pulps (3.19%). These results showed that pulps and peels of the analyzed fruits can be used as source of nutrients or as ingredients in the manufacture of new functional foods. This is the first report which evaluates the nutritional potential and total carotenoids in peels of fruits from Midwestern Cerrado.

Keywords. *Anacardium humile*, *Pouteria ramiflora*, *Brosimum gaudichaudii*, Midwestern Cerrado, Fruits.

*Autor de correspondência/Corresponding author: ericaquimica@gmail.com

Recebido/Received: 18.06.2020 - Aceito/Accepted: 16.11.2020

INTRODUÇÃO

O conhecimento da composição dos alimentos é fundamental para se alcançar a segurança alimentar e informações nutricionais. Por meio destes dados, autoridades de saúde pública podem estabelecer metas nutricionais e guias alimentares que levem a uma dieta saudável. Ao mesmo tempo, podem orientar a produção agrícola e industrial de alimentos no desenvolvimento de novos produtos¹.

Neste contexto, a flora brasileira constitui uma importante fonte de alimentos e o bioma Cerrado, segundo maior da América do Sul², tem se destacado por apresentar vasta variedade de espécies de pequenos frutos nativos^{3,4}. Além de suas cores e sabores, tais frutos têm despertado o interesse do mercado nacional e internacional devido ao alto potencial nutricional e a presença de compostos bioativos (vitaminas C e E, polifenóis, carotenoides). Assim, seu consumo tem sido associado ao potencial preventivo de enfermidades degenerativas, tais como doenças cardiovasculares e neurovasculares^{3,5}. Frutos também são considerados fontes de carotenoides e a atividade essencial atribuída a estes metabólitos, principalmente ao α -caroteno e β -caroteno⁶, é a capacidade de conversão em vitamina A, que no organismo está associada ao crescimento ósseo, à diferenciação de tecidos e ao funcionamento do ciclo visual na regeneração de fotorreceptores^{6,7}. A carência desta vitamina constitui um dos principais problemas nutricionais de populações de países em desenvolvimento, incluindo o Brasil⁷.

Assim, dentre as espécies frutíferas do Cerrado mato grossense, destacam-se *Anacardium humile* A.St.-Hil., *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk e *Brosimum gaudichaudii* Trécul, as quais foram objeto de estudo deste trabalho. A espécie *Anacardium humile* A.St.-Hil. (Anacardiaceae), popularmente conhecida como cajuzinho do cerrado, cajuzinho e cajuí⁸, apresenta frutos doces e comestíveis, além da castanha que é consumida em forma de amêndoa⁹. Já a espécie *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae) é conhecida como curriola, brasa viva, figo do cerrado, grão de galo, maçaranduba, pessegueiro do cerrado e pitomba de leite¹⁰. A polpa é consumida na forma *in natura* ou como suco pela população local^{10,11}. Popularmente conhecida por inharé, mama-cadela, bureré e amoreira do mato^{8,12}, a espécie *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae), apresenta polpa amarela e de sabor adocicado, sendo muito apreciada pelas crianças por ser semelhante à goma de mascar¹². Vale destacar que em regiões do Cerrado, folhas, cascas e raízes desta espécie são muito utilizadas na medicina popular, especialmente no tratamento de vitiligo^{8,13,14}. Estudos foram realizados em relação ao uso etnobotânico e acerca do efeito terapêutico destas três espécies^{8,13-18}. No entanto, a maior parte dos frutos do Cerrado ainda não foi inserida no contexto do agronegócio brasileiro, seja por falta de tecnologia para a produção em escala ou mesmo pelos poucos estudos realizados quanto aos seus aspectos fitoquímicos, farmacológicos e nutricionais gerando um desconhecimento do seu potencial de aproveitamento^{3,4}.

Partindo destas informações, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar polpas e cascas *in natura* de frutos típicos do Cerrado mato grossense, quanto a sua composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos) e teor de carotenoides totais. Espera-se que os resultados deste trabalho possam embasar novas pesquisas científicas no sentido de investigar a composição química e atividades biológicas de tais frutos e assim, aprofundar o conhecimento de suas características nutricionais e bioativas. Além disso, espera-se despertar o interesse do uso destes frutos pela indústria alimentícia e farmacêutica e, como consequência, beneficiar a agricultura familiar contribuindo assim, para o desenvolvimento sustentável da região.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé foram coletados, manualmente, nos meses de outubro e novembro de 2018, em regiões do Cerrado mato grossense localizadas no município de Santa

Terezinha, Mato Grosso, Brasil. As amostras foram lavadas, armazenadas em sacos de polietileno de baixa densidade e mantidas sob refrigeração a temperatura de 5°C. Após um período de 12 h, o material foi acondicionado em caixa de isopor e transportado para o Laboratório de Biotecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso – *Campus Avançado Lucas do Rio Verde*. Após um período de 24 h, desde a primeira refrigeração a 5°C, foi realizada a avaliação da composição centesimal que consistiu na determinação do conteúdo de água, cinzas, proteínas, lipídeos e açúcares totais. Os frutos foram separados em sementes, polpas e cascas. As duas últimas frações foram trituradas em gral e pistilo, separadamente, homogeneizadas e examinadas em triplicata. As análises foram desenvolvidas de acordo com as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz¹⁹ e Associação Analítica de Química (do inglês *Association Of Official Analytical Chemists*, AOAC): *Official Methods of Analysis*²⁰. O teor de proteínas foi quantificado pelo método micro-Kjeldahl^{19,20}, usando o fator 5,75 para a conversão de nitrogênio para proteínas em plantas²¹. O valor energético total foi obtido segundo o sistema Atwater e expresso em Kcal/100g²¹. Os carotenoides totais das polpas e cascas foram quantificados por análise espectrofotométrica de acordo com metodologia utilizada por Rodriguez-Amaya²². O teor de açúcares totais foi determinado por diferença²³.

Análise estatística

As análises foram desenvolvidas em triplicata. Os resultados foram expressos como média ± desvio-padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey, com 95% de nível de confiança.

RESULTADOS

Os resultados das análises da composição centesimal das diferentes frações (polpas e cascas) dos frutos de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile* A.St.-Hil.), curriola (*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.) e inharé (*Brosimum gaudichaudii* Trécul), *in natura*, encontram-se dispostos na **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição centesimal (g/100 g) e Valor Energético Total (Kcal/100 g), amostra úmida, de frutos do Cerrado mato grossense*

AMOSTRA	Umidade		Cinzas		Lipídeos		Proteínas		Açúcares Totais		Valor Energético	
	Polpa	Casca	Polpa	Casca	Polpa	Casca	Polpa	Casca	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Cajuzinho do cerrado	84,79 ^a	86,20 ^a	0,26	0,30 ^a	0,32	0,53 ^a	1,68 ^a	1,73 ^a	13,21	11,54	62,46	57,85
	±0,51	±0,88	±0,03	±0,01	±0,15	±0,07	±0,24	±0,07	±0,58	±0,92	±2,67	±3,51
Curriola	80,51 ^a	62,10	0,66 ^a	0,45 ^a	0,61 ^a	0,67 ^a	1,36 ^a	1,54 ^a	17,52 ^a	35,67	80,96	155,51 ^a
	±0,68	±0,84	±0,02	±0,07	±0,09	±0,01	±0,19	±0,18	±0,73	±0,99	±2,25	±3,42
Inharé	75,31 ^a	74,14 ^a	0,79 ^a	0,77	0,67 ^a	0,78 ^a	3,19	3,76	20,83 ^a	21,32	102,1	107,36 ^a
	±0,99	±1,14	±0,05	±0,03	±0,05	±0,05	±0,28	±0,62	±1,31	±0,57	±3,76	±4,34

*Valores médios ± desvio-padrão; n=3 (análise realizada em triplicata). Médias seguidas da mesma letra, nas colunas (Polpas e Cascas), não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A quantificação dos carotenoides totais encontra-se descrita na **Tabela 2**.

Tabela 2. Carotenoides totais (mg/100g) das cascas e polpas de frutos do Cerrado mato grossense*

AMOSTRA	Carotenoides Totais	
	Polpa	Casca
Cajuzinho do cerrado	5,95 ^a ±0,61	6,55 ^a ±0,72
Curriola	1,12±0,09	1,27±0,17
Inharé	7,02 ^a ±0,94	7,54 ^a ±0,99

*Valores médios ± desvio-padrão (DP); n=3 (análise realizada em triplicata) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas (Polpas e Cascas), não diferem estaticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

DISCUSSÃO

Os frutos analisados mostraram-se como uma importante fonte de nutrientes, conforme resultados descritos na **Tabela 1**. Cajuzinho do cerrado, curriola e inharé apresentaram alto teor de umidade nas polpas, cujos valores foram 84,79%, 80,51% e 75,31%, respectivamente. Rocha et al²⁴ encontraram 82,60% de umidade nas polpas de cajuzinho do Cerrado piauiense, enquanto Land et al¹² obtiveram 77,63% nas polpas de inharé do Cerrado mineiro. Tais valores são semelhantes aos descritos no presente estudo. Já, Morzelle et al²⁵ encontraram 70,68% de umidade para as polpas de curriola, também do Cerrado mato grossense. O teor de água é uma característica relevante a ser observada, uma vez que podem resultar em grandes perdas na estabilidade química, no comprometimento da segurança microbiológica e na qualidade geral dos alimentos²⁶.

Quanto à concentração de cinzas ou resíduo mineral fixo (**Tabela 1**), as polpas de inharé apresentaram o maior teor dentre os frutos analisados, de 0,79%, sendo que estudos anteriores mostraram 0,82%¹². O teor de cinzas obtido nas polpas de curriola foi de 0,66%, enquanto o valor encontrado na literatura foi de 1,06%²⁵. Já as polpas de cajuzinho do cerrado apresentaram o menor teor de cinzas, 0,26%, da composição centesimal da polpa. Este resultado foi semelhante ao obtido na literatura, 0,30%²⁴. As quantidades de cinzas obtidas para as cascas de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé foram de 0,30%, 0,45% e 0,77%, respectivamente, semelhantes aos valores de suas partes comestíveis. Este é o primeiro relato da quantificação do resíduo mineral fixo nas cascas destes frutos. A determinação de cinzas é de suma importância nas análises de produtos alimentícios, pois é utilizada como ponto de partida para investigação de minerais específicos. Tais compostos podem ser avaliados tanto do ponto de vista nutricional quanto do ponto de vista de segurança, como na quantificação de resíduos de metais pesados²⁶.

Ainda em relação aos constituintes nutricionais, destacam-se as proteínas que são essenciais em todos os processos biológicos desempenhando funções estruturais, energéticas, hormonais, catalisadoras, imunológicas e reguladoras, sendo assim indispensáveis à perpetuação e manutenção da vida²⁷. Dada a importância destes metabólitos, o teor de proteínas foi quantificado (**Tabela 1**) nas polpas dos frutos de inharé, com valores de 3,19%, superior ao valor descrito na literatura que foi de 1,63%¹². A quantidade de proteínas presente nas polpas de inharé superou os teores encontrados em frutos convencionais presentes na cultura brasileira, tais como mamão papaia (0,5%), laranja lima (1,0%) e banana prata (1,3%)¹. Já a concentração de proteínas encontrada nas polpas de cajuzinho do cerrado (1,68%) e curriola (1,36%) (**Tabela 1**), foi inferior aos dados encontrados no fruto por Rocha et al²⁴ e por Morzelle et al²⁵, de 3,10% e 2,80%, respectivamente. Os valores destoantes com os da literatura podem ser justificados pela coleta dos frutos em regiões distintas do Cerrado, as quais apresentam particularidades de clima, solo e cultivo, e pelas diferentes formas e tempo de armazenamento^{12,25,28}. A quantidade de proteínas obtidas nas cascas de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé foram 1,73%, 1,54% e 3,76%, respectivamente, cujos dados são inéditos na literatura. Tanto nas polpas como

nas cascas do inharé, pode ser observado o predomínio de proteínas quando comparados às outras frações dos frutos estudados (**Tabela 1**), reforçando o elevado valor nutricional deste fruto.

Quanto ao teor de lipídeos, comparando os dados das polpas com as cascas dos frutos de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé, pode-se verificar que as cascas analisadas apresentaram quantidades de lipídeos maiores que suas respectivas partes comestíveis (**Tabela 1**). As polpas de inharé apresentaram a maior quantidade de lipídeos, 0,67%, dentre as polpas dos frutos estudados (**Tabela 1**). O valor encontrado foi semelhante ao valor encontrado por Land et al¹², de 0,60%. Os lipídeos, também chamados de gordura, são denominados nutrientes combustíveis pelo seu elevado potencial calórico. Além da sua função energética, agem como “carregadores” de vitaminas lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K), pois, sem estes, as vitaminas não são introduzidas no organismo^{29,30}.

Por outro lado, dentre as polpas dos frutos analisados neste estudo, o inharé apresentou considerável teor de açúcares totais, 20,83%, e maior valor energético, 102,11 Kcal/100 g (**Tabela 1**). Este valor corresponde cerca de 5% das necessidades calóricas de um adulto com uma dieta de 2.000 Kcal²¹. Land et al¹² observaram resultado inferior para as polpas de inharé, 65,2 Kcal/100 g. Vale ressaltar que, os frutos podem sofrer variações no seu conteúdo de metabólitos bioativos e nutricionais. Por último, foi determinado o valor energético total nas cascas de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé que foram de 57,85 Kcal/100 g, 155,51 Kcal/100 g e 107,36 Kcal/100 g, respectivamente (**Tabela 1**). Nenhum dado nutricional com as cascas destes frutos foi encontrado em outros estudos.

Ao que se refere aos compostos bioativos, as polpas de inharé apresentaram quantidade de carotenoides totais superior, 7,02 mg/100 g, quando comparados com os valores das polpas de cajuzinho do cerrado e curriola (**Tabela 2**). Dentre os frutos do Cerrado, o buriti possui o maior teor de carotenoides totais, 44,60 mg/100 g³¹, seguido pelo pequi que apresenta cerca de 7,46 mg/100 g³². Em regiões brasileiras, em que a deficiência de vitamina A é considerada um problema nutricional⁶⁻⁸, tais frutos podem complementar a dieta da população de diferentes faixas etárias. Já as cascas de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé apresentaram teor de carotenoides totais de 6,55 mg/100 g, 1,27 mg/100 g e 7,54 mg/100 g, respectivamente, maior que aqueles presentes nas polpas (**Tabela 2**). Tanto nas polpas quanto nas cascas destes frutos, o conteúdo de carotenoides pode ser afetado por diversos fatores como condições geográficas e climáticas de produção, estágio de maturação, manuseio durante e pós-colheita, processamento e estocagem⁷.

Pôde-se verificar a diferença entre as polpas e cascas dos frutos em relação aos parâmetros analisados (**Tabela 1** e **Tabela 2**). As cascas apresentaram quantidades de nutrientes e carotenoides totais maiores que suas respectivas polpas. Estes dados corroboram com estudos da literatura, que afirmam que as cascas dos frutos geralmente são descartadas por ser consideradas indigestas ou contaminadas por patógenos. No entanto, é mais rica em compostos nutritivos que suas polpas comestíveis³³. Além disso, a avaliação do valor nutricional e de carotenoides destes frutos maduros sugerem que as cascas, além das polpas sejam uma fonte potencial de componentes de alto valor para alimentos funcionais, bem como para fins nutricionais e farmacêuticos.

CONCLUSÃO

As análises *in natura* dos frutos de cajuzinho do cerrado, curriola e inharé mostraram que as cascas dos frutos, em geral, continham teores de nutrientes e carotenoides totais maiores que suas respectivas polpas. Os frutos de cajuzinho do cerrado destacaram-se por apresentar expressiva quantidade de carotenoides totais nas cascas e polpas e, a curriola por exibir cascas com alto Valor Energético Total. Já o inharé mostrou alto teor de proteínas nas cascas e nas polpas, quando comparado a outros frutos. Estes resultados exprimem o potencial dos frutos do Cerrado mato grossense como alimento nutritivo e funcional, capaz de contribuir para o enriquecimento da dieta da população regional e no desenvolvimento de novos produtos com potencial nutritivo e/ou nutracêutico.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Avançado Lucas do Rio Verde (edital interno 004/2018 IFMT/LRV).

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Avançado Lucas do Rio Verde, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA - UNICAMP. 4.ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA – UNICAMP; 2011.161p [acesso 2020 Jan 14]. Disponível em:
https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf
2. Ministério do Meio Ambiente. Bioma Cerrado. [acesso 2020 Jan 14]. Disponível em:
<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>
3. Neri-Numa IA, Soriano Sancho RA, Pereira APA, Pastore GM. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. Food Res Int. 2018;103: 345-60.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.053>
4. Vieira RF, organizador. Frutas nativas da região Centro-Oeste. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006. 320p.
5. Bailão EF, Devilla IA, da Conceição EC, Borges LL. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. Int J Mol Sci. 2015;16(10): 23760-83.
<https://doi.org/10.3390/ijms161023760>
6. Gaino NM, Silva MV. Disponibilidade de carotenoides. J Brazilian Soc Food Nutr. 2012;37(3):227-44.
<http://dx.doi.org/10.4322/nutrire.2012.018>
7. Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, Bolhassani A. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. Br J Pharmacol. 2017;174(11):1290–324.
<https://doi.org/10.1111/bph.13625>
8. Ribeiro RV, Bieski IGC, Balogun SO, Martins DTO. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion Mato Grosso, Brazil. J Ethnopharmacol. 2017;205:69–102.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.023>
9. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cajuzinho-do-cerrado. Caderno do Agente de Assistência Rural: Brasília; 2017.
10. Rodrigues PM, Dutra Gomes JV, Jamal CM, Cunha-Neto A, Santos ML, Fagg CW et al. Triterpenes from *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. Leaves (Sapotaceae). Food Chem Toxicol. 2017;109(Pt 2):1063-8.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.026>

11. Tuttis K, da Costa DLMG, Nunes HL, Specian AFL, Serpeloni JM, Santos LC et al. *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. extract: Flavonoids quantification and chemopreventive effect on HepG2 cells. J Toxicol Environ Health A. 2018;81(16):792-804.
<https://doi.org/10.1080/15287394.2018.1491911>
12. Land LRB, Borges FM, Borges DO, Pascoal GB. Proximate composition, bioactive compounds and physico-chemical parameters of mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Tréc) from Cerrado Mineiro. Demetra. 2017;12(2):509-18.
<https://doi.org/10.12957/demetra.2017.25465>
13. Silva DB, Vieira RF, Cordeiro MCT, Pereira EBC, Pereira AV. Propagação vegetativa de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (mama-cadela) por estacas de raízes. Rev Bras Plantas Med. 2011;13(2): 151-6.
<https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200005>
14. Machado RD, de Moraes MC, da Conceição EC, Vaz BG, Chaves AR, Rezende KR. Crude plant extract versus single compounds for vitiligo treatment: ex vivo intestinal permeability assessment on *Brosimum gaudichaudii* Trécül. J Pharm Biomed Anal. 2020;191:113593.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113593>
15. Martins FS, Pascoa H, de Paula JR, da Conceição EC. Technical aspects on production of fluid extract from *Brosimum gaudichaudii* Trécül roots. Pharmacop Mag. 2015;11(41):226-31.
<https://doi.org/10.4103/0973-1296.149742>
16. Porto RGCL, Fett R, Areas JAG, Brandao ACAS, Morgano MA, Soares RAM. Bioactive compounds, antioxidant activity and minerals of 'Cajuí' (*Anacardium humile* St. Hill) during the ripening. Afr J Agric Res. 2016;11(48):4924-30.
<https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11455>
17. Bonacorsi C, da Fonseca LM, Raddi MS, Kitagawa RR, Vilegas W. Comparison of brazilian plants used to treat gastritis on the oxidative burst of *Helicobacter pylori*-stimulated neutrophil. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:851621.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/851621>
18. De Gouveia NM, de Albuquerque CL, Espindola LS, Espindola FS. *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemic level in mice. An Acad Bras Cienc. 2013;85(3):1141-8.
<https://doi.org/10.1590/S0001-37652013000300016>
19. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4. ed. [1. ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. Disponível em:
http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf
20. AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the AOAC International. 19th edition. Washington: AOAC, 2012.
21. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 dez 2003. Seção 1(251):33-4.
22. Rodriguez-Amaya, D. A Guide to carotenoids analysis in food. Washington: International Life Sciences Institute Press; 2001. p.64.

23. Granato D, organizador. Análises químicas: Propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016.

24. Rocha MS, Figueiredo RW, Araújo MAM, Moreira-Araújo RSR. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do Cerrado Piauiense. Rev Bras Frutic. 2013;35(4):933-41.
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400003>

25. Morzelle MC, Bachiega P, Souza EC, Vilas-Boas EVB, Lamounier ML. Caracterização física e química de frutos de Curriola, Gabiroba e Murici provenientes do cerrado brasileiro. Rev Bras Frutic. 2015;37(1):96-103.
<http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-036/14>

26. Gomes JC. organizador. Análise Físico-química de Alimentos. Viçosa: UFV; 2011.

27. Shams-White MM, Chung M, Du M, Fu Z, Insogna KL, Karlsen MC et al. Dietary protein and bone health: a systematic review and meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. Am J Clin Nutr. 2017;105(6):1528-43.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.116.145110>

28. Oliveira VF, Silva FG, Resende EC, Pereira PS, Silva FHL, Egea MB. Physicochemical characterization of 'Cerrado' cashew (*Anacardium othonianum* Rizzini) fruits and pseudofruits. J Sci Food Agric. 2019; 99(14):6199-208.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9892>

29. Oliveira CK, organizador. Jatobá do cerrado: composição nutricional e beneficiamento dos frutos. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados; 2010.

30. FIB- Food Ingredients Brasil. Lipídios e suas principais funções. Food ingredients Brasil. 2016;37:64-70. Disponível em:
https://revista-fi.com/upload_arquivos/201606/2016060302199001466684258.pdf

31. Pereira Freire JA, Barros KBNT, Lima LKF, Martins JM, Araujo YC, da Silva Oliveira GL et al. Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*. J Food Sci. 2016;81(11):2611-22.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13529>

32. Lima A, Silva AMO, Trindade RA, Torres RP, Mancini-Filho J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Rev Bras Frutic. 2007;29(3):695-8.
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300052>

33. Dabbou S, Maatallah S, Castagna A, Guizani M, Sghaeir W, Hajjaloui H. Carotenoids, Phenolic Profile, Mineral Content and Antioxidant Properties in Flesh and Peel of *Prunus persica* Fruits during Two Maturation Stages. Plant Foods Hum Nutr. 2017;72(1):103-10.
<https://doi.org/10.1007/s11130-016-0585-y>





Comparação de rótulos de doces *diet* e convencionais disponíveis aos consumidores: estudo exploratório descritivo com base na legislação federal vigente

Comparison of labels of twelve diets and conventional ones available to consumers: descriptive exploratory study based on current federal legislation

Natália de Oliveira CAETANO¹, Rejane da Conceição COIMBRA¹, Anne Danieli Nascimento SOARES¹ , Nathalia Sernizon GUIMARÃES¹ , Rosimar Regina da SILVA^{1*} 

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas – *Campus* Barbacena, Nutrição, Barbacena, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

Este estudo tem como objetivo avaliar o custo e as conformidades das informações nutricionais nos rótulos dos doces *diet* e convencionais de acordo com as legislações vigentes. Trata-se de estudo exploratório descritivo em que foram avaliados 22 rótulos de doces *diet* e 22 correspondentes convencionais, da mesma marca de supermercados em Barbacena, Minas Gerais. Verificou-se a conformidade dos dados obtidos nos rótulos com as Resoluções RDC nº 360/2003; nº 359/2003; nº 259/2002, Portaria nº 29/1998 e Lei Federal nº 10.674/2003. Em relação às RDC nº 360/2003 e nº 259/2002, os produtos avaliados não apresentaram irregularidades. Entretanto, segundo a RDC nº 359/2003 observou-se que 9% nos doces *diet* e 9% dos doces convencionais estavam irregulares. De acordo com a Portaria nº 29/1998 houve 4,5% de irregularidades nos doces *diet*. As irregularidades apontadas por este estudo demonstram a necessidade de maior fiscalização dos órgãos competentes, pois a ausência de informações pode interferir na saúde dos consumidores, especialmente o público com necessidades específicas. As ausências de conformidades nos rótulos podem estar relacionadas a interpretação errônea da sociedade durante a escolha e a aquisição dos alimentos.

Palavras chaves. Informação Nutricional, Alimento *Diet*, Rotulagem Nutricional, Legislação.

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the cost and nutritional information of the labels of diet sweet and conventional sweet according to current legislation. It is an exploratory descriptive study evaluating 22 labels of diet sweets and 22 labels of their conventional correspondents, in supermarkets of Barbacena, Minas Gerais. It was verified the compliance of the data obtained on the labels with the RDC resolutions No.360/2003; No.359/2003; No. 259/2002, Ordinance No. 29/1998 and Federal Law No.10 674/2003. In relation to RDC No.360/2003 and No.259/2002, the evaluated products did not show irregularities. However, according to RDC No.359/2003, it was observed that 9% of diet sweets and 9% of conventional sweets were irregular and, according to Ordinance No. 29/1998, there were 4.5% irregularities in the diet sweets. The irregularities found by this study highlight the need for a greater control by the competent bodies since the lack of information can interfere with the health of consumers, especially the public with specific needs. The absence of conformities may be related to the misinterpretation of society during the choice and purchase of food.

Keywords. Nutritional Facts, Food, Nutritional Labeling, Legislation.

*Autor de correspondência/Corresponding author: rosimar.regina@ifsudestemg.edu.br

Recebido/Received: 23.04.2020 - Aceito/Accepted: 20.01.2021

INTRODUÇÃO

O consumo alimentar da população brasileira vem sofrendo transições ao longo do tempo. Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares, a ingestão de alimentos processados ricos em gorduras, açúcares, sódio e baixo teor de fibras têm aumentado em detrimento ao consumo de alimentos *in natura*, ricos em fibras, vitaminas e minerais. Este perfil alimentar tem sido associado ao aumento da incidência das doenças crônicas não transmissíveis^{1,2}, como o *diabetes mellitus* prevalente em 7,4% dos brasileiros³.

Os alimentos processados que tenham como objetivo fornecer aporte específico e controlado de nutrientes auxiliando na terapia nutricional de distúrbios fisiológicos ou transtornos do metabolismo são denominados como alimentos para fins especiais⁴. Os alimentos *diet* são alimentos especialmente formulados ou processados restringindo algum macro ou micronutriente, dentre os quais: carboidratos (açúcares), sódio, gorduras (saturadas, *trans* ou colesterol), e aminoácidos ou proteínas, a fim de atender às necessidades de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas⁵. Sugere-se aos indivíduos diabéticos o consumo de alimentos *diet* com restrição em carboidratos, na busca de sua diminuição na dieta⁶.

De acordo com Lohn et al⁷ a busca por uma alimentação alternativa é, sem dúvida, uma realidade nos dias de hoje e com isso o consumo de alimentos *diet* e *light* vem sofrendo significativo aumento.

Dentre os ingredientes presentes nos doces *diet* estão os edulcorantes, que são produtos formulados com poder adoçante, que pode substituir a glicose, frutose ou sacarose, podendo auxiliar no controle glicêmico em pacientes diabéticos⁸.

A rotulagem nutricional é uma importante ferramenta utilizada em terapia nutricional para informar ao paciente quais são e em qual quantidade os nutrientes estão disponíveis no produto, sendo uma fonte de informação entre a indústria e o consumidor. Por meio da rotulagem é possível identificar se o produto é *diet*, qual nutriente está restrito, seu valor calórico, as quantidades dos nutrientes e os ingredientes adicionados⁹. Portanto, a rotulagem adequada é fundamental para a segurança alimentar, além de ser uma medida de apoio na promoção de hábitos alimentares mais saudáveis, auxiliando os consumidores a tomarem decisões de compra¹⁰.

O monitoramento e a fiscalização do cumprimento das legislações vigentes em relação à rotulagem destes produtos devem ser realizados pelos órgãos de vigilância, que permite a garantia da qualidade dos alimentos¹¹. Diante do crescente número de pessoas que necessitam do uso de produtos *diet* e sabendo da importância da informação fidedigna nos rótulos, o objetivo deste estudo foi avaliar o custo e a conformidade das informações nutricionais nos rótulos dos doces *diet* e convencionais de acordo com as legislações vigentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Trata-se de estudo exploratório descritivo em que foram avaliados 44 rótulos de doces encontrados nos supermercados da cidade de Barbacena, Minas Gerais, sendo 22 doces *diet* e os 22 correspondentes convencionais, da mesma marca. Para compor a amostra foram selecionados apenas os doces que tinham sua versão convencional e *diet*. A coleta das informações dos rótulos nutricionais foi realizada entre os meses de setembro e outubro de 2018 e os doces estudados foram: chocolate (n=3); doce de leite (n=4); figo em calda (n=1); pêssego em calda (n=2); gelatina (n=2); pudim (n=2); geleia (n=5); paçoca (n=1); ambrosia (n=1) e bala de gelatina (n=1).

Os rótulos das variadas marcas foram divididos em duas categorias, sendo elas: A) para produtos convencionais e B) para os produtos *diet*, sendo ambos numerados de 1 a 22.

Avaliação da rotulagem

Para a avaliação das tabelas nutricionais das diferentes marcas de produtos foram utilizados como referência alguns estudos¹²⁻¹⁴ e os rótulos avaliados segundo as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) e Portarias vigentes.

Foram analisados os seguintes itens nos dois tipos de produtos: declaração de valor energético e dos nutrientes, percentual dos valores diários de referência e modelos de rotulagem nutricional (vertical ou horizontal) segundo a RDC nº 360/2003⁴; denominação de venda, conteúdo líquido, indicação do lote e prazo de validade, modo de conservação e preparo, identificação de origem (nome e endereço completo do fabricante ou importadora), informações que podem induzir o consumidor ao erro/declaração de presença ou ausência de componente que sejam intrínsecos ou próprios de alimentos de igual natureza, idioma, tamanho da letra, lista de ingredientes de acordo com a RDC nº 259/2002¹⁵; declaração da porção e medida caseira conforme RDC nº 359/2003¹⁶ e presença da advertência “CONTÉM GLÚTEN” ou “NÃO CONTÉM GLÚTEN” segundo a Lei Federal nº 10.674/2003¹⁷.

A adequação ao regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais, a Portaria nº 29/1998⁹, foi utilizada somente para os doces *diet* sendo considerados os itens: instrução dos cuidados de conservação e armazenamento antes e depois de abrir a embalagem (quando for necessário), presença das frases em destaque e negrito: “**Diabéticos contém:** (mono e/ou dissacarídeos)”, “**Este produto pode ter efeito laxativo**” (quando for o caso), “**Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico**” e “**Contém fenilalanina**” (para os alimentos nos quais havia adição de aspartame). Os produtos *diet* e convencionais estudados foram classificados em: produtos conforme (C) quando atenderam à legislação vigente, não conforme (NC) quando apresentaram no mínimo uma divergência e não se aplica (NA), para os que não se adequaram nos itens anteriores.

Avaliação da composição nutricional e do preço comercial

Foram comparados entre os doces *diet* e convencionais da mesma marca os seguintes dados: valor energético (kcal/100g), quantidade de carboidrato (g/100g), proteína (g/100g), gorduras totais (g/100g), saturada e *trans* (g/100g), fibra alimentar (g/100g) e sódio (mg/100g) e preço comercial (R\$/100g). Foi realizada também a verificação dos tipos de edulcorantes utilizados na lista de ingredientes nos diferentes produtos.

Análise estatística

Os dados coletados foram duplamente digitados utilizando o programa Microsoft Excel® 2013. Após a tabulação dos dados foi realizada a avaliação da consistência, a fim de garantir a autenticidade e a confiabilidade das informações e posterior análise.

Os valores energéticos, teores de carboidratos, proteínas, gorduras totais, saturadas, *trans*, fibras, sódio, assim como custos dos produtos *diet* e convencionais foram descritos como média e erro padrão e comparados aos valores dos respectivos produtos convencionais através do teste t-*Student*, a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando-se o programa Sigma Plot® versão 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na **Tabela** estão expostos os itens analisados em relação às RDC nº 360/2003⁴, nº 259/2002¹⁵, nº 359/2003¹⁶, Portaria nº 29/1998⁹ e Lei Federal nº 10.674/2003¹⁷. Entre os produtos analisados pode-se observar que 11,4% (n=5, 1A, 6A, 1B, 6B e 11B) apresentaram irregularidades. Em relação à RDC nº

359/2003¹⁶, observou-se que em 9% (n=2, 1A e 6A) dos produtos convencionais e 9% (n=2, 1B e 6B) dos produtos *diet* não apresentaram a descrição da porção e da medida caseira corretamente e 4,5% (n=1, 11B) dos produtos *diet* apresentou não conformidade em relação à Portaria nº 29/1998⁹ por não apresentar a frase “Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico”. Em relação à RDC nº 360/2003⁴ e RDC nº 259/2002¹⁵ não foram encontradas irregularidades nos rótulos avaliados.

Tabela. Quantidade de doces com irregularidades, de acordo com os itens analisados das RDC nº 360/2003, nº 259/2002, nº 359/2003, Lei Federal nº 10.674/2003 e Portaria nº 29/1998, comercializados nos supermercados de Barbacena-MG no período de setembro e outubro de 2018

Itens analisados	Produtos com irregularidades n (%)	
	Convencional (n=22)	<i>Diet</i> (n=22)
RDC nº 360/2003		
Declaração de valor energético, carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras <i>trans</i> , fibra alimentar e sódio	0	0
Percentual de valores diários de referência com base em uma dieta de 2000 kcal (8400 kJ)	0	0
Modelo de rotulagem nutricional (vertical ou horizontal)	0	0
RDC nº 259/2002		
Denominação de venda	0	0
Conteúdo líquido	0	0
Identificação do lote	0	0
Prazo de validade	0	0
Modo de conservação e preparo	0	0
Identificação de origem (nome e endereço completo do fabricante ou importador)	0	0
Informações que podem induzir o consumidor ao erro/ declaração de presença ou ausência de componente que sejam intrínsecos ou próprios de alimento de igual natureza	0	0
Tamanho da letra	0	0
Lista de ingredientes	0	0
RDC nº 359/2003		
Declaração da porção e medida caseira	2 (9%)	2 (9%)
Lei Federal nº 10.674/2003		
Presença da advertência “CONTÉM GLÚTEN” ou “NÃO CONTÉM GLÚTEN”	0	0
Portaria nº 29/1998		
Presença da frase “Diabéticos contém (especificação do mono e/ou dissacarídeo)”	-	0
Presença da frase “Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico”	-	1 (4,5%)
Presença da frase em destaque e negrito “Este produto pode ter efeito laxativo” (quando for o caso)	-	0

Continua na próxima página

Continuação

Itens analisados	Produtos com irregularidades n (%)	
	Convencional (n=22)	Diet (n=22)
Portaria nº 29/1998		
Presença da advertência “Contém fenilalanina” (para os alimentos com adição de aspartame)	-	0
Instrução para os cuidados de conservação e armazenamento antes e depois de abrir a embalagem (quando for necessário)	-	0
Total de não conformidades	2 (9%)	3 (13,6%)

Mello e Pascoal¹² analisaram 120 rótulos, sendo que 82 eram doces *diet* e 38 rótulos de alimentos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde. No que se refere às RDC nº 359/2003¹⁶ e nº 360/2003⁴, 12,1% dos doces *diet* estavam irregulares. A principal inconformidade encontrada foi a não apresentação da quantidade de açúcares, ou de outros carboidratos, em produtos que realizaram declarações de propriedades nutricionais relacionadas ao tipo e/ou a quantidade de carboidratos. Ainda em relação à RDC nº 359/2003¹⁶, dois produtos *diet* estavam irregulares quanto à descrição da porção. Os resultados do estudo também demonstraram que 28,09% dos doces *diet* estavam em não conformidade com a RDC nº 259/2002¹⁵, sendo que as três principais inadequações encontradas foram: não haver instrução de uso (n=11), não identificação adequada do lote (n=10) e não apresentação do prazo de validade (n=9).

A rotulagem de alimentos para fins especiais, que no presente estudo tratou-se dos alimentos com restrição de açúcares, e, portanto, destinado a portadores de *diabetes mellitus*, deve estar adequada segundo as orientações previstas na legislação. Outros estudos têm demonstrado irregularidades nas rotulagens de produtos para fins especiais quando comparados às legislações vigentes¹¹⁻¹⁴.

As inadequações encontradas em rótulos desses alimentos comprometem o entendimento do consumidor dificultando o processo de aquisição de tais produtos de acordo com as suas necessidades e interferindo assim no direito do consumidor¹⁰.

Em estudo realizado por Barros et al¹ foram verificadas irregularidades em 39% dos rótulos. Em outro estudo realizado por Braga et al¹⁸, a análise da rotulagem de 43 produtos *light* e *diet* demonstraram que 55,5% dos produtos *diet* e 31,25% dos produtos *light* apresentaram irregularidades em seus rótulos e 18,5% dos produtos *diet* não apresentaram informação referente à porção em medida caseira. Ainda os autores verificaram que 25,9% dos produtos *diet* estavam irregulares quanto à ausência da frase “Diabéticos consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico” e 14,8% dos produtos *diet* não continham a informação: “Diabéticos contém...”.

A avaliação dos rótulos de produtos *diet* no estudo de Mello e Pascoal¹² segundo a Portaria nº 29/1998⁹ também demonstrou que 68,29% dos doces *diet*, estavam em não conformidade, sendo que as três principais irregularidades encontradas foram com relação às frases previstas em legislação “Este produto pode ter efeito laxativo” e/ou “Consumir preferencialmente sob orientação nutricional ou médico” e a não instrução quanto aos cuidados de conservação e armazenamento, antes e depois de abrir a embalagem.

A ausência da alegação “Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico”, ainda que encontrada no presente estudo em apenas 4,5% (n=1) merece atenção especial, pois pode induzir o consumidor ao uso inadequado de tais produtos que possuem necessidades específicas, sem a orientação de profissionais específicos da área, podendo gerar prejuízo à sua saúde e conseqüentemente afetar a qualidade de vida.

Em um estudo realizado por Machado et al¹³, que avaliaram a rotulagem de 41 alimentos *diet* e

light, 31,7% apresentaram irregularidades. De acordo com a Portaria nº 29/1998⁹, os autores também encontraram não conformidade (14,3%) em relação à alegação “Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico”.

A análise de rótulos de chocolates *diet* no estudo de Antunes¹⁴ demonstrou que 40% dos produtos apresentaram inadequações em relação à descrição da porção. Os resultados do estudo também demonstraram não conformidades referentes à Portaria nº 29/1998⁹, em que 40% dos chocolates *diet* apresentaram inadequação quanto à utilização da frase “Diabéticos contém (especificar mono e dissacarídeos) e 55% quanto a orientação “Consumir preferencialmente sob orientação de nutricionista ou médico”.

Em relação aos edulcorantes observou-se que dos 22 produtos convencionais analisados, 13,6% continham o aditivo e 90,9% dos produtos *diet* continham em sua composição mais de um tipo de edulcorante. A **Figura 1** demonstra os principais edulcorantes utilizados nos produtos convencionais e *diet*, em percentual: sorbitol (32%); sucralose (27%); aspartame (20%); ciclamato de sódio e sacarina sódica (16%); acessulfame-k (9%); maltitol (9%); stévia (4%) e isomalte (2%). Os edulcorantes encontrados nos produtos convencionais foram: aspartame, ciclamato de sódio e sacarina sódica.

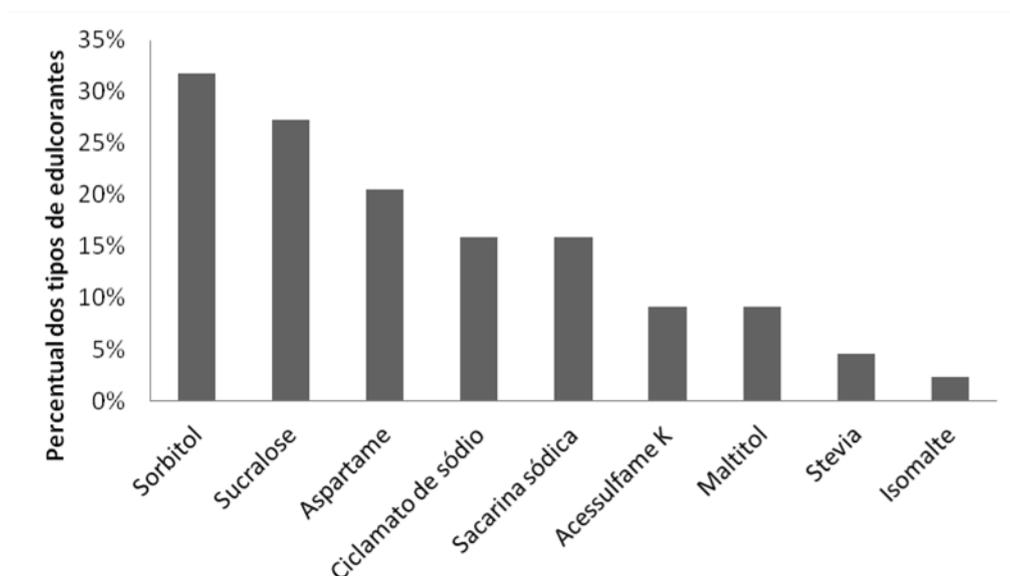


Figura 1. Representação do percentual dos tipos de edulcorantes encontrados nos produtos *diet* e convencionais comercializados nos supermercados de Barbacena-MG, 2018

Os edulcorantes são considerados substâncias altamente eficazes na substituição ao açúcar, devido à sua alta capacidade de adoçar em pequenas concentrações. É de suma importância conhecer o tipo de edulcorante presente nos ingredientes dos produtos *diet*, pois cada um possui características benéficas e/ou malélicas para o organismo humano, dessa forma o consumidor conseguirá distinguir o edulcorante com as informações contidas na rotulagem.

Vários adoçantes comercializados contêm dois ou mais edulcorantes em suas fórmulas, segundo Torloni et al¹⁹, essa mistura tem como objetivo potencializar as vantagens de cada edulcorante e neutralizar as desvantagens, principalmente o sabor residual. Isso justifica a presença de diferentes edulcorantes encontrados em um mesmo produto, observadas neste estudo.

O edulcorante mais utilizado foi o sorbitol, estando presente em 32% (n=14) dos produtos analisados, em 6 marcas diferentes. De acordo com Ferreira²⁰, esse edulcorante tem como característica

evitar o ressecamento desses produtos. O sorbitol apresenta efeito positivo no tratamento do diabetes, pois sua absorção é mais lenta quando comparada com a glicose. Entretanto, doses superiores a 20 a 30 g/dia de sorbitol produzem efeito diurético e doses superiores a 30 a 70 g/dia causam diarreia podendo também agravar a sintomatologia em indivíduos com síndrome do intestino irritável e reduzir a absorção da frutose mesmo em dosagens baixas²¹.

O segundo edulcorante mais utilizado foi a sucralose. Esta substância possui pontos positivos, pois não induz a formação de cáries, não possui efeitos teratogênicos, de toxicidade ou carcinogenicidade e não possui contraindicações. Além disso, possui boa solubilidade em água e estabilidade^{21,22}.

Em relação ao edulcorante aspartame, também encontrado como ingrediente dos produtos analisados, as pesquisas demonstram que o seu consumo é seguro para o organismo humano, mas é contraindicado para indivíduos portadores de fenilcetonúria, doença hereditária em que se deve restringir a ingestão do aminoácido fenilalanina²¹. Já o consumo da sacarina e do ciclamato é seguro, mas há contraindicações em situações clínicas de hipertensão e doença renal. Todos os edulcorantes são desprovidos de valor energético^{21,23}.

Os aditivos (edulcorantes), presente nos alimentos *diet* são de grande importância para os consumidores que necessitam de uma alimentação específica, a presença destes nos alimentos principalmente aqueles com restrição em carboidratos, possibilitam que os diabéticos tenham acesso a diversos alimentos aumentando assim a diversidade, a aceitação da doença e a melhora na qualidade de vida²⁴.

A **Figura 2** demonstra a comparação entre os preços dos doces convencionais e *diet*, na quantidade de 100 gramas do produto. Os produtos *diet* obtiveram uma média de preço comercial de R\$ 8,68 ± R\$ 0,62 maior que os produtos convencionais de R\$ 4,53 ± 1,45. Vale ressaltar a importância da compreensão da rotulagem nutricional, o que irá propiciar a escolha de um produto *diet* composto por um edulcorante que ofereça maior benefício ao organismo, uma vez que o consumidor irá pagar um valor superior.

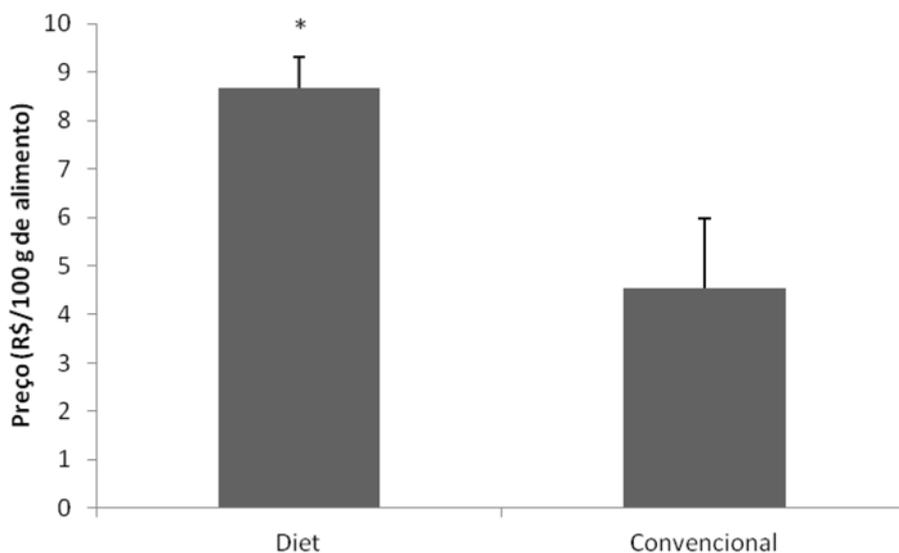


Figura 2. Comparação do preço dos produtos *diet* e convencional. Os dados expressos com médias ± erro padrão. *indica uma diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao custo do alimento convencional

O fator socioeconômico pode influenciar nas escolhas do consumo de alimentos *diet*, já que famílias que possuem melhor condição financeira tem maior acesso a estes produtos. Segundo Oliveira e

Hoffmann²⁵, a escolaridade pode ser outro fator que desempenha papel crucial na escolha correta de tais produtos devido à melhor compreensão dos dados expostos na rotulagem.

A comparação entre a composição nutricional dos produtos convencionais e *diet*, não demonstraram diferenças significativas entre as quantidades de proteínas, gorduras totais, gorduras *trans*, gorduras saturadas, fibras alimentares e sódio. No entanto, os valores energéticos e teores de carboidratos foram significativamente maiores nos alimentos convencionais quando comparados aos alimentos *diet* (Figura 3 e Figura 4). Isto sugere que a quantidade de gordura não influenciou no valor energético, e sim a retirada do carboidrato.

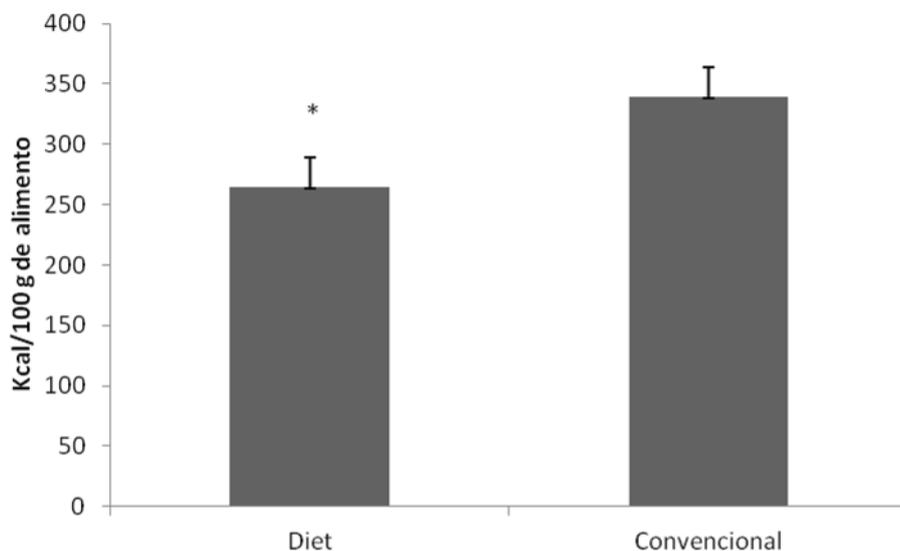


Figura 3. Quantidade de quilocalorias (kcal) por 100g do produto. Os dados estão expressos como médias \pm erro padrão. *indica uma diferença significativa ($p < 0,05$) em ao valor calórico do alimento convencional

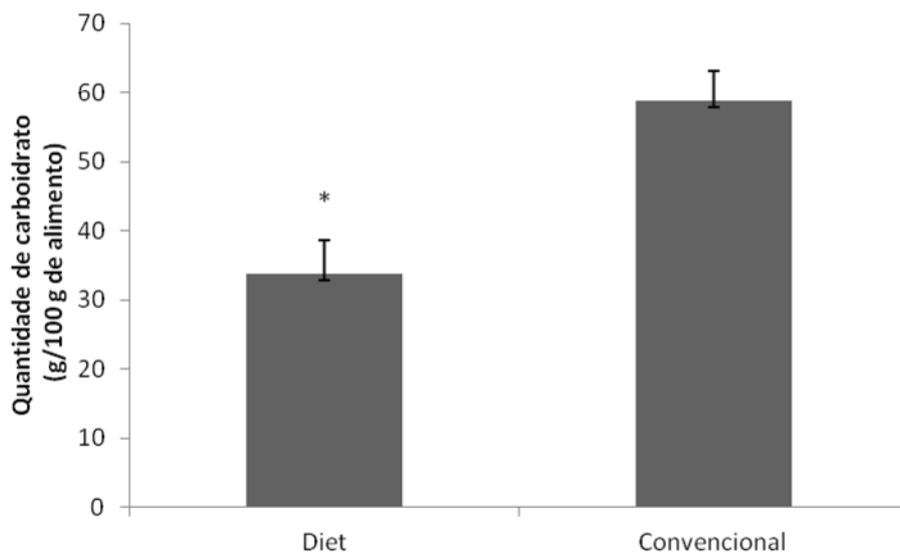


Figura 4. Quantidade de carboidrato (g) para 100g do produto. Os dados estão expressos como médias \pm erro padrão. *indica uma diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao teor de carboidratos do alimento convencional

O consumo na quantidade correta, de acordo com a prescrição nutricional é fundamental para prevenção do surgimento de doenças, promoção e recuperação da saúde, combatendo as carências nutricionais específicas e doenças cardiovasculares²⁶.

Corroborando com o estudo de Ribeiro et al²⁷, que avaliaram as características físico-químicas e sensoriais de doce de leite *diet* fabricado com sucralose, litisse® e lactitol®, não houve diferença significativa em relação a composição nutricional de doces de leite *diet* quando comparados aos convencionais (com adição de sacarose).

É importante lembrar que a restrição de carboidratos em um produto *diet* nem sempre reduz o valor energético do alimento. Há situações em que apresentam valores aumentados em relação ao alimento convencional, como nas substituições de carboidratos por gorduras. Essa situação pode ser observada em 9% dos doces *diet* avaliados neste trabalho, que possuíam quantidades de proteína e gordura total superiores em relação aos produtos convencionais avaliados, o que resultou num aumento do valor energético. Portanto, nem sempre um produto *diet* pode ser utilizado em dietas para redução de peso, sendo de grande importância a consulta da informação nutricional.

CONCLUSÃO

Com os resultados encontrados neste estudo conclui-se a necessidade de maior fiscalização da rotulagem de alimentos pelos órgãos competentes a fim de garantir a qualidade das informações, cobrindo a totalidade dos produtos dispostos aos consumidores. As ausências de conformidades encontradas nos rótulos analisados neste estudo podem estar relacionadas à interpretação errônea da sociedade durante a escolha e a aquisição dos alimentos, interferindo consequentemente, de modo negativo, no direito do consumidor e na saúde do mesmo.

Além da seriedade das informações declaradas sugere-se o desenvolvimento de metodologias sensíveis para detecção de quantidade ínfima de ingredientes ou substâncias nocivas à saúde da população. No que se refere à composição nutricional houve redução significativa da quantidade de carboidratos e do valor energético dos doces *diet* em relação aos produtos convencionais, e estas alterações nos produtos *diet* acarretam um aumento no custo destes, em relação aos produtos convencionais.

Outra informação importante se refere aos edulcorantes, sendo o sorbitol o edulcorante mais frequente nos alimentos *diet* avaliados, no qual foi observada grande variedade destes aditivos, cabendo ao consumidor conhecer e escolher o que melhor atende às suas necessidades e ofereça maior custo-benefício.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS

1. Barros NVA, Rodrigues Batista LP, Raposo Ladim LAS, Bezerra Leal MJ, Costa NQ, Barbosa Hipólito TL et al. Análise de rotulagem de alimentos *diet* e *light* comercializados em Teresina- PI. Ensaios e Ciências: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. 2012;16(4):51-60. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=26029236004>

2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2014;37(Suppl 1):S81-90.
<https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
3. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes Aegypti* (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 15. Bol Epidemiol. 2020;51(16). [acesso 2018 nov 13]. Disponível em:
<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/boletim-epidemiologico-svs-16-pdf>
4. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 dez 2003. Seção 1(251):33-4.
5. Sociedade Brasileira de Diabetes. Produtos dietéticos: diferença entre *diet* e *light*. 2014. [acesso 2018 nov 13]. Disponível em:
<https://diabetes.org.br/produtos-dieteticos-diferencas-entre-diet-e-light/>
6. Almeida LBC, Silva RSS, Sousa FCA. Alimentos funcionais no manejo do *diabetes mellitus* tipo 2: Uma abordagem Bibliográfica. Rev Ciênc Saberes. 2017;3(4):727-31. Disponível em:
<http://www.facema.edu.br/ojs/index.php/ReOnFacema/article/view/201/153>
7. Lohn SK, Eskelsen, MW, Ramos, RJ. Avaliação do conhecimento sobre produtos *diet* e *light* por funcionários e universitários de instituição de ensino superior. Hig Aliment. 2017;31(264/265):30-7. Disponível em:
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/03/832657/264-265-sitecompressed-30-37.pdf>
8. Zanini RV, Araújo CL, Martínez Mesa J. Utilização de adoçantes dietéticos entre adultos em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: um estudo de base populacional. Cad Saude Publica. 2011; 27(5):924-34.
<https://doi.org/10.1590/S0102-311X2011000500010>
9. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº 29 de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 30 mar 1998. Seção 1(60):2-3.
10. Araújo ACMF, Araújo WMC. Adequação à legislação vigente, da rotulagem de alimentos para fins especiais dos grupos alimentos para dietas com restrição de carboidratos e alimentos para dieta de ingestão controlada de açúcares. Hig Aliment. 2001;15(82):52-70. Disponível em:
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-284179>
11. Freitas JS, Damasceno KSFSC, Calado CLA. Rotulagem de alimentos lácteos: a percepção do consumidor. Hig Aliment. 2004;18(125):17-23. Disponível em:
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-89268>
12. Mello TCV, Pascoal GB. Análise crítica de rotulagem de doces diet e alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde. Linkania Rev Cient. 2014;8(1):42-58. Disponível em:
<https://linkania.org/master/article/view/154/104>

13. Machado SS, Silva TR, Oliveira NR, Blanco AJV. Avaliação da rotulagem de alimentos *diet* e *light*. XIII Safety, Health and Environment World Congress; outubro de 2013; Porto, Portugal. p. 270-273. Disponível em: <https://copec.eu/congresses/shewc2013/proc/works/63.pdf>
14. Antunes APF. Análise dos rótulos de chocolates *diet* de acordo com as legislações específicas e a compreensão dos consumidores sobre alimentos *diet* e *light*, informação nutricional, porção e medida caseira. [Trabalho de conclusão de curso]. Tubarão (SC): Universidade do Sul de Santa Catarina; 2018. Disponível em: <https://www.riuni.unisul.br/bitstream/handle/12345/5646/TCC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Ministério da Saúde (BR). Resolução RDC nº. 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova regulamento técnico para rotulagem de alimentos embalados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set. 2002. Seção 1(184):33-4.
16. Ministério da Saúde (BR). Resolução RDC nº359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1(251):28-32.
17. República Federativa do Brasil. Atos do Poder Legislativo. Sancionamento da Lei Federal no 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 19 mai. 2003. Seção 1(94):1.
18. Braga MM, Abreu ES, Chaud DMA. Avaliação dos rótulos de alimentos *diet* e *light* comercializados em um empório da cidade de São Paulo (SP). Rev Simbio - Logias. 2011; 4(6):98-107. Disponível em: <https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/educacao/revistasimbio-logias/avaliacao-dos-rotulos-de-alimentos-diet-e-light.pdf>
19. Torloni MR, Nakamura MU, Megale A, Sanchez VHS, Mano C, Fusaro AS et al. O uso de adoçantes na gravidez: uma análise dos produtos disponíveis no Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2007;29(5):267-75. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032007000500008>
20. Ferreira CZ. Composição de geleias de morango preparadas com açúcar, sucos de frutas ou edulcorantes. [Trabalho de conclusão de curso]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2013. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/7898/1/2013_CatherineZilaFerreira.pdf
21. Teixeira S, Gonçalves J, Vieira E. Edulcorantes: uso e aplicação na alimentação, com especial incidência na dos diabéticos. Rev SPCNA Alimentação Humana. 2011;17(1/2/3):47-54. Disponível em: <https://docplayer.com.br/23381013-Edulcorantes-uso-e-aplicacao-na-alimentacao-com-especial-incidencia-na-dos-diabeticos.html>
22. Lima WM, Azevedo S, Silva C, Souza I, Pereira WL, Souza AN et al. Edulcorantes nutritivos e não nutritivos. Rev Trab Acadêmicos. 2016; 6(2):1-16. Disponível em: <http://revista.universo.edu.br/index.php?journal=1CAMPOSDOSGOYTACAZES2&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=3454&path%5B%5D=2338>

23. Dossiê edulcorantes. Edulcorantes. Food Ingredients Brasil. 2013;24:28-52. Disponível em: https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060388823001464965762.pdf
24. Garcia PPC, Carvalho LPS Análise da rotulagem nutricional de alimentos *light* e *diet*. Ensaios e Ciências: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. 2011;15(4):89-103. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=26022135007>
25. Oliveira FCR, Hoffmann R. Consumo de alimentos orgânicos e de produtos *light* ou *diet* no Brasil: fatores condicionantes e elasticidades-renda. Rev Segur Aliment Nutr. 2015; 22(1):541-57. <https://doi.org/10.20396/san.v22i1.8641571>
26. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156 p.: il. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf
27. Ribeiro NMQ, Costa ECM, Morais AS, Rensis CMVB. Avaliação das características físico-químicas e sensoriais de doce de leite *diet* fabricado com Sucralose, Litesse® e Lactitol®. UNOPAR Cient., Ciênc Biol Saúde. 2009;11(1):21-5. Disponível em: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2009v11n1p%25p>





Qualidade da água utilizada em serviços de hemodiálise antes e após passar por sistema de tratamento em Santarém, Oeste do Pará, Amazônia

Quality of the water used in hemodialysis services before and after going through a treatment system in Santarém, Western Pará, Amazonia

Valeria de Sousa BENTES¹ , Marina Smidt Celere MESCHÉDE^{1*} 

¹Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, PA, Brasil.

RESUMO

A água utilizada em serviços de hemodiálise passa por um sistema de tratamento a fim de garantir que os parâmetros microbiológicos e físico-químicos estejam adequados e proporcionem segurança ao paciente. Este trabalho avaliou a qualidade da água antes e após esta passar por sistema de tratamento em dois serviços (A e B) de hemodiálise em Santarém. Foram coletadas amostras de água em três pontos: Ponto 1 (P1) após saída do poço, Ponto 2 (P2) na saída do tratamento e Ponto 3 (P3) na máquina de hemodiálise. Testes microbiológicos e físico-químicos foram realizados e os resultados mostraram que não houve crescimento de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras. No serviço A, houve contaminação por bactérias heterotróficas em 87% das amostras, destas, 27% ocorreram no P3. O pH mostrou-se menor que 6,0 no P1 nos dois serviços, normalizando os seus valores no P3. No serviço A, concentrações superiores ao recomendado de alumínio e nitrato foram verificadas em 100% das amostras coletadas no P1, os valores foram normalizados na saída do tratamento (P2). A pesquisa demonstrou que, para os parâmetros estudados, a qualidade da água, após passar por sistema de tratamento, é satisfatória, com exceção das bactérias heterotróficas no serviço A.

Palavras-chave. Diálise Renal, Unidades Hospitalares de Hemodiálise, Amostras de Água.

ABSTRACT

The water used in hemodialysis services goes through a treatment system in order to ensure that the microbiological and physicochemical parameters are adequate and provide safety to the patient. This work evaluated the quality of water before and after it went through a treatment system in two hemodialysis services (A and B) in Santarém. Water samples were collected at three points: Point 1 (P1) after leaving the well, Point 2 (P2) leaving the treatment and Point 3 (P3) on the hemodialysis machine. Microbiological and physical-chemical tests were performed and the results showed no growth of total coliforms and *Escherichia coli* in the samples. In service A, there was contamination by heterotrophic bacteria in 87% of the samples, 27% of which occurred in P3. The pH was less than 6.0 in P1 in both services, normalizing its values in P3. Service A, concentrations higher than the recommended amount of aluminum and nitrate were verified in 100% of the samples collected in P1, the values were normalized at the end of the treatment (P2). The research demonstrated that, for the studied parameters, the water quality, after going through a treatment system, is satisfactory, with the exception of heterotrophic bacteria in service A.

Keywords. Renal Dialysis, Hemodialysis Units, Hospital, Water Samples.

*Autor de correspondência/Corresponding author: marina.meschede@ufopa.edu.br

Recebido/Received: 14.10.2020 - Aceito/Accepted: 31.05.2021

INTRODUÇÃO

A necessidade de um controle rigoroso da água nos serviços de hemodiálise tornou-se algo de extrema importância para garantir uma melhor qualidade de vida aos pacientes submetidos a esse tratamento. A contaminação da água utilizada nos processos de hemodiálise pode acarretar implicações para a saúde humana como dores ósseas, picos hipertensivos, episódios hipotensivos, náuseas, vômitos entre outros¹.

Os portadores de Doença Renal Crônica (DRC) são os que mais frequentemente necessitam de procedimentos dialíticos, como a hemodiálise. A DRC é considerada como um problema relevante de Saúde Pública e de alta prevalência mundial². Os portadores de DRC, submetidos à hemodiálise, são particularmente vulneráveis à presença de contaminantes na água, uma vez que são expostos a cerca de 120 litros de dialisato através da via hematogênica por fistulas ou cateteres a cada sessão³.

A água utilizada para preparo do dialisato pelos serviços de hemodiálise deve apresentar qualidade adequada com base nos padrões de potabilidade estabelecidos pela Diretoria da Resolução Colegiada (RDC) nº11 de 2014⁴ do Ministério da Saúde que dispõe sobre os requisitos de boas práticas de funcionamento para os serviços de diálise. Para ter padrões aceitáveis, a água necessita passar por um processo de tratamento eficaz com o controle da matéria em suspensão e carga microbiológica, o qual se dá por meio da cloração⁴.

De maneira geral, a água utilizada deve passar por três etapas básicas de tratamento: o pré-tratamento, a purificação primária e a distribuição⁵. No pré-tratamento, utiliza-se uma filtração inicial da água em relação às partículas consideradas mais grosseiras, por meio de filtros com camadas de diferentes tamanhos. Ainda nessa etapa, alguns serviços podem utilizar abrandadores para a remoção, principalmente, de íons que se encontram em excesso na água⁵. No processo de purificação primária, emprega-se a técnica da osmose reversa que deverá remover mais de 95% dos contaminantes iônicos, retirando-se quase todos os minerais da água e constituindo uma barreira importante contra bactérias, endotoxinas, metais e outros compostos químicos⁶. Na etapa de distribuição da água tratada, todos os componentes que entram em contato com a água e com o dialisato devem ser constituídos de materiais inertes, como plástico, para evitar nova contaminação. O sistema de distribuição tende a ser configurado como uma alça e sua desinfecção precisa ser realizada regularmente para evitar contaminação microbiológica. Após passar por todas essas etapas, a água chega ao aparelho de hemodiálise, onde deverão ser adicionadas soluções de tamponamento como sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, citrato, bicarbonato e glicose. Nessa fase, o pH da solução deve estar entre 7,1 e 7,3⁵.

Apesar de medidas de tratamento serem empregadas na água de hemodiálise, encontram-se, na literatura, relatos de contaminação microbiológica e química^{1,3,7}. Entre os contaminantes microbiológicos, recomenda-se que a água apresente ausência de coliformes totais e que obedeça às concentrações adequadas de bactérias heterotróficas⁴. A contaminação microbiológica decorre, muitas vezes, da utilização de água contaminada em sua fonte de captação, de erros no preparo, da distribuição do dialisato ou de falhas na manutenção e desinfecção das máquinas de hemodiálise⁸. Consideram-se como contaminantes químicos perigosos, entre outros, o alumínio, o cloro e o nitrato por estarem associados à anemia, hipotensão, náuseas e vômitos⁶.

A pureza do fluido de diálise é altamente dependente da qualidade da água utilizada no pré-tratamento. Embora os processos de tratamento da água estejam bastante avançados nos serviços de hemodiálise, sabe-se que a utilização de águas com padrões de potabilidade inadequados na entrada do tratamento pode trazer maiores intercorrências clínicas ao paciente, bem como danificar a membrana capilar das membranas dialisadoras⁹.

No estado do Pará, especialmente na região de Santarém, a água captada e distribuída vem sendo considerada como uma das piores do País em termos de acesso aos sistemas considerados satisfatórios de distribuição de água¹⁰. A exploração imediatista e sem planejamento da água subterrânea em poços artesianos particulares e pouco profundos são fatores agravantes. Santarém é uma cidade na Amazônia que já apresenta alguns dos efeitos negativos da rápida urbanização, como a existência de graves problemas de saneamento que podem afetar a qualidade da água. De acordo com o *ranking* de Saneamento publicado pelo Instituto

Trata Brasil¹⁰, em 2020, a partir de uma análise dos 100 maiores municípios brasileiros, Santarém ficou entre os dez piores municípios com sistemas de saneamento e oferta hídrica considerados satisfatórios oferecidos à população.

Considerando-se que os serviços de hemodiálise de Santarém dispõem apenas da coleta de água a partir de poços subterrâneos pouco profundos, este estudo objetivou avaliar as características microbiológicas e físico-químicas da água antes e após passar por sistema de tratamento nos dois únicos serviços de hemodiálise existentes em Santarém, Oeste do Pará. Este trabalho configura-se como uma pesquisa inédita e os resultados nela obtidos são positivos no sentido de subsidiar discussões futuras nos municípios, especialmente na formulação de políticas públicas norteadoras de ações de promoção à saúde.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em dois serviços de hemodiálise na cidade de Santarém, Oeste do Pará, Amazônia, Brasil. Ressalta-se que Santarém dispõe apenas de dois serviços de hemodiálise para atender às necessidades da população do Baixo Amazonas ou também denominada de Oeste do Pará. O primeiro serviço denominado neste estudo por “Serviço de hemodiálise A” contava com 11 leitos e o segundo, “Serviços de hemodiálise B”, apresentava 28 leitos em funcionamento durante a realização desta pesquisa. Ambos os serviços estão anexos aos dois maiores hospitais públicos de Santarém e apresentam turnos de funcionamento manhã, tarde e noite. As amostras de água foram coletadas entre a troca do turno da manhã e da tarde, durante o período de fevereiro a março de 2020 (**Figura 1**).



Figura 1. Mapa de localização dos serviços de hemodiálise A e B localizados na cidade de Santarém, Oeste do Pará

Coleta de amostras

Para a coleta e análise das amostras, seguiram-se os procedimentos recomendados pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMWW)* da *American Public Health Association (APHA)*¹¹. O laboratório onde as análises foram realizadas apresenta padrão de certificação da qualidade dos métodos analíticos pelo *INMETRO* seguindo todos os requisitos da *ABNT NBR ISO-IEC 17025* de 2017¹².

Os dois serviços de hemodiálise apresentam estações próprias de tratamento da água utilizada. A água é captada de forma subterrânea a partir de poços artesianos (em média, de 55 metros) do sistema aquífero Alter do Chão. A água proveniente do aquífero Alter do Chão apresenta algumas características peculiares como $\text{pH} < 5$ e foi classificada como sódio cloretada mista em estudo pioneiro conduzido por Tancredi¹³. Após captação, a partir de um poço comum a todo o hospital, a água passa por um sistema de cloração, o qual estava temporariamente desativado no hospital do Serviço de hemodiálise A. A partir disso, a água é distribuída para vários setores do hospital, incluindo a hemodiálise. No serviço de hemodiálise, a água é encaminhada para uma sala específica para tratamento. Nessa sala, localizada internamente ao serviço de hemodiálise, a água passa por um filtro de areia, carvão ativado e abrandador. Posteriormente, destina-se à osmose reversa e pode ser estocada em um reservatório com capacidade aproximada de 1.200 litros ou ser distribuída diretamente para o salão de hemodiálise, local onde estão as máquinas e onde se recebe os pacientes. Posteriormente, passa pela sala de reuso para o reprocessamento dos capilares (**Figura 2**).

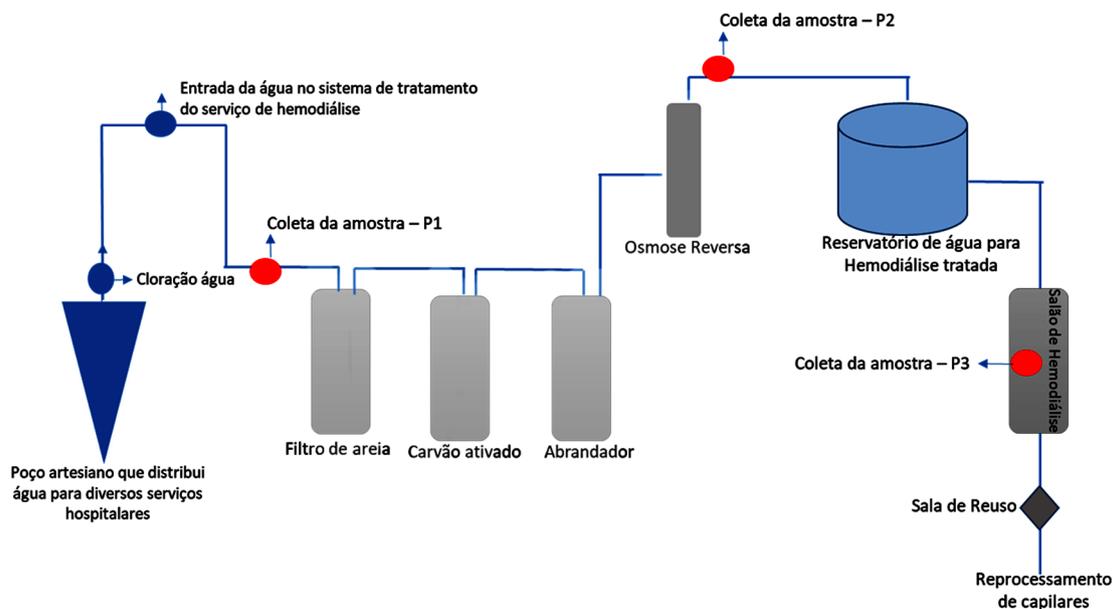


Figura 2. Representação esquemática do sistema de tratamento de água para hemodiálise utilizado nos locais de estudo e respectivos pontos de coleta, Santarém, Oeste do Pará

Em cada serviço de hemodiálise, foram selecionados três pontos de amostragem. No Ponto 1 (P1), as amostras de água foram coletadas na sala do sistema de tratamento, imediatamente no seu ponto de entrada após a captação pelo poço artesiano. No Ponto 2 (P2), as amostras foram coletadas na saída dos tratamentos realizados pelo serviço de hemodiálise, após a passagem da água pelos filtros de areia e carvão ativado, abrandador e osmose reversa. No Ponto 3 (P3), as amostras foram coletadas diretamente na máquina de hemodiálise, após passar pelas alças de distribuição. Ambos os serviços de hemodiálise possuem a mesma estrutura de tratamento da água.

Ao final, foram obtidas 30 amostras, isto é, em cada serviço, foram coletadas 15 amostras distribuídas em 5 semanas durante o período chuvoso da região Amazônica, o qual, de acordo com Meschede et al¹⁴, é a época de maior suscetibilidade para a contaminação dos mananciais subterrâneos em decorrência da percolação da água pluvial e carreamento de organismos microscópicos e de substâncias químicas para as bacias hídricas do aquífero. Após a coleta, todas as amostras foram acondicionadas em temperatura em faixa de 2°C a 8°C em caixa de isopor com gelo e transportadas para o laboratório de análise.

Análises microbiológicas

Para as análises microbiológicas, as amostras foram coletadas em recipientes estéreis com Tiosulfato de Sódio, providos de tampa. Os procedimentos foram realizados em salas controladas, com controle de temperatura e contaminação ambiente¹¹.

Para a detecção de bactérias heterotróficas, utilizou-se a técnica denominada “*Pour Plate*” em réplica através de 1 mL da amostra adicionada em placas de petri com meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA)¹¹. As análises de coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas com o teste de presença e ausência, utilizando-se o substrato cromogênio *Colilert*[®], considerando presença em amostras que tiveram alteração na sua coloração para amarelo e ausência em amostras com coloração incolor¹¹. Subsequentemente, as amostras com presença de coliformes totais, foram expostas à luz UV de onda longa 365 nm para avaliação da presença ou ausência de *E. coli*¹¹. Os procedimentos analíticos para bactérias heterotróficas, coliformes totais e *E. coli* seguiram os protocolos preconizados pelo SMWW-APHA¹¹.

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas a partir da coleta de 500 mL de amostra de água em frascos de plástico polietileno limpos. As coletas de alumínio foram realizadas com frascos previamente lavados com solução de ácido nítrico (HNO₃) a 1% em água deionizada para evitar possíveis contaminações. Não foram adicionados conservantes aos frascos de coleta para os ensaios de determinação de alumínio, uma vez que as amostras foram processadas logo após a coleta.

O potencial hidrogeniônico (pH) foi realizado com o medidor de bancada AKSO[®] pH Pro, calibrado previamente com soluções tampão de pH de 4,0 a 10,0 seguindo as recomendações SMWW - APHA¹¹. Os ensaios de turbidez foram realizados utilizando-se o turbidímetro portátil modelo HI 98703/Hanna[®] pelo método nefelométrico¹¹. Para as análises de cor, foi utilizado o equipamento Poli Control[®] pelo método espectrofotométrico tristímulus¹¹. As leituras para a condutividade elétrica foram realizadas com o equipamento Hanna[®] HI 5522 e mensuradas por meio do eletrodo Hanna[®] HI 5321-01¹¹.

Para a determinação quantitativa de alumínio, utilizou-se o fotômetro Hanna[®] HI 83099/COD, que contém lâmpada de tungstênio com filtro de interferência de faixa estreita a 525 nm e leitura de concentrações no intervalo entre 0,00 a 1,00 mg/L. Utilizou-se o sal de triamônio do ácido aurintricarboxílico – *Aluminon*, com a adição de ácido ascórbico para redução de interferentes com metodologia adaptada ao modelo proposto por SMWW - APHA¹¹ e aplicada por outros trabalhos para análise de água^{14,15}.

As mensurações de nitrato foram realizadas com o equipamento Hanna[®] HI 5522, com eletrodo de íon seletivo HI 4113. O equipamento foi calibrado anteriormente aos ensaios na curva de concentração de 1 a 100 mg/L, com o uso de soluções diluídas, preparadas a partir de uma solução padrão certificada e acreditada pelos critérios da ISO/IEC 17034¹⁶.

Pontua-se que as análises de alumínio e nitrato ocorreram no P1 e no P2 das etapas do sistema de tratamento da água nos serviços de hemodiálise, uma vez que, no P3, sofreram interferências das soluções ácida e básica de tamponamento adicionadas na água. Dessa forma, para esse estudo,

optou-se por avaliar a eficácia da remoção desses contaminantes entre os pontos P1 (água bruta, diretamente do poço) e P2 (após passar pelo sistema de tratamento de hemodiálise, porém sem a adição das soluções de tamponamento).

Aspectos éticos

O presente estudo obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Estado do Pará (UEPA) sob o parecer de número 3.835.017 em 12 de fevereiro de 2020.

RESULTADOS

Na **Tabela 1**, estão descritos os resultados dos ensaios microbiológicos. Os coliformes totais e *E. coli* mostraram-se ausentes nas amostras analisadas em conformidade com os padrões estabelecidos pela RDC nº11/2014⁴. O serviço de hemodiálise A apresentou contaminação por bactérias heterotróficas em todas as amostras avaliadas, com exceção de uma análise no P3. Por outro lado, o serviço B de hemodiálise não evidenciou crescimento de bactérias heterotróficas em suas amostras.

Tabela 1. Resultados microbiológicos das amostras de água coletada nos serviços de hemodiálise A e B segundo os pontos de coleta 1, 2 e 3 das amostras de água, Santarém, Oeste do Pará

Pontos de coleta	Serviço de hemodiálise A			Serviço de hemodiálise B			
	Coliformes totais	<i>E.coli</i>	Bactérias Heterotróficas UFC/mL	Coliformes totais	<i>E.coli</i>	Bactérias Heterotróficas UFC/mL	
P1	1ª semana	A	A	58	A	A	A
	2ª semana	A	A	51	A	A	A
	3ª semana	A	A	25	A	A	A
	4ª semana	A	A	30	A	A	A
	5ª semana	A	A	11	A	A	A
P2	1ª semana	A	A	100	A	A	A
	2ª semana	A	A	45	A		A
	3ª semana	A	A	21	A	A	A
	4ª semana	A	A	4	A	A	A
	5ª semana	A	A	5	A	A	A
P3	1ª semana	A	A	4	A	A	A
	2ª semana	A	A	1	A	A	A
	3ª semana	A	A	100	A	A	A
	4ª semana	A	A	26	A	A	A
	5ª semana	A	A	A	A	A	A
RDC nº11/2014 [*]	A	A	Máximo de 100	A	A	Máximo de 100	

Legenda: A = Ausência de crescimento; ^{*}Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº11 de 13 de março de 2014

Na **Tabela 2**, estão apresentados os resultados analíticos para os parâmetros físico-químicos de pH, turbidez, cor aparente e as medidas de condutividade. A pesquisa evidenciou que, no serviço de hemodiálise A, a água analisada no P1 e P2 era ácida, com valores que variaram entre 3,4 e 5,3. No serviço de hemodiálise B, os valores de pH no P1 e P2 ficaram entre 4,9 e 6,9. Observou-se que, no ponto P3 em ambos os serviços, o valor do pH foi corrigido, permanecendo entre 7,3 e 7,7.

Tabela 2. Resultados físico-químicos das amostras de água coletada nos serviços de hemodiálise A e B segundo os pontos de coleta 1, 2 e 3 das amostras de água, Santarém, Oeste do Pará

Pontos de coleta		Serviço de hemodiálise A				Serviço de hemodiálise B			
		pH	Turbidez NTU	Cor UC	Condutividade $\mu\text{S/cm}$	pH	Turbidez NTU	Cor UC	Condutividade $\mu\text{S/cm}$
P1	1ª semana	3,4	0,23	Incolor	153,3	6,5	0,13	Incolor	69,4
	2ª semana	3,9	0,09	Incolor	148,8	5,5	0,23	Incolor	20,9
	3ª semana	3,9	0,05	Incolor	154,0	4,9	0,12	Incolor	15,4
	4ª semana	3,8	0,13	Incolor	183,5	6,9	0,22	Incolor	101,6
	5ª semana	4,0	0,12	Incolor	155,6	6,9	0,12	Incolor	116,5
P2	1ª semana	4,4	0,08	Incolor	11,3	6,1	0,05	Incolor	9,0
	2ª semana	5,2	0,08	Incolor	13,7	5,4	0,06	Incolor	8,2
	3ª semana	5,2	0,05	Incolor	9,7	5,6	0,08	Incolor	4,5
	4ª semana	5,3	0,07	Incolor	12,4	6,8	0,09	Incolor	8,7
	5ª semana	5,3	0,09	Incolor	12,1	5,9	0,06	Incolor	6,3
P3	1ª semana	7,7	0,16	Incolor	16,9	7,7	0,08	Incolor	13,3
	2ª semana	7,4	0,23	Incolor	22,9	7,4	0,08	Incolor	13,0
	3ª semana	7,3	0,68	Incolor	28,1	7,5	0,09	Incolor	13,8
	4ª semana	7,5	0,06	Incolor	21,4	7,6	0,09	Incolor	14,3
	5ª semana	7,7	0,15	Incolor	16,4	7,5	0,09	Incolor	14,5
Média		5,4	0,15	---	64,0	6,5	0,11	---	28,6
Valor Máximo		7,7	0,68	---	183,5	7,7	0,23	---	116,5
Valor Mínimo		3,4	0,05	---	9,7	4,9	0,05	---	4,5
RDCn°11/2014*		6,0 a 9,5	--	Incolor	0 a 10,0	6,0 a 9,5	--	Incolor	0 a 10,0

**Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n°11 de 13 de março de 2014⁴

Os valores de turbidez e cor aparente são indicativos de presença de substâncias dissolvidas na água. A RDC n°11/2014⁴ não recomenda limites aceitáveis para turbidez em água de hemodiálise, apenas que o parâmetro cor deverá ser “incolor”. Nos processos usuais de tratamento da água, segundo Lima et al¹⁷, valores de turbidez menores que 5 poderão ser recomendados para água de hemodiálise. No presente estudo, todas as medidas de turbidez mostraram-se menores que 5 NTU e a cor aparente manteve-se incolor (< 2,5 UC) para os ensaios realizados.

Os resultados da condutividade elétrica mostraram valores elevados na água proveniente do poço, que entra no sistema de hemodiálise, de maneira mais acentuada no serviço A. As amostras coletadas no P1 apresentaram valores entre 148,8 e 183,5 $\mu\text{S/cm}$ e entre 15,6 e 116,5 $\mu\text{S/cm}$ nos serviços A e B, respectivamente.

Os resultados apontaram queda considerável da condutividade no P2 e P3, entretanto, mantiveram-se acima de 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no P3, valor máximo estabelecido pela RDC nº11/2014⁴, variando de 16,9 a 28,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no serviço A e de 13,3 a 14,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no serviço B (Tabela 2).

As concentrações de alumínio mostraram valores acima do recomendado pela RDC nº11/2014⁴ no P1 no serviço de hemodiálise A em todas as amostras avaliadas. Os valores nesse ponto ficaram entre 0,64 e 0,33 mg/L, entretanto, foram normalizados no P2 mantendo-se abaixo de 0,01 mg/L nas amostras analisadas. No serviço B, as concentrações de alumínio em todas as amostras analisadas apresentaram valores aceitáveis segundo a RDC nº11/2014⁴ e permaneceram inferiores a 0,01 mg/L.

A Figura 3 apresenta as concentrações obtidas de nitrato nos serviços avaliados e o valor máximo recomendado (até 2,0 mg/L). Segundo a RDC nº11/2014⁴, as análises realizadas no serviço A mostraram que todas as amostras no P1 evidenciaram níveis excessivos de nitrato (acima de 2,0 mg/L), entretanto, normalizaram-se nas amostras coletadas no P2 e P3. As concentrações de nitrato mostraram-se adequadas nas amostras analisadas para o serviço B.

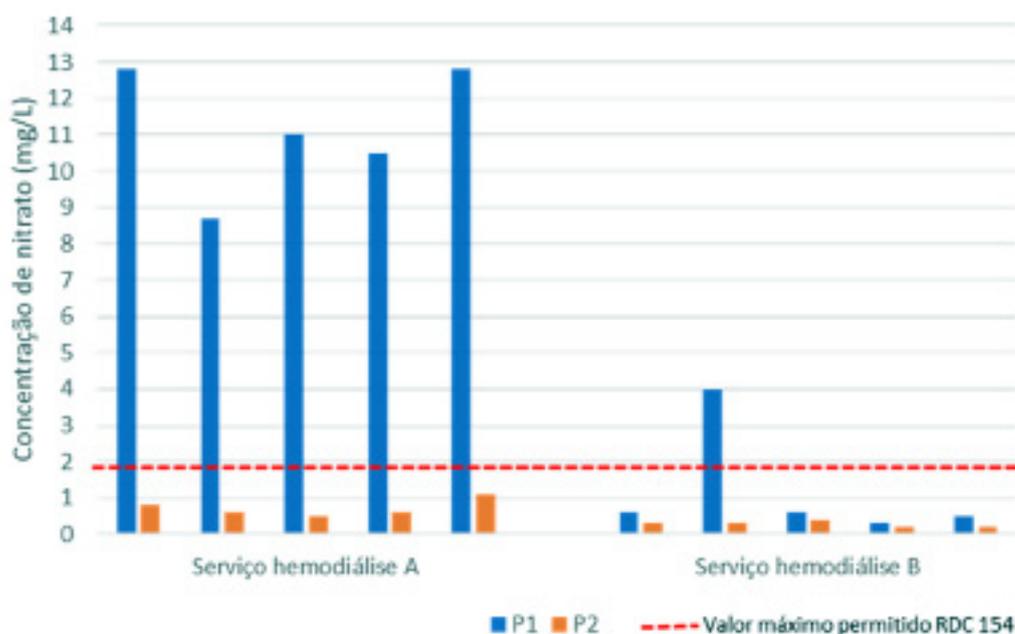


Figura 3. Concentrações obtidas de nitrato (mg/L) nas amostras provenientes do P1 e P2 nos serviços de hemodiálise A e B, Santarém, Oeste do Pará

DISCUSSÃO

As evidências disponíveis na literatura permitem correlacionar os contaminantes da água de hemodiálise com efeitos adversos do procedimento aos pacientes^{1,18}. Considerando a importância no âmbito da saúde pública, o monitoramento regular da qualidade da água e a eficácia dos sistemas de tratamento permitem a tomada de medidas preventivas que podem reduzir danos aos pacientes.

A problemática da qualidade da água subterrânea vem se fazendo presente na cidade de Santarém, mostrada em estudos pioneiros como o de Tancredi¹³ e mais recentemente por Meschede et al¹⁴ e Bentes et al¹⁵. Santarém é uma cidade de médio porte na Amazônia que enfrenta problemas sanitários importantes, o que vem comprometendo a qualidade microbiológica e química da água ofertada para a população.

A água subterrânea coletada de poços pouco profundos em Santarém é suscetível à contaminação microbiológica^{14,15,19}. Nesta pesquisa, não foi identificada contaminação microbiológica para coliformes totais *E. coli* na água de hemodiálise compatíveis com outros estudos semelhantes realizados em centros de

hemodiálise^{1,17}. Por outro lado, no interior do estado de São Paulo, Montanari et al²⁰ detectaram *E. coli* em 36 amostras de dialisato analisadas em uma unidade de hemodiálise. No estado de Mato Grosso, foi detectada a presença de *E. coli* em 8% das amostras analisadas em uma clínica no ano de 2013²¹.

Os resultados deste estudo mostraram valores dentro do aceitável para contagem de bactérias heterotróficas, entretanto, é recomendável a adoção de medidas para identificação e intervenção de forma preventiva, uma vez que foram encontrados valores acima do nível de ação (50 UFC/mL)⁴. Os filtros de carvão tendem a remover o cloro adicionado no tratamento da água para hemodiálise, pois a sua presença está associada a anemia hemolítica em pacientes²². Dessa forma, bactérias heterotróficas podem ocorrer em sistemas de hemodiálise, geralmente em locais onde a água permanece estagnada e nos dispositivos de tratamento como abrandadores e filtros²³. Outros autores encontraram bactérias heterotróficas em água de serviços de hemodiálise, resultados que corroboram com os obtidos no serviço B em Santarém. No Distrito Federal, entre 2009 e 2010, relatórios de análises evidenciaram a contaminação de um terço das amostras de água de hemodiálise por bactérias heterotróficas²⁴. Em Curitiba (PR), mais de 95% dos testes realizados para bactérias heterotróficas tiveram resultados positivos²⁵. Em pesquisa realizada no Rio de Janeiro, 32% de 75 amostras no ano de 2006 e 30 de 57 amostras no ano de 2007 estavam insatisfatórias devido aos níveis de bactérias heterotróficas superiores ao permitido²⁶.

As análises físico-químicas mostraram pH ácido no P1 nos dois serviços avaliados. O pH baixo é uma característica da água subterrânea captada do Aquífero Alter do Chão apontado por outros estudos realizados em Santarém^{14,15}. Os baixos valores de pH podem contribuir para a corrosividade da tubulação na entrada do sistema de tratamento de hemodiálise. O pH normalizou-se após a passagem da água pelos sistemas de tratamento, mostrando que os mecanismos de tratamento dos serviços avaliados são eficazes na sua correção e para a segurança do paciente.

No P1, a condutividade elevada indica que a água bruta subterrânea utilizada em ambos os serviços de hemodiálise apresenta uma quantidade considerável de íons dissolvidos e pode aumentar à medida que mais substâncias são adicionadas na água, nesse caso, níveis superiores a 100 µS/cm indicam ambientes impactados²⁷. Lima et al¹⁷ apontam uma relação significativa no aumento da condutividade e na presença de endotoxinas na água utilizada em serviços de hemodiálise. No P2, a condutividade elevada no serviço A indica que inadequações com o equipamento de osmose reserva possam estar ocorrendo. No P3, em ambos os serviços, a condutividade elevada associa-se possivelmente com a adição de soluções de tamponamento ao dialisato.

Os valores de alumínio acima do recomendado obtidos nas amostras avaliadas no ponto P1 no serviço de hemodiálise A apontam contaminação da água bruta proveniente do poço subterrâneo. Os achados são congruentes com outros estudos anteriores realizados em Santarém. Meschede et al¹⁴ apontaram valores de alumínio superiores a 0,2 mg/L em águas subterrâneas coletadas em escolas e Bentes et al¹⁵ em domicílios em Santarém. Mendes et al¹⁹ atribuíram a ocorrência de alumínio de forma natural, a partir de uma interação rocha-água. Ressalta-se que os estudos com concentrações elevadas de alumínio em água na região de Santarém são recentes^{14,15,19} e o município ainda não adotou medidas corretivas para que a população não esteja exposta. Na hemodiálise, a atual pesquisa mostrou eficácia dos filtros do pré-tratamento e das membranas da osmose reversa na diminuição da concentração de alumínio, no entanto, eventuais irregularidades no processo de purificação da água podem ocorrer e resultar em complicações graves para a saúde dos pacientes. Salienta-se a importância do pré-tratamento do alumínio com o intuito, também, de proteger as membranas capilares utilizadas nas unidades de hemodiálise. O alumínio em pacientes renais crônicos está associado ao depósito em músculos, ossos e cérebro e pode ocasionar distúrbios metabólicos e doença óssea²⁸. Em Belém, capital do estado do Pará, os autores Pinheiro et al²⁹ encontraram concentrações de alumínio superiores ao recomendado em duas amostras coletadas da entrada do sistema de tratamento para hemodiálise, onde a fonte de contaminação mais provável seria a adição de sais de alumínio durante o procedimento de floculação da Estação de Tratamento de Água do município.

No ponto P1, no serviço de hemodiálise A, observaram-se valores excedentes de nitrato. O nitrato é um dos principais poluentes das águas subterrâneas não tratadas e pode ser resultante de deficiências

sanitárias e do uso de fertilizantes no solo próximos a poços de captação³⁰. Em Santarém, foi relatada a ocorrência de nitrato em níveis elevados na água de consumo humano proveniente de poços de escolas e domicílios^{14,15}. A atual pesquisa mostrou que o sistema de tratamento de água nos serviços de hemodiálise avaliados foi eficaz na remoção do nitrato na água, embora o serviço A tenha apresentado valores próximos ao limite máximo permitido de 2,0 mg/L pela RDC nº11/2014⁴, requerendo atenção. Em Lagos, na Nigéria, e em Isfahanno, no Irã, foram reportadas concentrações acima dos padrões internacionais estabelecidos de nitrato para o abastecimento de água após o tratamento em serviços de hemodiálise^{31,32}. No Brasil, Tristão²¹ reportou que 15% das amostras de água coletadas após o tratamento em serviços de hemodiálise do estado do Mato Grosso do Sul permaneceram inconformes devido à ineficiência da osmose reversa na remoção de íons de nitrato.

CONCLUSÃO

Ao longo dos últimos dez anos, os serviços de hemodiálise têm passado a aplicar melhores metodologias de tratamento da água, objetivando a redução da sua contaminação por meio da osmose reversa, abrandadores e filtros de carvão e areia. Porém, estudos ainda apontam que falhas no sistema de tratamento da água para hemodiálise podem ocorrer, sendo possível encontrar microrganismos em amostras pré e pós hemodiálise, além da detecção de contaminantes não microbianos, como o alumínio e o nitrato, o que pode trazer implicações importantes aos pacientes em tratamento dialítico.

Na atual pesquisa, em conjunto, os resultados apontaram que os sistemas de tratamento da água dos serviços de hemodiálise A e B foram eficazes na remoção de contaminantes microbiológicos e adequação dos parâmetros físico-químicos na saída do tratamento, mesmo em uma cidade como Santarém que vem passando por problemas relacionados à qualidade da água. Duas exceções foram observadas nas amostras avaliadas após o tratamento: (i) o serviço de hemodiálise A não foi capaz de eliminar o crescimento de bactérias heterotróficas e (ii) as medidas de condutividade, em ambos os serviços, mantiveram-se acima do recomendado pela legislação RDC nº11/2014 em até 2,8 vezes mais. As concentrações de alumínio, embora dentro do limite máximo recomendado no P3, mostraram-se elevadas na entrada do tratamento P1, dessa forma, sugere-se que medidas corretivas por parte dos gestores locais sejam implementadas e que o acompanhamento da população a essa exposição possa ser realizado em estudos futuros. Recomendam-se a cloração da água, o rigoroso controle da formação de biofilmes e o monitoramento periódico dos íons dissolvidos, como o nitrato e os sulfatos, a fim de favorecer a qualidade de vida dos pacientes submetidos a regimes contínuos e frequentes de hemodiálise em Santarém.

Entende-se que os resultados deste trabalho são inéditos e iniciais, sugerindo-se que novos estudos de avaliação de risco e de abordagem epidemiológica sejam realizados na região de Santarém, de forma a possibilitar ampliação desse debate sobre exposição hídrica e a condução de futuras intervenções no âmbito da promoção da saúde.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Por meio do Programa Interinstitucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA).

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Programa de Bolsas Iniciação Científica e Inovação Tecnológica PIBIC da UFOPA, à Secretaria Municipal de Saúde de Santarém (SEMSA), ao Hospital Municipal de Santarém e ao Hospital Regional do Baixo Amazonas pela autorização e disponibilidade na coleta de amostras e informações e ao Laboratório LabVida por ceder o espaço físico e vidrarias necessárias aos ensaios analíticos.

REFERÊNCIAS

1. Suzuki MN, Fregonesi BM, Machado CS, Zagui GS, Kusumota L, Suzuki AK et al. Hemodialysis water parameters as predisposing factors for anemia in patients in dialytic treatment: application of mixed regression models. *Biol Trace Elem Res.* 2019;190(1):30-7.
<https://doi.org/10.1007/s12011-018-1515-7>
2. Ribeiro IC, Roza NAV, Duarte DA, Guadagnini D, Elias RM, Oliveira RB. Clinical and microbiological effects of dialyzers reuse in hemodialysis patients. *J Bras Nefrol.* 2019;41(3):384-92.
<https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2018-0151>
3. Bugno A, Almodóvar AAB, Pereira TC, Auricchio MT. Detecção de bactérias gram-negativas não fermentadoras em água tratada para diálise. *Rev Inst Adolfo Lutz [Internet].* 2007 [acesso 2021 Mai 21];66(2):172-5. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32828>
4. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 11 de 13 de março de 2014. Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências. *Diário Oficial da União.* Brasília, DF, 14 mar 2014. Seção 1(50):40-2.
5. Ward RA, Ing TS. Água especial e preparo da solução de hemodiálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. *Manual de diálise.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 76-82.
6. Ahmad S, Misra M, Hoenich N, Daugirdas JT. Água e solução de diálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. *Manual de diálise.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 54-75.
7. Almodovar AAB, Buzzo ML, Silva FPL, Hilinski EG, Bugno A. Efetividade do programa de monitoramento da qualidade da água tratada para diálise no estado de São Paulo. *J Bras Nefrol.* 2018;40(4):344-50.
<https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2018-0026>
8. Buzzo ML, Bugno A, Almodovar AA, Kira CS, Carvalho FH, Sousa A et al. A importância de programas de monitoramento da qualidade da água para diálise na segurança dos pacientes. *Rev Inst Adolfo Lutz.* [Internet]. 2010 [acesso 2021 Mai 21];69(1):1-6. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32668>
9. Raad Humudat Y, Al-Naseri SK. Evaluation of dialysis water quality at Hospitals in Baghdad, Iraq. *J Health Pollut.* 2020;10(28):201-11.
<https://doi.org/10.5696/2156-9614-10.28.201211>
10. Instituto Trata Brasil [Internet]. Ranking do Saneamento 2020 – Tabela 100 cidades. [acesso 2020 Out 8]. Disponível em:
<http://tratabrasil.org.br/estudos/estudos-itb/itb/ranking-do-saneamento-2020>
11. American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* 23.ed. Washington (DC): American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation; 2017.

12. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). ABNT NBR ISO/IEC 17025: 2017 - Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT; 2017.
13. Tancredi ACFNS. Recursos hídricos subterrâneos de Santarém: fundamentos para uso e proteção. [tese de doutorado]. Belém (PA): Universidade Federal do Pará (UFPA); 1996. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/7884>
14. Meschede MSC, Figueiredo BR, Alves RIS, Segura-Muñoz SI. Drinking water quality in schools of the Santarém region, Amazon, Brazil, and health implications for school children. Rev Ambient Água. 2018;13(6):e2218. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2218>
15. Bentes VS, Almeida Neto GW, Meschede MSC. Qualidade da água utilizada para consumo humano proveniente do aquífero Alter do Chão em Santarém (Oeste do Pará) e sua relação com a saúde pública. Geochim Bras [Internet]. 2020 [acesso 2021 Maio 18];34(1):101-9. Disponível em: <https://geobrasiliensis.emnuvens.com.br/geobrasiliensis/article/view/662>
16. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). ABNT NBR ISO/IEC 17034: 2017 – Requisitos gerais para a competência de produtores de materiais de referência. Rio de Janeiro: ABNT; 2017.
17. Lima JRO, Marques SG, Gonçalves AG, Salgado Filho N, Nunes PC, Silva HS et al. Microbiological analyses of water from hemodialysis services in São Luís, Maranhão, Brazil. Braz J Microbiol. 2005;36(2):103-8. <https://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822005000200001>
18. Fendley DA, Ward RA Dialysate quality: new standards require a new approach to compliance. Semin Dial. 2012;25(5):510-5. <https://doi.org/10.1111/sdi.12007>
19. Mendes A, Galvão P, Sousa J, Silva I, Carneiro RN. Relations of the groundwater quality and disorderly occupation in an Amazon low-income neighborhood developed over a former dump area, Santarém/PA, Brazil. Environ Dev Sustain. 2019;21(1):353-68. <https://doi.org/10.1007/s10668-017-0040-8>
20. Montanari LB, Sartori FG, Cardoso MJO, Varo SD, Pires RH, Leite CQF et al. Microbiological contamination of a hemodialysis center water distribution system. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2009;51(1):37-43. <https://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652009000100007>
21. Tristão AMV. Qualidade da água nas clínicas de hemodiálise no Estado de Mato Grosso do Sul. [dissertação de mestrado]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/2546>
22. Saha M, Allon M. Diagnosis, treatment and prevention of hemodialysis emergencies. Clin J Am Soc Nephrol 2017;12(2):357-69. <http://doi.org/10.2215/CJN.05260516>
23. Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A, editors. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. London: World Health Organization; 2003.

24. Marcheti RGA, Caldas HD. Avaliação da qualidade microbiológica da água de consumo humano e de hemodiálise no Distrito Federal em 2009 e 2010. Com Ciências Saúde [Internet]. 2011 [acesso 2021 Maio 21];22(1):33-40. Disponível em:
http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/revista_ESCS_v22_n1_a05_avaliacao_qualidade_microbiologica.pdf
25. Figel IC, Dalzoto PR, Pimentel IC. Qualidade microbiológica da água e dialisato em clínicas de hemodiálise do Sul do Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz [Internet]. 2015 [acesso 2021 Maio 21];74(1):66-70. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33387>
26. Ramirez SS. Água para hemodiálise no Estado do Rio de Janeiro: uma avaliação dos dados gerados pelo programa de monitoramento da qualidade nos anos de 2006-2007. [monografia de especialização]. Rio de: Fundação Oswaldo Cruz; 2009. Disponível em:
<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14190>
27. Ministério da Saúde (Brasil). Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS. Brasília (DF): Funasa; 2014.
28. Barreto FC, Araújo SMH. Intoxicação alumínica na doença renal crônica. Braz J Nephrol. 2011;33(suppl 1):21-5.
<https://doi.org/10.1590/S0101-28002011000200016>
29. Pinheiro DR, Pinheiro AP, Martelli MC. Estudo da qualidade da água utilizada em hemodiálise [resumo]. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química; 2014 Out 19-22; Florianópolis (SC). Florianópolis (SC): Universidade Federal de Santa Catarina; 2015. p. 8670-7.
30. Yu G, Wang J, Liu L, Li Y, Zhang Y, Wang S. The analysis of groundwater nitrate pollution and health risk assessment in rural areas of Yantai, China. BMC Public Health. 2020;20(1):437.
<https://doi.org/10.1186/s12889-020-08583-y>
31. Braimoh RW, Mabayoje MO, Amira CO, Coker H. Quality of hemodialysis water in a resource-poor country: the Nigerian example. Hemodial Int. 2012; 16(4):532-8.
<https://doi.org/10.1111/j.1542-4758.2012.00682.x>
32. Shahryari A, Nikaeen M, Hatamzadeh M, Vahid Dastjerdi M, Hassanzadeh A. Evaluation of bacteriological and chemical quality of dialysis water and fluid in Isfahan, Central Iran. Iran J Public Health. 2016;45(5):650-6. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4935709/pdf/IJPH-45-650.pdf>





Perfil epidemiológico de *Staphylococcus* spp. isolados de hemoculturas de pacientes internados em um hospital de atenção terciária da rede pública do Ceará

Epidemiological profile of *Staphylococcus* spp. isolated from hemocultures of interned patients in a tertiary attention hospital of the Ceará public network

Ana Luiza Ribeiro AGUIAR¹ , Morgana Maria de Oliveira BARBOZA² , Anderson da Cunha COSTA^{3*} , Mariana Souza Bezerra HOLANDA⁴ , André Jhonathan DANTAS⁴ , Glairta de Souza COSTA⁴ , Gleiciane Moreira DANTAS⁴ , Paulo César Pereira de SOUSA⁴ 

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Centro Universitário Pitágoras de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, CE, Brasil.

⁴Setor de Microbiologia, Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

RESUMO

Staphylococcus spp. vem ganhando destaque em infecções na corrente sanguínea (ICS), apresentando alta prevalência, multirresistência e considerável poder de letalidade. O presente estudo teve como objetivo analisar a prevalência e traçar o perfil de sensibilidade das espécies de *Staphylococcus* spp. isoladas de amostras de hemoculturas positivas obtidas de um hospital de atenção terciária da rede pública do Ceará, no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018. Dos 3292 exames de hemocultura realizados, apenas 15,88% tiveram resultado positivo, dos quais 24,85% eram cocos Gram positivos. *S. aureus* representou 1,53% das hemoculturas positivas com 50% das cepas resistentes à oxacilina. Os isolados de *Staphylococcus* sp. coagulase negativo obtiveram prevalência de 10,89%, representados por: *S. epidermidis* (n=23), *S. haemolyticus* (n=17), *S. hominis* (n=13), *S. saprophyticus* (n=2) e *S. warneri* (n=2). Verificou-se multirresistência em diversos isolados analisados, apresentando variações intra e interespecíes. Portanto, nossos achados melhoram o entendimento da epidemiologia das ICS causadas por *Staphylococcus* spp., na instituição de estudo, bem como seu perfil de sensibilidade. A identificação precoce do agente infeccioso auxilia na escolha adequada do tratamento, aumentando as chances de cura e reduzindo o tempo de internação do paciente.

Palavras-chave. Infecções Estafilocócicas, Bacteremia, Hemocultura, Antimicrobianos.

ABSTRACT

Staphylococcus spp. has been highlighted among bloodstream infections (BI), presenting high prevalence, multidrug resistance and considerable lethality. The present study aimed to analyze the prevalence and the susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. isolated from positive blood cultures from a tertiary care public hospital of Ceará, from January 2015 to December 2018. Of the 3292 blood cultures performed during this period, only 15.88% were positive, of which 24.85% were Gram positive cocci. *S. aureus* represented 1.53% of positive blood cultures, of which 50% were oxacilin resistant. Isolates of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. showed a prevalence of 10.89%, represented by: *S. epidermidis* (n = 23), *S. haemolyticus* (n = 17), *S. hominis* (n = 13), *S. saprophyticus* (n = 2) and *S. warneri* (n = 2). Multiresistance occurrence was verified in several of the analyzed isolates, presenting intra and interspecies variations. Therefore, our findings improve the understanding of the epidemiology of BI caused by *Staphylococcus* spp. in the studied institution, as well as its susceptibility profile. Early identification of the infectious agent might aid in the appropriate choice of treatment, increasing the chance of cure and reducing the patient length stay in hospital.

Keywords. Staphylococcal Infections, Bacteremia, Blood Culture, Anti-Infective Agents.

*Autor de correspondência/Corresponding author: andersoncosta.biomed@gmail.com

Recebido/Received: 12.11.2020 - Aceito/Accepted: 12.02.2021

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas são um problema de saúde pública, sendo responsáveis por cerca de 18 milhões de óbitos por ano^{1,2}. Tais infecções podem ser originadas na comunidade, quando surgem antes do contato com estabelecimentos de saúde, ou em ambientes de assistência à saúde, sendo estas classificadas como Infecções Relacionadas à Assistência de Saúde (IRAS), apresentando altas taxas de morbidade e mortalidade, bem como elevação dos custos nos tratamentos dos pacientes³.

Nos casos em que bactérias estão presentes na corrente sanguínea, tem-se um quadro de bacteremia, que pode ser transitória – autolimitada e não causar grandes sequelas – ou infecciosa – gerando consequências metastáticas ou sistêmicas⁴. A bacteremia infecciosa, também chamada de infecção da corrente sanguínea (ICS), pode evoluir para síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), choque séptico (CS), sepse, síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) e óbito, caso não seja diagnosticada em tempo hábil e tratada adequadamente^{4,5}.

O correto diagnóstico é feito por meio de diversos exames, dentre eles a hemocultura, que, quando positiva, representa um importante valor preditivo de infecção, com prognóstico preocupante, porém frequente em hospitais de grande porte, os quais possuem pacientes imunologicamente vulneráveis e internados em condições clínicas críticas, geralmente por um longo período^{6,7}.

Nesse contexto, bactérias do gênero *Staphylococcus* estão entre os principais patógenos causadores de infecções na corrente sanguínea, podendo-se dividir em dois grandes grupos: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN)⁸. Estudos epidemiológicos mostram que *S. aureus* é a espécie de bactérias Gram positivas que mais frequentemente causa infecções na corrente sanguínea, apresentando uma taxa de letalidade em torno de 20%, o que pode variar de acordo com a idade e condição clínica dos pacientes^{9,10}. No Ceará, *S. aureus* tem grande relevância em IRAS, correspondendo de 3,93% a 11,9% dos isolados de pacientes com IRAS em Unidades de Terapia Intensiva^{11,12}.

Por outro lado, espécies de SCoN vêm ganhando importância em IRAS, principalmente nas ICS, em virtude de sua crescente prevalência em hemoculturas, podendo apresentar cepas resistentes a diversos antibióticos, como penicilina, oxacilina/meticilina, eritromicina, ciprofloxacina, clindamicina e gentamicina^{12,13}.

Frente ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência e o perfil de sensibilidade das espécies de *Staphylococcus* isoladas de hemoculturas, visto que o conhecimento dessas informações é essencial para o avanço na adequação de políticas e práticas de prevenção e no desenvolvimento de estratégias epidemiológicas para combater a fonte da infecção. Além disso, a investigação e a abordagem aplicada neste trabalho visam contribuir para a escolha do tratamento a ser utilizado e para o desenvolvimento da pesquisa, uma vez que o local de estudo se trata de um hospital-escola.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho, realizou-se um estudo transversal retrospectivo com abordagem quantitativa de prevalência de *Staphylococcus* spp. em hemoculturas de pacientes internados no setor de clínica 1 e de transplante de medula óssea em um hospital de atenção terciária situado em Fortaleza, CE, no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018.

Após solicitação médica, as amostras de sangue foram coletadas e encaminhadas para o setor de Microbiologia do Laboratório Central do Hospital Universitário Walter Cantídio. A identificação e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados clínicos foram realizados de acordo com as diretrizes do *Clinical Laboratory Standard Institute* – CLSI (2018)¹⁴. Utilizou-se o sistema semi-automatizado VITEK[®] 2 (BioMérieux, Marcy-l’Etoile, France), com o cartão VITEK[®] 2 GP (BioMérieux, França) para teste de identificação do microrganismo, o qual é feito por meio de testes bioquímicos. Para determinação do perfil de sensibilidade do microrganismo, utilizou-se o cartão VITEK[®] 2 AST

(BioMérieux, França), por meio do princípio da técnica de microdiluição em caldo, com um poço de controle positivo (sem antibiótico) e múltiplos poços com o microrganismo submetido a concentrações seriadas de antibióticos, conforme as orientações do fabricante.

Para a realização da presente pesquisa, os resultados obtidos do VITEK®2 foram coletados do sistema OBSERVA. Foram incluídos no estudo somente os exames de hemocultura positivos para *Staphylococcus* spp. realizados no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018. Os testes de hemocultura negativos para *Staphylococcus* spp. ou que não possuíam o perfil de sensibilidade descrito foram excluídos.

As variáveis selecionadas constituíram-se de: espécie da cepa encontrada e o perfil de sensibilidade aos antibióticos mais utilizados na clínica. A análise dos dados foi feita de forma descritiva. Os dados foram tabulados em planilhas do software *Microsoft Office Excel* 2010, e as tabelas foram elaboradas no *Microsoft Office Word* 2010.

O referente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Walter Cantídio – CEP/HUWC – onde obteve parecer favorável de número 2.331.030.

RESULTADOS

No período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018, foram realizados 3292 exames de hemocultura em pacientes internados no setor de clínica 1 e de transplante de medula óssea do Hospital Universitário Walter Cantídio. As amostras foram coletadas consecutivamente, conforme solicitação médica. Dentre as hemoculturas realizadas, 523 (15,88%), tiveram resultado positivo, dos quais 130 (24,85%) eram cocos Gram positivos.

Na análise da taxa de testes positivos para *S. aureus*, foi observada a prevalência de oito cepas, representando 1,53% das hemoculturas positivas, em que 50% destas eram *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), confirmado através do teste de sensibilidade a oxacilina, pela técnica de microdiluição em caldo, conforme normas do CLSI (2018)¹⁴.

Com relação aos isolados de SCoN, verificou-se a prevalência de 10,89% em hemoculturas positivas, em que as principais espécies encontradas desse grupo foram: *Staphylococcus epidermidis* (n=23), *Staphylococcus haemolyticus* (n=17), *Staphylococcus hominis* (n=13), *Staphylococcus saprophyticus* (n=2), *Staphylococcus warneri* (n=2). A frequência relativa de isolamentos das espécies de *Staphylococcus* spp. foi de: 35,38% para *S. epidermidis*; 26,16% para *S. haemolyticus*, 20% de *S. hominis*, 12,30% para *S. aureus*, 3,08% para *S. saprophyticus* e 3,08% *S. warneri*.

Ao se traçar o perfil de sensibilidade aos antibióticos: Benzilpenicilina (BEN), Ciprofloxacina (CIP), Clindamicina (CLI), Eritromicina (ERI), Gentamicina (GEN), Linezolida (LNZ), Moxifloxacino (MXF), Norfloxacino (NOR), Oxacilina (OXA), Rifampicina (RIF), Teicoplanina (TEC), Tigeciclina (TIG), Vancomicina (VAN) e Ácido Fusídico (AF), foram observadas diferenças no perfil de sensibilidade intra e interespecies de *Staphylococcus* spp. representadas na **Tabela**.

Tabela. Distribuição dos *Staphylococcus* spp. isolados de hemoculturas de pacientes internados no setor de hematologia e de transplante de medula óssea do Hospital Universitário Walter Cantídio, de janeiro de 2015 a dezembro de 2018 e percentual de *Staphylococcus* spp. isolados de hemoculturas sensíveis aos antimicrobianos testados

	<i>S. aureus</i> (12,3%)*	<i>S. epidermidis</i> (35,38%)*	<i>S. warneri</i> (3,08%)*	<i>S. saprophyticus</i> (3,08%)*	<i>S. haemolyticus</i> (26,16%)*	<i>S. hominis</i> (20,00%)*
BEN	0%	4,35%	0%	0%	0%	7,69%
CIP	62,50%	17,39%	100%	50%	17,64%	30,77%
CLI	37,50%	39,13%	100%	100%	47,05%	30,77%
ERI	37,50%	34,78%	50%	50%	23,53%	23,07%
GEN	100%	82,60%	100%	100%	47,05%	100%
LNZ	87,50%	100%	100%	100%	100%	100%
MXF	50%	26%	100%	100%	11,76%	46,15%
NOR	37,50%	21,73%	100%	100%	11,76%	38,46%
OXA	50%	8,69%	50%	50%	11,76%	23,07%
RIF	50%	86,95%	100%	100%	100%	100%
TEC	100%	82,60%	100%	100%	100%	100%
TIG	100%	100%	100%	100%	100%	100%
VAN	87,50%	100%	100%	100%	100%	92,30%
AF	87,50%	100%	50%	100%	88,23%	92,30%

*Representa a frequência total de isolamento de *Staphylococcus* spp. Benzilpenicilina (BEN), Ciprofloxacina (CIP), Clindamicina (CLI), Eritromicina (ERI), Gentamicina (GEN), Linezolida (LNZ), Moxifloxacino (MXF), Norfloxacino (NOR), Oxacilina (OXA), Rifampicina (RIF), Teicoplanina (TEC), Tigeciclina (TIG), Vancomicina (VAN) e Ácido Fusídico (AF)

Ao se traçar o perfil de sensibilidade das espécies testadas, *S. aureus* apresentou resistência a alguns antibióticos, sendo observados 100% de resistência a Benzilpenicilina e 62,5% a Clindamicina e Eritromicina. *S. epidermidis* também apresentou resistência à Benzilpenicilina (95,65%), apresentando ainda resistência a outros antibióticos como Oxacilina (91,30%) e Ciprofloxacina (73,91%).

Com relação ao perfil de sensibilidade de *S. warneri*, essa espécie apresentou resistência à Benzilpenicilina (100%), Eritromicina (50%), Oxacilina (50%) e Ácido Fusídico (4,34%).

No caso de *S. saprophyticus*, observou-se também resistência à Benzilpenicilina (100%) e uma resistência de 50% para Ciprofloxacina, Eritromicina e Oxacilina. Por sua vez, a espécie *S. haemolyticus* apresentou 100% de resistência para Benzilpenicilina e de 88,23% à Oxacilina.

Por último foi estudada a espécie *S. hominis*, a qual apresentou alta resistência para Benzilpenicilina (92,3%), Eritromicina (76%) e Oxacilina (92%).

DISCUSSÃO

Pacientes internados por longos períodos em hospitais têm uma maior probabilidade de desenvolver infecções¹⁵. Condições como transplante, tratamento quimioterápico, hemodiálise e uso de dispositivos intra corpóreos influenciam diretamente na ocorrência, progressão e disseminação de infecções na corrente sanguínea, as quais podem levar o paciente ao óbito^{8,16}.

Tais fatos corroboram com a rotina clínica do local onde se fez a presente pesquisa, em que, num período de 47 meses, foram solicitadas 3292 hemoculturas de pacientes que manifestavam quadros de imunossupressão e estavam internados por períodos acima de 72 h, apresentando suspeita de infecções na corrente sanguínea.

Como verificado anteriormente, apenas 15,88% das hemoculturas realizadas nos pacientes internados no setor de clínica 1 e de transplante de medula óssea tiveram resultado positivo. Resultado semelhante foi observado no trabalho de Ruschel et al¹⁷, em que foram analisadas 2832 hemoculturas e destas apenas 248 (8,8%) foram positivas para algum patógeno.

Em outro trabalho, Fernandes et al⁶ também verificaram uma baixa taxa de positividade em hemocultura (4,76%). Isso pode ser explicado pela variabilidade na sensibilidade de testes de hemocultura, de acordo com a metodologia utilizada, bem como o uso prévio e empírico de antimicrobianos pelos pacientes como medida para reduzir a carga bacteriana antes que a infecção progrida.

Na análise da frequência de *Staphylococcus* sp. em hemoculturas, verificou-se a prevalência de 12,42% de bactérias deste gênero, em que 10,89% dos testes foram positivos para SCoNe, dentro deste grupo, *S. epidermidis* foi a espécie mais frequente (40,35%), seguida de *S. haemolyticus* (29,82%), *S. hominis* (22,81%), *S. saprophyticus* (3,51%), e *S. warneri* (3,51%), todas apresentando relevância clínica.

Esses achados corroboram com o estudo feito por Dallacorte et al¹⁸ que analisaram 613 hemoculturas positivas obtidas de seis hospitais diferentes e observaram que, entre as bactérias SCoN, a espécie *S. epidermidis* foi a predominante em ICS's com prevalência de 16,26%, seguida de *S. haemolyticus* (5,55%), *S. hominis* (4,72%), *S. capitis* (1,30%) e *S. saprophyticus* (0,16%).

S. epidermidis é uma espécie saprofítica e oportunista, a qual se encontra naturalmente na microbiota da pele, podendo penetrar na corrente sanguínea por meio de dispositivos médicos intracorpóreos ou procedimentos cirúrgicos¹⁹. Diversos trabalhos têm relatado *S. epidermidis* como a espécie de bactérias Gram positivas mais frequentemente isolada em hemoculturas, podendo também estar associada à multirresistência^{12,13,17,19,20}.

Por outro lado, nossos achados revelaram baixa prevalência de *S. aureus* (1,53%), se opondo ao estudo de Oliveira et al¹⁹ que relatou a prevalência de 21,62% dessa espécie em hemoculturas. Dentro do gênero *Staphylococcus*, *S. aureus* representou 12,30% dos isolados, porém com ocorrência de 50% de cepas resistentes à meticilina/oxacilina, fato representativo, devido à dificuldade do tratamento associado à condição debilitada dos pacientes.

Com relação ao perfil de sensibilidade das espécies identificadas, verificou-se que todas as cepas de *S. aureus* apresentaram resistência à Benzilpenicilina (100%) e grande parte dos isolados foram resistentes à Clindamicina (62,5%) e Eritromicina (62,5%), além de 50% serem resistentes à Oxacilina, como citado anteriormente. Em contrapartida, todas as cepas dessa espécie foram sensíveis à Vancomicina (87,5%), o que é um bom prognóstico, visto que este é o antibiótico de escolha utilizado no tratamento de MRSA, de acordo com Luna et al²¹.

Infecções por *Staphylococcus* coagulase negativo vêm ganhando destaque em IRAS^{22,23}. Continuamente, esse grupo de bactérias vem desenvolvendo estratégias para o seu estabelecimento e disseminação em ambiente hospitalar, isso inclui a colonização de dispositivos médicos invasivos, mecanismos genéticos de resistência a antibióticos, bem como a formação de biofilmes^{12,13,23,24}.

No presente estudo, a maioria das cepas de *S. epidermidis* foram resistentes à Benzilpenicilina (95,65%), seguido de Oxacilina (91,30%), Ciprofloxacina (73,91%), Eritromicina (65,21%), Clindamicina (60,87%), Norfloxacin (52,17%), o que deixa evidente a presença de multirresistência, corroborando com os achados de Dallacorte et al¹⁸, Ruschel et al¹⁷ e Pedroso et al¹³. Também foi observada resistência de *S. warneri* e *S. saprophyticus* aos antibióticos Benzilpenicilina (100%), Eritromicina (50%), Oxacilina (50%). Apesar de só terem sido isoladas duas cepas de cada uma dessas espécies, essas resistências são clinicamente significativas, visto que tais espécies não são comumente isoladas em ICS e, quando presentes, originam infecções graves.

Verificou-se, também elevada resistência de *S. haemolyticus* e *S. hominis*, respectivamente, aos

antibióticos: Benzilpenicilina (100% / 92,30%), Oxacilina (88,23% / 76,92%), Ciprofloxacina (76,47% / 69,23%), Eritromicina (76,47% / 76,92%), Norfloxacina (70,58% / 53,84%), Moxifloxacina (52,94% / 53,84%) e Clindamicina (52,94% / 69,23%), o que restringe o espectro de antimicrobianos disponíveis para o tratamento.

A multirresistência se deve a diversos fatores, dentre eles à exposição do paciente a múltiplos antibióticos durante o tratamento empírico, ou à colonização por cepas resistentes^{12,13}. Entretanto, foi observado que grande parte dos isolados de *Staphylococcus* spp. analisados no presente estudo apresentaram sensibilidade à Vancomicina, Teicoplanina, Tigeciclina, Rifampicina e Ácido Fusídico. Segundo Luna et al²¹ tais antibióticos podem ser usados sozinhos ou em associação, dependendo do fármaco e da gravidade da infecção, como recursos alternativos para tratamento de bacteremia e sepse causadas por espécies multirresistentes desse gênero bacteriano.

Por outro lado, apesar dessas possibilidades terapêuticas ainda existentes, é importante salientar a constante busca adaptativa das diversas bactérias de ambiente hospitalar a fim de driblar a ação dos antibióticos, gerando variados e complexos mecanismos de resistência, o que é um problema de saúde pública global e deve ser combatido diariamente por meio da implantação de medidas de controle de infecções.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente estudo contribuem para o melhor entendimento da dinâmica epidemiológica das IRAS, focando nas ICS causadas por *Staphylococcus* spp., na instituição onde foi realizada a referida pesquisa.

Os isolados multirresistentes e potencialmente fatais em indivíduos hospitalizados por longos períodos devem ser rastreados precocemente, em casos suspeitos de bacteremia e sepse, prosseguindo a realização de antibiograma para que se implante uma antibioticoterapia racional e adequada para cada paciente.

Portanto, a identificação precoce do agente infeccioso auxilia na escolha adequada do tratamento, promovendo uma elevação na taxa de cura, com consequente redução do tempo de internação.

Os achados corroboram, em sua maioria, com os trabalhos já realizados em outros estudos, apresentando, porém, diversidade no perfil de sensibilidade, o que é compreensível tendo em vista que a resposta difere de acordo com a mudança dos estímulos a que os microrganismos são submetidos no ambiente.

O conhecimento do perfil epidemiológico dos microrganismos mais presentes no ambiente hospitalar permite a elaboração de ações preventivas e de contenção dessas infecções. Como consequência, tem-se a redução da disseminação desses patógenos, minimizando os riscos aos pacientes bem como aos profissionais de saúde.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Os autores são gratos ao Hospital Universitário Walter Cantídio, por todos os dados fornecidos para a presente pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Abegg PTGM, Silva LL. Controle de infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo. Semin Ciênc Biol Saúde. 2011;32(1):47-58.
<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2011v32n1p47>

2. World Health Organization. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide; 2011.

Disponível em:

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/80135>

3. Azambuja EP, Pires PP, Vaz MRC. Prevenção e controle da infecção hospitalar: as interfaces com o processo de formação do trabalhador. Texto Contexto Enferm. 2004;13(n. esp):79–85.

<https://doi.org/10.1590/S0104-07072004000500009>

4. Butler-Laporte G, De L'Étoile-Morel S, Cheng MP, McDonald EG, Lee TC. MRSA colonization status as a predictor of clinical infection: A systematic review and meta-analysis. J Infect. 2018;77(6):489–95.

<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.08.004>

5. Araujo MRE. Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados. J Infect Control. 2012;1(1):8–19. Disponível em:

<https://jic-abih.com.br/index.php/jic/article/view/12/11>

6. Fernandes DD, Ramos LR, Oliveira MV, Souza CL. Hemocultura em Unidade de Terapia Intensiva: prevalência, perfil de solicitações e susceptibilidade microbiana em um hospital do Sudoeste da Bahia. Rev Bras Pesq Saúde. 2018;20(3):85–94.

Disponível em:

<https://periodicos.ufes.br/rbps/article/view/24506/16705>

7. Almeida NR, de Carvalho BMDF, do Nascimento Neta AB, da Páscoa Queiroz S. Perfil epidemiológico das infecções relacionadas à assistência à saúde em Unidades de Terapia Intensiva. Cadernos ESP. 2015;9(1):42–51. Disponível em:

<https://cadernos.esp.ce.gov.br/index.php/cadernos/article/view/92>

8. Zurita J, Mejía C, Guzmán-Blanco M. Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infect Dis. 2010;14(Suppl 2):S97-106.

<https://doi.org/10.1590/S1413-86702010000800005>

9. Van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, Espedido BA, Paterson DL, Gosbell IB. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. Clin Microbiol Rev. 2012;25(2):362–86.

<https://doi.org/10.1128/cmr.05022-11>

10. Thorlacius-Ussing L, Sandholdt H, Larsen AR, Petersen A, Benfield T. Age-dependent increase in incidence of *Staphylococcus aureus* bacteremia, Denmark, 2008–2015. Emerg Infect Dis. 2019;25(5):875–82.

<https://dx.doi.org/10.3201/eid2505.181773>

11. Bastos ECB, Costa ANB, Sousa PDL, Moreira NS, Sousa MVA, Aragão BP, et al. Prevalência de microrganismos isolados de hemoculturas em uma UTI adulto de um hospital de ensino no interior do CEARÁ. Braz J Develop, Curitiba. 2020; 6(8): 59043-47.

<https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-353>

12. Naue CR, Ribeiro T, Ribeiro R, Batista K, Aquino S. Ocorrência e perfil bacteriano de culturas coletadas em pacientes internados na unidade de terapia intensiva em um hospital terciário. HU Rev. 2019;45(2):122-33.

<https://doi.org/10.34019/1982-8047.2019.v45.25933>

13. Pedroso SHSP, Sandes SHC, Filho RAT, Nunes AC, Serufo JC, Farias LM et al. Coagulase-negative staphylococci isolated from human bloodstream infections showed multidrug resistance profile. Microb Drug Resist. 2018;24(5):635–47.

<https://doi.org/10.1089 / mdr.2017.0309>

14. Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically—Eleventh Edition: M07-Ed11. CLSI Wayne, PA, USA; 2018.
15. Libertin CR, Sacco KA, Peterson JH. Education and coaching to optimise blood culture volumes: continuous quality improvement in microbiology. BMJ Open Qual. 2018;7(3):e000228.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-000228>
16. Sydnor ER, Perl TM. Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. Clin Microbiol Rev. 2011;24(1):141–73.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00027-10>
17. Ruschel DB, Rodrigues AD, Formolo F. Perfil de resultados de hemoculturas positivas e fatores associados. RBAC. 2017;49(2):158–63.
<https://doi.org/10.21877/2448-3877.201600503>
18. Dallacorte TS, Indras DM, Teixeira JJV, Peder LD, Silva CM. Prevalência e perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de hemoculturas realizadas em hospitais particulares. Rev Inst Adolfo Lutz. 2016;75:1-11. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33515>
19. Oliveira WV, Santos WS, Gomes BS, Costa Lima JL. Etiologia e perfil de susceptibilidade dos microrganismos isolados de hemoculturas no Hospital das Clínicas da UFPE no período de janeiro a dezembro de 2014. RBAC. 2019;51(1):40–5.
<https://doi.org/10.21877/2448-3877.201900755>
20. Alves LNS, Oliveira CR, Silva LAP, Gervásio SMD, Alves SR, Sgavioli GM. Hemoculturas: estudo da prevalência dos microrganismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos utilizados em Unidade de Terapia Intensiva. J Health Sci Inst. 2012;30(1):44–7. Disponível em:
https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/2020/12/V30_n1_2011_p44-47.pdf
21. Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Gotuzzo E. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infect Dis. 2010;14(Suppl 2):S119–27.
<https://doi.org/10.1590/S1413-86702010000800007>
22. Sousa MA, Medeiros NM, Carneiro JR, Cardoso AM. Hemoculturas positivas de pacientes da unidade de terapia intensiva de um hospital escola de Goiânia-GO, entre 2010 e 2013. Rev EVS. 2014;41(3):627-35.
<http://dx.doi.org/10.18224/est.v41i3.3612>
23. Candel FJ, Baos E, Nieto M, Picazo JJ. Could ceftaroline be an alternative therapy for linezolid resistant *Staphylococcus epidermidis* infections in Intensive Care Medicine? Rev Esp Quimioter. 2015;28(4):214–6. Disponível em:
<http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/4/completo.pdf>
24. Szemraj M, Czekaj T, Kalisz J, Szewczyk EM. Differences in distribution of MLS antibiotics resistance genes in clinical isolates of staphylococci belonging to species: *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. simulans* and *S. warneri*. BMC Microbiol. 2019;19(1):124.
<https://doi.org/10.1186/s12866-019-1496-5>





Valores normais da atividade da colinesterase plasmática em anseriformes, com destaque para *Alopochen aegyptiacus*

Normal values of plasma cholinesterase activity in anseriformes, with emphasis on *Alopochen aegyptiacus*

Estella Zago BECEGATO^{1*} , Elizabeth Visone Nunes WESTPHALEN², Sansão da Rocha WESTPHALEN², José Eduardo TOLEZANO² , Marilena OSHIRO¹ , Cristiani Martinez SALZONE¹, Natália Coelho Couto de Azevedo FERNANDES¹ , Juliana Mariotti GUERRA¹ 

¹Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

²Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

A inibição da enzima colinesterase plasmática (BChE) pode ser utilizada como biomarcador para os efeitos da intoxicação por organofosforados e carbamatos. Nas aves, esta inibição ocorre de forma mais acentuada que nos mamíferos, porém poucos são os trabalhos publicados nestas espécies. O objetivo do estudo foi a dosagem da BChE em gansos-egípcios (*Alopochen aegyptiacus*) e nos anseriformes domésticos: gansos-domésticos (*Anser anser domesticus*) e marrecos (*Anas platyrhynchos domesticus*), para o estabelecimento de valores de referência normais. O trabalho possui ineditismo com relação à determinação desta enzima nos gansos-egípcios e domésticos. Os gansos e marrecos são mantidos em confinamento com fornecimento de alimentos e água *ad libitum* e em espaço adequado à sua manutenção no Instituto Adolfo Lutz (IAL), com a finalidade de fornecimento de sangue para a alimentação de triatomídeos do insetário de criação no Núcleo de Parasitoses Sistêmicas. Nos *Alopochen aegyptiacus* a média e o desvio padrão da BChE foram de $1.868 \pm 263,6$ U/L, nos *Anser anser domesticus* $2.311 \pm 673,2$ U/L e nos *Anas platyrhynchos domesticus* $4.290 \pm 86,11$ U/L.

Palavras-chave. Butirilcolinesterase, Inseticidas, Organofosforados, Carbamatos, Biomarcadores, Gansos.

ABSTRACT

The inhibition of the plasma cholinesterase enzyme (BChE) can be used as a biomarker for the effects of intoxication by organophosphates and carbamates. In birds, this inhibition is more pronounced than in mammals, however there are few specific studies were conducted in this field. The aim of this study was to measure BChE in Egyptian geese (*Alopochen aegyptiacus*) and domestic anseriforms: domestic geese (*Anser anser domesticus*) and mallards (*Anas platyrhynchos domesticus*), not exposed to pesticides, for the establishment of normal values. The work is unprecedented regarding the determination of this enzyme in egyptian geese and domestic geese. Geese and mallards are kept in confinement with *ad libitum* food and water supply and in adequate space for their maintenance at the Adolfo Lutz Institute (IAL), for the purpose of supplying blood for the feeding of triatomines from the insectary of the Nucleus of Systemic Parasitoses. In *Alopochen aegyptiacus* the mean and standard deviation of BChE were $1,868 \pm 263,6$ U/L, in *Anser anser domesticus* $2,311 \pm 673,2$ U/L and in *Anas platyrhynchos domesticus* $4,290 \pm 86.11$ U/L.

Keywords. Butyrylcholinesterase, Insecticides Organophosphates, Carbamates Biomarkers, Geese.

*Autor de correspondência/Corresponding author: estellazbcg@gmail.com

Recebido/Received: 27.11.2020 - Aceito/Accepted: 22.03.2021

INTRODUÇÃO

Os organofosforados e os carbamatos são utilizados como praguicidas na agricultura e no controle de vetores e pragas sinantrópicas. Seu principal efeito tóxico é causado pela inibição da enzima acetilcolinesterase. Esta inibição também ocorre nas aves e nos mamíferos, que ingerem alimento ou água contaminados, causando alterações muscarínicas, nicotínicas e do sistema nervoso central^{1,2}. Em uma intoxicação aguda, pode levar ao óbito, enquanto na exposição subletal provoca alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais^{3,4}. Esses inseticidas são os principais responsáveis pela intoxicação na vida selvagem⁵.

Dentre os animais silvestres, as aves são as espécies mais acometidas acidentalmente pelos agrotóxicos, não só pela facilidade migratória³ como, também, por serem mais sensíveis à exposição aguda aos pesticidas anticolinesterásicos do que os mamíferos, explicados pelos sistemas enzimáticos diferenciados entre eles⁶. Com essas características as aves tendem a ser um bom indicador de biomonitoramento ambiental, principalmente nas localidades onde há um grande volume de aplicações de inseticidas e uma alta densidade aviária³.

A espécie *Alopochen aegyptiacus* ou ganso-egípcio pertence à Ordem Anseriformes, Família Anatidae e Subfamília Tadorninae⁷. É originária do continente africano e habitam pântanos de água doce em campo aberto, reservatórios, represas, lagoas, lagos, rios, obras de esgotos e estuários, normalmente evitam áreas de florestas densas. A espécie é amplamente sedentária em grande parte de sua vida, embora possa fazer movimentos nômades ou dispersivos sazonais relacionados à disponibilidade de água^{8,9}. Normalmente realizam migrações anuais pós-reprodução para regiões de lagos e represas. Fora da estação de reprodução, por exemplo, durante a muda, podem ocorrer em bandos constituídos por centenas ou milhares de indivíduos, embora seja mais comum em pares ou pequenos grupos⁹.

A dieta dos gansos-egípcios é composta predominantemente de matéria vegetal, como sementes, folhas e caules de gramíneas e outras plantas terrestres, brotações de culturas, por exemplo, milho, trigo, aveia, lucerna, amendoim e cevada, tubérculos de batata, algas e ervas daninhas aquáticas, bem como algumas matérias animais, vermes, gafanhotos e cupins^{8,9}.

As aves das espécies *Anser anser domesticus* (ganso-doméstico) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marreco) pertencem à mesma Ordem e Família dos gansos-egípcios. São espécies amplamente domesticadas e de ocorrência comum em parques e fazendas. São migratórias e suas dietas consistem basicamente de partes de plantas. Na alimentação dos marrecos também estão incluídos invertebrados terrestres e aquáticos, como insetos, moluscos, crustáceos, vermes e ocasionalmente anfíbios e peixes⁸.

As espécies aviárias são partes importantes e visíveis do meio ambiente e podem representar verdadeiras sentinelas para avaliar a saúde ambiental em geral¹⁰. Porém, a falta de valores de referência dos marcadores biológicos nas espécies dificulta o monitoramento ambiental e casos de intoxicações. A dosagem da atividade enzimática da colinesterase é um biomarcador para avaliar intoxicações por organofosforados e carbamatos. Assim, a oportunidade de obtenção dos valores de referência normais da colinesterase plasmática (BChE) dos anseriformes supracitados, foi o objetivo deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Em 2012, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) recebeu doação de 50 exemplares da espécie *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios) (**Figura**), oriundos do parque do Ibirapuera (São Paulo, SP, Brasil). O sangue dos animais é rotineiramente utilizado como insumo para alimentação de barbeiros, insetos utilizados nas pesquisas do setor de Parasitoses Sistêmicas. As outras duas espécies *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marrecos) também eram utilizadas para esta mesma

finalidade. As três espécies se encontravam mantidas em confinamento com fornecimento de alimentos e água *ad libitum* e em espaço adequado à sua manutenção no Instituto Adolfo Lutz, sem exposição a compostos anticolinesterásicos, apresentavam-se saudáveis diante da avaliação clínica e por dados hematológicos e bioquímicos.

Foram analisados 41 animais da espécie *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios), 10 da espécie *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e 4 *Anas platyrhynchos domesticus* (marrecos).



Figura. Gansos da espécie *Alopochen aegyptiacus*

Determinação da atividade da BChE

A avaliação da atividade enzimática da colinesterase plasmática foi realizada através de *kit* comercial (Colinesterase DGKC- Diasys Diagnostic Systems) com princípio metodológico baseado na hidrólise dos ésteres da colina pela ação catalítica da colinesterase, liberando a tiocolina, que se liga a um cromógeno alterando a cor da reação. Esta alteração de cor é medida fotometricamente e é diretamente proporcional à atividade enzimática. As reações e as leituras fotométricas foram realizadas no equipamento de bioquímica clínica semi-automatizado (Cobas Mira Plus-Roche).

Os resultados foram expressos em U/L, que corresponde à capacidade da enzima em transformar um micromol de substrato por minuto a 37°C por litro de plasma. As amostras de sangue das aves foram colhidas através da veia jugular em tubo contendo heparina, no período da manhã, de modo a reduzir variações associadas com as mudanças diurnas. O plasma foi separado por centrifugação logo após a colheita do sangue e mantido em temperatura entre 4 e 8°C até o momento das análises, não ultrapassando 48 horas após a coleta. Este prazo foi definido como padronização neste estudo. Segundo a bula do *kit* utilizado, a estabilidade da amostra de soro ou plasma é estável por até duas semanas nas temperaturas entre 2 a 8°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos *Alopochen aegyptiacus* a média e o desvio padrão da BChE foi de $1.868 \pm 263,6$ U/L, nos *Anser anser domesticus* $2.311 \pm 673,2$ U/L e nos *Anas platyrhynchos domesticus* $4.290 \pm 86,11$ U/L.

A **Tabela 1** demonstra uma visão mais ampla dos valores apresentados nos grupos das espécies estudadas.

Tabela 1. Atividade enzimática da colinesterase plasmática (BChE) de *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios), *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marreco)

Espécie	n	BChE em U/L					Valor mínimo	Valor máximo
		Média	Desvio Padrão	Mediana	1º Quartil	3º Quartil		
<i>Alopochen aegyptiacus</i>	41	1.868	263,6	1.854	1.665	1.985	1.519	2.678
<i>Anser anser domesticus</i>	10	2.311	673,2	2.419	1.810	2.912	1.103	3.114
<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>	4	4.290	86,11	4.270	4.225	4.374	4.211	4.408

Dados da determinação da atividade enzimática da BChE nos anseriformes são escassos, sendo que nos *Alopochen aegyptiacus* e nos *Anser anser domesticus* não foi encontrado nenhum relato na literatura. Na **Tabela 2** estão organizados os valores de referência de BChE para 34 espécies diferentes de aves. Nela podemos observar uma variedade de valores não só entre as ordens de classes, como também dentro da própria ordem.

Tabela 2. Valores da atividade normal da colinesterase plasmática (BChE) em várias espécies de aves

Ordem	Espécie	Dosagem BChE (mínimo e máximo; média)	Unidade	N	Referência
	<i>Amazona ventralis</i>	90 - 980; 530	U/L	22	Tully et al ²⁴
	<i>African grey parrots (Psittacus erithacus)</i>	60 - 14600; 6650	U/L	351	Grosset et al ¹⁴
Psittaciformes	<i>Calopsitas (Nymphicus hollandicus)</i>	700 - 4050; 1910	U/L	65	Grosset et al ¹⁴
	<i>Cacatuas</i>	270 - 17200; 2150	U/L	228	Grosset et al ¹⁴
	<i>Lovebirds (Agapornis species)</i>	10 - 2820; 390	U/L	31	Grosset et al ¹⁴
	<i>Araras</i>	10 - 7200; 3210	U/L	120	Grosset et al ¹⁴
	<i>Buteo albicaudatus</i>	642,7 - 739,6; 691,2	U/L	2	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Buteo magnirostris</i>	138,8 - 998,1; 442,5	U/L	14	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Caracara plancus</i>	391,6 - 832,1; 601,6	U/L	12	Zwarg et al ¹⁶
Falconiformes	<i>Milvagochimachima</i>	547,8 - 804,7; 673	U/L	4	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Falco peregrinus</i>	1184.00 ± 74.99^a	nmol/min/l	32	Oropesa et al ²⁵
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Fêmea)	123 - 413; 286	U/L	46	Oropesa et al ²⁵
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Macho)	163 - 525; 292	U/L	46	Oropesa et al ²⁵
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Selvagem)	206 - 598; 330	U/L	20	Oropesa et al ²⁵

Continua na próxima página

Continuação

	<i>Athene cunicularia</i>	524 - 1900,2; 1156,2	U/L	7	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Ciccaba virgata</i>	837,1 - 2088, 6; 1112,5	U/L	5	Zwarg et al ¹⁶
Strigiformes	<i>Megascops choliba</i>	450,5 - 14327; 845,2	U/L	21	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Tyto alba</i>	611,9 - 2294; 1076,8	U/L	22	Zwarg et al ¹⁶
	<i>Strix aluco (jovem)</i>	449 - 4821; 2507	U/L	81	Oropesa et al ²⁵
	<i>Strix aluco (adulto)</i>	1146 - 4324; 3131	U/L	16	Oropesa et al ²⁵
Anseriformes	<i>Anas platyrhynchos</i>	1045 +55 ^a (gansos com 7 dias) / 744 +32 ^a (gansos de 85 dias)	U/L	26	Benetti e Benetti ¹⁷
	<i>Carpodacus mexicanus</i>	862,29 - 2101,905; 1296	U/L	8	González-Escalante et al ²⁶
	<i>Passer domesticus</i>	797,94 - 1743,3; 1379	U/L	7	González-Escalante et al ²⁶
Passeriformes	<i>Zonotrichia capensis</i>	2086.99 ± 89.47 ^a	U/L	35	Quero et al ¹³
	<i>Molothrus bonariensis</i>	1691.31 ± 122.56 ^a	U/L	20	Quero et al ¹³
	<i>Saltator aurantiirostris</i>	1724.05 ± 142.38 ^a	U/L	11	Quero et al ¹³
	<i>Turdus amaurochalinus</i>	1683.24 ± 627.51 ^a	U/L	2	Quero et al ¹³
Suliformes	<i>Morus bassanus</i>	360 - 640; 480	U/L	5	Santos et al ¹⁵
Ciconiiformes	<i>Ciconia ciconia</i>	260 - 540; 390	U/L	5	Santos et al ¹⁵
Pelecaniformes	<i>Ardea cinerea</i>	100 - 210; 150	U/L	4	Santos et al ¹⁵
Columbiformes	<i>Columbina picui</i>	943.65 ± 82.91 ^a	U/L	13	Quero et al ¹³
	<i>Pseudo gyps africanus</i>	1795.307 ± 9158.23 ^a	U/L	33	Oropesa et al ²⁵
Accipitriformes	<i>Accipiter nisus (jovem)</i>	999 - 2229; 1509	U/L	20	Oropesa et al ²⁵
	<i>Accipiter nisus (adulto)</i>	834 - 1951; 1485	U/L	7	Oropesa et al ²⁵

^aMédia e desvio padrão

Alguns autores já afirmaram a ocorrência dessa grande variação da atividade enzimática dentro do mesmo gênero e até mesmo dentro da mesma espécie^{11,12}. Nos anseriformes não foi diferente. A atividade enzimática de BChE na espécie *Alopochen aegyptiacus* revelou-se 23,5% mais baixa em relação ao *Anser anser domesticus* e 130% mais baixa em relação *Anas platyrhynchos domesticus*. E a diferença entre *Anser anser domesticus* e *Anas platyrhynchos domesticus* foi de 85,6%.

A atividade enzimática de BChE na espécie *Alopochen aegyptiacus* se mostrou mais próxima dos valores de algumas espécies de passeriformes e das calopsitas (*Nymphicus hollandicus*). *Anser anser domesticus* apresentou valores próximos ao passeriforme tico-tico (*Zonotrichia capensis*). Quero et al (2019)¹³ relatam que espécies de aves granívoras e insetívoras, dieta semelhante à Ordem dos Anseriformes, apresentam atividades mais altas.

O maior valor, considerando a média e não o valor máximo, de atividade enzimática da **Tabela 2**, foi identificado por Grosset et al (2014)¹⁴ em *Psittacus erithacus* com BChE de 6.650 U/L. *Anas platyrhynchos domesticus* foi o que apresentou o maior valor (4.290 U/L) entre os anseriformes estudados. Os menores valores de BChE, e mais distantes dos anseriformes, foram identificados nas aves da Ordem Pelecaniformes¹⁵. Alguns autores correlacionaram a variabilidade de valores da atividade enzimática a fatores filogenéticos, como sugerido em aves de rapina¹⁴, ao sexo, como relatado em pequenas corujas, e a idade do animal. Os animais mais jovens apresentam atividade de BChE mais elevada¹⁶, estes valores podem estabilizar na fase adulta e diminuir na fase senil¹⁷.

Com exceção da espécie *Anas platyrhynchos domesticus*, os gansos deste estudo apresentaram valores de médias de BChE relativamente próximos aos relatados em 1991, por Bennett e Bennett¹⁷, os quais utilizaram aves da espécie *Anas* sp. com idades entre 7 a 85 dias. Entretanto estes autores mantiveram as amostras congeladas à -75°C, até a execução da análise, que foi realizada através do cálculo entre a dosagem da atividade da colinesterase total e a acetilcolinesterase. Neste trabalho de 1991¹⁷, houve decréscimo da atividade enzimática com o aumento da idade das aves. No presente estudo a faixa etária dos animais não foi definida, impossibilitando a verificação do efeito da idade sobre a atividade enzimática.

No trabalho realizado por Fairbrother e Bennet¹¹, utilizando o método de Ellman com modificações, foram verificados valores da atividade de BChE nas aves controles da espécie *Anas platyrhynchos*, próximos aos encontrados para os anseriformes supracitados. Porém a espécie *Anas platyrhynchos domesticus* apresentou atividades enzimáticas próximas às encontradas pelos autores em algumas fêmeas durante a fase de postura. Estes autores¹¹ levantaram a hipótese de que pode haver uma conexão entre a atividade desta enzima e os níveis de hormônio luteinizante, com um pico da atividade enzimática na oviposição ou próximo a ela. Nos gansos domésticos do estudo atual nenhuma explicação biológica pode ser dada para o elevado valor da enzima, já que a fase reprodutiva das aves não foi relatada.

Além da variação interespecífica, e a idade das aves, já relatadas, é importante salientar a diferença dos valores da atividade enzimática da colinesterase que ocorre para espécies criadas em cativeiro como verificado nos Strigiformes¹⁶, alterações dos níveis de hígidez, massa corporal, prenhez, hepatopatas, estação climática e condições ambientais¹⁷⁻²⁰.

A inibição da atividade enzimática cerebral em mais de 20% é considerada para efeito de exposição aos inseticidas em aves, valor que pode ser extrapolado para a inibição de BChE em gansos da espécie *Anas platyrhynchos*, visto que nos animais da espécie expostos à baixa taxa de pulverização com carbofurano, inseticida carbamato, a inibição enzimática de BChE foi cerca de 30%²¹. Entretanto, nenhum outro trabalho sobre a porcentagem da inibição nas espécies *Alopochen aegyptiacuse Anser anser domesticus* foi encontrado na literatura. Para comparação, em codornas tratadas com dieta exposta ao paration, inseticida organofosforado, a atividade média da BChE diminuiu de forma constante em 12 a 24 horas, e estabilizou em cerca de 30% do normal²². A inibição também pode ser detectada nos indivíduos que apresentarem diminuição da atividade enzimática equivalente a duas vezes o desvio padrão da média obtida de todos os animais avaliados²³. É importante a compreensão de que a identificação de intoxicação é realizada através da correlação da dosagem enzimática com a clínica do paciente, frente à variação que ocorre dentro de uma mesma espécie.

Mais pesquisas abordando os potenciais efeitos ambientais dos pesticidas anticolinesterásicos em aves e em outras espécies seriam bem-vindas no Brasil e em outros países da América do Sul, considerando o uso extensivo e às vezes inadequado de tais agentes na região. Acreditamos que a falta de tais estudos resulta na falsa interpretação de que esses envenenamentos são menos comuns do que realmente o são¹⁶.

CONCLUSÃO

Diante dos fatos, concluímos que a atividade da colinesterase difere entre as espécies aviárias, inclusive com variação intraespecífica. A espécie *Alopochen aegyptiacus* revelou níveis distintos dos anseriformes domésticos estudados, a maior atividade da colinesterase plasmática foi encontrada na espécie *Anas platyrhynchos domesticus*.

Vale ressaltar que os valores da atividade enzimática da BChE podem variar conforme o kit empregado na dosagem pelo laboratório. Assim, para que esses valores aqui publicados sejam utilizados como de referência normal, é recomendado atentar-se ao kit utilizado.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Não declarado.

REFERÊNCIAS

1. Alias AS, Al-Zubaidy MHI, Mousa YJ, Mohammad FK. Plasma and whole brain cholinesterase activities in three wild bird species in Mosul, IRAQ: *In vitro* inhibition by insecticides. Interdiscip Toxicol. 2011;4(3):144-8.
<https://doi.org/10.2478/v10102-011-0022-x>
2. Horowitz IH, Yanco EG, Landau S, Nadler-Valency R, Anglister N, Bueller-Rosenzweig A et al. Whole blood cholinesterase activity in 20 species of wild birds. J Avian Med Surg. 2016;30(2):122-6.
<https://doi.org/10.1647/2014-044>
3. Fildes K, Szabo JK, Hooper MJ, Buttemer WA, Astheimer LB. Plasma cholinesterase characteristics in native Australian birds: significance for monitoring avian species for pesticide exposure. Emu-Austral Ornithology 2009;109(1):41-7.
<https://doi.org/10.1071/MU08027>
4. Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu Rev Entomol. 2007;52:81-106.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
5. Bertero A, Fossati P, Caloni F. Indoor poisoning of companion animals by chemicals. Sci Total Environ. 2020;733:139366.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139366>
6. Franson JC, Smith MR. Poisoning of wild birds from exposure to anticholinesterase compounds and lead: Diagnostic methods and selected cases. Semin Avian Exot Pet Med. 1999;8(1):3-11.
[https://doi.org/10.1016/S1055-937X\(99\)80030-9](https://doi.org/10.1016/S1055-937X(99)80030-9)
7. Oropesa AL, Sánchez S, Soler F. Characterization of plasma cholinesterase activity in the Eurasian Griffon Vulture *Gyps fulvus* and its *in vitro* inhibition by carbamate pesticides. Ibis. 2017;159(3):510-8.
<https://doi.org/10.1111/ibi.12476>
8. Del Hoyo, J Elliot, A Sargatal, J, editors. Handbook of the Birds of the World: Ostrich to Ducks. vol.1, 1. ed. Barcelona, Spain: Lynx Edicions; 1992. 696.p.
9. Kear, J, edithor. Ducks, geese and swans. Part I: general chapters; Part II: species accounts (Anhima to Salvadorina). Oxford. U.K.: Oxford University Press; 2005a.
10. Gyimesi A, Lensink R. Egyptian goose *Alopochen aegyptiaca*: an introduced species spreading in and from the Netherlands. Wildfowl. 2012;62:126-43.
11. Fairbrother A, Bennett RS, Bennett JK. Sequential sampling of plasma cholinesterase in mallards (*Anas platyrhynchos*) as an indicator of exposure to cholinesterase inhibitors. Environ Toxicol Chem. 1989;8(2):117-22.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620080202>

12. Hill EF. Brain cholinesterase activity of apparently normal wild birds. J Wildl Dis. 1988;24(1):51-61.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-24.1.51>
13. Quero AÁM, Zarco A, Landa FB, Gorla NBM. Plasma cholinesterase activity in wild birds from undisturbed woodlands in the Central Monte Desert. Environ Toxicol Chem. 2019;38(8):1692-700.
<https://doi.org/10.1002/etc.4458>
14. Grosset C, Bougerol C, Sanchez-Migallon Guzman D. Plasma butyrylcholinesterase concentrations in psittacine birds: reference values, factors of variation and association with feather-damaging behavior. J Avian Med Surg. 2014;28(1):6-15.
<https://doi.org/10.1647/1082-6742-28.1.6>
15. Santos CSA, Monteiro MS, Soares AMVM, Loureiro S. Characterization of cholinesterases in plasma of three Portuguese native bird species: application to biomonitoring. PLoS One. 2012;7(3):e33975.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033975>
16. Zwarg T, Prioste F, Vanstreels RET, Santos RJ, Matushima ER. Normal plasma cholinesterase activity of neotropical falconiformes and strigiformes. J Raptor Res. 2012;46(2):201-7.
<https://doi.org/10.3356/JRR-11-50.1>
17. Bennett RS, Bennett JK. Age-dependent changes in activity of mallard cholinesterases. J Wildl Dis. 1991;27(1):166-8.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-27.1.116>
18. Lanzarot MP, Barahona MV, San Andrés MI, Fernández-García M, Rodríguez C. Hematologic, protein electrophoresis, biochemistry, and cholinesterase values of free-living black stork nestlings (*Ciconia nigra*). J Wildl Dis. 2005;41(2):379-86.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-41.2.379>
19. Strum KM, Alfaro M, Haase B, Hooper MJ, Johnson KA, Lanctot RB et al. Plasma cholinesterases for monitoring pesticide exposure in nearctic-neotropical migratory shorebirds. Ornitol Neotrop. 2008;19(Suppl.):641-51.
20. Coraiola AM. Indicadores clínicos, hematológicos, bioquímicos e toxicológicos na pré e pós-reabilitação de Pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) no sul do Brasil [dissertação de mestrado]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2012. Disponível em:
<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/27613?show=full>
21. Martin PA, Solomon KR, Forsyth DJ, Boermans HJ, Westcott ND. Effects of exposure to carbofuran-sprayed vegetation on the behavior, cholinesterase activity and growth of mallard ducklings (*Anas platyrhynchos*). Environ Toxicol Chem. 1991;10(7):901-9.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620100706>
22. Ludke JL, Hill EF, Dieter MP. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. Arch Environ Contam Toxicol. 1975; 3(1):1-21.
<https://doi.org/10.1007/BF02221128>
23. Fonseca LA, Fagundes V, Girardi FM, Maia NL, Pimentel FG, Braga FR et al. Atividade da colinesterase plasmática como biomarcador de impacto ambiental em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) no litoral do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco. Pesqu Vet Bras. 2015;35(4):385-9.
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000400012>

24. Tully TN, Osofsky A, Jowett PLH, Hosgood G. Acetylcholinesterase concentrations in heparinized blood of hispaniolan amazon parrots (*Amazona ventralis*). J Zoo Wildl Med. 2003;34(4):411-3.
<https://doi.org/10.1638/02-004>
25. Oropesa AL, Gravato C, Sánchez S, Soler F. Characterization of plasma cholinesterase from the White stork (*Ciconia ciconia*) and its *in vitro* inhibition by anticholinesterase pesticides. Ecotoxicol Environ Saf. 2013;97:131-8.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.022>
26. González-Escalante L, Mercado-Hernández R, González-Rojas JI, Bermúdez De León M. Plasma cholinesterase activity in the house finch, *Carpodacus mexicanus*, and the house sparrow, *Passer domesticus*, collected from pesticide-exposed agricultural land. Bull Environ Contam Toxicol. 2013;90(1):9-11.
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00128-012-0864-8>





Leites e seus substitutos de origem vegetal: avaliação e comparação da qualidade nutricional de seus rótulos

Milk and its vegetable substitutes: evaluation and comparison of nutritional quality of its labels

Isabella NICOLAU¹, Jéssica Moraes MENDONÇA¹, Susete DRESCH¹ , Fernanda Garcia Semião PEDRA¹ , Christiane Mileib VASCONCELOS^{1,2*} 

¹Curso de Nutrição, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

²Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Vila Velha, Campus Boa Vista, Vila Velha, ES, Brasil.

RESUMO

Leite é fonte importante de proteínas de alto valor biológico, vitaminas e minerais, porém, questões de alergia ou intolerância e um estilo de vida vegano ou vegetariano, têm levado à substituição por bebidas à base de vegetais. Para avaliar se a substituição é pertinente, este trabalho comparou os rótulos dos leites de origem animal e as bebidas vegetais disponíveis nos principais supermercados da Grande Vitória, ES. Foram avaliadas 56 embalagens de leite UHT (*ultra high temperature*) de vaca e de cabra, nas suas diferentes versões, e 41 de bebidas vegetais de amendoim, amêndoas, arroz, aveia, castanhas, coco, espelta, *nuts* e soja. As bebidas vegetais apresentaram, em geral, presença de fibras, maior teor de ácidos graxos insaturados e menor teor de sódio. Os leites se destacaram pela presença de colesterol, maior aporte proteico, de cálcio e das vitaminas A e D. As bebidas vegetais também apresentaram maiores quantidades de carboidratos e valor calórico. Sendo assim, se não há restrições para o consumidor, seja por questões de saúde, cultura ou hábito, a substituição de leite por bebidas vegetais não é equivalente. No entanto, o consumo de leites integrais deve ser equilibrado devido seu elevado teor de gorduras saturadas e de sódio.

Palavras-chave. Alimentos de Origem Animal, Leite, Substitutos do Leite, Informação Nutricional, Rotulagem de Alimentos.

ABSTRACT

Milk is an important source of high biological value proteins, vitamins and minerals, however, allergy or intolerance issues, and a vegan or vegetarian lifestyle, have led its replacement by vegetables-based beverages. To evaluate whether this substitution is relevant; this study compared the labels of animal origin milk and the vegetable beverage available in the main supermarkets of Greater Vitória, ES. Fifty-six packages of cow and goat UHT milks, in their different versions, and 41 packages of vegetable beverages of peanuts, almonds, rice, oats, nuts, coconut, spelt, walnuts and soybeans were evaluated. The vegetable beverages presented, in general, the presence of fibers, higher content of unsaturated fatty acids and lower sodium content. Milks stood out due to the presence of cholesterol, higher protein intake, calcium and vitamins A and D. Vegetable beverages also presented higher amount of carbohydrates and higher caloric value. Therefore, if there is no restriction, whether for health, culture or habit reasons, it is not equivalent to replace milks vegetable beverages. However, the consumption of whole milk should be balanced due to its high content of saturated fats and sodium.

Keywords. Foods of Animal Origin, Milk, Milk Substitutes, Nutritional Facts, Food Labeling.

* Autor de correspondência/Corresponding author: chrismileib@yahoo.com.br

Recebido/Received: 16.07.2020 - Aceito/Accepted: 01.03.2021

INTRODUÇÃO

Leite e seus derivados merecem destaque por constituírem um grupo de alimentos de grande valor nutricional, com proteínas de alto valor biológico, importantes vitaminas do complexo B e vitamina A, além de minerais como fósforo, potássio, zinco, magnésio e cálcio. O consumo habitual desses alimentos é recomendado, principalmente, para que se atinja a adequação diária de ingestão de cálcio, fundamental para a manutenção da estrutura óssea do organismo, contração muscular, coagulação sanguínea, ativação enzimática, etc^{1,2}.

A produção brasileira é bastante expressiva, sendo que, até março/abril de 2020, o Brasil foi o 5º maior produtor de leite em nível internacional³. Apesar da importante produção nacional e composição nutricional, nas últimas décadas houve profundas modificações sociais, econômicas e culturais no País, que levaram a alterações nos hábitos e comportamentos alimentares⁴.

Dentre os alimentos que desencadeiam sintomas alérgicos na faixa etária pediátrica, um dos mais significativos é o leite de vaca⁵. Na alergia à proteína do leite de vaca, a conduta é introduzir dieta com exclusão do leite de vaca e seus derivados, além de alimentos nos quais o alérgeno faça parte da sua composição^{6,7}. Outro agravante decorrente do consumo de leite de vaca é a intolerância à lactose que ocorre devido à deficiência de enzima lactase, provocando sintomas gastrointestinais associados à má digestão de lactose, em glicose e galactose, sendo esta condição muito prevalente no mundo⁸.

Além da substituição por questões de saúde, as bebidas vegetais têm sido procuradas também por pessoas que seguem dietas alimentares como vegetarianismo e veganismo, ou seja, dietas que excluem qualquer produto que gere exploração e/ou sofrimento animal⁹.

Nesse sentido, a produção de bebidas à base de vegetais (não frutas) apresenta considerável crescimento, em virtude da demanda do mercado por produtos alternativos como fontes de proteínas, teor reduzido de açúcar e isentos ou com baixo teor de compostos relacionados à algum tipo de restrição alimentar¹⁰. Contudo, faz-se necessário o estudo dessas bebidas vegetais em comparação aos leites de origem animal para verificar o impacto dessas substituições na composição nutricional dos mesmos.

Assim, o presente estudo avaliou e comparou os rótulos de leites e seus substitutos vegetais comercializados nas principais redes de supermercados da grande Vitória, ES.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram visitadas as quatro maiores redes de supermercados da Grande Vitória, Espírito Santo, no período de março a maio de 2019, sendo o rótulo de todos os leites e seus substitutos vegetais fotografados para posterior análise.

Foram incluídos na análise, leites de vaca (LV) e leites de cabra (LC), ambos UHT, e diferentes bebidas vegetais (BV): amendoim, amêndoas, arroz, aveia, castanhas, coco, espelta, *nuts* e soja. Excluíram-se produtos duplicados, derivados de leite e leite em pó. Todas as porções e valores nutricionais por porção foram ajustados para representar uma porção de 200 ml.

Média e desvio padrão das calorias, carboidratos, açúcares, proteínas, gorduras total, saturada, trans, monoinsaturada e poli-insaturada, colesterol, fibras, sódio, cálcio, demais minerais e vitaminas foram calculados a partir das informações nutricionais declaradas nos rótulos de cada produto. Ainda, foram calculados os percentuais de adequação de alguns micronutrientes.

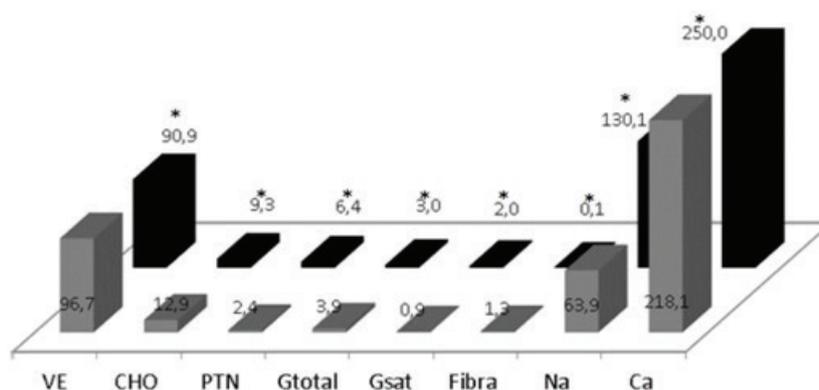
A análise estatística foi realizada pelo teste T para comparação geral das bebidas divididas em 2 grupos, “Bebida Animal” (BA) e “Bebida Vegetal” (BV), quanto aos constituintes de rotulagem obrigatória¹¹, além do cálcio que teve a quantidade informada em todas as bebidas.

A comparação entre todas as bebidas foi avaliada, quanto aos constituintes de rotulagem obrigatória e cálcio, por meio da ANOVA e, para resultados significativos ($p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste Duncan a 5% de probabilidade. Os resultados foram analisados usando o software SAS¹². Os demais nutrientes informados foram apresentados como média e, quando possível, desvio padrão, para posterior análise descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas quatro redes de supermercados da Grande Vitória foram encontrados 97 produtos, dos quais, 56 eram leite UHT de vaca (LV) e de cabra (LC), nas suas 3 formas de comercialização (integral, semidesnatado e desnatado), incluindo ainda versões sem lactose.

Em relação às BV, foram encontrados 41 produtos sendo eles à base de arroz, amêndoas, castanhas diversas, *nuts*, coco, soja, aveia, amendoim e espelta. A comparação entre a BA e BV informada nos rótulos podem ser analisadas na **Figura**.



VE: valor energético (Kcal); CHO: carboidrato (g); PTN: proteína (g); Gtotal: gordura total (g);

Gsat: gordura saturada (g); Na: sódio (mg); Ca: cálcio (mg)

*médias significativamente diferentes ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste T

Figura. Composição nutricional por porção de 200 ml das bebidas animal -

BA (■) e vegetal - BV (■)

De forma geral, as BV apresentaram valores significativamente ($p \leq 0,05$) maiores para calorias, carboidratos, fibras e gorduras totais. A média calórica foi superior devido à quantidade de carboidratos e gorduras totais superiores nas BV.

O principal carboidrato presente no leite é a lactose, já em algumas das BV analisadas foi encontrado adição de maltodextrina, um oligossacarídeo proveniente do amido e; estabilizantes e/ou espessantes que asseguram as características físicas da bebida vegetal, como goma xantana, goma gelana, goma tara, goma guar, goma carragena, carboximetilcelulose e goma garrofina. Além desses carboidratos não digeríveis, nas BV também foram encontrados emulsificantes como: lecitina de girassol, lecitina de soja, ésteres de mono e diglicerídeos de ácidos graxos com ácido cítrico. Poucos foram os produtos vegetais que apresentam uma lista de ingredientes com pouca ou nenhuma adição de aditivos alimentares.

Com exceção do leite de vaca desnatado que obteve adição de fibras solúveis (inulina), apresentando no rótulo 3g de fibras, este constituinte é naturalmente encontrado apenas nas BV. Uma ingestão adequada de fibras é capaz de diminuir o risco de algumas doenças crônicas como diabetes *mellitus*¹³, distúrbios gastrointestinais¹⁴ e outros.

Sobre a quantidade de gorduras totais, as BV apresentaram média maior ($p \leq 0,05$) que os leites, no entanto, esse resultado inverte quando avaliado o teor de gorduras saturadas.

Proteínas, sódio e cálcio sobressaíram nos leites de origem animal, sendo o teor de proteínas, em média, 2,6 vezes superior, considerando ainda que, as proteínas de origem animal apresentam melhor valor nutricional comparado às proteínas vegetais¹⁵.

Na lista de ingredientes dos leites, observou-se constante presença de estabilizantes para leite UHT, sendo eles o trifosfato de sódio, difosfato de sódio, monofosfato de sódio

e citrato de sódio, o que culminou em uma quantidade de sódio superior nos LV, mais que o dobro da quantidade presente nas BV, das quais, apenas 7 (17%) apresentaram adição de citrato de sódio, especialmente na bebida de soja, com quantidade de sódio equivalente aos LV.

O teor de cálcio, como previsto, foi maior nos leites, contudo, em uma proporção não tão discrepante. Na dieta humana, aproximadamente, 70% do cálcio alimentar é proveniente do leite e seus derivados¹⁶. Nas BV, o cálcio foi encontrado na forma de fosfato tricálcio, o que torna sua biodisponibilidade comprometida, visto que o carbonato de cálcio é a forma que apresenta maior porcentagem de cálcio biodisponível (40%), seguido pelos fosfatos de cálcio (17 - 36%) e citrato de cálcio (21%)¹⁷.

A avaliação dos resultados dos leites de origem animal e das bebidas vegetais são apresentados mais detalhadamente na **Tabela 1**.

Tabela 1. Médias e desvio padrão das bebidas animal (BA) e vegetal (BV) encontradas nas principais redes de supermercados da Grande Vitória, ES

Bebidas	VE	CHO	PTN	GTotal	GSat	Fibra	Na	Ca
LVI	119,2±7,5 ^{abc}	9,2±0,4 ^{bc}	6,3±0,4 ^b	6,2±0,6 ^{ab}	4,0±0,5 ^{ab}	0,0±0,0 ^c	134,0±27,6 ^a	236,6±26,2 ^{abcd}
LCI	121,0±0,0 ^{ab}	8,6±0,0 ^{bc}	6,0±0,0 ^b	7,0±0,0 ^{ab}	5,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^c	140,0±0,0 ^a	246,0±0,0 ^{abcd}
LZI	113,3±20,5 ^{abcd}	9,2±0,5 ^{bc}	6,5±0,4 ^b	5,1±2,7 ^{bc}	3,5±1,7 ^b	0,0±0,0 ^c	124,6±20,7 ^{abc}	262,6±55,9 ^{abcd}
LVS	84,9±8,3 ^{cdef}	9,3±0,5 ^{bc}	6,8±2 ^b	2,3±0,4 ^{de}	1,5±0,3 ^c	0,0±0,0 ^c	135,0±23,9 ^a	250,3±34,3 ^{abcd}
LZS	83,7±4,6 ^{def}	9,1±0,4 ^{bc}	6,2±0,3 ^b	2,4±0,5 ^d	1,4±0,3 ^c	0,0±0,0 ^c	123,0±43,3 ^{abc}	232,2±21,1 ^{abcd}
LVD	66,4±3,7 ^{ef}	9,6±0,6 ^{bc}	6,2±0,4 ^b	0,3±0,4 ^{ef}	0,2±0,3 ^d	0,2±0,7 ^c	129,3±19,4 ^{ab}	265,0±67,7 ^{abc}
LCD	67,0±0,0 ^{ef}	8,6±0,0 ^{bc}	6,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^f	0,0±0,0 ^d	0,0±0,0 ^c	110,0±0,0 ^{abcd}	246,0±0,0 ^{abcd}
LZD	64,0±2,8 ^{ef}	9,5±0,4 ^{bc}	6,5±0,5 ^b	0,0±0,0 ^f	0,0±0,0 ^d	0,0±0,0 ^c	124,0±0,0 ^{abc}	272,0±40,0 ^{abc}
Amendoim	95,0±0,0 ^{bcd}	3,0±0,0 ^c	12,0±0,0 ^a	7,0±0,0 ^{ab}	1,5±0,0 ^c	1,0±0,0 ^{bc}	80,0±0,0 ^{bcd}	150,0±0,0 ^{cde}
Amêndoas	78,0 ± 35,0 ^{def}	8,3±7,7 ^{bc}	1,7±0,9 ^d	4,2±1,7 ^{cd}	0,5±0,7 ^{cd}	0,5±0,6 ^{bc}	42,3±29,0 ^{efg}	321,0±159,7 ^{ab}
Arroz	119,0 ± 26,2 ^{abc}	23,5±5,4 ^a	0,3±0,5 ^d	2,6±0,9 ^d	0,7±0,4 ^{cd}	1,5±1,7 ^{bc}	66,8±9,6 ^{def}	117,6±165,5 ^{de}
Aveia	81,8 ± 7,5 ^{def}	13,5±2,4 ^b	1,8±0,5 ^d	2,2±0,9 ^{de}	0,5±0,1 ^{cd}	4,6±3,5 ^a	63,2±14,9 ^{def}	311,3±61,8 ^{abc}
Castanha	95,5±9,5 ^{bcd}	3,2±0,6 ^c	3,5±0,6 ^c	7,7±0,7 ^a	1,6±0,3 ^c	0,3±0,0 ^c	20,0±40,0 ^{fg}	37,5±75,0 ^e
Coco	52,0±1,4 ^f	3,6±5,0 ^c	1,5±2,1 ^d	3,4±1,4 ^{cd}	3,0±1,0 ^b	0,0±0,0 ^c	74,5±34,6 ^{cde}	363,0±46,7 ^a
Espelta	112,0±0,0 ^{abcd}	21,0±0,0 ^a	1,4±0,0 ^d	2,2±0,0 ^{cd}	0,0±0,0 ^d	1,4±0,0 ^{bc}	70,0±0,0 ^{def}	s.d.
Nuts	143,0±38,1 ^a	12,1±11,1 ^b	5,6±2,0 ^b	8,0±0,1 ^a	1,6±0,4 ^c	2,6±2,3 ^{bc}	0,0±0,0 ^g	180,0±254,6 ^{bcd}
Soja	86,4±10,8 ^{bcd}	7,8±3,8 ^{bc}	6,0±0,6 ^b	3,4±0,3 ^{cd}	0,9±0,4 ^{cd}	0,8±0,5 ^{bc}	148,0±41,5 ^a	254,4±13,1 ^{abcd}

VE: valor energético (Kcal); CHO: carboidrato (g); PTN: proteína (g); Gtotal: gordura total (g); Gsat: gordura saturada (g); Na: sódio (mg); Ca: cálcio (mg)

LVI: leite de vaca integral; LCI: leite de cabra integral; LZI: leite de vaca zero lactose integral; LVS: leite de vaca semidesnatado; LZS: leite de vaca zero lactose semidesnatado; LVD: leite de vaca desnatado; LCD: leite de cabra desnatado; LZD: leite de vaca zero lactose desnatado. *Nuts*: mix de castanhas

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram significativamente ($\alpha=0,05$) 95 % probabilidade, pelo teste Duncan

O leite de vaca, mais consumido no Brasil, apresenta de 85 a 87% de água; 2,9 a 3,5% de proteínas; 5% de carboidratos e 3,8 a 5,5% de gordura. Também apresenta muitos compostos bioativos incluindo vitaminas, minerais, amins biogênicas, ácidos orgânicos, nucleotídeos, oligossacarídeos e imunoglobulinas¹⁸. Com exceção das gorduras totais e saturadas, que variaram no leite integral, semidesnatado ou desnatado, e influenciaram diretamente nas calorias; todos LV apresentaram perfis semelhantes, com alto teor de

proteínas, gorduras totais (os integrais), sódio e cálcio.

O leite de cabra apresenta composição semelhante ao leite de vaca, variando o teor de gordura se é integral ou desnatado. As diferenças relatadas ocorrem, principalmente, em relação ao tamanho dos glóbulos de gorduras e micelas de caseína e, proporção entre ácidos graxos de cadeia curta e média¹⁹.

Das 41 BV, 29% foram observadas serem à base de arroz, um cereal notadamente rico em carboidratos, predominante o amido²⁰, o que culminou, portanto, em uma bebida com maior quantidade de carboidratos, sendo essa semelhante ($p>0,05$) apenas a bebida à base de espelta, que também é um cereal.

A soja, encontrada em 12% das BV possui alto valor de proteínas (34 a 38%) e gorduras (18 a 22%) de boa qualidade sendo, portanto, fonte proteica nas dietas vegana ou vegetariana²¹. Comparado às demais BV, essa bebida apresentou maior quantidade de sódio, semelhante ($p>0,05$) aos leites avaliados, isso provavelmente pela presença de alguns aditivos como citrato de sódio e cloreto de sódio listados como ingredientes.

A bebida de aveia (10%) tem destaque entre os cereais, fornecendo perfil interessante de ácidos graxos insaturados e fibras alimentares como a β -glucana²², com alegação prebiótica, tendo ela apresentado o maior teor de fibras, bem superior às demais.

A bebida de coco é considerada um produto com alto teor de alguns minerais, como cálcio, fósforo e potássio, rico em aminoácidos, vitaminas C, E e algumas do complexo B, lipídios e antioxidantes²³. Contudo, comparativamente, essa foi a bebida com perfil nutricional inferior, contendo baixos teores de proteínas, gorduras insaturadas e ausência de fibras, sendo destaque apenas no teor de cálcio devido a presença do aditivo tricálcio, que não diferiu ($p>0,05$) dos leites de origem animal.

As castanhas, amêndoas e nozes são ricas em substâncias antioxidantes, como os compostos fenólicos e ácidos graxos essenciais²⁴. Comparando a média entre as bebidas avaliadas, o extrato de castanha e *nuts*, mix de oleaginosas secas, obtiveram valores elevados de gorduras totais e baixos de gorduras saturadas, sugerindo maior teor de gordura insaturada.

Na bebida de amendoim, a quantidade de proteína foi superior aos leites de vaca. O amendoim, leguminosa já rica em proteína²⁵, foi adicionada de proteína de soja, descrito na lista de ingredientes, havendo então dois tipos de leguminosas. Também apresentou média de gordura total semelhante ao leite de vaca integral, pois essas leguminosas são também oleaginosas, capazes de conferir alto teor de ácidos graxos insaturados.

Além dos nutrientes especificados obrigatoriamente nos rótulos, alguns produtos ainda apresentaram outros constituintes, como mostra a **Tabela 2**.

Tabela 2. Valores médios para gordura monoinsaturada (GMono) e poli-insaturada (GPoli), açúcares e colesterol declarado por algumas marcas de bebida animal (BA) e bebidas vegetais (BV) encontradas nas principais redes de supermercados da Grande Vitória, ES

Bebidas	GMono	GPoli	Açúcares	Colesterol
LVI	s.d.	s.d.	8,8	s.d.
LVS	0,6	0,1	9,3	4,4
LVD	0,1	s.d.	10,0	1,8
Amêndoas	3,6	1,6	10,0	0
Arroz	1,0	0,9	11,2	0
Aveia	0,3	0,7	9,7	0
Castanha	5,1	1,2	s.d.	0

LVI: leite de vaca integral; LVS: leite de vaca semidesnatado; LVD: leite de vaca desnatado
s.d.: Sem dados

As bebidas de amêndoas e castanha se destacaram nos teores de gorduras monoinsaturadas e poli-insaturadas, enquanto o colesterol, nos leites de origem animal, sendo declarado apenas nas embalagens de leite de vaca semi e desnatado. Os açúcares tiveram valores elevados, mas semelhante em todas as bebidas, independente da origem.

Alguns rótulos também declararam determinadas vitaminas e minerais (**Tabela 3**) com valores médios entre 15 e 30% em relação à legislação²⁶, exceto para leite zero lactose integral e leite de vaca desnatado, com teor de vitamina D de 1,5 a 20,8 µg, que representou 30% e 416% comparado à legislação²⁶, respectivamente.

Tabela 3. Valores médios para alguns micronutrientes declarados por algumas marcas de bebida animal (BA) e vegetal (BV) encontradas nas principais redes de supermercados da Grande Vitória, ES e percentuais de adequação de acordo com a IDR (Ingestão Diária Recomendada²⁶) para adultos*

Bebidas	Zinco (mg)	Cobre (µg)	Ferro (mg)	Vitamina A (µg)	Vitamina C (mg)	Vitamina D (µg)	Vitamina E (mg)	Vitamina B6 (mg)	Vitamina B12 (µg)	Ácido Fólico (µg)
LVI	2,1(30%)	135(15%)	3,7(26%)	154,7(26%)	7,6(17%)	5,8(116%)	2,2(22%)	0,3(23%)	0,5(21%)	54(23%)
LCI	2,1(30%)	s.d	4,2(30%)	154(26%)	14(31%)	1,5(30%)	2(20%)	s.d	s.d	s.d
LZI	1,1(16%)	s.d	2,1(15%)	152(25%)	12,6(28%)	1,5(30%)	s.d	s.d	s.d	s.d
LVD	s.d	s.d	s.d	90(15%)	16(36%)	20,8(416%)	s.d	s.d	s.d	s.d
Amêndoas	1,1(16%)	s.d	s.d	90(15%)	s.d	1,6(32%)	3,1(31%)	0,2(15%)	0,7(29%)	12(5%)
Arroz	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d	1,9(38%)	s.d	s.d	s.d	s.d
Aveia	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d	1,9(38%)	s.d	s.d	s.d	s.d
Coco	1,1(16%)	s.d	s.d	90(15%)	s.d	1,8(36%)	1,5(15%)	0,2(15%)	0,7(29%)	12(5%)
Soja	1,1(16%)	s.d	s.d	143,5(24%)	6,8(15%)	2,6(52%)	2,4(24%)	0,2(15%)	1,1(46%)	36(15%)
IDR ²⁶	7 mg	900 µg	14 mg	600 µg	45 mg	5 µg	10 mg	1,3 mg	2,4 µg	240 µg

LVI: leite de vaca integral; LCI: leite de cabra integral; LZI: leite de vaca zero lactose integral; LVD: leite de vaca desnatado. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram significativamente ($\alpha=0,05$) 95% de probabilidade, pelo teste Duncan

As bebidas de amêndoas, coco e soja apresentaram valores de zinco menores que nos leites integrais de vaca, assim como as vitaminas A, D, E, C e ácido fólico. Apesar da vitamina B12 ser naturalmente encontrada em alimentos de origem animal, algumas BV declararam a adição dessa vitamina, como a de soja, com 46% em relação à legislação. Ferro e cobre foram informados apenas nos LV.

A rotulagem tem como característica principal instruir o consumidor sobre as características nutricionais do produto, entendendo o valor energético e os demais nutrientes. Portanto, é essencial que essas informações sejam entendidas pelo mesmo^{11,26,27}.

CONCLUSÃO

As bebidas vegetais, quando comparadas aos leites de vaca e de cabra possuem valores superiores de calorias, carboidratos, gorduras totais, principalmente ácidos graxos insaturados, e fibras, por outro lado, possuem menor teor de sódio, mas notável presença de aditivos na lista de ingredientes.

A substituição de leites de origem animal por bebidas vegetais não é pertinente, caso o indivíduo não possua restrição, seja por questões de saúde ou opção, pois leites são consumidos com o intuito de conferir aporte proteico e de cálcio, e nenhuma das BV foram equivalentes nesses constituintes. Os leites de vaca e de cabra apresentam todos os aminoácidos essenciais e em quantidades acima do recomendado e são fontes

naturais de cálcio e outras vitaminas, como B12, além de outros minerais.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Não declarado.

REFERÊNCIAS

1. Reid IR, Birstow SM, Bolland MJ. Calcium and cardiovascular disease. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2017; 32(3):339–49. <https://dx.doi.org/10.3803/EnM.2017.32.3.339>
2. Lima GA, Lima PD, Barros M da G, Vardiero LP, Melo EF, Paranhos-Neto F de P et al. Calcium intake: good for the bones but bad for the heart? An analysis of clinical studies. *Arch. Endocrinol. Metab*. 2016; 60(3):252-63. <https://dx.doi.org/10.1590/2359-3997000000173>
3. CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. Informações agropecuárias. Análises do mercado agropecuário e extrativista. Análises do mercado. Histórico mensal de leite. Leite - análise mensal - março/abril2020. Publicado em 22 de abril de 2020. Leite - Análise Mensal - Março - 2020.pdf.
4. Bezerra IN, Sichieri R. Eating out of home and obesity: a Brazilian nationwide survey. *Public Health Nutr*. 2009; 12(11): 2037-43. <https://dx.doi.org/10.1017/S1368980009005710>
5. Venkataraman D, Erlewyn-Lajeunesse M, Kurukulaaratchy RJ, Potter S, Roberts G, Matthews S et al. Prevalence and longitudinal trends of food allergy during childhood and adolescence: Results of the Isle of Wight Birth Cohort study. *Clin Exp Allergy*. 2018;48(4):394-402. <https://dx.doi.org/10.1111/cea.13088>
6. Rangel AHN, Sales DC, Urbano SA, Galvão Júnior JGB, Andrade Neto JC, Macêdo CS. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Food Sci. Technol*. 2016; 36(2):179-87. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0019>
7. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 2 - Diagnóstico, tratamento e prevenção. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2018;2(1):39-82. <http://dx.doi.org/10.5935/2526-5393.20180005>
8. Misselwitz B, Butter M, Verbeke K, Fox MR. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut*. 2019;68:2080–91. <http://dx.doi:10.1136/gutjnl-2019-318404>
9. Felgate M, Savara T. Consumer and innovation trends in milk 2014. London: Datamonitor Consumer, 2014. 120 p.
10. Markets and Markets. Dairy alternative (beverage) market by type (Soy, almond, rice), formulation (plain, flavored, sweetened, unsweetened), channel (supermarket, health store, pharmacy, convenience store) & geography—global trends & forecast to 2018. 2013. <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/dairy-alternative-plant-milk-beverages-market-677.html>

11. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 dez 2003. Seção 1(251):33-5.
12. Statistical Analysis System – SAS. SAS® University Edition. Versão *online*. [acesso 2020 Mar 03]. Disponível em: https://www.sas.com/pt_br/software/university-edition.html
13. McRae MP. Dietary fiber intake and type 2 Diabetes *Mellitus*: an umbrella review of meta-analyses. J Chiropr Med. 2018;17(1):44-53. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jcm.2017.11.002>
14. Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. Cell Host Microbe. 2018;23(6):705-15. <https://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.012>
15. Berrazaga I, Micard V, Gueugneau M, Walrand S. The Role of the anabolic properties of plant- versus animal-based protein sources in supporting muscle mass maintenance: a critical review. Nutrients. 2019;11(8):1825. <https://dx.doi.org/10.3390/nu11081825>
16. Food and Agriculture Organization - FAO. Milk and dairy products in human nutrition. Rome; 2013. [acesso 2020 Abr 15]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf>
17. Vrese M, Gerstner G. Tricalcium citrate (TCC) and health. J Nutr Health Food Eng. 2017;6(5):130-146. <https://dx.doi.org/10.15406/jnhfe.2017.06.00214>
18. Fox PF, Uniacke-Lowe T, McSweeney PLH, O'Mahony JA. Dairy chemistry and biochemistry. Switzerland: Springer International Publishing; 2015.
19. Catunda KLM, Aguiar EM, Silva JGM, Rangel AHN. Leite caprino: características nutricionais, organolépticas e importância do consume. Rev Centauro 2016;7(1):34-55.
20. Amagliani L, O'Regan J, Kelly AL, O'Mahony JA. Chemistry, structure, functionality and applications of rice starch. J Cereal Sci. 2016;70:291-300. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.06.014>
21. Ciabotti S, Juhász ACP, Mandarino JMG, Costa LL, Corrêa AD, Simão AA et al. Chemical composition and lipoxygenase activity of soybean (*Glycine max* L. Merrill.) genotypes, specific for human consumption, with different tegument colours. Braz J Food Technol. 2019;22,e2018003. <https://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.00318>
22. Sterna V, Zute S, Brunava L. Oat grain composition and its nutrition benefice. Agric Agricultural Sci Procedia. 2016;8:252-6. <https://dx.doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.100>
23. Seow EK, Che Muhamed AM, Cheong-Hwa O, Tan TC. Composition and physicochemical properties of fresh and freeze-concentrated Coconut (*Cocos nucifera*) water. J Agrobiotech. 2017;8(1):13-24.2017; 8(1):13-24.

Nicolau I, Mendonça JM, Dresch S, Pedra FGS, Vasconcelos CM. Leites e seus substitutos de origem vegetal: Avaliação e comparação da qualidade nutricional de seus rótulos. Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo. 2021;80:1-9,e37280.

24. Egea MB, Lima DS, Lodete AR, Takeuchi K. Bioactive compounds in nuts and edible seeds: focusing on Brazil nuts and Baru Almond of the Amazon and Cerrado Brazilian Biomes. SM J Nutr Metab. 2017;3(2):1022s.

25. Fletcher SM, Shi Z. An overview of world peanut markets. In: Stalker HT, Wilson RF. Peanuts Genetics, Processing, and Utilization. Chapter 10. 2016:267-87.

<https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-038-2.00010-1>

26. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set 2005. Seção 1(184):372.

27. Miller LM, Cassady DL. The effects of nutrition knowledge on food label use. A review of the literature. Appetite. 2015;92:207-16.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2015.05.029>



© 2021 Instituto Adolfo Lutz

ACESSO ABERTO/OPEN ACCESS - Creative Commons License



Contaminação microscópica por matérias estranhas em noz-moscada, cúrcuma, gengibre, colorífico, pimenta-do-reino e páprica comercializados no estado de São Paulo, Brasil. (Parte I)

Microscopic contamination by foreign matter in nutmeg, turmeric, ginger, colorific, black pepper and paprika marketed in the State of Sao Paulo, Brazil. (Part I)

Sonia de Paula Toledo PRADO^{1*} , Matheus Leandro RODRIGUES¹ , Cinthia Iara de AQUINO¹ , Maria Helena IHA¹ 

¹ Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto, Instituto Adolfo Lutz, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de matérias estranhas em noz-moscada, (*Myristica fragrans* Houttuyn), cúrcuma (*Curcuma longa* Linnaeus), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), colorífico (mistura de urucum [*Bixa orellana* Linnaeus] com fubá), pimenta-do-reino (*Piper nigrum* Linnaeus) e páprica (*Capsicum annum* Linnaeus) conforme a legislação sanitária. Foram analisadas 180 amostras empregando os métodos preconizados pela AOAC Internacional, de maio de 2018 a maio de 2020. A presença de ao menos uma matéria estranha foi observada em 80% das amostras. Pelos animais foram observados em todos os produtos e fragmentos de insetos foram encontrados na maioria das amostras. Ácaro, inseto inteiro, larva de inseto, bábula e exúvia também foram encontrados, além de fibras sintéticas e fragmentos de microplásticos. Quanto à legislação, 47,8% das amostras estavam acima dos limites de tolerância, destas, 90,7% por conterem matérias estranhas indicativas de falhas na aplicação das boas práticas e 9,3% por matérias estranhas indicativas de risco à saúde. Os resultados obtidos denotam ineficiência da aplicação das medidas de boas práticas na cadeia produtiva e alertam para a intensificação da fiscalização direcionada ao cumprimento das normas sanitárias, além de provocarem a reflexão sobre a necessidade de alterações na legislação referente às matérias estranhas.

Palavras-chave. Especiarias, Microscopia, Qualidade dos Alimentos, Legislação sobre Alimentos.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the presence of foreign matter in nutmeg, (*Myristica fragrans* Houttuyn), turmeric (*Curcuma longa* Linnaeus), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), colorific (mixture of annatto [*Bixa orellana* Linnaeus] with cornmeal), black pepper (*Piper nigrum* Linnaeus) and paprika (*Capsicum annum* Linnaeus) according to the health legislation. A total of 180 samples were analyzed using the methods recommended by AOAC International, from May 2018 to May 2020. The presence of at least one foreign matter was observed in 80% of the samples. Animal's hairs were observed in all the evaluated products and insect's fragments were found in the most of the samples. Mites, whole insects, insect larvae, barbules and exuvia were also found, as well as synthetic fibers and microplastic fragments. About legislation, 47.8% of the samples were above the tolerance limits, of these, 90.7% for containing foreign matters indicating failure of good practices and 9.3% for foreign matters indicating health risk. The results obtained show inefficiency in the application of good practice measures in production chain and advertise for the intensification of inspection directed to fulfillment of sanitary norms, besides provoking the reflection on the necessity of alterations in the legislation about foreign matter in foods.

Keywords. Spices, Microscopy, Food Quality, Legislation, Food.

* Autor de correspondência/Corresponding author: sonia.prado@ial.sp.gov.br

Recebido/Received: 19.10.2020 - Aceito/Accepted: 26.04.2021

INTRODUÇÃO

Especiarias são utilizadas há séculos em todo o mundo para as mais variadas finalidades, como cosméticos, afrodisíacos e flavorizantes em alimentos¹. Além de intensificarem o sabor, seu uso é muito atrativo pelos benefícios à saúde e pela preocupação com a segurança no consumo em relação aos aditivos artificiais².

Especiarias são produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais, empregadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas³. Elas contêm poderosos antioxidantes comprovadamente eficazes na inibição da oxidação lipídica e consequente desenvolvimento de rancidez nos alimentos^{2,4}.

Além dos antioxidantes, algumas especiarias como cúrcuma (*Curcuma longa* Linnaeus), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), pimenta-do-reino (*Piper nigrum* Linnaeus), páprica (*Capsicum annuum* Linnaeus), urucum (*Bixa orellana* Linnaeus) e noz-moscada (*Myristica fragrans* Houttuyn) apresentam muitos benefícios à saúde, como propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticarcinogênicas⁵⁻⁹.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de urucum. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)¹⁰, em 2018 a produção chegou a 16.613 t. Este corante natural é utilizado como base para a produção de um condimento conhecido como colorífico, feito a partir da mistura de fubá com o urucum em pó ou seu extrato oleoso¹¹.

O IBGE não disponibiliza informações recentes sobre a produção de páprica, cúrcuma, noz-moscada e gengibre no Brasil. A páprica é produzida a partir de diversas variedades de pimentão (*C. annuum* L.) maduro, seco e moído¹². Segundo a plataforma *Comex Stat*¹³, banco de dados do Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, somente em 2019 o Brasil importou 2.152 t de pimentas do gênero *Capsicum* trituradas ou em pó, sendo 58% provenientes da China; 1.516 t de cúrcuma, com 98% vindos da Índia; 239 t de noz-moscada não triturada e 51 t de noz-moscada em pó, sendo 86% e 97%, respectivamente, oriundos da Indonésia. A China foi fornecedora de 45% das 83.738 t de gengibre em pó e de 41% das 407.165 t de gengibre não triturado importadas pelo Brasil. Todas estas importações foram realizadas por via marítima.

De acordo com os dados mais recentes sobre a produção de pimenta-do-reino no Brasil disponibilizados pelo IBGE¹⁴, em 2018 foram produzidas 101.274 t desta especiaria, enquanto 192 t de pimenta do gênero *Piper* foram importadas, sendo 36% oriundas do Vietnã e 33% da Índia também por via marítima.

Para garantir sua inocuidade, a produção das especiarias deve obedecer a legislação vigente de Boas Práticas de Fabricação³. A Resolução da Diretoria Colegiada, RDC ANVISA nº 14/2014, trata das matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e estabelece limites específicos de tolerância para as matérias estranhas indicativas de risco à saúde humana e para as indicativas de falhas das Boas Práticas, incluindo especiarias em geral, páprica e pimenta-do-reino moída¹⁵.

Um relatório sobre patógenos e sujidades em especiarias publicado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) apontou que cerca de 12% das especiarias importadas pelos Estados Unidos entre 2007 e 2009 apresentaram sujidades, como insetos ou fragmentos de insetos e pelos de animais¹⁶. Todos os insetos encontrados são considerados pragas de produtos armazenados, sugerindo condições inadequadas de embalagem ou armazenamento e no caso dos roedores são amplamente reconhecidos como reservatórios de doenças e hospedeiros para vários vetores artrópodes¹⁷. O perfil de risco do FDA relata que a presença de sujidades em especiarias indica falta de condições sanitárias e falhas na aplicação de Boas Práticas¹⁸.

No Brasil, alguns estudos indicam a presença de matérias estranhas em especiarias, como, fragmentos de insetos, ácaros e pelos de roedor além de outras sujidades em pimenta do reino¹⁹ e fragmentos de insetos,

pelos de roedores e ácaros mortos em canela e páprica²⁰, porém estudos recentes que avaliam as condições sanitárias de especiarias acompanhando as atualizações da legislação são escassos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana e as indicativas de falhas na aplicação das boas práticas em cinco tipos de especiarias, sendo noz-moscada, cúrcuma, gengibre, pimenta-do-reino e páprica e um condimento, colorífico, produtos que são comumente utilizados na culinária brasileira, além de verificar a conformidade com a legislação sanitária.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 180 amostras de cinco diferentes tipos de especiarias, sendo 29 amostras de noz-moscada moída, 31 amostras de cúrcuma em pó, 25 amostras de gengibre em pó, 30 amostras de pimenta-do-reino moída e 32 amostras de páprica (doce, picante e picante defumada), além de 33 amostras do condimento de colorífico. As amostras de marcas distintas com lotes e prazos de validade diferentes foram compradas em estabelecimentos comerciais ou coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias em 35 cidades do estado de São Paulo. A pesquisa de matérias estranhas foi realizada no Laboratório de Microscopia Alimentar do Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas do Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto VI no período de maio de 2018 a maio de 2020.

Primeiramente foram pesquisadas as matérias estranhas visíveis a olho nu com o auxílio de equipamentos de menor poder de ampliação (microscópio estereoscópico - aumento de 10 a 40x). Para a extração de sujidades leves, foram empregados os métodos preconizados nos Métodos Oficiais da *Association of Official Analytical Collaboration (AOAC International)*²¹. Para noz-moscada, cúrcuma, gengibre e colorífico foram utilizados 10 g de amostra, sendo aplicados os métodos 979.26 (16.14.19), 975.49 (16.14.05), 977.24 (16.14.11) e 975.48b (16.14.04), respectivamente. Para a pimenta-do-reino foram utilizados 50 g de amostra no método 972.40 (16.14.23) e para a páprica, 25 g aplicando o método 977.25b (16.14.22). Os pelos animais foram identificados segundo Teerink²² e os insetos inteiros de acordo com Pacheco e Paula²³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, a RDC ANVISA nº 14/2014¹⁵ é utilizada como referência para a avaliação da presença de matérias estranhas em alimentos e, quando se trata de especiarias no geral, o anexo 1 desta resolução estabelece limite somente para fragmentos de insetos indicativos de falhas das boas práticas, sendo de 80 na alíquota preconizada. A noz-moscada, cúrcuma e gengibre se enquadram nesta categoria. O anexo 2 estabelece cinco ácaros mortos para os alimentos em geral.

Para pimenta-do-reino são permitidos até 60 fragmentos de insetos e um fragmento de pelo de roedor em 50 g de amostra; e para a páprica, 80 fragmentos de insetos e 11 fragmentos de pelos de roedor em 25 g de amostra. O colorífico não se enquadra na categoria das especiarias por ser classificado como tempero ou condimento composto por urucum e fubá, portanto a RDC ANVISA nº 14/2014¹⁵ não estabelece limites de tolerância de matérias estranhas específicos para este produto, exceto para ácaros mortos e areia ou cinzas insolúveis, sendo enquadrado na categoria de alimentos em geral.

Das 180 amostras analisadas, 47,8% estavam insatisfatórias em relação à RDC ANVISA nº 14/2014¹⁵, sendo que, destas, 90,7% por conterem matérias estranhas indicativas de falhas das boas práticas e 9,3% pela presença de matérias estranhas indicativas de risco à saúde humana.

Na **Tabela 1** estão representados os resultados insatisfatórios por especiaria e por matéria estranha encontrada de maneira isolada. Vale ressaltar que várias amostras apresentaram mais de um tipo de matéria estranha concomitantemente.

Tabela 1. Porcentagem de amostras insatisfatórias por apresentarem a respectiva matéria estranha em quantidade superior aos limites de tolerância permitidos ou não permitidas pela RDC ANVISA nº 14/2014, adquiridas no estado de São Paulo no período de 2018-2020

Matérias estranhas	Produtos (%)					
	Noz-moscada	Cúrcuma	Gengibre	Colorífico	Pimenta-do-reino	Páprica
Pelo animal não identificado	72,4	61,2	20,0	15,2	60,0	3,1
Pelo de roedor	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	21,9
Fragmentos de insetos	37,9	3,2	4,0	0,0	23,3	0,0
Inseto	6,9	16,1	0,0	0,0	0,0	15,6
Larva	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	9,4
Bárbula	3,4	0,0	0,0	0,0	6,6	0,0
Exúvia	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0

Do total de amostras analisadas, 80% apresentaram ao menos uma matéria estranha. Pelos animais e/ou fragmentos de pelo animal foram observados em todos os produtos avaliados e fragmentos de insetos foram a matéria estranha encontrada no maior número de amostras. Ácaro, inseto inteiro, larva de inseto, bárbula e exúvia também foram encontrados durante as análises (Figura 1).

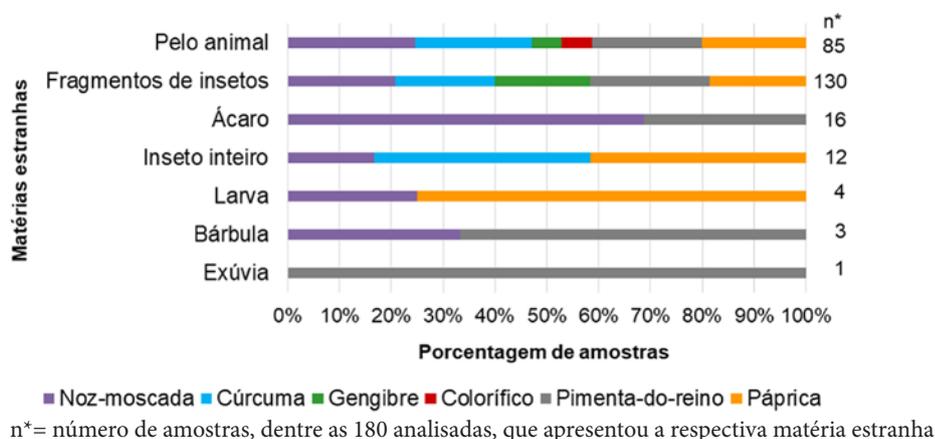


Figura 1. Matérias estranhas encontradas em amostras de cinco tipos de especiarias e um condimento coletados em 35 cidades do estado de São Paulo no período de 2018-2020

A noz-moscada, cúrcuma e gengibre se enquadram na categoria de especiarias, portanto possuem limite somente para fragmentos de insetos e ácaros, sendo 80 e 5, respectivamente¹⁵. Deste modo, a presença das outras matérias estranhas encontradas nas amostras não é tolerada.

Sendo assim, 86,2% das amostras de noz-moscada avaliadas estavam em desacordo por apresentarem ao menos um tipo de matéria estranha acima do limite ou não tolerada. A noz-moscada continha a maior diversidade de matérias estranhas e, para fragmentos de insetos, foi a que apresentou à mediana mais elevada (Tabela 2), o que pode sugerir infestação de insetos em algum ponto da cadeia de produção

anterior à moagem, pois várias das amostras apresentaram altas contagens desta matéria estranha, 11 delas acima do limite. Estes resultados vão ao encontro dos obtidos por Gecan et al²⁴, que chegaram a isolar 952 fragmentos de insetos de amostras de noz-moscada e também enfatizaram as falhas na proteção das especiarias contra insetos e outros animais.

Tabela 2. Estatística descritiva da contagem de matérias estranhas detectadas em amostras de cinco tipos de especiarias e um condimento adquiridos no estado de São Paulo, no período de 2018-2020

Produtos	Matérias estranhas	Nº de amostras*	Média	Mediana	Mínimo	Máximo
Noz-moscada n=29	Pelo de animal não identificado	21	1,1	1,0	0,0	3,0
	Frag.** de insetos	27	75,1	38,0	0,0	267,0
	Ácaro	11	0,8	0,0	0,0	3,0
	Larva de inseto	1	0,1	0,0	0,0	4,0
	Inseto inteiro	2	0,1	0,0	0,0	1,0
	Bárbula	1	0,0	0,0	0,0	1,0
Cúrcuma n=31	Pelo de animal não identificado	19	0,9	1,0	0,0	4,0
	Frag. de insetos	25	18,8	3,0	0,0	380,0
	Inseto inteiro	5	0,2	0,0	0,0	1,0
Gengibre n=25	Pelo de animal não identificado	5	0,3	0,0	0,0	2,0
	Frag. de insetos	24	18,3	5,0	0,0	105,0
Colorífico n=33	Pelo de animal não identificado	5	0,2	0,0	0,0	2,0
Pimenta-do-reino n=30	Pelo de animal não identificado	18	1,0	1,0	0,0	6,0
	Frag. de insetos	30	90,6	20,5	2,0	1075,0
	Ácaro	5	0,4	0,0	0,0	4,0
	Bárbula	2	0,6	0,0	0,0	1,0
	Exúvia	1	0,0	0,0	0,0	1,0
Páprica n=32	Pelo de animal não identificado	1	0,0	0,0	0,0	1,0
	Pelo de roedor	16	12,5	0,5	0,0	88,0
	Frag. de insetos	24	7,8	2,0	0,0	47,0
	Larva de inseto***	3	0,6	0,0	0,0	15,0
	Inseto inteiro***	5	0,3	0,0	0,0	5,0

*Número de amostras que apresentaram as respectivas matérias estranhas

**Frag.= Fragmentos

***Uma das amostras apresentou número incontável de indivíduos e foi excluída da análise estatística

Das amostras de noz-moscada que continham larvas, duas estavam vivas e os insetos inteiros encontrados estavam mortos. Além da infestação das especiarias anteriormente à moagem, a infestação em outros pontos da cadeia produtiva pós-moagem também deve ser considerada, já que indivíduos inteiros, inclusive vivos, também foram isolados. Em uma das amostras foi possível identificar o inseto como pertencente à ordem Psocoptera, que são insetos pequenos, ativos, onívoros, de ciclo de vida curto, capazes de absorver água da atmosfera e tolerantes aos inseticidas²⁵. As secreções de pragas primárias e secundárias contêm proteínas que podem funcionar como alérgenos e a maioria deles é isolada dos corpos e fezes de ácaros e psocópteros, podendo ocasionar danos à saúde²⁶. Valbuza et al²⁷ analisaram 200 amostras de 20 tipos de especiarias e plantas medicinais desidratadas e isolaram 4.755 espécimes de psocópteros, porém, não encontraram nenhum indivíduo nas amostras de urucum, cúrcuma, noz moscada e páprica doce avaliadas, diferente dos resultados encontrados neste trabalho.

A maior parte das amostras de noz-moscada foi considerada insatisfatória por conter pelo de animal não identificado. Em uma das amostras, além de dois fragmentos de pelo, uma bábula foi isolada, que são partes de ramificações de penas das aves. A legislação brasileira considera bábula de pombo como uma matéria estranha de risco à saúde e não estabelece limite para bábulas, mesmo que de outras aves, para nenhum dos produtos avaliados neste trabalho¹⁵.

A cúrcuma apresentou 64,5% das amostras em desacordo com a legislação. Uma das amostras, além de conter um inseto inteiro morto da ordem Psocoptera, também apresentou 380 fragmentos de insetos, quantidade muito acima do limite tolerado. Todas as outras amostras que continham fragmentos de insetos apresentaram quantidades abaixo do limite permitido. O maior problema entre as amostras foi à presença de pelos animais, indicando falha nas boas práticas.

Para gengibre, 24,0% das amostras estavam em desacordo com a legislação. Em 96% das amostras foi possível observar a presença de fragmentos de insetos, porém uma única amostra ultrapassou o limite estabelecido pela legislação, apresentando 105 fragmentos. Pelos animais também foram os mais frequentes dentre as matérias estranhas isoladas.

Do total de amostras de colorífico analisadas 15,2% foram consideradas como insatisfatórias por conterem pelos animais ou seus fragmentos, matérias estranhas indicativas de falhas de boas práticas, sendo que somente uma amostra apresentou dois fragmentos, o restante continha somente um. Esses pelos não puderam ser identificados por se tratarem de subpelos, que são pelos mais finos e ondulados, predominantes na pelagem do animal, porém de valor taxonômico limitado²². Os fragmentos de pelos animais tampouco apresentavam regiões características para identificação. O mesmo ocorreu com as amostras de noz-moscada, cúrcuma, gengibre e pimenta-do-reino. Moraes et al²⁸ avaliaram 14 amostras de colorífico e observaram matérias estranhas em 25% delas, incluindo uma larva morta e um pelo de felino. Apesar de o colorífico ser um condimento bastante utilizado na culinária, estudos para avaliação da presença de matérias estranhas neste produto são escassos.

A pimenta-do-reino apresentou 63,3% das amostras em desacordo com a legislação, sendo que 100% das amostras continham fragmentos de insetos. Atui et al²⁹ e Graciano et al¹⁹ obtiveram resultados semelhantes, encontrando fragmentos de insetos em 100% de 22 amostras avaliadas no primeiro estudo e 98,5% de 69 amostras no segundo.

Uma das amostras de pimenta-do-reino apresentou o número máximo de fragmentos de insetos encontrados entre todos os produtos analisados, sendo de 1.075, o que provocou a elevação da média (**Tabela 2**). Graciano et al¹⁹ também obtiveram elevada contagem máxima de fragmentos de insetos, sendo de 1.323 fragmentos, porém defendem que amostras muito contaminadas não representam a realidade e

dependem das medidas sanitárias adotadas pelas indústrias, que deveriam ser frequentemente monitoradas, visando um produto inócuo ao consumo. Gecan et al³⁰, em um estudo, detectaram fragmentos de insetos em 98,4% das amostras de pimenta do reino, além de pelos de roedor em 13,1% e bárbulas em 23,2%.

A presença de exúvia em uma das amostras de pimenta-do-reino sinaliza que o alimento foi infestado por artrópodes, pois representa uma evidência de sua presença ou o estabelecimento de uma população reprodutivamente ativa¹⁵.

O pelo de roedor é considerado uma das matérias estranhas indicativas de risco à saúde humana por ser capaz de veicular agente patogênicos para os alimentos¹⁵. Para pelos de outros animais, a legislação brasileira não estabelece limite, o que faz com que 60% das amostras avaliadas sejam consideradas insatisfatórias por conterem pelos de animais não identificados, matérias estranhas indicativas de falhas das boas práticas. Neste caso, cabe uma reflexão, pois se uma amostra apresentasse um fragmento de pelo de roedor, que representa risco à saúde, estaria satisfatória por estar dentro do limite estabelecido, porém seria considerada insatisfatória se o fragmento de pelo fosse de outro animal, que não representa risco. Compete aos órgãos regulatórios uma discussão sobre a possibilidade de se estabelecer um limite de tolerância para fragmentos de pelos que não sejam de roedor para uma próxima revisão da legislação.

Com relação à páprica, 34,4% das amostras estavam em desacordo com a legislação por apresentarem ao menos um tipo de matéria estranha e este foi o único produto a apresentar amostras insatisfatórias por conterem matéria estranha de risco à saúde humana.

Sete amostras continham fragmentos de pelo de roedor acima do limite permitido, sendo que 88 fragmentos de pelo chegaram a ser isolados de uma única amostra (**Tabela 2**). A presença destes pelos no alimento denota o contato do animal com o produto em alguma etapa do processamento, propiciando sua contaminação por meio de excreções. As especiarias e condimentos são, muitas vezes, adicionadas ao alimento após o seu cozimento e o fato de conterem matérias estranhas que representam riscos à saúde e não passarem por tratamento térmico antes de serem ingeridas pode agravar esse risco. Os fragmentos de insetos estavam presentes em 75,0% das amostras de páprica. Pauli-Yamada et al³¹ obtiveram resultados semelhantes ao analisarem 43 amostras de páprica e recuperar fragmentos de insetos em 79,0% delas, porém a média e a mediana foram mais elevadas, sendo de 31,9 e 13,0, respectivamente, o que denota maior contaminação nas amostras. Estes autores encontraram quantidades maiores de fragmentos de insetos em amostras adulteradas quando comparadas a amostras autênticas, sugerindo que parte deles pode ter sido carregada pelos ingredientes adicionados ao produto.

Em 16 amostras de páprica, os pelos encontrados apresentaram o padrão medular compatível com o padrão de pelos do camundongo *Mus musculus* L.²² e somente em uma amostra o fragmento de pelo não pôde ser identificado devido à ausência de regiões características para a identificação. Assim como encontrado no estudo feito por Pauli-Yamada et al³¹, que verificaram que 91,0% das amostras continham pelos de roedor, os fragmentos de pelo de camundongo isolados das amostras eram muito semelhantes entre si, de tamanhos variados, porém muito pequenos e com as extremidades aparentemente cortadas (**Figura 2**). Pelas características observadas, os autores inferiram que os pelos tenham sido triturados junto ao produto, demonstrando contaminação prévia ao processo de moagem.

Apesar de a frequência e quantidade de pelos de camundongo encontradas neste trabalho terem sido menores que as de Pauli-Yamada et al³¹, elas ainda são elevadas quando comparadas aos pelos animais encontrados nos outros produtos avaliados, o que indica falhas na higienização da matéria prima ou infestação de roedores em algum ponto da cadeia produtiva.

Os roedores são a principal praga da plantação de pimentão e os danos causados por eles afetam a



Figura 2. Fragmento de pelo de *Mus musculus* L. encontrado em uma amostra de páprica, evidenciando o tamanho diminuto e a aparência das extremidades

quantidade e a qualidade da páprica ainda antes da colheita³². Ratos e camundongos são os roedores mais frequentemente encontrados em ambientes de alimentos armazenados, a presença deles é indicativa de condições sanitárias insatisfatórias e pode ser observada pelas excretas, roeduras e ninhos no ambiente¹⁷. Silva e Martini³³ analisaram 1.473 amostras de vários tipos de alimentos e pelos de roedor foram identificados em 2,5% delas, sendo que as especiarias e condimentos foram os alimentos que mais apresentaram esta sujidade.

No exame macroscópico de uma das amostras de páprica, a quantidade de insetos vivos e mortos e larvas vivas encontrada foi incontável devido ao alto nível de infestação, além de conter 71 larvas mortas. Os insetos inteiros desta amostra foram identificados como *Lasioderma serricorne* Fabricius (Coleoptera) e formigas, que são insetos da ordem Hymenoptera (Formicidae) e representam risco à saúde.

Memon et al³⁴ avaliaram a susceptibilidade da páprica ao ataque de *L. serricorne* F. e a classificaram como moderada quando comparada ao cominho, que foi o mais susceptível. Os autores afirmam que os parâmetros físicos como temperatura, umidade e valor nutricional são os principais fatores que influenciam na infestação. Deste modo, a infestação por *L. serricorne* F. observada na amostra de páprica indica possíveis condições inadequadas de armazenamento pós-moagem por falhas no controle de temperatura e umidade, que permitiram a reprodução destes insetos resultando em um produto altamente infestado.

L. serricorne F. pode infestar o ser humano acidentalmente, possibilitando sérios danos às crianças e aos idosos³⁵. Um inseto vivo do gênero *Oryzaephilus* sp. (Coleoptera) também foi identificado em uma das amostras de páprica. O potencial de artrópodes hospedarem e transmitirem bactérias já foi documentado³⁶⁻³⁸.

Correia et al²⁰ analisaram 56 amostras de páprica e encontraram as mesmas matérias estranhas isoladas neste trabalho, além de ácaros mortos, indicando falhas na proteção do pimentão contra o ataque de insetos e outros animais durante o cultivo, colheita, armazenamento e transporte.



Figura 3. Aspecto das fibras sintéticas coloridas detectadas em uma amostra de páprica

Fibras sintéticas coloridas (**Figura 3**) e fragmentos que aparentavam ser de plásticos microscópicos apareceram em 58,9% e 16,7% das 180 amostras, respectivamente.

A RDC ANVISA nº 14/2014¹⁵ não menciona fibras sintéticas e fragmentos plásticos, somente objetos rígidos, fragmentos de vidro e filmes plásticos quando se referem às matérias estranhas indicativas de risco à saúde humana. Fibras sintéticas e fragmentos plásticos poderiam se enquadrar no item que corresponde a outros materiais não relacionados ao processo produtivo, indicando falhas nas boas práticas, porém caberia um item específico para elas na legislação, já que têm sido observadas em vários alimentos, como açúcar, mel, cerveja e sal³⁹⁻⁴¹. A identificação dos microplásticos é feita por meio de técnicas de espectroscopia no infravermelho para determinar os tipos de polímeros constituintes⁴¹, porém não foi realizada neste estudo. É importante relatar a ocorrência destas partículas em especiarias, pois o aumento da conscientização sobre a ocorrência de contaminação por plástico no meio ambiente tem despertado o interesse para seu monitoramento⁴². Estudos futuros são necessários para investigar a origem e composição destas matérias estranhas e definir as implicações de sua ingestão na saúde humana.

Ácaros vivos não foram encontrados em nenhum dos produtos avaliados e, apesar de ácaros mortos terem sido isolados de amostras de pimenta-do-reino e noz-moscada, nenhuma amostra foi considerada insatisfatória por conter ácaros mortos acima do limite permitido na legislação. Entretanto, a ocorrência de populações reprodutivamente ativas destes artrópodes em especiarias não pode ser descartada, uma vez que Valbuza et al⁴³ isolaram ácaros vivos de 20 tipos de especiarias e plantas medicinais desidratadas, dentre elas urucum, cúrcuma, noz-moscada e páprica doce. Ácaros já foram relatados como disseminadores de fungos e produtores de alérgenos^{44,45}.

Segundo o Regulamento técnico para especiarias, temperos e molhos, constante na RDC ANVISA nº 276/2005³, as especiarias devem ser obtidas, processadas, embaladas, armazenadas, transportadas e conservadas em condições que não produzam, desenvolvam e ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor³. Dentre os produtos avaliados, a maioria é importada por via marítima, somente o urucum e a pimenta-do-reino são produzidos no Brasil. A adoção de medidas de controle na cadeia produtiva destes produtos, seja na produção, no transporte durante a importação ou no armazenamento posterior precisa ser garantida. Produtores, importadores e comerciantes compartilham a responsabilidade de oferecerem um produto que não apresente riscos aos consumidores e que atenda a legislação sanitária brasileira.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo denotam a ineficiência da aplicação das medidas de boas práticas ao longo de toda a cadeia de produção dos produtos analisados e alertam para a intensificação da fiscalização direcionada ao cumprimento das normas sanitárias para a produção, importação e comercialização das especiarias e condimentos, visto o elevado percentual de amostras classificadas como insatisfatórias por não atenderem a legislação sanitária, apresentando tanto matérias estranhas indicativas de falhas de boas práticas como indicativas de risco à saúde humana acima do limite tolerado.

Os resultados também provocam a reflexão sobre a necessidade de alterações na legislação referente às matérias estranhas em alimentos quanto ao limite de tolerância para pelos animais que não sejam de roedores e também quanto à inclusão de fibras sintéticas e fragmentos plásticos microscópicos pela frequência que foram detectados nas amostras analisadas e em estudos realizados com outros alimentos.

Tendo em vista a carência de estudos referentes à avaliação de matérias estranhas em especiarias, principalmente em cúrcuma, noz moscada e gengibre, e também no condimento colorífico, os dados obtidos contribuirão para a avaliação dos padrões de qualidade desses produtos oferecidos no mercado.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP: 2018/07009-7).

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Parry JW. The story of spices. 1st ed. New York: Chemical Publishing Co. Inc.; 1953.208p.
2. Embuscado ME. Spices and herbs: natural sources of antioxidants - a mini review. J Funct Foods. 2015;(18):811-9.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
3. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set 2005. Seção 1(184):378-9.

4. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. J Funct Foods. 2015;(18):820-97.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
5. Ganjre A, Kathariya R, Bagul N, Pawar V. Anti-carcinogenic and anti-bacterial properties of selected spices: implications in oral health. Clin Nutr Res. 2015;4(4):209-15.
<https://dx.doi.org/10.7762/cnr.2015.4.4.209>
6. Sriwiriyan S, Tedasen A, Lailerd N, Boonyaphiphat P, Nitiruangjarat A, Deng Y et al. Anti-cancer and cancer preventive effects of a piperine free *Piper nigrum* extract on N-nitrosomethylurea induced mammary tumorigenesis in rats. Cancer Prev Res. 2016;9(1):74-82.
<https://dx.doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0127>
7. Xie L, Xiang GH, Tang T, Tang Y, Zhao LY, Liu D et al. Capsaicin and dihydrocapsaicin induce apoptosis in human glioma cells via ROS and Ca²⁺-mediated mitochondrial pathway. Mol Med Rep. 2016;14(5):4198-4208.
<https://dx.doi.org/10.3892/mmr.2016.5784>
8. Raddatz-Mota D, Pérez-Flores LJ, Carrari F, Mendoza-Espinoza JA, de León-Sánchez FD, Pinzón-López LL et al. Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of pigment and vitamin E. J Food Sci Technol. 2017;54(6):1729-41.
<https://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2579-7>
9. Matulyte I, Jekabsone A, Jankauskaite L, Zavistanaviciute P, Sakiene V, Bartkiene E et al. The essential oil and hydrolats from *Myristica fragrans* seeds with magnesium aluminometasilicate as excipient: antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activity. Foods. 2020;9(1):37.
<https://dx.doi.org/10.3390/foods9010037>
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Tabela 1613 - Área destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras permanentes. Produto das lavouras permanentes - Urucum (semente). [acesso 2020 Mai 19]. Disponível em:
<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>
11. Fabri EG, Teramoto JRS. Urucum: fonte de corantes naturais. Horticult Bras. 2015;33(1):1.
<https://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620150000100023>
12. Alves LP. Crescimento e produção de pimentão, tipo páprica, sob diferentes níveis de adubação de nitrogênio e fósforo [dissertação de mestrado]. Mossoró (RN): Universidade Federal Rural do Semi-Árido; 2006.
13. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (BR). *Comexstat*: portal para acesso gratuito às estatísticas de comércio exterior do Brasil. Brasília: Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços; 2020 [acesso 2020 Mai 11]. Disponível em:
<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>

14. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Tabela 1613 - Área destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras permanentes. Produto das lavouras permanentes - Pimenta-do-reino. [acesso 2020 Mai 19]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>
15. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 31 mar 2014. Seção 1(61):58-61.
16. Food and Drug Administration - FDA. Risk profile: pathogens and filth in spices. 2017. [acesso 2020 Mai 13]. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/cfsan-risk-safety-assessments/risk-profile-pathogen-and-filth-spices>
17. Zimmerman ML, Friedman SL. Identification of rodent filth exhibits. J Food Sci. 2000;65(8):1391-4. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10618.x>
18. Mike Mitka, MSJ. FDA questions effectiveness of measures to reduce or prevent illness from eating imported spices. JAMA. 2013;310(20):2136. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.283442>
19. Graciano RAS, Atui MB, Dimov MN. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de cominho e pimenta do reino em pó comercializados em cidades do Estado de São Paulo, Brasil, mediante a presença de matérias estranhas. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006;65(3):204-8. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32866>
20. Correia M, Daros VSMG, Silva RP. Matérias estranhas em canela em pó e páprica em pó, comercializadas no estado de São Paulo. Food Sci Technol. 2000; 20(3):375-80. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612000000300016>
21. Association of Official Analytical Collaboration - AOAC International. Extraneous materials: isolation. In: Latimer GW, organizer. Official Methods of Analysis of AOAC International; 2016.
22. Teerink BJ. Hair of West-European Mammals. Cambridge (UK): Cambridge University Press; 1991.
23. Pacheco IA, Paula DC. Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia. Campinas (SP): Fundação Cargil; 1995.
24. Gecan JS, Bandler R, Glaze LE, Atkinson JC. Microanalytical quality of ground and unground oregano, ground cinnamon and ground nutmeg. J Food Prot. 1983;46(5):387-90. <https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-46.5.387>
25. Nayak MK, Collins PJ, Throne JE, Wang JJ. Biology and management of psocids infesting stored products. Annu. Rev Entomol. 2014;59:279-97. <https://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-161947>

26. Hubert J, Stejskal V, Athanassiou CG, Throne, JE. Health hazards associated with arthropod infestation of stored products. *Annu Rev Entomol.* 2018;63:553-73.
<https://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043218>
27. Valbuza MDF, Aldrete ANG, Potenza, MR, Campos AEC. Psocoptera (Psocodea) in spice and medicinal dehydrated plants sold in bulk in a big metropolis in Brazil. *J Food Prot.* 2018;81(11):1810-4.
<https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-117>
28. Moraes AG, Pires EMF, Martins GC, Filho JBL, Filho SCM, Fernandes ZF. Controle de qualidade físico-químico, microbiológico e microscópico de coloríficos comercializados em Pernambuco. *Bol Cent Pesqui Process Aliment.* 1991;9(1):30-8.
<http://dx.doi.org/10.5380/cep.v9i1.14464>
29. Atui MB, Castejón MJ, Yamashiro R, De Lucca T, Flinn PW. Condições higiênico-sanitárias da pimenta do reino em pó (*Piper nigrum* L.) com o emprego de duas diferentes técnicas para detecção de sujidades leves. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2009;68(1):96-101. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32748>
30. Gecan JS, Bandler R, Glaze LE, Atkinson JC. Microanalytical quality of ground and unground marjoram, sage and thyme, ground allspice, black pepper and paprika. *J Food Prot.* 1986;49(3):216-21.
<http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-49.3.216>
31. Pauli-Yamada LF, Aquino CI, Silva AM, Marciano MAM, Mattos EC, Dimov MN. Estudo microscópico de páprica (*Capsicum annumm* L.): detecção de fraudes e matérias estranhas. *Vigil Sanit Debate.* 2021;9(1):123-8.
<https://doi.org/10.22239/2317-269x.01431>
32. Belmain S. Assessment of the impact of rodents on rural household food security and the development of ecologically-based rodent management strategies in Zambézia province, Mozambique. Final Technical Report. Natural Resources Institute, UK; 2002, 54pp. [acesso 5 ago 2020]. Disponível em:
<https://www.gov.uk/research-for-development-outputs/assessment-of-the-impact-of-rodents-on-rural-household-food-security-and-the-development-of-ecologically-based-rodent-management-strategies-in-zambezia-province-mozambique-final-technical-report>
33. Silva ERA, Martini MH. The presence of rodent hair in food: a risk of human health. *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection*; 2006.
34. Memon Z, Memon N, Shah MA, Kouser N, Shah NA, Ansari A. Susceptibility of some stored local spices against the cigarette beetle *Lasioderma serricornne* (Coleoptera: Anobiidae). *Pure Appl Biol.* 2017;6(2):490-8.
<https://dx.doi.org/10.19045/bspab.2017.60048>
35. Sun X, Wang LF, Feng Y, Xie H, Zheng XY, He A et al. A case report: A rare case of infant gastrointestinal canthariasis caused by larvae of *Lasioderma serricornne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae). *Infect Dis Poverty.* 2016;5:34.
<https://dx.doi.org/10.1186/s40249-016-0129-6>

36. Zurek L, Gorham JR. Insects as vectors of foodborne pathogens. In: Voeller JG, organizer. Wiley Handbook of Science and Technology for Homeland Security. Wiley: Hoboken; 2010. p.1683-96.
37. Hubert J, Nesvorná M, Ságová-Marečková M, Kopecký J. Shift of bacterial community in synanthropic mite *Tyrophagus putrescentiae* induced by *Fusarium* fungal diet. PLoSOne. 2012;7(10):e48429. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048429>
38. Hubert J, Kopecký J, Perotti MA, Nesvorná M, Braig HR, Ságová-Marečková M et al. Detection and identification of species-specific bacteria associated with synanthropic mites. Microb Ecol. 2012;63(4):919-28. <https://dx.doi.org/10.1007/s00248-011-9969-6>
39. Liebezeit G, Liebezeit E. Non-pollen particulates in honey and sugar. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2013;30(12):2136-40. <https://dx.doi.org/10.1080/19440049.2013.843025>
40. Liebezeit G, Liebezeit E. Synthetic particles as contaminants in German beers. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2014;31(9):1574-8. <https://dx.doi.org/10.1080/19440049.2014.945099>
41. Yang D, Shi H, Li L, Li J, Jabeen K, Kolandhasamy P. Microplastic pollution in table salts from China. Environ Sci Technol. 2015;49(22):13622-7. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b03163>
42. Andrady AL. Plastics and the Environment. New York: John Wiley & Sons; 2003.
43. Valbuza MF, Matioli AL, Sato ME, Potenza MR, Campos AE. Mites in spice and medicinal dehydrated plants stored in bulk in the metropolitan area of São Paulo. J Stored Prod Res. 2020;85:101540. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101540>
44. Hubert J, Stejskal V, Athanassiou CG, Throne JE. Health hazards associated with arthropod infestation of stored products. Annu. Rev Entomol. 2018;63:553-73. <https://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043218>
45. Erban T, Rybanska D, Harant K, Hortova B, Hubert J. Feces derived allergens of *Tyrophagus putrescentiae* reared on dried dog food and evidence of the strong nutritional interaction between the mite and *Bacillus cereus* producing protease bacillolysins and exo-chitinases. Front Physiol. 2016;7:53. <https://dx.doi.org/10.3389/fphys.2016.00053>





Verificação de adulterações em cúrcuma, gengibre, noz-moscada, páprica, pimenta-do-reino e colorífico, comercializados no estado de São Paulo, Brasil. (Parte II)

Verification of adulterations in turmeric, ginger, nutmeg, paprika, black pepper and colorífico marketed in the state of São Paulo, Brazil. (Part II)

Sonia de Paula Toledo PRADO^{1*} , Matheus Leandro RODRIGUES¹ , Cinthia Iara de AQUINO¹ , Isaura Akemi OKADA¹ , Maria Helena IHA¹ 

¹ Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto, Instituto Adolfo Lutz, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

RESUMO

Especiarias são produtos constituídos de partes de espécies vegetais com importante valor alimentício e diversos benefícios para a saúde. O objetivo deste trabalho foi pesquisar adulterações na composição de cúrcuma (*Curcuma longa* Linnaeus), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), noz-moscada (*Myristica fragrans* Houttuyn), páprica (*Capsicum annuum* Linnaeus), pimenta-do-reino (*Piper nigrum* Linnaeus) e colorífico (mistura de urucum, *Bixa orellana* Linnaeus, com fubá). Foram analisadas 180 amostras adquiridas em municípios do estado de São Paulo. A investigação dos elementos histológicos foi feita por microscopia óptica, a análise dos corantes por cromatografia em papel e a quantificação da bixina por cromatografia líquida de alta eficiência. Das amostras analisadas, 16,1% apresentaram elementos histológicos estranhos ao produto, sendo que nenhuma amostra apresentou corante orgânico artificial. A concentração de bixina nas amostras de colorífico variou entre 0,6 e 105,3 mg/100g, com média de 18,9 mg/100g e desvio padrão de 17,7 mg/100g. A avaliação microscópica revelou que a maioria das adulterações ocorre pela adição de amido de *Zea mays*. O colorífico não apresentou adulterações, porém foi constatada a necessidade de uma padronização da concentração de bixina. Este estudo demonstrou a necessidade da intensificação do monitoramento de adulterações em especiarias para que a comercialização de alimentos fidedignos seja garantida.

Palavras-chave. Especiarias, Cromatografia, Microscopia, Legislação sobre Alimentos, Fraude.

ABSTRACT

Spices are products made up of parts of plant species, with important nutritional value and many health benefits. The aim of this work was to evaluate adulterations in turmeric (*Curcuma longa* Linnaeus), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), nutmeg (*Myristica fragrans* Houttuyn), paprika (*Capsicum annuum* Linnaeus), black pepper (*Piper nigrum* Linnaeus) and colorific (mixture containing *Bixa orellana* with cornmeal). A total of 180 samples purchased in the municipalities of the state of São Paulo were analyzed. The investigation of the histological elements was performed by optical microscopy, the analysis of the dyes was carried out using paper chromatography and the quantification of the bixin was performance by high performance liquid chromatography. Of the 180 samples analyzed, 16.1% presented strange histological elements, classified as adulterations. Among the adulterated samples, none showed organic dye. Bixin analysis was carried out on colorific samples, ranging from 0.6 – 105.3 mg/100g, with an average of 18.9 mg/100g and standard deviation of 17.7 mg/100g, demonstrating the need to regulate the annatto extract concentration range added into the condiment. The evaluation demonstrated the necessity to monitor adulteration in spices, so that producers and merchants provide food with quality to the consumer.

Keywords. Spices, Chromatography, Microscopy, Legislation, Food, Fraud.

*Autor de correspondência/Corresponding author: sonia.prado@ial.sp.gov.br

Recebido/Received: 15.12.2020 - Aceito/Accepted: 29.03.2021

INTRODUÇÃO

As especiarias são produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais¹. Sua importância é reconhecida na preparação de pratos, pois, proporcionam sabor e aroma. Além disso, possuem diversos benefícios para a saúde, por conterem moléculas antioxidantes que podem substituir aditivos artificiais; são constituídos de compostos que estimulam o apetite e compostos fenólicos de importância nutricional²⁻⁵ e possuem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticarcinogênicas⁶⁻¹¹.

Como geralmente as especiarias são moídas, estão sujeitas à adição de ingredientes de menor valor econômico sem que o consumidor perceba, caracterizando fraude. A fraude alimentar é a ação na qual há modificação do produto de maneira intencional para ganhos econômicos por parte do produtor¹² e englobam ações como adulterações, falsas declarações na lista de ingredientes e falsificações de produtos^{13,14}. Em alguns casos, essas alterações culminam em riscos à saúde do consumidor¹⁴, assim como implicações econômicas^{15,16}.

Os produtos alterados, adulterados, falsificados, fraudados ou em desacordo com as normas regulamentares de fabricação, distribuição ou apresentação são considerados impróprios ao uso e consumo segundo o Código de Defesa do Consumidor¹⁷. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 259, de 20 de setembro de 2002 aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados e considera a lista de ingredientes dos produtos como valor de referência¹⁸. A identificação dos elementos histológicos característicos de cada substância propicia à microscopia a verificação da identidade do produto e a conformidade com a legislação^{19,20}.

A aparência de um produto é importante para a sua aceitabilidade por parte do consumidor, e provavelmente a cor é o fator mais observado nos alimentos. Corantes naturais ou artificiais são compostos que conferem, intensificam ou restauram a cor de um alimento. A vantagem do corante sintético é que possui a capacidade de conferir grande intensidade de cor e estabilidade, superando a dos corantes naturais²¹. Porém, a sua utilização em alimentos é estabelecida em legislação e, segundo a legislação brasileira, os temperos e especiarias não podem ser adicionados de corantes orgânicos sintéticos^{1,22}. A cor das especiarias coloridas deve ser somente a dos vegetais que a compõem e a adição de corantes sintéticos a estes produtos caracteriza fraude.

O colorífico é uma mistura de fubá com o urucum em pó ou extrato oleoso²³. A produção de colorífico a partir da adição de extrato de urucum impossibilita a comprovação da presença do vegetal no produto pela técnica microscópica por não apresentar elementos histológicos, portanto é necessário empregar outras técnicas para averiguar tal presença no condimento. Entre os diversos componentes coloridos, a bixina é o principal carotenoide presente na semente de urucum e/ou extrato de urucum²¹, a sua detecção é indicativa da presença do urucum em pó ou de seu extrato, este analito pode ser quantificado utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência²⁴.

Este trabalho teve como objetivo pesquisar possíveis adulterações em amostras de cúrcuma, gengibre, noz-moscada, páprica, pimenta-do-reino e colorífico por meio da identificação dos elementos histológicos característicos dos produtos, avaliar a presença de corantes artificiais nos produtos coloridos (condimento colorífico e especiarias cúrcuma e páprica) e verificar a concentração de bixina nas amostras de colorífico.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram analisadas 180 amostras de seis diferentes tipos de especiarias e condimento, em pó, sendo 31 de cúrcuma, 25 de gengibre, 29 de noz-moscada, 32 de páprica (doce, picante e picante defumada), 30 de pimenta-do-reino e 33 de colorífico. As amostras eram de marcas distintas com diferentes lotes e prazos de validade, 138 foram compradas em estabelecimentos comerciais pelos participantes do trabalho e 42 coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias em cidades do estado de São Paulo. O estudo foi realizado no Núcleo de Ciências

Químicas e Bromatológicas do Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto VI no período de maio de 2018 a maio de 2020.

Equipamentos

Microscópio óptico Leica DM 2500 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) usado para identificação dos elementos histológicos das amostras. Banho-maria (Ibacli, Brasil) utilizado para aquecer as amostras para análise de corantes; sistema cromatográfico (Shimadzu Instruments, Kyoto, Japão) com detector por arranjo de diodo, injetor com loop 50 µL (Rheodyne, Cotati, CA, EUA) e coluna cromatográfica, YMC Pack ODS-AQ, 150 x 4.6 mm, 3 µm, 12nm column (YMC Co., Ltd, Kyoto, Japão), usado para analisar a bixina; espectrofotômetro (Analytikjena, Jena, Alemanha) usado para quantificar o padrão de bixina.

MÉTODOS

Identificação dos elementos histológicos

Para a análise dos elementos histológicos as amostras foram homogeneizadas, pesadas e clareadas com hipoclorito de sódio a 2,5%. As lâminas foram confeccionadas usando água glicerinada a 2%, com posterior leitura realizada em microscópio óptico, com aumento de 100 e 400X, de acordo com a metodologia descrita por Rodrigues et al²⁵ e a identificação, conforme Winton e Winton²⁶ e Menezes²⁷.

Análise qualitativa de corantes orgânicos artificiais em amostras de colorífico, cúrcuma e páprica

O método para o estudo de corantes artificiais em alimentos foi realizado de acordo com “Métodos físico-químicos para análise de alimentos”²¹, métodos 051/IV e 086/IV com a extração e fixação em lã dos corantes realizada em meio ácido seguido da dessorção dos corantes da lã em meio básico. A identificação dos corantes foi feita por meio de cromatografia ascendente em papel, como fase móvel, utilizando citrato de sódio, hidróxido de amônio e água. Os corantes orgânicos testados foram: escarlata, vermelho sólido, eritrosina, ponceaux 4R, ponceaux SX, bordeaux S, vermelho cereja, vermelho 40, vermelho vivo, amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo. Foi realizada a análise da presença de corantes artificiais nas amostras estudadas que naturalmente apresentavam coloração devido a sua composição, como o colorífico, cúrcuma e páprica, e que foram classificadas como adulteradas pela avaliação microscópica.

Análise de bixina em amostras de colorífico

A análise de bixina foi realizada nas 33 amostras de colorífico. Para a extração e quantificação da bixina nestas amostras empregou-se o método descrito por Tocchini e Mercadante²⁴, com modificações. Os volumes de extração utilizados foram mantidos para o metanol e acetona, porém o balão de 50 mL foi substituído pelo de 25 mL. A alteração na fase móvel foi na proporção dos componentes, no método original a composição da fase móvel era de acetonitrila + 2% ácido acético (65+35, v/v), no método modificado foi alterado para acetonitrila + 2% ácido acético (80+20, v/v). As análises foram realizadas em duplicata.

As condições cromatográficas utilizadas para esta análise foram: detector por arranjo de diodo; fase móvel modificada, 2% ácido acético aquoso: acetonitrila (2:8 v/v); vazão, 1mL/min; intervalo de comprimento de onda, 300-800nm; quantificação no pico de comprimento de onda da fase móvel utilizada, 459nm.

A concentração do padrão de bixina foi determinada por meio da espectrofotometria a partir da dissolução em 50 mL de clorofórmio, com leitura em 470nm, absortividade molar, 3230 L/g.cm²⁸. Esta solução foi a empregada como padrão nas análises e utilizada na etapa de avaliação da recuperação do método.

A curva de calibração foi injetada no intervalo de 1 – 5 µg/mL. A quantificação da bixina nas amostras de colorífico foi realizada por meio da comparação entre as áreas do pico da amostra com a do padrão injetado. A recuperação foi realizada utilizando fubá como matriz, a concentração de bixina final na amostra foi de 5,24 mg/100 g, análise em 4 replicatas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação Microscópica

Como a RDC ANVISA nº 259/2002 prevê a obrigatoriedade da declaração de lista de ingredientes no rótulo dos alimentos embalados quando o produto é composto por mais de um componente e determina a lista de ingredientes como valor de referência¹⁸, os elementos histológicos detectados nas amostras e não listados no rótulo foram considerados estranhos ao produto.

Os resultados das análises microscópicas revelaram que o amido de *Zea mays* (milho) foi o elemento histológico estranho encontrado com maior frequência entre as amostras analisadas (**Tabela**).

Tabela. Distribuição das amostras adulteradas e o tipo de elemento histológico estranho encontrado nas especiarias, no período de maio de 2018 a maio de 2020

Especiarias	Amostras adulteradas	Presença de elementos histológicos estranhos à composição	
		Amido de <i>Zea mays</i>	Amido de <i>Zea mays</i> e <i>Bixa orellana</i>
Cúrcuma (n = 31)	10	7	3
Gengibre (n=25)	2	2	0
Noz-moscada (n=29)	3	3	0
Páprica (n = 32)	11	1	10
Pimenta do reino (n=30)	3	3	0

As listas de ingredientes das amostras analisadas continham apenas a especiaria referente ao produto, contrariando a pesquisa de elementos histológicos, que constatou a presença de amido estranho em 16,1% das amostras, sendo que, destas, 55,2% continham amido de *Z. mays* e 44,8%, amidos de *Z. mays* e *B. orellana* concomitantemente, advertindo para a possibilidade de fraude (**Figura 1**). Todas as amostras, mesmo as adulteradas, apresentaram elementos histológicos característicos da especiaria estudada, não tendo sido observada a adulteração por substituição total da especiaria.

Pauli-Yamada et al²⁹ analisaram 43 amostras de páprica, aplicando o mesmo método, e observaram elementos estranhos à páprica em 30% das amostras, sendo o amido de *Z. mays* o ingrediente adicionado com maior frequência, em 85% das amostras adulteradas. Em 46% destas amostras a adição do amido de *Z. mays* ocorreu simultaneamente à adição de *B. orellana*.

Pelo fato de o amido de *Z. mays* apresentar baixo valor agregado quando comparado às especiarias avaliadas, este fator se torna mais um indício de que a incorporação foi feita de maneira proposital com o intuito de gerar lucros.

A pesar de 51,5% das amostras de colorífico não terem revelado a presença de elementos histológicos

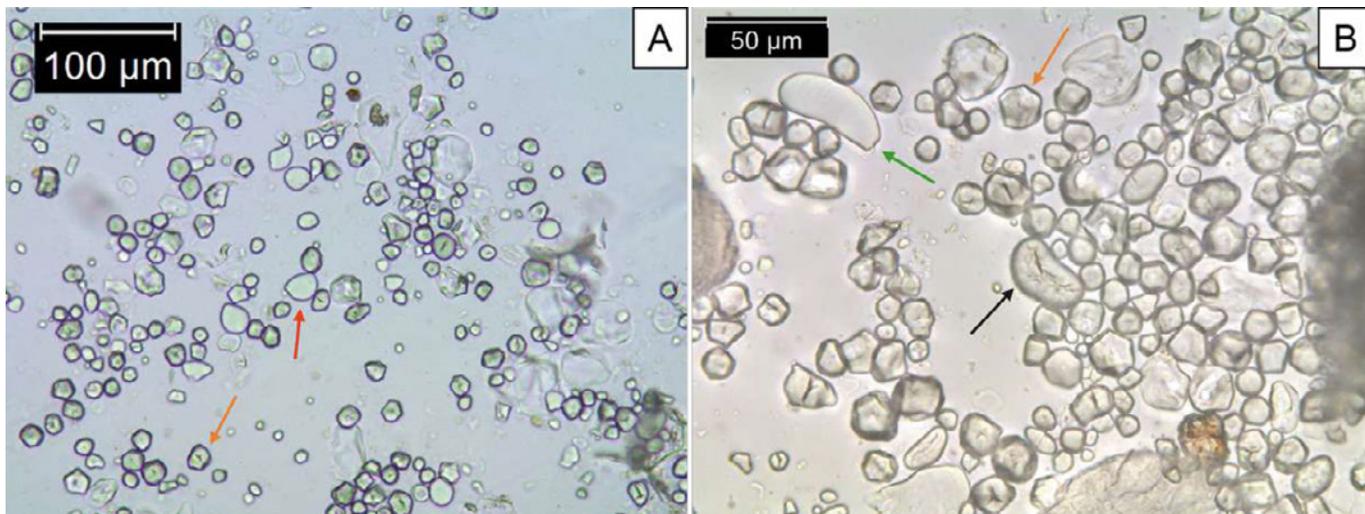


Figura 1. Amostras adulteradas de especiarias. (A) Amostra de gengibre apresentando o amido característico (seta vermelha) e amido de *Zea mays* (seta laranja) e (B) amostra de cúrcuma apresentando o amido característico (seta verde), amido de *Zea mays* (seta laranja) e amido de *Bixa orellana* (seta preta)

de *B. orellana* e terem apresentado somente amido de milho, nenhuma amostra foi considerada adulterada devido à necessidade de análises de cromatografia, que serão apresentadas em seguida.

Avaliação físico-química

Corantes orgânicos artificiais

A análise da presença de corantes foi realizada nas amostras adulteradas de cúrcuma, páprica e nas amostras de colorífico que não apresentaram os elementos histológicos de urucum com o intuito de verificar se a coloração era originária somente da especiaria ou da adição de corantes artificiais. A coloração destes produtos varia de vermelha a amarela, desta forma foram selecionados os corantes orgânicos artificiais de cor vermelha e amarela permitidos em alimentos, pois, para dar o tom da cor da especiaria uma forma seria a combinação de vários corantes destas tonalidades.

Para cúrcuma e páprica, as amostras autênticas segundo a análise histológica continham somente a especiaria analisada, portanto a cor é intrínseca aos elementos histológicos que compõe a espécie vegetal. Foi realizada análise qualitativa de corantes artificiais em 11 amostras de páprica e 10 de cúrcuma que apresentavam outros elementos histológicos além da especiaria estudada, porém os corantes artificiais não foram detectados, sendo a coloração devido à especiaria e ao amido de *Z. mays*, que apresenta coloração amarelada.

No caso do colorífico, a cor é originária principalmente do urucum ou seu extrato. Neste condimento, a análise dos corantes foi realizada em 17 amostras que não apresentaram os elementos histológicos do urucum, porém nenhuma delas apresentou corantes artificiais em sua composição. Portanto, a cor das amostras que não continham elementos histológicos de urucum provavelmente é originária do extrato e, para fazer essa verificação, utiliza-se a análise de concentração de bixina.

A adição de corantes artificiais parece não ser um problema de fraude em especiarias com base nos resultados obtidos, porém não foram encontrados estudos relacionados à corantes artificiais em especiarias para comparações.

Concentração de bixina

O principal ingrediente do colorífico é o urucum e em 15 amostras os rótulos indicavam a presença

de extrato de urucum, suspensão oleosa ou urucum hidrossolúvel, que apresentam a bixina como principal carotenoide.

A diminuição do volume do solvente extrator da bixina foi feita com a finalidade de utilizar menos metanol, diminuindo o custo da análise gerando menos resíduos. A proporção dos componentes da fase móvel foi modificada com o intuito de diminuir o tempo de análise cromatográfica, diminuindo assim a quantidade de fase móvel necessária para a detecção do pico da bixina, gerando menos resíduo químico. No método original o tempo de retenção era de 24,8 minutos e com a modificação passou a ser de 7,1 minutos. A mudança foi eficiente, pois não houve picos interferentes na região de eluição da bixina, como mostra a **Figura 2**.

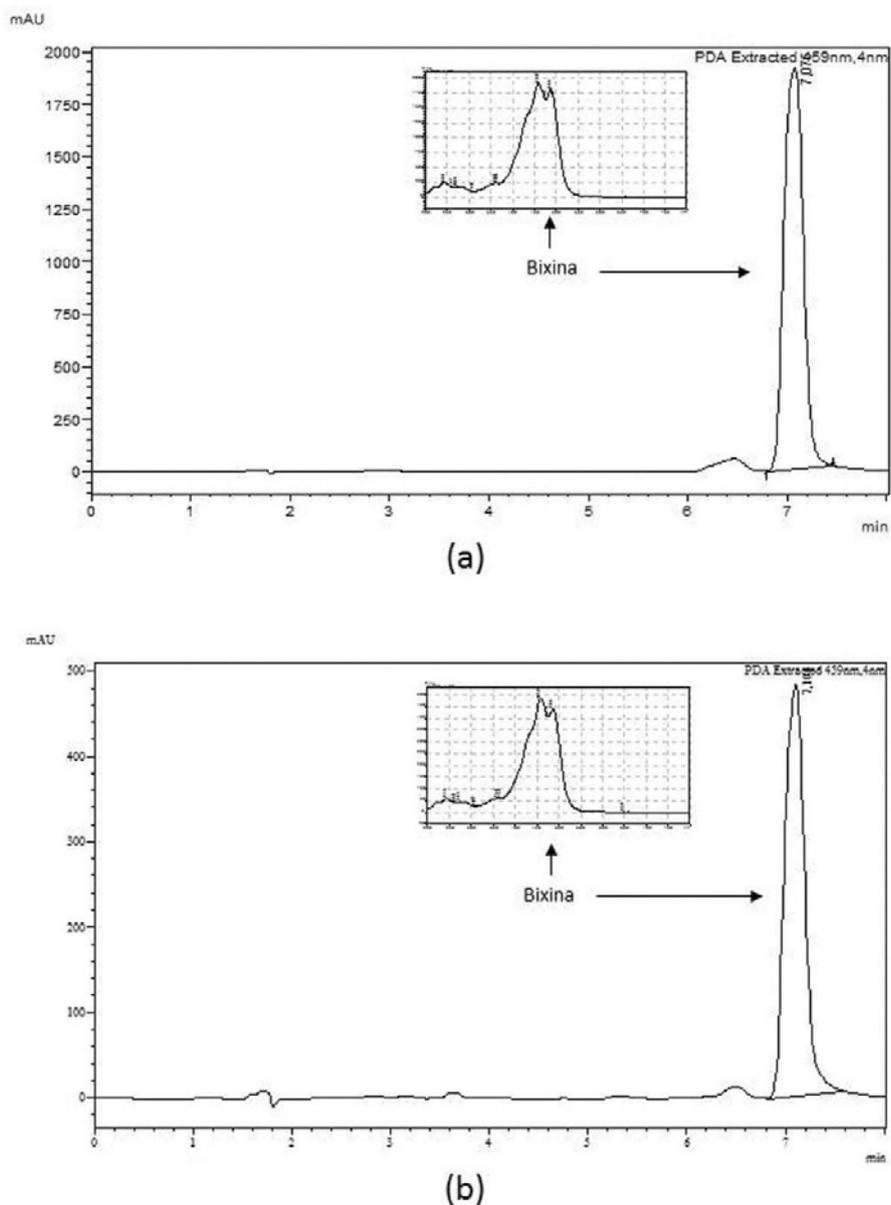


Figura 2. Cromatograma bixina. (a) padrão de bixina, 3µg/mL e (b) amostra de colorífico, 0,84 µg/mL (84 µg bixina/g de colorífico). Detector por arranjo de diodos; fase móvel, acetonitrila + 2% ácido acético (80+20, v/v)

A linearidade foi no intervalo de 1 – 5 µg/mL. A recuperação da bixina na concentração de 5,2 mg/100g foi de 69% com desvio padrão de 2,3% e coeficiente de variação de 3,4%.

Todas as amostras de colorífico analisadas continham bixina, o que foi confirmado pelo tempo de retenção e perfil espectrofotométrico similar ao do padrão da mesma. A presença deste carotenoide em todas as amostras comprova a adição de urucum em pó ou seu extrato ao produto.

A concentração de bixina nas amostras analisadas teve um intervalo entre 0,6 e 105,3 mg/100g, com média de 18,9 mg/100g e desvio padrão de 17,7 mg/100g, demonstrando que não há uma regularidade com relação à adição de urucum ao colorífico, o que causa variação de tonalidades na coloração do condimento.

Aparentemente a concentração de bixina não está relacionada ao ingrediente adicionado, de urucum em pó ou seu extrato, pois variou tanto nas amostras que apresentaram elementos histológicos de urucum quanto nas que só continham amido de *Zea mays*.

Esta variação também foi observada por outros autores. Tocchini e Mercadante²⁴ analisaram 25 amostras de colorífico, de 7 marcas diferentes, e os teores de bixina variaram de 154 a 354 mg/100g. Almeida et al³⁰ analisaram 5 amostras e o percentual do analito variou de 6,80 a 14,43%. Os autores dos trabalhos concluíram que, devido à variação de teor de bixina encontrada nas amostras, é necessário que a concentração de urucum a ser adicionada ao colorífico seja padronizada como orientação às indústrias fabricantes.

CONCLUSÃO

A avaliação microscópica revelou que a maioria das adulterações em especiarias ocorre pela adição de amido de *Zea mays*. Esta ação, quando intencional, fere o Código de Defesa do Consumidor por se tratar de produto inadequado e produzido para ser comercializado de maneira enganosa. A variação da cor observada nas amostras de um mesmo produto ocorreu devido aos seus próprios componentes, pois nenhuma das amostras analisadas revelou a presença de corantes artificiais.

O colorífico foi o único produto analisado que não apresentou adulterações, porém a grande variação de concentração de bixina nas amostras sugere a necessidade de uma padronização, ou seja, estabelecer valor do teor de bixina nos coloríficos, pelos órgãos reguladores. Este estudo demonstrou a necessidade da intensificação do monitoramento de adulterações em especiarias para que a comercialização de alimentos fidedignos seja garantida.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP: 2018/07009-7).

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº. 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set 2005. Seção 1(184):378-9.
2. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. J Funct Foods. 2015;18:820-97.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>

3. Srinivasan K. Role of spices beyond food flavoring: nutraceuticals with multiple health effects. Food Rev Int. 2005;21(2):167-188.
<https://doi.org/10.1081/FRI-200051872>
4. Jiang TA. Health benefits of culinary herbs and spices. J AOAC Int. 2019;102(2):395-411.
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0418>
5. Embuscado ME. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. J Funct Foods. 2015;18:811-9. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
6. Ganjre A, Kathariya R, Bagul N, Pawar V. Anti-carcinogenic and anti-bacterial properties of selected spices: implications in oral health. Clin Nutr Res. 2015;4(4):209-15.
<http://dx.doi.org/10.7762/cnr.2015.4.4.209>
7. Sriwiriyan S, Tedasen A, Lailerd N, Boonyaphiphat P, Nitiruangjarat A, Deng Y et al. Anti-cancer and cancer preventive effects of a piperine free *Piper nigrum* extract on N-nitrosomethylurea induced mammary tumorigenesis in rats. Cancer Prev Res. 2016;9(1):74-82.
<http://dx.doi.org/10.1158/1940-6207.capr-15-0127>
8. Xie L, Xiang GH, Tang T, Tang Y, Zhao LY, Liu D et al. Capsaicin and dihydrocapsaicin induce apoptosis in human glioma cells via ROS and Ca²⁺-mediated mitochondrial pathway. Mol Med Rep. 2016;14(5):4198-4208.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5784>
9. Raddatz-Mota D, Pérez-Flores LJ, Carrari F, Mendoza-Espinoza JA, de León-Sánchez FD, Pinzón-López LL et al. Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of pigment and vitamin E. J Food Sci Technol. 2017;54(6):1729-41.
<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2579-7>
10. D'Souza SP, Chavannavar SV, Kanchanashri B, Niveditha SB. Pharmaceutical perspectives of spices and condiments as alternative antimicrobial remedy. J Evid Based Complementary Altern Med. 2017;22(4):1002-10.
<https://doi.org/10.1177/2156587217703214>
11. Matulyte I, Jekabsone A, Jankauskaite L, Zavistanaviciute P, Sakiene V, Bartkiene E et al. The essential oil and hydrolats from *Myristica fragrans* seeds with magnesium alumino metasilicate as excipient: antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activity. Foods. 2020;9(1):37.
<https://doi.org/10.3390/foods9010037>
12. Spink J, Moyer DC. Defining the public health threat of food fraud. J Food Sci. 2011;76(9): R157-63.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x>
13. Van Ruth SM, Huisman W, Luning PA. Food fraud vulnerability and its key factors. Trends Food Sci Technol. 2017;67:70-75.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.017>
14. Global Food Safety Initiative (GFSI) Tackling Food Fraud Through Food Safety Management Systems. 2018 [acesso 2020 Jun 23]. Disponível em:
<https://mygfsi.com/wp-content/uploads/2019/09/Food-Fraud-GFSI-Technical-Document.pdf>

15. Spink J, Ortega DL, Chen C, Wu F. Food fraud prevention shifts the food risk focus to vulnerability. *Trends Food Sci Technol*. 2017;62:215-20.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.012>
16. Moyer DC, Devries JW, Spink J. The economics of a food fraud incident—Case studies and examples including Melamine in Wheat Gluten. *Food Control*. 2017;71:358-64.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.015>
17. Brasil. Código de proteção e defesa do consumidor (1990). Legislação brasileira de proteção e defesa do consumidor: Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências, e legislação correlata. 8. ed. Brasília: Câmara dos Deputados; Edições Câmara, 2014.
18. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados e revoga a Portaria nº 42, de 14 de janeiro de 1998. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 23 set 2002. Seção 1(184):33-4.
19. Marques CA, Nascimento XP, de França LB, Freitas ACL, Rocha LS, Nery, IA. Análise microscópica em amostras de doces comercializados no estado do Rio de Janeiro. *Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia*. 2016[acesso 20 ago 2020];8(2):29. Disponível em:
<https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/revistapct/article/view/691/471>
20. Assis NM, Marques CA, Silva MC. Avaliação microscópica de amostras comerciais de café. *Segur Aliment Nutr*. 2020;27:1-13.
<https://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8658921>
21. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo – Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Zenebon O, Pascuet NS, Tiglea P, coordenadores. 6. ed. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020 p. Disponível em:
http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf
22. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº. 4, de 17 de janeiro de 2007, aprovar o Regulamento Técnico sobre “Atribuição de Aditivos e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 13: Molhos e Condimentos”. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 17 jan 2002. Seção 1(12):47-55.
23. Fabri EG, Teramoto JRS. Urucum: fonte de corantes naturais. *Hortic Bras*. 2015;33(1):140.
<https://doi.org/10.1590/s0102-053620150000100023>
24. Tocchini L, Mercadante AZ. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. *Food Sci Technol*. 2001;21(3):310-3.
<https://doi.org/10.1590/s0101-20612001000300010>
25. Rodrigues RM, Atui MB, Correia M, Zamboni CDQ, Alves HI, Silva ICDA et al. Métodos de Análise Microscópica de Alimentos: Isolamento de Elementos Histológicos. São Paulo: Letras & Letras; 1999.
26. Winton AL, Winton KB. The structure and composition of foods. Vol. 3. New York: J Wiley & Sons; 1937.

27. Menezes-Junior JBF. Investigações sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz. 1949;9(1-2):18-77. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33185/32017>
28. Attokaran, M. Natural food flavors and colorants. 2. ed. Oxford: John Wiley & Sons; 2017.
29. Pauli-Yamada LF, Aquino CI, Silva AM, Marciano MAM, Mattos EC, Dimov MN. Estudo microscópico de páprica (*Capsicum annumm* L.): detecção de fraudes e matérias estranhas. Vigil Sanit Debate. 2021;9(1):123-8.
<https://doi.org/10.22239/2317-269x.01431>
30. Almeida RLJ, Santos NC, Luiz MR. Controle de qualidade do percentual de bixina em coloríficos comercializados em Campina Grande. Rev Bras Agrotec. 2017;7(2):190-3.





Análise da adequação do termo *detox* nos rótulos de bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais

Analysis of the adequacy of the term *detox* on the labels of industrialized drinks based on fruits and vegetables

Sarah Morais Senna PRATES¹ , Juliana Sampaio NESPOLO² , Natália Adan SABION² , Luciene ALVES² ,
Lucilene Rezende ANASTÁCIO^{1*} 

¹ Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil.

RESUMO

Dietas populares, como as *detox*, surgem a todo o momento. Todavia, poucos dados científicos comprovam a eficácia e segurança destas dietas. Este trabalho avaliou rótulos de bebidas à base de frutas e vegetais e identificou as que se autodenominam *detox*. Tratou-se de estudo transversal descritivo, realizado de setembro a outubro/2016. O tamanho da porção na informação nutricional e as alegações encontradas nos rótulos foram analisados em relação às legislações vigentes. Composição nutricional, quantidade total de ingredientes e presença de aditivos alimentares e/ou outros ingredientes não usuais em preparações culinárias foram comparados entre as bebidas *detox* e as comuns. De 83 produtos analisados, 9,6% (n=8) se autodenominaram *detox*. A composição nutricional e o número médio de ingredientes não diferiram entre as bebidas *detox* e as comuns. Alegações nutricionais e de saúde estavam presentes em 77,1% (n=64) dos produtos e 53,0% (n=44) apresentaram alegações não previstas na RDC nº 54/2012. As informações mais frequentes foram quanto aos teores de micronutrientes, açúcares, sódio e fibras. O termo *detox*, apesar de não permitido, é encontrado neste tipo de produto no mercado brasileiro. Os resultados sugerem que o termo *detox* seja utilizado mais como estratégia de marketing do que como real alegação de propriedade nutricional.

Palavras-chave. Sucos de Frutas e Vegetais, Alimento Funcional, Alegações Nutricionais, Rotulagem de Alimentos, *Detox*.

ABSTRACT

Popular diets, such as *detox*, appear all the time. However, few scientific data prove the efficacy and safety of these diets. This work evaluated labels of drinks based on fruits and vegetables and identified those that call *detox*. This was a descriptive cross-sectional study, carried out from September to October/2016. The portion size in the nutrition information and the claims found on the labels were analyzed in relation to the current legislation. Nutritional composition, total amount of ingredients and presence of food additives and other unusual ingredients in culinary preparations were compared between *detox* and ordinary drinks. Of 83 products analyzed, 9.6% (n=8) called *detox*. The nutritional composition and the average number of ingredients did not differ between *detox* drinks and ordinary drinks. Nutritional and health claims were present in 77.1% (n=64) of the products and 53.0% (n=44) presented claims not provided for in RDC nº 54/2012. The most frequent information was about the levels of micronutrients, sugars, sodium and fibers. The term *detox*, although not allowed, is found in this type of product in the Brazilian market. The results suggest that the term *detox* is used more as a marketing strategy than as a real claim of nutritional property.

Keywords. Fruit and Vegetable Juices, Functional Food, Nutritional Claims, Food Labeling, *Detox*.

*Autor de correspondência/Corresponding author: lucilene.rezende@gmail.com

Recebido/Received: 18.10.2020 - Aceito/Accepted: 08.06.2021

INTRODUÇÃO

A rotulagem de alimentos é o principal meio de comunicação entre produtor e consumidor e utilizada de forma obrigatória em vários países^{1,2}. É também considerada instrumento de saúde pública, uma vez que por meio dela os consumidores têm melhor acesso às informações nutricionais dos alimentos e podem exercer escolhas mais conscientes e saudáveis³. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), rotulagem consiste de “toda inscrição, legenda, imagem ou toda matéria descritiva ou gráfica, impressa, estampada, gravada em relevo ou litografada ou colada sobre a embalagem do alimento”⁴. Pelo mesmo órgão, “os alimentos embalados não devem ser descritos ou apresentar rótulos que forneçam informação falsa, incorreta, insuficiente, ou que possa induzir o consumidor a equívoco, erro, confusão ou engano e que atribua efeitos ou propriedades que não possuam ou não possam ser demonstradas”⁴. Apesar disto, na prática, a indústria de alimentos, frequentemente, utiliza ferramentas de marketing, como as alegações, sem considerarem a composição geral dos produtos^{2,5}. Esta prática tem o intuito de induzir os consumidores à compra, mas pode atribuir benefícios à saúde a produtos que, na realidade, contêm elevados teores de nutrientes críticos, como gordura saturada, sódio e açúcar, levando os consumidores ao engano^{2,5}.

Apesar do potencial da rotulagem nutricional como fator de prevenção de sobrepeso e obesidade, estes têm se tornado problemas mundiais de saúde pública⁵. Tais problemas estão associados ao aumento de morbimortalidade e altos custos de saúde⁶. Junto a este cenário, diferentes programas de exercícios físicos e dietas da moda também vêm surgindo⁶. Um exemplo são as denominadas dietas *detox*, popularmente utilizadas como estratégia para perda de peso, eliminação de toxinas do organismo e promoção geral da saúde⁷. Estas dietas consistem, normalmente, de intervenções de curto prazo, significativa restrição calórica e são compostas basicamente por sucos e/ou suplementos que substituem todas as refeições^{6,7}. Algumas dessas estratégias associam ainda o uso de laxantes, diuréticos e práticas como jejum, sauna e esfoliação ao processo de emagrecimento/desintoxicação⁸.

Apesar da popularidade, poucos são os dados científicos que comprovam a eficácia e a segurança desses programas *detox*^{7,8}. A perda de peso, muitas vezes observada, parece ser consequência da intensa redução de ingestão calórica, assim como da perda de peso de água e matéria fecal⁶. Além disso, dietas muito restritivas em energia podem acarretar em prejuízos ao organismo, como aumento dos níveis de hormônios do estresse, como o cortisol, e recuperação do peso, pela intensificação do apetite⁶.

Embora presente no mercado, a utilização da alegação *detox* em produtos alimentícios não é reconhecida e permitida pelas legislações atuais vigentes. Em 2015, por exemplo, a ANVISA suspendeu a publicidade de 21 produtos autodenominados *detox*, pois os mesmos alegavam propriedades funcionais ou de saúde não aprovadas pela Agência⁹. As alegações indicavam propriedades de eliminação de toxinas, fortalecimento de músculos, firmamento da pele, ação diurética, termogênica, estimulante, anti-gordura, de saciedade e estética⁹. Atualmente, ainda é corriqueiro encontrar produtos com a alegação *detox* nos rótulos. A busca pelo termo “bebidas *detox*” no Google, por exemplo, totaliza em mais de vinte milhões de resultados. Ainda, estudo realizado por Silva et al¹⁰, entre os anos de 2017 e 2019, encontraram, apenas no mercado de Belo Horizonte, 23 bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais com a denominação *detox*.

A ANVISA, de fato, permite a veiculação de informação nutricional complementar (INC) e alegações de propriedade funcional e de saúde sobre os alimentos^{11,12}. Contudo, são estabelecidos critérios para a utilização dessas informações¹¹ e alegações¹², assim como condições para o registro dos alimentos que veiculam alegações de propriedade funcional e de saúde¹³. Embora existam tais critérios, dentre as alegações aprovadas, até o presente momento, não estão previstas alegações sobre a capacidade de alimentos “detoxificar” o organismo.

Potenciais benefícios das dietas *detox* podem ser pautados na composição característica dessas dietas, predominante em alimentos *in natura*, como frutas e hortaliças, e minimamente processados¹⁴. Estes alimentos são fontes reconhecidas de vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos com propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, dentre outras¹⁵. Todavia, estes benefícios podem ser obtidos por meio de

alimentação convencional variada e rica na oferta destes tipos de alimentos, alimentação já preconizada pelo Guia Alimentar para a População Brasileira¹⁶, sem, necessariamente, estarem vinculados a dietas¹⁴.

As bebidas à base de frutas e vegetais, assim como todas as bebidas em geral, têm seu registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização sob competência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), ou órgão estadual credenciado por esse Ministério¹⁷. Contudo, a rotulagem destes produtos deve obedecer a uma série de legislações de diferentes órgãos, uma vez que o controle sanitário de alimentos, no Brasil, é compartilhado entre o Ministério da Saúde, por meio da ANVISA, o Ministério da Justiça, o MAPA e o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. De modo geral, as principais legislações que estabelecem a rotulagem geral e nutricional de alimentos são de jurisdição da ANVISA^{4,18,19}.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo avaliar e comparar rótulos de bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais, identificar as bebidas que se autodenominam como *detox* e analisar a adequação da veiculação deste termo. Os resultados de tais análises contribuem para divulgar a existência de infrações a respeito de alegações não autorizadas tais como “*detox*”. Além disto, este trabalho promove comparações entre bebidas comuns e aquelas autodenominadas *detox*, de forma a evidenciar a estratégia de marketing desprovida de benefícios adicionais.

MATERIAL

Tratou-se de estudo transversal descritivo, realizado em cinco grandes supermercados da cidade de Uberaba, Minas Gerais, no período de setembro a outubro de 2016. Foram analisados rótulos de 83 bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais e identificados os produtos denominados como *detox*. Descrição dos produtos analisados está presente na **Tabela 1**. As respectivas marcas não foram reveladas para preservação da identidade. A análise dos rótulos foi realizada por meio de questionário estruturado, no qual foram inseridas as seguintes informações: nome do produto (denominação de venda); marca; sabor; classificação (suco, néctar ou refresco) e o respectivo percentual de suco no produto; tamanho da porção declarada na informação nutricional; composição nutricional (valor energético, carboidratos, proteínas, gorduras totais, fibras e sódio); quantidade total de ingredientes; presença de aditivo alimentar e/ou outros ingredientes não usuais em preparações culinárias e categoria de processamento (processado ou ultraprocessado).

Tabela 1. Denominação de venda de bebidas à base de frutas e vegetais, disponíveis em cinco grandes supermercados da cidade de Uberaba-MG, Brasil

Bebidas com alegação <i>detox</i>		
	Denominação de venda	Termo veiculado no rótulo
1	Bebida mista de maçã com limão, couve, espinafre e pepino, sabor hortelã e gengibre	“ <i>Detox</i> ”
2	Bebida mista	“ <i>Detox</i> ”
3	Bebida mista	“ <i>Dtox</i> ”
4	Bebida mista	“ <i>Dtox</i> ”
5	Suco misto de abacaxi, limão, couve, gengibre e hortelã	“ <i>Detox</i> ”
6	Suco misto de maçã, gengibre, couve, pepino, limão, espinafre, brócolis e hortelã	“ <i>Detox</i> ”
7	Suco misto de maçã, pepino, couve, limão, gengibre e hortelã	“ <i>Detox</i> ”
8	Suco misto de maçã, tangerina, acerola, manga, gengibre e abóbora	“ <i>Detox</i> ”

Continua na próxima página

Continuação

Bebidas com alegação <i>detox</i>		
	Denominação de venda	Termo veiculado no rótulo
9	Suco misto de laranja, manga maçã e maracujá	-
10	Alimento a base de suco de laranja com fibras	-
11	Bebida de fruta	-
Bebidas comuns / sem alegação <i>detox</i>		
	Denominação de venda	Termo veiculado no rótulo
12	Bebida de fruta	-
13	Bebida de fruta	-
14	Bebida de fruta adoçada	-
15	Bebida de fruta adoçada	-
16	Bebida de fruta adoçada	-
17	Bebida de fruta lichia	-
18	Bebida de uva	-
19	Bebida mista	-
20	Bebida mista de frutas	-
21	Bebida mista de maçã limão e framboesa	-
22	Bebida mista laranja	-
23	Limonada adoçada	-
24	Néctar de abacaxi	-
25	Néctar de abacaxi	-
26	Néctar de acerola	-
27	Néctar de banana	-
28	Néctar de caju	-
29	Néctar de caju	-
30	Néctar de caju	-
31	Néctar de caju	-
32	Néctar de caju	-
33	Néctar de laranja	-
34	Néctar de laranja	-
35	Néctar de laranja	-
36	Néctar de maçã	-
37	Néctar de maçã	-
38	Néctar de manga	-
39	Néctar de maracujá	-
40	Néctar de maracujá	-
41	Néctar de maracujá	-
42	Néctar de pêra	-
43	Néctar de pêssego	-
44	Néctar de tangerina	-
45	Néctar de tangerina	-

Continua na próxima página

Continuação

Bebidas comuns / sem alegação <i>detox</i>		
	Denominação de venda	Termo veiculado no rótulo
46	Néctar misto de abacaxi com hortelã	-
47	Néctar misto de abacaxi e maçã	-
48	Néctar misto de abacaxi e maçã	-
49	Néctar misto de goiaba e maçã	-
50	Néctar misto de goiaba e maçã	-
51	Néctar misto de laranja e maçã	-
52	Néctar misto de laranja e maçã	-
53	Néctar misto de laranja e maçã	-
54	Néctar misto de laranja, goiaba, manga e banana	-
55	Néctar misto de maçã e goiaba	-
56	Néctar misto de maçã e laranja	-
57	Néctar misto de maçã e manga	-
58	Néctar misto de maçã e morango	-
59	Néctar misto de maçã e pêssego	-
60	Néctar misto de maçã e tangerina	-
61	Néctar misto de maçã e uva com aroma de uva	-
62	Néctar misto de manga e maçã	-
63	Néctar misto de manga e maçã	-
64	Néctar misto de pêssego e maçã	-
65	Néctar misto de pêssego e maçã	-
66	Néctar misto de uva e maçã	-
67	Néctar misto de uva e maçã	-
68	Néctar misto de uva e maçã	-
69	Refresco de limão adoçado	-
70	Suco de laranja integral	-
71	Suco de laranja integral	-
72	Suco de maçã integral	-
73	Suco de tangerina integral	-
74	Suco de tangerina orgânico	-
75	Suco de uva branco integral	-
76	Suco de uva tinto integral	-
77	Suco de uva tinto integral	-
78	Suco de uva tinto integral	-
79	Suco misto de laranja e maçã	-
80	Suco misto de laranja, manga, maçã e maracujá	-
81	Suco misto de uva e maçã	-
82	Suco misto de uva e maçã	-
83	Suco misto de uva, açaí, ameixa, morango, romã, blueberry, framboesa, amora e cranberry	-

MÉTODOS

O tamanho da porção declarada na informação nutricional foi verificado em relação à conformidade com o que é preconizado na RDC nº 359/2003¹⁸. Em relação à presença de aditivos alimentares e/ou outros ingredientes não usuais em preparações culinárias e às alegações, foi feito levantamento de tudo o que foi encontrado nos rótulos, assim como a frequência com que cada item, especificamente, apareceu nos produtos. As alegações encontradas foram analisadas de acordo com a RDC nº 54/2012¹¹, observando quais estão, de fato, previstas na legislação. As demais informações, como composição nutricional, quantidade total de ingredientes e também a presença de ingredientes tipicamente utilizados na indústria de alimentos, foram comparadas entre as bebidas que se autodenominaram *detox* com as bebidas comuns.

As informações coletadas foram inseridas em banco de dados no programa Microsoft® Excel. Dados categóricos foram apresentados em percentual e números absolutos e dados numéricos foram apresentados em média e desvio padrão. Foi realizada estatística descritiva. Análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparação das variáveis de interesse entre os diferentes produtos. Os dados foram analisados no programa estatístico SPSS 17.0 (*Statistical Package for the Social Science*) e o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Foram encontrados no mercado o total de 83 bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais. Destas, 9,6% (n=8) se autodenominaram *detox* no nome ou na marca do produto. Todos os produtos analisados declararam a informação nutricional em porção de 200 mL conforme o estabelecido na legislação vigente¹⁸.

Na **Tabela 2**, estão apresentadas as características das bebidas *detox* e das demais bebidas analisadas, em relação à composição nutricional. Os produtos analisados apresentaram valor energético médio de $90,6 \pm 23,9$ kcal, sendo $21,4 \pm 6,5$ g de carboidratos, $0,32 \pm 1,1$ g de proteínas, $0,15 \pm 1,0$ g de gorduras totais, $0,58 \pm 1,3$ g de fibras e $6,7 \pm 7,3$ mg de sódio. É possível observar que não houve diferença estatística na composição nutricional das bebidas que se autodeclararam *detox* em relação às demais bebidas.

Tabela 2. Composição nutricional de bebidas à base de frutas e vegetais, disponíveis em cinco grandes supermercados da cidade de Uberaba-MG, Brasil

Composição nutricional (porção de 200 ml)	Bebidas <i>detox</i> (n=8)	Outras bebidas (n=75)	Valor de p
Valor energético (kcal)	$75,5 \pm 43,2$	$92,2 \pm 20,8$	0,313
Carboidratos (g)	$17,8 \pm 10,4$	$21,8 \pm 5,9$	0,101
Proteínas (g)	$0,4 \pm 0,4$	$0,3 \pm 1,2$	0,948
Gorduras Totais (g)	$0,1 \pm 0,2$	$0,2 \pm 1,1$	0,816
Fibras (g)	$0,1 \pm 0,3$	$0,5 \pm 1,3$	0,418
Sódio (mg)	$4,6 \pm 4,8$	$6,7 \pm 7,6$	0,461

O número médio de ingredientes nas bebidas analisadas foi de $7,9 \pm 4,1$, sem diferença estatística ($p=0,076$) entre as bebidas *detox* ($10,4 \pm 4,2$) e as bebidas comuns ($7,6 \pm 4,1$). Além disso, 71,1% (n=59) dos produtos apresentaram na composição ingredientes tipicamente utilizados na indústria de alimentos. Das bebidas *detox*, metade (n=4) continha aditivos alimentares; sendo, em duas bebidas, o corante clorofila, em uma, os corantes caramelo e curcumina e em outra, o acidulante ácido cítrico. Em comparação, as bebidas *detox* apresentaram na composição o máximo de 2 ingredientes típicos da indústria de alimentos, enquanto nas bebidas comuns, este número foi de 4 ingredientes.

A **Figura 1** ilustra todos os aditivos alimentares e ingredientes não usuais em preparações culinárias presentes nas bebidas analisadas, assim como as respectivas frequências com que estes apareceram nos produtos. Os corantes corresponderam à classe de aditivos predominante nas bebidas, e o acidulante ácido cítrico foi o ingrediente encontrado num maior número de produtos (26,5%; n=22). Além de aditivos alimentares, foram encontrados em algumas bebidas outros ingredientes usuais em formulações industriais, como betaglucana, maltodextrina e colágeno hidrolisado.

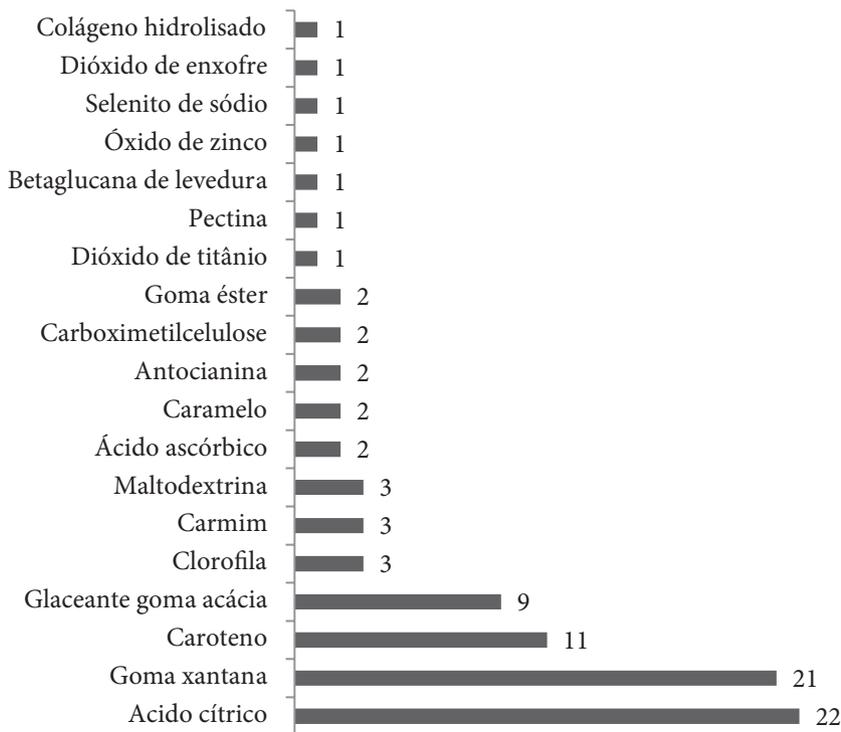


Figura 1. Aditivos alimentares e ingredientes não usuais em preparações culinárias presentes em bebidas à base de frutas e vegetais, disponíveis em cinco grandes supermercados da cidade de Uberaba-MG, Brasil

Em relação à presença de alegações nos rótulos, 77,1% (n=64) dos produtos apresentaram esse tipo de informação, sendo que 8 bebidas continham a alegação *detox*. Destas, especificamente, metade (n=4), além da alegação *detox*, veicularam no rótulo outros tipos de alegações, como “sem adição de açúcares”; “sem conservantes”; “contém fibras” e “sem adição de água”. De todos os produtos com alegações, 53,0% (n=44) apresentaram informações não previstas na RDC nº 54/2012¹¹, como “suplemento natural e funcional”, “capacidade antioxidante” e “energia saudável”. Já, quando analisadas as alegações estabelecidas na legislação, as mais frequentes foram em relação aos teores de vitaminas e minerais, açúcares, sódio e fibras. A **Figura 2** ilustra todas as alegações, previstas ou não na RDC nº 54/2012¹¹, encontradas nos rótulos dos produtos analisados.

DISCUSSÃO

Diferentes intervenções dietéticas são criadas como estratégia para tratamento de sobrepeso e obesidade²⁰. Além disso, a intensa insatisfação corporal, característica da sociedade contemporânea, tem contribuído para o surgimento de diversas dietas populares²¹. Estas, frequentemente, são divulgadas pela mídia e prometem resultados rápidos e ilusórios, sem qualquer respaldo científico²². Dentre elas, as dietas *detox* destacam-se por seus inúmeros benefícios prometidos⁷.



Figura 2. Alegações presentes em bebidas à base de frutas e vegetais, disponíveis em cinco grandes supermercados da cidade e Uberaba-MG, Brasil

A ANVISA, apesar de permitir a utilização de INC e alegações de propriedade funcional e de saúde em rótulos de alimentos^{11,12}, não permite ou reconhece o termo *detox*. Todavia, produtos que veiculam esta alegação são encontrados no mercado brasileiro.

De 83 bebidas encontradas nos cinco supermercados considerados no presente estudo, 9,6% (n=8) se autodenominaram *detox*, apesar da utilização do termo não ser permitido pela ANVISA. Em todas estas bebidas, o termo *detox* estava presente como parte do nome ou da marca do produto e não, especificamente, como alegação. Isto sugere provável estratégia para contornar os critérios legais definidos para veiculação de alegações. Além disso, este achado vai de encontro a resultados de outros estudos que encontraram inconformidades na rotulagem de produtos alimentícios brasileiros em relação às legislações vigentes²³⁻²⁶. Silva et al¹⁰, por exemplo, avaliaram a rotulagem de sete bebidas mistas de frutas e vegetais denominadas *detox* e, em 100% das amostras, foi observado irregularidade do uso da referida alegação, além da ausência do registro no MAPA. Ainda, segundo os autores, 70% das amostras analisadas apresentaram irregularidades na lista de ingredientes e informação nutricional e 57% não apresentaram o conteúdo líquido na forma correta.

Em relação à composição nutricional, observou-se no presente estudo, que as bebidas *detox* não diferiram das bebidas comuns. O mesmo foi observado na avaliação do número total de ingredientes. Quanto aos aditivos alimentares e outros ingredientes não usuais em preparações culinárias, estes estiveram presentes em ambas as categorias de bebidas. Os sucos *detox* são popularmente comercializados com o apelo de oferecer benefícios à saúde⁷ e tais benefícios são associados, principalmente, à presença de alimentos *in natura* e minimamente processados típicos deste tipo de dieta¹⁴. Sendo assim, era esperado que as bebidas com a alegação *detox* não apresentassem na composição substâncias e ingredientes característicos de formulações industriais/alimentos ultraprocessados.

Os alimentos ultraprocessados consistem em formulações industriais com presença de substâncias não usuais em preparações culinárias e aditivos alimentares que imitam atributos sensoriais de alimentos *in natura* ou minimamente processados²⁷. São exemplos dessas substâncias e aditivos a maltodextrina, os corantes, conservantes e aromatizantes²⁷, alguns dos quais foram encontrados nas bebidas *detox* analisadas neste estudo. O Guia Alimentar para a População Brasileira¹⁶ recomenda evitar o consumo de tais alimentos devido à composição rica em nutrientes prejudiciais à saúde e à respectiva relação com a obesidade e doenças crônicas não transmissíveis^{28,29}.

Dentre os parâmetros utilizados para a comparação das bebidas com a alegação *detox* e as bebidas comuns, não foram observadas diferenças significativas entre os dois tipos de produtos. A indústria de alimentos utiliza, frequentemente, ferramentas de marketing, como as alegações nutricionais, sem considerarem a composição geral dos produtos^{2,5}. Tais alegações tem grande potencial como marketing, uma vez que produtos com este tipo de informação são percebidos como mais saudáveis do que aqueles que não as apresentam³⁰⁻³². Neste sentido, a utilização do termo *detox* nos produtos analisados no presente estudo sugere fortemente ser estratégia de marketing ao invés de real ferramenta de informação ao consumidor.

O elevado número encontrado de produtos com alegações (77,1%) corrobora com outros achados da literatura. Chen et al³³ analisaram 246 bebidas e verificaram que 85,4% delas apresentavam alegações nutricionais e de saúde, e resultado parecido foi observado por Duran et al³⁴. Estes autores avaliaram a presença de alegações em 3491 alimentos e bebidas no Brasil e observaram que, no geral, 41,2% dos produtos apresentavam alegações. No caso de sucos e néctares de frutas este número atingiu 92,5%³⁴. Ainda, foi observado que os alimentos e bebidas ricos em nutrientes prejudiciais à saúde apresentavam mais alegações nutricionais, quando comparados àqueles com baixo teor de nutrientes críticos³⁴.

De todas as bebidas analisadas no presente estudo, as alegações mais frequentes foram referentes aos teores de vitaminas e minerais. Alguns estudos já demonstraram que a fortificação de alimentos com micronutrientes influencia positivamente as escolhas dos consumidores^{35,36}. Essa estratégia de fortificação tem sido utilizada para a promoção de alimentos de baixa qualidade nutricional, uma vez que a mesma simula que estes alimentos sejam mais saudáveis do que realmente são³⁷.

Além disso, alegações nutricionais em geral têm a capacidade de influenciar a percepção de saudabilidade, escolha e compra dos consumidores³⁸⁻⁴². Segundo Williams⁴³, por exemplo, a presença de alegações nutricionais e de saúde nos rótulos de alimentos pode desestimular alguns consumidores a procurar por mais informações nutricionais na embalagem. Sabe-se que as informações nutricionais convencionais já são de difícil entendimento para os consumidores em geral². A utilização de alegações em alimentos com perfis nutricionais desfavoráveis pode prejudicar ainda mais esse entendimento por oferecer informações conflitantes³⁴.

O presente estudo possui algumas limitações. Os dados analisados foram baseados em informações do rótulo e não em análises laboratoriais. As alegações encontradas nas bebidas, previstas na RDC nº 54/2012¹¹, não foram analisadas em relação à adequação aos critérios estabelecidos na respectiva resolução. Além disso, as listas de ingredientes das bebidas foram pouco exploradas. Todavia, este parece ser o primeiro estudo que avaliou a prevalência de bebidas *detox* no mercado brasileiro. Além disso, foi possível observar que apesar da proibição em atribuir propriedades terapêuticas a alimentos, na prática, isto acontece. Ademais, no geral, as bebidas *detox* não se diferenciaram das bebidas comuns.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo confirmam que, apesar de não permitido pela ANVISA, o termo *detox* é encontrado em bebidas industrializadas à base de frutas e vegetais, no mercado brasileiro. Embora veiculassem tal alegação, as bebidas autodeclaradas *detox* não se diferenciaram das demais em composição nutricional, quantidade total de ingredientes e presença de ingredientes tipicamente utilizados na indústria de alimentos. Além da alegação *detox*, pôde-se observar que a maioria dos produtos veicularam outras

alegações não previstas na RDC nº 54/2012¹¹. As INCs mais prevalentes entre os produtos analisados foram referentes aos teores de micronutrientes, açúcares, sódio e fibras. Estes achados apontam as alegações nutricionais e o termo *detox*, especificamente, como prováveis estratégias de marketing nutricional e não como reais benefícios específicos.

Nesse sentido, políticas públicas que garantam informações claras e confiáveis acerca da qualidade nutricional dos alimentos e, conseqüentemente, evitem a confusão e engano dos consumidores, são necessárias. A supervisão pelos órgãos reguladores competentes também deve ser contínua para garantir o cumprimento dos padrões estabelecidos. Além disso, estudos futuros devem ser realizados para avaliar possíveis modificações no perfil de prevalência destes produtos no mercado brasileiro.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Não declarado.

REFERÊNCIAS

1. Souza LML, Stangarlin-Fiori L, Costa EHS, Furtado F, Medeiros CO. Use of nutritional food labels and consumers' confidence in label information. Rev Nutr. 2020;33e190199.
<https://doi.org/10.1590/1678-9865202033e190199>
2. Tórtora G, Machín L, Ares G. Influence of nutritional warnings and other label features on consumers' choice: results from an eye-tracking study. Food Res Int. 2019;119:605–11.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.038>
3. Capacci S, Mazzocchi M, Shankar B, Macias JB, Verbeke W, Pérez-Cueto FJ et al. Policies to promote healthy eating in Europe: a structured review of policies and their effectiveness. Nutr Rev. 2012;70(3):188–200.
<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00442.x>
4. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set 2002. Seção 1(184):33-4.
5. Colby SE, Johnson L, Scheett A, Hoverson B. Nutrition marketing on food labels. J Nutr Educ Behav. 2010;42(2):92–8.
<https://doi.org/10.1016/j.jneb.2008.11.002>
6. Obert J, Pearlman M, Obert L, Chapin S. Popular weight loss strategies: a review of four weight loss techniques. Curr Gastroenterol Rep. 2017;19(12):61.
<https://doi.org/10.1007/s11894-017-0603-8>
7. Klein AV, Kiat & H. Detox diets for toxin elimination and weight management: a critical review of the evidence. J Hum Nutr Diet. 2015;28(6):675–86.
<https://doi.org/10.1111/jhn.12286>
8. Cohen M. “Detox”: science or sales pitch? Aust Fam Physician. 2007;36(12):1009–10.

9. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Anvisa suspende publicidade de 21 produtos *detox*. 2015 [acesso 2020 Set17]. Disponível em:
http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=428222&_101_type=content&_101_groupId=21
10. Silva EBM, Vieira VRM, Gonçalves SARO, Takahashi JA, Araújo RLB. Análise da rotulagem de bebidas mistas de frutas e vegetais denominadas *detox*. Vigil Sanit Debate. 2021;9(3):130-6.
<https://doi.org/10.22239/2317-269x.01458>
11. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 13 nov 2012. Seção 1(219):122-6.
12. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 dez 1999 (republicada). Seção 1(231):23-4.
13. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 19, de 30 de abril de 1999. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 10 dez 1999 (republicada). Seção 1(236):32.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Desmistificando dúvidas sobre alimentação e nutrição: material de apoio para profissionais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2016 [acesso 2020 Set 17]. Disponível em:
https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/desmistificando_duvidas_sobre_alimentacao_nutricao.pdf
15. Slavin JL, Lloyd B. Health benefits of fruits and vegetables. Adv Nutr. 2012;3(4):506–16.
<https://doi.org/10.3945/an.112.002154>
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Básica à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed., 1reimpr. Brasília: Ministério da Saúde; 2014 [acesso 2020 Set 17]. Disponível em:
https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf
17. Presidência da República (BR). Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei Nº 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 15 jul 1994. Seção 1(134):1-2
18. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. 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(251):28-32.
19. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 dez 2003. Seção 1(251):33-5.

20. Freire R. Scientific evidence of diets for weight loss: different macronutrient composition, intermittent fasting, and popular diets. *Nutrition*. 2020;69:110549.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.07.001>
21. Passos JA, Vasconcellos-Silva PR, Santos LAS. Ciclos de atenção a dietas da moda e tendências de busca na internet pelo Google trends. *Ciêns Saúde Colet*. 2020;25(7):2615–31.
<https://doi.org/10.1590/1413-81232020257.23892018>
22. Marangoni JS, Maniglia FP. Análise da composição nutricional de dietas da moda publicadas em revistas femininas. *Rasbran*. 2017;8(1):31–6.
23. Branquinho MR, Ferreira RTB, Cardarelli-Leite P. Survey of compliance with labeling legislation in food containing GMOs in Brazil. *J Food Compos Anal*. 2010;23(3):220–5.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.09.004>
24. Cunha ML, Vieira VRM, Santana AR, Anastácio LR. Food allergen labeling: compliance with the mandatory legislation in Brazil. *Food Sci Technol*. 2020;40(3):698-704.
<https://doi.org/10.1590/fst.16219>
25. Mattioni B, Scheuer PM, Antunes AL, Paulino N, de Francisco A. Compliance with gluten-free labelling regulation in the brazilian food industry. *Cereal Chem* 2016;93(5):518–22.
<https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-15-0158-R>
26. Baldani MM, Pascoal GB, Rinaldi AEM. Labeling and commercial promotion of infant formulas retailed in Brazil. *Demetra*. 2018;13(2):413-25.
<https://doi.org/10.12957/demetra.2018.32911>
27. Monteiro C, Cannon G, Levy R, Moubarac J, Jaime P, Martins A et al. NOVA. The star shines bright. *Word Nutr*. 2016;7(1–3):28–38. Disponível em:
<https://worldnutritionjournal.org/index.php/wn/article/view/5>
28. Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, De Castro IRR, Cannon G. Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. *Public Health Nutr*. 2011;14(1):5–13.
<https://doi.org/10.1017/S1368980010003241>
29. Louzada ML, Baraldi LG, Steele EM, Martins APB, Canella DS, Moubarac JC et al. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. *Prev Med*. 2015;81:9–15.
<https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2015.07.018>
30. Saba A, Vassallo M, Shepherd R, Lampila P, Arvola A, Dean M et al. Country-wise differences in perception of health-related messages in cereal-based food products. *Food Qual Prefer*. 2010;21(4):385–93.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.09.007>
31. van Trijp HCM, van der Lans IA. Consumer perceptions of nutrition and health claims. *Appetite*. 2007;48(3):305–24.
<https://doi.org/10.1016/j.appet.2006.09.011>
32. Lyly M, Roininen K, Honkapää K, Poutanen K, Lähteenmäki L. Factors influencing consumers' willingness to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat β -glucan in Finland, France and Sweden. *Food Qual Prefer*. 2007;18(2):242–55.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.12.001>

33. Chen MC, Chien YW, Yang HT, Chen Y. Marketing strategy, serving size, and nutrition information of popular children's food packages in Taiwan. *Nutrients*. 2019;11(1):174.
<https://doi.org/10.3390/nu11010174>
34. Duran AC, Ricardo CZ, Mais LA, Martins APB, Taillie LS. Conflicting messages on food and beverage packages: front-of-package nutritional labeling, health and nutrition claims in Brazil. *Nutrients*. 2019;11(12):2967.
<https://doi.org/10.3390/nu11122967>
35. Verrill L, Wood D, Cates S, Lando A, Zhang Y. Vitamin-fortified snack food may lead consumers to make poor dietary decisions. *J Acad Nutr Diet*. 2017;117(3):376–85.
<https://doi.org/10.1016/j.jand.2016.10.008>
36. Kalergis M, MacDonald A. Discretionary food fortification: implications of consumer attitudes. *Can J Diet Pract Res*. 2009;70(4):e26–31.
<https://doi.org/10.3148/70.4.2009.e26>
37. Iles IA, Nan X, Verrill L. Nutrient content claims: how they impact perceived healthfulness of fortified snack foods and the moderating effects of nutrition facts labels. *Health Commun*. 2018;33(10):1308–16.
<https://doi.org/10.1080/10410236.2017.1351277>
38. Nobrega L, Ares G, Deliza R. Are nutritional warnings more efficient than claims in shaping consumers' healthfulness perception? *Food Qual Prefer*. 2020;79:103749.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.103749>
39. Bialkova S, Sasse L, Fenko A. The role of nutrition labels and advertising claims in altering consumers' evaluation and choice. *Appetite*. 2016;96:38–46.
<https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.08.030>
40. Rebouças MC, Rodrigues MCP, Freitas SM de. How label and nutritional claims affect consumers' acceptance, buying intention and quality perception toward a beverage made from cashew nut. *Nutr Food Sci*. 2019;49(6):1243–51.
<https://doi.org/10.1108/NFS-11-2018-0309>
41. Loebnitz N, Grunert KG. Impact of self-health awareness and perceived product benefits on purchase intentions for hedonic and utilitarian foods with nutrition claims. *Food Qual Prefer*. 2018;64:221–31.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.09.005>
42. Pinto VRA, Freitas TBO, Dantas MIS, Della Lucia SM, Melo LF, Minim VPR et al. Influence of package and health-related claims on perception and sensory acceptability of snack bars. *Food Res Int*. 2017;101:103–13.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.062>
43. Williams P. Consumer understanding and use of health claims for foods. *Nutr Rev*. 2005;63(7):256–64.
<https://doi.org/10.1301/nr.2005.jul.256-264>





Study of the effects of freezing process on nutritional value of 17 fish species marketed in São Paulo State, Brazil

Estudo dos efeitos do processo de congelamento sobre o valor nutricional de 17 espécies de peixes comercializadas no Estado de São Paulo, Brasil

Rúbia Yuri TOMITA^{1*} , Síbilla dos Santos CARVALHO^{1,2}

¹ Unidade Laboratorial de Referência em Tecnologia do Pescado - Centro Avançado de Pesquisa do Pescado Marinho, Instituto de Pesca/APTA/SAA-SP, Santos, SP, Brasil.

² Bolsa PIBIC/CNPq/IP.

ABSTRACT

Freezing is an important strategy to keep fish quality and make the species available the whole year. Its effects on the nutritional value of 17 fish species were studied in samples of entire fish, fillets or pieces. One portion of homogenized flesh was analyzed just after purchase (fresh sample). The other portion was packed in polyethylene bag, sealed, quick frozen (-80°C), stored properly at -18°C and analyzed after 12 months (frozen sample). Moisture, ash and protein content were tested using Brazilian Supply, Livestock and Agriculture Ministry methodologies. Lipid content was analyzed through Bligh and Dyer method. Carbohydrate content and caloric value were calculated, using NIFEXT fraction and Atwater coefficient, respectively. When fresh and frozen samples were compared, moisture and ash content showed significant difference ($p < 0.05$) for 17.65% and 11.77% species, respectively. Lipid and protein contents were the most affected parameters, as they were altered in 29.40% of the studied species ($p < 0.05$), and therefore, highlighted the importance of the conservation technology used on nutritional quality of fishery products. Mullet (*M. brasiliensis*) and Atlantic salmon (*S. salar*) had their nutritional composition more affected by freezing process with five and four altered parameters, respectively, from the six studied.

Keywords. Fisheries, Freezing, Nutritional Value, Food Safety.

RESUMO

O congelamento é estratégia importante para manter a qualidade do peixe e tornar inúmeras espécies disponíveis o ano todo. Seus efeitos sobre o valor nutricional de 17 espécies foram estudados em amostras de peixes inteiros, filés ou postas. A porção cárnea homogeneizada foi analisada logo após a aquisição (amostra fresca). Outra parte foi embalada em polietileno, selada, rapidamente congelada (-80°C) e analisada após 12 meses de armazenamento a -18°C (amostra congelada). O teor de umidade, cinzas e proteína foram testados com metodologias do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento e teor de lipídios com método de Bligh e Dyer. Conteúdo de carboidrato e valor calórico foram calculados, utilizando fração NIFEXT e coeficiente de Atwater, respectivamente. Quando se comparou amostras frescas e congeladas, teor de umidade e cinzas evidenciaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para 17,65% e 11,77% das espécies, respectivamente. O teor de lipídios e de proteínas foram alterados em 29,40% das espécies estudadas ($p < 0,05$), sendo os parâmetros mais afetados pelo congelamento e destacaram a importância da tecnologia de conservação utilizada sobre a qualidade nutricional do pescado. Tainha (*M. brasiliensis*) e salmão (*S. salar*) foram as mais afetadas pelo congelamento, com 5 e 4 parâmetros alterados, respectivamente, após estocagem sob congelamento.

Palavras-chave. Pescado, Congelamento, Valor Nutritivo, Segurança Alimentar.

*Corresponding author/Autor de correspondência: rubia.tomita@sp.gov.br

Received /Recebido: 08.12.2020 - Accepted /Aceito: 12.08.2021

INTRODUCTION

Fish is the major component of the diet for more than 3 billion people around the world and is a rich source of animal protein, micronutrients, and omega-3 fatty-acids, which are vital, especially in places with low income and food deficit worldwide¹⁻⁴. At this moment, the world is facing a pandemic scenario caused by Covid-19 and there is neither a consensus about how it acts nor about how to control or cure it. Thus, keep ourselves healthy is an advantage, and one way to achieve it is through a rich diet.

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations fisheries and aquaculture activities have been affected by the global pandemic. Both artisanal and industrial fishery decreased globally about 6.5%, until the end of April 2020, when compared with previous years, due to restrictions related to Covid-19⁵. The commerce all over the world has been affected at national and international level. The majority of wholesale and retail fish markets are crowded, representing huge risk to traders and consumers, who take significant risks to buy fresh fish to eat⁵. Thus, direct sales and delivery services were alternatives adopted by some producers to compensate for the loss of the hotel and restaurant demand.

About 59.51 million people, worldwide are directly or indirectly engaged to fisheries or aquaculture activities as a source of food and/or income, and about 14% of them are women⁶. These informations can clarify the importance of these activities and also the economic impact of the pandemic situation in these sectors.

Available high-quality foodstuff is essential to guarantee a healthy diet in order to ensure that people have access to macronutrients (proteins, fats and carbohydrates including dietary fibers) and essential micronutrients (vitamins and minerals), considering also their gender, age, physical activity level and physiological state^{2-4,7}.

Regular fish consumption recommended by the World Health Organization⁸, is of 1-2 servings per week, to be protective against coronary heart disease and ischaemic stroke. The serving should provide an equivalent of 200-500mg of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). According to FAO⁷, average global per capita fish consumption raised from 9kg in 1961, to 20.5kg in 2018. Brazil has approximately 8,400km of coastal line and a high potential for fisheries and aquaculture. In 2018, average fish consumption per capita reached 10.63kg, considering products from fisheries and aquaculture⁹.

Two main factors have collaborated for the global growing consumption of fish in the last century: the quick population growth and access to information about its health benefits¹⁰. As highlighted by Furlan et al¹¹, fish is rich in high quality protein and is also an important source of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), like omega-3^{2,4,12,13}. Studies have indicated that ingestion of PUFA's like EPA, can reduce heart diseases risks, as well as biochemical factors associated to arthritis, psoriasis and cancer¹⁴. It is also a highly digestible food, with minerals, mainly calcium, phosphorus, besides vitamins A, D and B complex^{1,2,15-18}.

Nowadays fish is in a process of valorization in the market, and its ingestion is highly stimulated, but information about the nutritional value of the different species traded in Brazil is very rare or difficult to be accessed by experts and consumers. Species traded at São Paulo State accounted for more than 15,452,058 tonnes in 2019. From January to December the main traded species were seabob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*), followed by withemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) and mullet (*Mugil brasiliensis*), with more than 3,047 tonnes, 1,936 tonnes and 1,044 tonnes, respectively¹⁹. Analysis of chemical composition indicates the main nutritional compounds found on fish are: water, lipid, protein, and ash. However, biochemical composition of fish may vary greatly between species and individuals depending on age, sex, genetic, morphology, season and also environment¹.

In order to preserve seafood quality and, consequently its nutritional value, is very important to adopt good hygienic practices along all productive chain, from capture to the ultimate moment of marketing. Time and temperature control are the main challenges in fish preservation, and low temperature is associated to degradative reactions control^{20,21}. Refrigeration is a technique effectively used to preserve food because lowering temperature can avoid or slow down chemical-enzymatic reactions related to autolysis, and development of microorganisms that contribute to food deterioration^{21,22}.

Although refrigeration keeps the original food characteristic, shelf-life under this condition is too

short²². But freezing, sudden inhibits microorganism development due to increased solute concentration and lowered water activity in tissues, thus, provides longer food preservation period, even to those with high water activity^{21,23}. Though freezing is a relative old preservative food technology, its logistic chain is expensive, compared to other methods, but frozen food still has a wide market due to its convenience²⁴. Around 67 million tonnes of fish (equivalent live weight) were traded worldwide in 2018. Over 90% of it was processed, and the highest share was frozen⁷.

A study made at the Metropolitan Region of São Paulo²⁵, at São Paulo State/Brazil has indicated that refrigerated fresh fish is still the favorite product, which makes more important studies to show if freezing can affect fish quality, to demystify frozen products. Freezing is an important technology because some species in nature are not available in all seasons and cannot be fished all over the year. Therefore, the knowledge of the effects of freezing on nutritional quality of the different species can help to improve freezing technology or choose the best species to be frozen in order to take advantage of nutritional characteristics of each species and/or optimize freezing technology and complementary techniques to offer better products to the consumer and also to be able to regulate the market by offering different species along the year.

Considering this context, the aim of this study was to verify the effects of freezing process on nutritional value of different fish species, in order to provide economic and sustainable exploitation basis and food safety.

MATERIAL AND METHODS

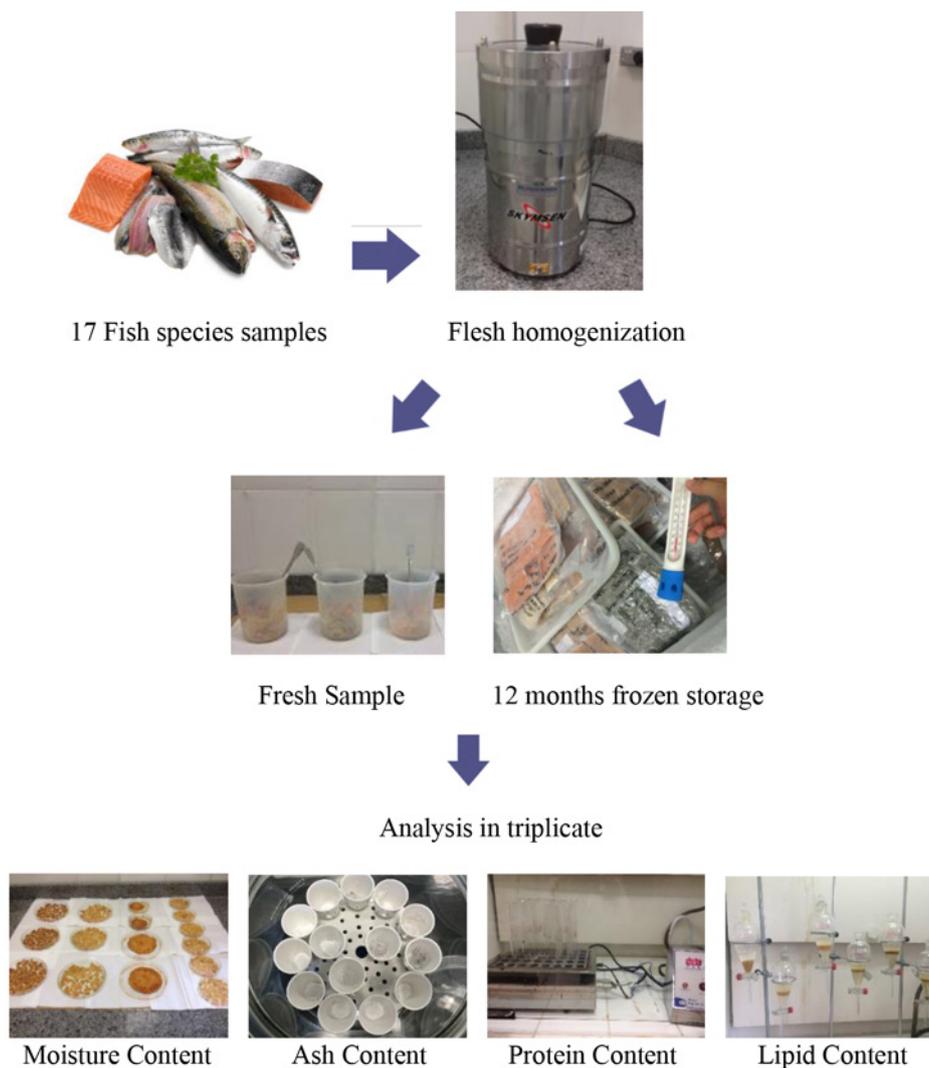
A total of 17 different fish species were purchased at the Municipal Fish Market at Santos and at a fishery industry in Guarujá city, both in São Paulo State, Brazil, as described in **Table 1**. Samples size was approximately 5kg for entire fish and 2kg for samples purchased in piece or in fillet.

Table 1. Fish samples identification with common and scientific names, place of purchasing and presentation

Common English Name	Scientific Name	Place of Purchasing	Presentation
Withemouth Croaker	<i>Micropogonias furnieri</i>	Mun.Market	Entire/Fresh
Weakfish	<i>Cynoscion leiarchus</i>	Mun.Market	Entire/Fresh
Brazilian Sardinella	<i>Sardinella brasiliensis</i>	Mun.Market	Entire/Gutted
Mullet	<i>Mugil brasiliensis</i>	Mun.Market	Entire/Fresh
Acoupa Weakfish	<i>Cynoscion acoupa</i>	Mun.Market	Entire/Fresh
Brazilian Codling	<i>Urophycis brasiliensis</i>	Mun.Market	Fillet
Shark	N.D	Mun.Market	Pieces
Broadband Anchovy	<i>Anchoviella lepidentostole</i>	Mun.Market	Entire/Headed
Gray Triggerfish	<i>Balistes capriscus</i>	Mun.Market	Headed/skinned
Pangas Seabream	<i>Pterogymnus laniarius</i>	Mun.Market	Fillet/Fresh
Dorado	<i>Salminus maxillosus</i>	Mun.Market	Pieces
Atlantic Salmon	<i>Salmo salar</i>	Mun.Market	Fillet/skinned
Patagonian Flounder	<i>Paralichthys patagonicus</i>	Mun.Market	Entire/Fresh
Sand Drum	<i>Umbrina coroides</i>	Industry	Entire/Fresh
Southern Kingcroaker	<i>Menticirrhus americanus</i>	Industry	Entire/Fresh
Nile Tilapia	<i>Oreochromis niloticus</i>	Mun.Market	Fillet
Argentine Hake	<i>Merluccius hubbsi</i>	Mun.Market	Fillet

N.D. – Not determined because the sample did not have the required morphological features for species identification
 Sample size = 5kg when Entire; 2kg When Fillet or Pieces

As shown in **Figure 1**, flesh of each sample was homogenized using a cutter (Skymesen Mod. CR-4L). Then one half of homogenized flesh sample was immediately analyzed (fresh sample), and the other half was packed in polyethylene bag, sealed, and quick frozen at -80°C (Sanyo Inc.-VIP Series ultra-freezer), to preserve its original nutritional characteristic (frozen sample). Two months later, the frozen samples were transferred to a domestic freezer (Electrolux H500) and kept for 10 more months under $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ to simulate domestic storage conditions. After a total period of 12 months of frozen storage, each frozen sample was analyzed using the same methodologies as the fresh samples to evaluate the effects of freezing process on the nutritional value. 24h prior to analysis, samples were kept in domestic refrigerator ($2\pm 2^{\circ}\text{C}$) for adequate thawing. All analysis were performed in triplicate, using recognized or official methodologies in accordance with the Brazilian Supply, Livestock and Agriculture Ministry, as described below.



- Carbohydrate Content = NIFEXT fraction
- Caloric Value = Atwater Coefficients

Figure 1. Schematic procedure of the study of freezing process effects on nutritional value for 17 different fish species marketed in São Paulo State, Brazil

Moisture content determination was performed according to Brasil²⁶, based on oven drying (105°C) to constant weight. Dried samples were carbonized and then incinerated in a mufla furnace (550°C) for the quantification of ash (total mineral residue), until white ash was obtained²⁶.

Lipid content was determined using dried samples and cold solvent extraction prior to quantification by weight difference, according to Bligh and Dyer²⁷. For protein analyses, dry samples were digested and then steam distilled using micro Kjeldahl apparatus²⁶. The carbohydrate index was determined using the NIFEXT fraction and caloric value was calculated with the Atwater coefficient²⁸.

Statistical analysis

Paired *t*-test was performed to determine statistically different values between fresh and frozen samples of each fish species, with 95% of confidence.

RESULTS

Mean results (% wet weight) of moisture, ash, lipid, protein, carbohydrate content and caloric value obtained from samples of fresh fish and after 12 months of freezing storage are shown in **Tables 2** and **3**.

Moisture Content

The results of moisture analysis have shown significant difference ($p < 0.05$) between fresh and frozen samples for 17.65% of analyzed species (**Table 2**), broadband anchovy (*Anchoviella lepidentostole*), Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Southern kingcroaker (*Menticirrhus americanus*). Considering only fresh samples (**Table 2**), panga seabream (*Pterogymnus laniarius*) showed the highest moisture content (82.17%), while the Atlantic salmon (*S. salar*) showed the lowest one (65.08%), and the former also showed the lowest moisture (64.47%) after 12 months of freezing storage (-18°C).

Table 2. Results (% wet weight) of moisture, ash and lipid content analysis of 17 fish species fresh samples and after 12 months under freezing storage condition (-18±2°C)

Common name	Moisture (%)		Ash (%)		Lipid (%)	
	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN
Withemouth Croaker	80.51 ^a ±0.04	80.39 ^a ±0.25	0.99 ^a ±0.02	1.13 ^a ±0.01	0.31 ^a ±0.04	0.24 ^a ± 0.05
Weakfish	79.64 ^a ±0.36	79.80 ^a ±1.37	0.89 ^a ±0.02	0.88 ^a ±0.12	0.43 ^a ±0.02	0.50 ^a ±0.05
Brazilian Sardinella	73.57 ^a ±1.75	73.41 ^a ±0.02	1.23 ^a ±0.02	1.25 ^a ±0.05	4.52 ^a ±0.57	4.14 ^b ±0.11
Mullet	77.20 ^a ±0.18	77.88 ^a ±0.02	1.12 ^a ±0.01	1.01 ^b ±0.02	0.80 ^a ±0.02	0.40 ^b ±0.18
Acoupa Weakfish	80.05 ^a ±0.08	80.15 ^a ±0.16	0.88 ^a ±0.03	0.90 ^a ±0.01	1.55 ^a ±0.02	0.86 ^b ±0.09
Brazilian Codling	81.77 ^a ±0.05	81.79 ^a ±0.06	1.01 ^a ±0.01	1.05 ^a ±0.02	0.60 ^a ±0.04	0.35 ^b ±0.09
Shark	77.00 ^a ±0.01	76.72 ^a ±0.33	1.12 ^a ±0.02	1.10 ^a ±0.02	0.77 ^a ±0.08	0.36 ^b ±0.06
Broadband Anchovy	81.46 ^a ±0.08	80.85 ^b ±0.10	0.94 ^a ±0.01	1.10 ^a ±0.01	3.49 ^a ±0.05	3.36 ^a ±0.07

Continues on the next page

Continuation

Common name	Moisture (%)		Ash (%)		Lipid (%)	
	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN
Gray Triggerfish	79.74 ^a ±0.11	79.44 ^a ±0.18	1.05 ^a ±0.01	1.03 ^a ±0.01	0.26 ^a ±0.02	0.34 ^a ±0.15
Pangas Seabream	82.17 ^a ±0.21	81.62 ^a ±1.10	1.56 ^a ±0.03	1.43 ^a ±0.03	4.56 ^a ±0.05	4.56 ^a ±0.10
Dorado	76.46 ^a ±0.17	76.26 ^a ±0.39	1.10 ^a ±0.09	1.23 ^a ±0.02	0.94 ^a ±0.02	1.49 ^a ±0.07
Atlantic Salmon	65.08 ^a ±0.13	64.47 ^b ±0.32	1.08 ^a ±0.01	1.05 ^b ±0.01	14.37 ^a ±0.53	13.62 ^a ±0.21
Patagonian Flounder	79.30 ^a ±0.23	78.99 ^a ±0.49	0.97 ^a ±0.02	1.05 ^a ±0.02	0.45 ^a ±0.03	0.41 ^a ±0.17
Sand Drum	77.46 ^a ±1.39	76.90 ^a ±0.04	1.68 ^a ±0.43	1.75 ^a ±0.13	0.79 ^a ±0.20	0.86 ^a ±0.17
Southern Kingcroaker	79.56 ^a ±0.02	79.22 ^b ±0.09	1.28 ^a ±0.01	1.30 ^a ±0.01	0.93 ^a ±0.10	0.78 ^a ±0.09
Nile Tilapia	79.82 ^a ±0.12	79.65 ^a ±0.13	0.86 ^a ±0.08	0.79 ^a ±0.08	1.51 ^a ±0.01	2.28 ^a ±0.06
Argentine Hake	81.69 ^a ±0.66	81.59 ^a ±0.29	0.71 ^a ±0.19	0.75 ^a ±0.04	1.13 ^a ±0.09	1.06 ^a ±0.14

Mean values ±standard deviation (n=3)

Different letters in the same line mean significant difference between fresh and frozen samples ($p<0.05$)

Ash Content

Ash content varied from 0.71% in fresh Argentine hake (*Merluccius hubbsi*) to 1.68% in fresh sand drum (*Umbrina coroides*), and after 12 months of freezing storage it varied from 0.75% to 1.75%, in the same species, respectively (**Table 2**). Results also indicated that mullet (*Mugil brasiliensis*) and the Atlantic salmon (*S. salar*) showed significant difference in ash content ($p<0.05$) in fresh and frozen samples (**Table 2**).

Lipid Content

Lipid content varied in fresh samples from 0.31% in Withemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) to 14.37% in the Atlantic salmon (*S. salar*), and in frozen samples, it varied from 0.24% to 13.62% in these same species, respectively (**Table 2**). When lipid content in fresh and frozen samples were compared, among all studied species, 29.40% showed significant difference ($p<0.05$), and included: Brazilian sardinella (*Sardinella brasiliensis*), mullet (*M. brasiliensis*), acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*), Brazilian codling (*Urophycis brasiliensis*) and shark, as can be seen in **Table 2**.

Protein Content

Table 3 shows the protein content for the 17 species analyzed as fresh and after 12 months of freezing storage. Shark showed the highest protein content in both samples, 22.35% and 22.91%, for fresh and frozen samples, respectively, and panga seabream (*P. laniarius*) was the unique species with low protein content (~9.45%) as can be seen in **Table 3**. The freezing process has affected the protein content in 29.40% of analyzed species ($p<0.05$): mullet (*M. brasiliensis*), gray triggerfish (*Balistes caprisucus*), dorado (*Salminus maxillosus*), Atlantic salmon (*S. salar*) and Patagonian flounder (*Paralichthys patagonicus*). The last one

was the most affected species by the freezing process, since protein content in fresh sample was 19.05% and after 12 months under frozen storage it was 17.59% (Table 3).

Carbohydrate Content

Table 3 shows that 88.24% of studied species had carbohydrate content varying from 0.15 to 2.57% (wet weight). Statistical analysis showed difference ($p < 0.05$) between fresh and frozen samples in 29.40% of studied species: Brazilian sardinella (*S. brasiliensis*), mullet (*M. brasiliensis*), gray triggerfish (*B. capricus*), Patagonian flounder (*P. patagonicus*) and Nile tilapia (*O. niloticus*).

Table 3. Results (% wet weight) of protein content, carbohydrate and caloric value calculation of 17 fish species fresh samples and after 12 months under freezing storage condition ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$)

Common name	Protein (%)		Carbohydrate (%)		Caloric Value (Kcal/100g)	
	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN	FRESH	FROZEN
Withemouth Croaker	16.71 ^a ±1.63	17.58 ^a ±0.02	2.19 ^a ±1.50	0.66 ^a ±0.21	75.42 ^a	74.48 ^a
Weakfish	16.55 ^a ±1.50	16.40 ^a ±0.06	2.49 ^a ±0.78	2.42 ^a ±1.16	80.35 ^a	79.78 ^a
Brazilian Sardinella	19.87 ^a ±0.06	21.10 ^a ±0.19	0.81 ^a ±0.06	0.10 ^b ±0.09	123.40 ^a	122.06 ^b
Mullet	20.02 ^a ±0.27	19.16 ^b ±0.13	0.87 ^a ±0.20	1.05 ^b ±0.31	90.98 ^a	88.70 ^b
Acoupa Weakfish	17.00 ^a ±0.07	17.54 ^a ±0.20	0.53 ^a ±0.04	0.55 ^a ±0.22	84.01 ^a	80.14 ^b
Brazilian Codling	16.61 ^a ±0.08	16.50 ^a ±0.07	0.02 ^a ±0.10	0.31 ^a ±0.21	71.87 ^a	70.41 ^b
Shark	22.35 ^a ±0.36	22.91 ^a ±0.01	-	-	96.33 ^a	94.88 ^b
Broadband Anchovy	14.18 ^a ±0.28	14.90 ^a ±0.16	-	-	88.13 ^a	89.84 ^a
Gray Triggerfish	18.54 ^a ±0.44	17.25 ^b ±0.04	0.41 ^a ±0.03	1.94 ^b ±0.20	78.12 ^a	80.62 ^a
Pangas Seabream	9.44 ^a ±0.67	9.45 ^a ±0.18	2.27 ^a ±0.46	2.94 ^a ±0.17	87.32 ^a	89.10 ^a
Dorado	20.84 ^a ±0.22	19.24 ^b ±0.88	0.66 ^a ±0.34	1.77 ^a ±0.66	94.47 ^a	97.50 ^a
Atlantic Salmon	18.47 ^a ±0.82	17.04 ^b ±1.48	1.01 ^a ±0.09	3.83 ^b ±0.45	207.24 ^a	206.63 ^a
Patagonian Flounder	19.05 ^a ±0.19	17.59 ^b ±0.05	0.23 ^a ±0.06	1.96 ^b ±0.38	81.15 ^a	81.04 ^a
Sand Drum	19.84 ^a ±3.12	19.82 ^a ±1.05	0.23 ^a ±0.12	0.67 ^a ±0.08	87.36 ^a	89.25 ^a
Southern Kingcroaker	18.38 ^a ±0.00	18.17 ^a ±0.89	- ^a	0.53 ^a ±0.06	81.89 ^a	81.82 ^a
Nile Tilapia	17.07 ^a ±0.14	17.84 ^a ±0.11	0.74 ^a ±0.28	- ^b	84.55 ^a	89.68 ^a
Argentine Hake	16.22 ^a ±0.63	16.25 ^a ±0.27	0.26 ^a ±0.14	0.35 ^a ±0.04	76.04 ^a	76.74 ^a

Mean values ± standard deviation (n=3)

Different letters in the same line mean significant difference between fresh and frozen samples ($p < 0.05$)

Caloric Value

Results of caloric value ranged in fresh samples from 71.87 to 207.24 kcal/100g in Brazilian codling (*U. brasiliensis*) and Atlantic salmon (*S. salar*), respectively, and in the samples kept 12 months under freezing storage, from 70.41 to 206.63 kcal/100g in these same species, respectively (**Table 3**). Statistical analysis showed difference ($p < 0.05$) in caloric value results between fresh and frozen samples for 29.40% of studied species: Brazilian sardinella (*S. brasiliensis*), mullet (*M. brasiliensis*), acoupa weakfish (*C. acoupa*), Brazilian codling (*U. brasiliensis*) and shark, as can be seen in **Table 3**.

DISCUSSION

Freezing is considered a successful and one of the most used technology to preserve natural quality of foodstuffs for long periods of time^{21,29}. In the case of fish, if correctly applied, it lowers the rate of spoilage, extends shelf-life to several months, while not excessively affecting the physical properties and quality^{21,30}. Although, considerable drip loss, colour, texture and sensory changes can occur in meat and vegetable products after thawing^{21,24,30}, leading to alterations in nutritional value. It is highlighted by these authors that this technology is still being studied and there are great advances specially related to anti-freezing proteins, that in near future will be an important tool for controlling the formation of ice crystals and may represent an ally for preservation of original quality of many foodstuffs. The best way for thawing fish and fish products for processing without loss of quality^{21,23,30} has also been studied in order to manufacture higher quality products.

In Brazil, the “Regulamento de Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)” establishes the official regulation for industrial and sanitary inspection of animal products since 1952. In its 2017 revised edition³¹, the article 335 defines “frozen fish” as “that one submitted to process of quick freezing, in a way that the product quickly exceeds the temperature of maximum crystallization”. According to paragraph 1° of this article, the “process of quick frozen can be considered finished only when the product reaches -18°C”³¹.

Fish is important from both the economic and health points of view, and its importance for a healthy diet is undeniable in many countries^{2,3,30}. Freezing is considered an important fish preservation technology, and alteration in protein content with time of frozen storage has already been reported^{29,30}, but data must be generated in order to demonstrate the extension of alteration and what must be done to guarantee high quality products, especially with Brazilian species, due to lack of nutritional data of raw material and effects of freezing processes on it. Nowadays, when the world must face the Covid-19 pandemic, it is particularly important to debate freezing technology, because it is an important tool to prevent contamination.

Moisture content is one of the most important determinations used in food analysis and is based on the physicochemical property of the water to volatilize at high temperature (>100°C). All studied species showed moisture varying from 65 to 90%, in agreement to Hart and Fisher³², in both samples, fresh or after 12 months of frozen storage, respectively, as shown in **Table 2**. Fish moisture content is related to its stability, quality and nutritional composition³³, and it is strongly related to protein and carbohydrate³². Results showed that moisture content was slightly altered by the freezing process in 17.65% of studied species, which could reflect in texture loss and general quality alteration of product after thawing and/or processing.

Ash content reflects the total mineral content of a fish, and it varies depending on the amount and quality of the fish nutrition and the amount of movement it makes¹, generally total mineral residue in fish ranges from 1 to 2%³² and also indicates the richness of species in mineral elements like calcium, zinc, iron, and phosphorus, among others^{2,3,34}. It is obtained after heating sample until complete combustion of organic matter is reached³⁵. In the present study, 11.77% of the studied species have shown difference ($p < 0.05$) between fresh and frozen samples, that could be reflected in lack of nutritional value for the final consumer.

Statistically significant difference ($p < 0.05$) was found for results of moisture content in broadband anchovy (*Anchoiella lepidentostole*), Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Southern kingcroaker (*Menticirrhus*

americanus). For ash content, results of fresh and frozen samples were different ($p < 0.05$) in mullet (*Mugil brasiliensis*) and the Atlantic salmon (*S. salar*).

Lipid from fish is important due to the presence of polyunsaturated fatty acids (PUFA's), especially those of long chain omega-3 series, known for their health benefits³⁶. Besides PUFA's, there are others nutrients, like vitamin D, selenium, zinc, magnesium and potassium, associated with protective effects for cardiovascular diseases that can also be present³⁶. Results shown in **Table 2** have indicated that all studied species presented lipid content $< 5\%$, and were considered lean, according to Stansby³⁷. Only the Atlantic salmon was classified as moderately fat³⁷ and showed lipid content of 14.37% and 13.62%, in fresh and frozen samples, respectively. Significant difference ($p < 0.05$) in lipid content was observed in 29.40% of the studied species: Brazilian sardinella, mullet, acoupa weakfish, Brazilian codling, and shark, when fresh and frozen samples were compared. A considerable loss of nutritional value to the consumer that seeks for healthy lipid in any fish species was observed, especially considering that for acoupa weakfish it was observed a loss of about 55.48% in lipid content, from 1.55% in fresh sample to 0.86% for sample kept storage 12 months under freezing condition (**Table 2**). In mullet, Brazilian codling and shark about 50% of loss in lipid content was observed, when results of fresh and frozen sample were compared (**Table 2**). Brazilian sardinella also showed loss ($p < 0.05$) in lipid content, from 4.52% in fresh sample to 4.14% in sample kept under freezing condition, but it was slight, considering the previous results (**Table 2**).

Protein is the main constituent of edible part of fish and has high biological value, which means that human organism takes high profit when consumes it³³. Fish accounted for 17% of the animal protein and 7% of all protein consumption in the world⁶ and is an important source of high-quality animal protein^{3,29}, with digestibility coefficient of 90-98%, higher than bovine and other meats, due to the amount of myofibrillar fraction³⁴. According to Stansby³⁷, fish may be classified as high protein content when varies from 15 to 20% of lipid, moderate protein content from 10 to 15% and low protein content when is below 10%.

The results (**Table 3**) indicated that majority of species (88.24%) were considered with high protein content, independent if fresh or frozen, and shark was the one with the highest protein content with 22.35%. Broadband anchovy (*A. lepidentostole*) was classified with moderate protein content with 14.18 and 14.90% of protein in the fresh and frozen sample, respectively, Panga seabream (*P. laniarius*) was the unique species with low protein content ($\sim 9.45\%$), as can be seen in **Table 3**. Protein content showed difference ($p < 0.05$) for 29.40% of studied species when fresh and frozen samples were compared (mullet, gray triggerfish, dorado, Atlantic salmon and Patagonian flounder). Our results indicated loss of approximately 7.7% in protein content between fresh and frozen samples of dorado (18.47% to 17.04%), Atlantic salmon (18.47% to 17.04%) and Patagonian flounder (19.05% to 17.59%). Gray triggerfish showed a difference of 6.96% between fresh (18.54%) and frozen samples (17.25%), and mullet showed 4.3%, the smallest loss in protein content between fresh (20.02%) and frozen samples (19.16%). Similar results were observed by Abemourand²⁹, when studied the effect of freezing on four fish species after 30 and 60 days of storage.

The same amount of samples (29.40%) showed difference ($p < 0.05$) in lipid and protein content between fresh and frozen samples, but for different species. Results showed that although freezing is an important fish conservation technology, because lowering temperature reduces the speed of degradative processes, its utilization demands high quality fish to obtain satisfactory results, and deficient use can lead to protein denaturation and lipid oxidation²⁹, especially in fat species, because will cause rancification odour and flavour^{3,29,38}. Our results can corroborate these affirmations, since it has shown that these two were the most affected parameters after freezing storage under experimental condition.

Complementary techniques as glazing, is also of great importance in order to preserve the quality of products^{3,29,38}. Glazing and the use of cryoprotective substances can grant greater stability and avoid protein denaturation, lipid oxidation and dehydration, main causes of nutritional value loss^{29,38,39}. As observed by Oetterer et al³⁸, biochemical interactions can occur between proteins and fatty acids in fish muscles, during prolonged frozen storage, thus proteins can react with products of lipid oxidation and the amino acids with formaldehydes.

The results have shown significant difference ($p<0.05$) in all analyzed parameters, but with different incidences depending on species. It must be emphasized that fish may present important contents of micronutrients and it is variable depending on the species⁴⁰, which were not investigated here, but must be studied because storage condition can affect them either³⁶.

Carbohydrate content and caloric value were different ($p<0.05$) in 29.40% of species for fresh and frozen analyzed samples. The species with difference in caloric value were the same of those in lipid content because calculation is highly influenced by it.

Our study detected nutritional alterations in all studied species and in all studied parameters after frozen storage, thus it must be considered when the technology is applied in order to guarantee that frozen fish or processed product do not lose nutritional value, especially because lipid and protein content are the most important nutritional features of interest to fish consumers.

CONCLUSION

Mullet (*M. brasiliensis*) and Atlantic salmon (*S. salar*) were the most affected species by the frozen storage, with 5 and 4 affected parameters, respectively, out of a total of 6. Results showed that lipid and protein contents were the most impaired parameters after 12 months of frozen storage and highlighted the importance to study nutritional value of raw material and the type of storage and conservation technology used in order to avoid of nutritional value loss in frozen products.

CONFLICT OF INTEREST

The Authors declare that there is no conflict of interest.

FUNDING

This work was supported by the National Brazilian Council of Scientific Research (CNPq) [Scholarship Contract n.124007/2015-5/ Year: 2015-2016 to S.S.C].

ACKNOWLEDGMENT

We thank Dr. Maria Letizia Petesse for the statistical analysis performed.

REFERENCES

1. Anthony O, Richard J, Lucky E. Biochemical composition of five fish species (*C. laticeps*; *D. rostratus*; *S. schall*; *S. mystus* and *H. bebe*) from river Niger in Edo State, Nigeria. Int J Fish Aquat Stud. 2016;4(3):507-12.
2. Vianna GMS, Zeller D, Pauly D. Fisheries and policy implications for human nutrition. Curr Environ Health Rep. 2020;7(3):161-9.
<https://doi.org/10.1007/s40572-020-00286-1>
3. Reksten AM, Somasundaram T, Kjellevoll M, Nordhagen A, Bøkevoll A, Pincus LM et al. Nutrient composition of 19 fish species from Sri Lanka and potential contribution to food and nutrition security. J Food Compos Anal. 2020;91:1-13,103508.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103508>
4. Hasselberg AE, Aakrea I, Scholtensb J, Overåc R, Koldingd J, Banka MS et al. Fish for food and nutrition security in Ghana: Challenges and opportunities. Glob Food Sec. 2020;26:1-10,100380.
<https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100380>

5. Food and Agriculture Organization – FAO. The impact of COVID-19 on fisheries and aquaculture – A global assessment from the perspective of regional fishery bodies: initial assessment. nº 1. Rome; 2020a. <https://doi.org/10.4060/ca9279en>
6. Food and Agriculture Organization – FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. The state of food security and nutrition in the world - Transforming food systems for affordable healthy diets. Rome; 2020b. <https://doi.org/10.4060/ca9692en>
7. Food and Agriculture Organization – FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2020 – Sustainability in action. Rome; 2020c. <https://doi.org/10.4060/ca9231en>
8. Brasil. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Consumo e tipos de peixes no Brasil. Available from: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/rede-do-pescado/consumo-e-tipos-de-peixes-no-brasil>
9. Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná. Departamento de Economia Rural. Piscicultura: Análise de conjuntura. Available from: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-11/aquicultura2019v1.pdf
10. Walker P, Wood E. Life in the sea - People and the sea. New York: Facts On File, Inc.; 2005.
11. Furlan EF, Galvão JA, Salán EO Oetterer M. Composição centesimal e valor calórico de mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo, Brasil. Bol Inst Pesca. 2011;37(1):85-93. Available from: https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/37_p1_85-93/37_p1_85-93
12. Luzia LA, Sampaio GR, Castellucci CMN, Torres EAFS. The influence of season on the lipid profile of five commercially important species of Brazilian fish. Food Chem. 2003;83(1):93-7. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00054-2)
13. Sartori AGO, Amancio RD. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. Segur Aliment Nutr. 2012;19(2):83-93. <https://doi.org/10.20396/san.v19i2.8634613>
14. Bastos AL, Baish ALM, Clementin RM, Souza Soares LA, Furlong EB. Perfil de ácidos graxos da pele e músculos de *Balistes capricuse* e *Menticirrhus litoralis*, pescados na região sul do Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006;65(2):94-9. Available from: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32879/31710>
15. Suzuki T. Tecnología de las proteínas de pescado y krill. España: Editoria Acribia S.A.; 1987.
16. Hall GM. Fish Processing Technology. New York: VCH Publishers;1992.
17. Almeida NM, Bueno Franco MR. Influência da dieta alimentar na composição de ácidos graxos em pescado: aspectos nutricionais e benefícios à saúde humana. Rev Inst Adolfo Lutz. 2006;65(1):7-14. Available from: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32961/31793>

18. Health Canada. Prenatal nutrition guidelines for health professionals. Fish and omega-3 fatty acids. Canada; 2009. Available from:
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/food-nutrition/prenatal-nutrition-guidelines-health-professionals-fish-omega-3-fatty-acids-2009.html>
19. São Paulo. Projeto de Monitoramento da Atividade Pesqueira no Estado de São Paulo PMAP-SP. Relatório Técnico Semestral BR 04035053/20. Instituto de Pesca/Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Janeiro 2020, n.52, 04p. [access on: 2020 Jan 28]. Available from:
http://www.propesq.pesca.sp.gov.br/arquivos/pagina/1686633339_201221%20-%20RTS_53-20_PMAP-SP_Rev_00.pdf
20. Silva ML, Matté GR, Matté, MH. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz. 2008;67(3):208-14. Available from:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32767/31598>
21. Backi CJ. Methods for (industrial) thawing of fish blocks: a review. J Food Process Eng. 2017;1-11, e12598.
<https://doi.org/10.1111/jfpe.12598>
22. Ogawa M. Química do pescado. In: Ogawa M, Maia EL, editores. Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela; 1999.p. 29-71.
23. Medeiros JM, Borges SN, Silva MG, Braga AHG. Comportamento térmico em um freezer para congelamento do pescado. VII CONNEPI - Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação; outubro de 2012; Palmas (TO). Available from:
<https://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/3795/2464>
24. Provesi JG, Amante ED. Revisão: Proteínas anticongelantes – uma tecnologia emergente para o congelamento de alimentos. Braz J Food Technol. 2015;18(1):2-13.
<http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.7714>
25. Neiva CRP, Tomita RY, Cerqueira MAS, Miura M, Furlan EF, Machado TM et al. O mercado do pescado na região metropolitana de São Paulo. Série: O mercado do pescado nas grandes cidades latino-americanas; abril de 2010; Santos (SP): SFC/FAO/INFOPECA. p. 86. Available from:
<http://www.infopesca.org/sites/default/files/complemento/publibreacceso/288/informe-san-pablo.pdf>
26. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº 25, de 2 de junho de 2011. Aprova os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Pescado e seus Derivados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 jun 2011. Seção 1(106):34-9.
27. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959;37(8):911-7.
<https://doi.org/10.1139/o59-099>
28. Latham MC. Nutrición humana em el mundo en desarrollo. Colección FAO: alimentación y nutrición nº 29. Roma: FAO; 2002. Available from:
<https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s00.htm>

29. Abemourand A. Impact of freezing on nutritional composition of some less known selected fresh fishes in Iran. Int Food Res J. 2013;20(1):347-50.
30. Roiha IS, Tveitb GM, Backi, CJ, Jónsson, A, Karlsdóttird M, Lunestad BT. Effects of controlled thawing media temperatures on quality and safety of pre-rigor frozen Atlantic cod (*Gadus morhua*). LWT. 2018;90:138-44.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.030>
31. Presidência da República (BR). Atos do Poder Executivo. Decreto. nº 9.013, de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 30 mar 2017. Seção 1(62):3-27.
32. Hart FL, Fisher HJ, González JB. Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza: Acribia; 1971.p. 249.
33. Vaz-Pires P. Apostila de Tecnologia do Pescado. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Universidade do Porto. Portugal; 2011.
34. Bombardelli RA, Syperreck MA, Sanches EA. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. Arq. Ciên. Vet. Zool., UNIPAR, Umuarama. 2005;8(2):181-95.
35. Fogaça FHS, Legat AP, Pereira AML, Legat JFA. Métodos para análise de pescados. Documentos Embrapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Teresina: Embrapa Meio-Norte; 2009. 40p. Available from:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80694/1/documento-189.pdf>
36. Ruxton CHS. The benefits of fish consumption. Nutr Bull. 2011;36:6-19.
<https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01869.x>
37. Stansby ME. Proximate composition of fishes. In: Heen E, Kreuzer R. editors. Fish in nutrition. London: Fishing News; 1962. p.55-60.
38. Oetterer M, Savay-da-Silva LK, Galvão JA. Congelamento é o melhor método de conservação do pescado. Visão Agrícola. 2012;11:137-9. Available from:
<https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va11-processamento07.pdf>
39. Neiva CRP, Matsuda CS, Machado TM, Casarini LM, Tomita, RY. Glaciamento em filé de peixe congelado: revisão dos métodos para determinação de peso do produto. Bol Inst Pesca. 2015;41(4):899-906. Available from:
<https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/1082/1059>
40. Bogard JR, Thilsted SH, Marks GC, Wahab MA, Hossain MA, Jakobsen J et al. Nutrient composition of important fish species in Bangladesh and potential contribution to recommended nutrient intakes. J Food Compos Anal. 2015;42:120-33.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.03.002>





Elaboration of reference material for cadmium and arsenic in hydrobiological products, for the purpose of being used in a laboratory intercomparison program

Elaboración de un material de referencia para cadmio y arsénico en productos hidrobiológicos, para propósito de ser utilizado en un programa de intercomparación de laboratorios

Soraya SANDOVAL^{1*} , Karina GONZÁLEZ¹ , Luis Humberto MUÑOZ² 

¹ Laboratorio Designado de Metrología – RNM, Sección Metrología de Ambientes y Alimentos, Subdepartamento de Metrología y Desarrollo Tecnológico, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), Santiago, Chile.

² Departamento de Tecnologías Nucleares, Sección de Metrología Química, Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN), Santiago, Chile.

ABSTRACT

Reference materials (RM) are tools used in the comparability and traceability of measurements. They are widely used by laboratories for method validation and quality control of assay. Chile must evaluate the performance of laboratories that analyzing metals in fishery products, despite RM have high prices and are scarce. For that reason, a RM in a hydrobiological product was developed. Reference values for arsenic and cadmium elements for a fishmeal were assigned. The measurement methods for characterization of the material were Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Atomic Absorption Spectrometry and Neutron Activation Analysis. Reference values with their expanded uncertainty (U) were established for arsenic 2.64 ± 0.42 mg/kg (U ; $k = 2$) and for cadmium 0.86 ± 0.16 mg/kg (U ; $k = 2$). Homogeneity and stability of the RM allowed its use in a proficiency test for eleven food control laboratories. Results for median were 2.114 mg/kg for arsenic, and 0.863 mg/kg for cadmium. The performance values of the participants were evaluated with a z score obtaining 60% satisfaction for arsenic and 73% for cadmium. The material demonstrated to be suitable for use in interlaboratory proficiency assay.

Keywords. Laboratory Proficiency Test, Reference Material, Arsenic, Cadmium, Fish Flour.

RESUMEN

Materiales de referencia (MR) son herramientas utilizadas en la comparabilidad y trazabilidad entre mediciones. Laboratorios los utilizan ampliamente en validación de métodos y control de calidad. Chile debe evaluar el desempeño de los laboratorios que analizan metales en productos pesqueros, a pesar de los altos precios y escasez del MR. Por esa razón, se desarrolló un MR en producto hidrobiológico. Se asignaron valores de referencia para arsénico y cadmio en harina de pescado. Los métodos de medición para la caracterización del material fueron Espectrometría de Masas de Plasma Acoplado Inductivamente, Espectrometría de Absorción Atómica y Análisis de Activación de Neutrones. Se establecieron valores de referencia con su incertidumbre (U) para arsénico 2.64 ± 0.42 mg/kg (U ; $k = 2$) y para cadmio 0.86 ± 0.16 mg/kg (U ; $k = 2$). La homogeneidad y estabilidad del MR permitieron su uso en una prueba de aptitud para once laboratorios de control de alimentos. Las medianas fueron 2,114 mg/kg para arsénico y 0,863 mg/kg para cadmio. Se evaluaron los rendimientos de los participantes con un estadístico de puntaje z satisfactorio del 60% para el arsénico y 73% para el cadmio. El material demostró ser adecuado para uso en ensayo de aptitud de intercomparación.

Palabras clave. Ensayos de Aptitud de Laboratorios, Material de Referencia, Arsénico, Cadmio, Harina de Pescado.

*Corresponding author/Autor de correspondencia: soraya@ispch.cl

Received/Recibió: 16.04.2021 – Accepted/Aceptado: 08.10.2021

INTRODUCTION

The *Instituto de Salud Pública de Chile* (“ISP”, Public Health Institute of Chile) has the mission of developing certified reference materials and reference materials in food chemistry, to provide metrological traceability to measurement laboratories.

Reference materials (RM) are crucial for laboratory quality assurance. They are widely used for the internal quality control of analytical tests, in the validation of methodologies and as test items in proficiency tests¹. Proficiency testing is a type of systems audit or external assessment, a check on the entire laboratory testing system. The term “check testing” is sometimes used for this activity. Proficiency test may also be used to assign values to reference materials or to determine their suitability for use. Proficiency test samples may, in many cases, also be considered reference materials². Certified reference materials (CRM) and reference materials, in addition to being homogeneous and stable, have the advantage of having more exact values, lower uncertainties and metrological traceability, providing greater reliability and comparability of measurements. CRM and RM production is in accordance with ISO 17034³, and requires very exact and precise methods.

The ISP conducts proficiency test as part of an external evaluation program of quality (PEEC, by its Spanish acronym) mainly aimed to public or private food audit and control laboratories authorized by the Chilean State to this goal. The objective of this program is to assess the performance of the national laboratories in relation to the analysis made, according to the quality assurance system ISO/IEC 17025⁴. Proficiency tests program focus on the control of food components, additives, and contaminants that are consumed by the population and are of national interest due to its impact in both economic and public health system.

According to figures put out by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) in 2004, Chile was the sixth producer country in the world, with a production in fishery and aquaculture industry of 4% of the worldwide volume⁵ that year. Nevertheless, National Food Consumption Surveys (ENCA, by its Spanish acronym) in 2016 revealed that the fish consumption is scarce as no more than the 15% of the Chilean population reports its consumption, with a clear socioeconomic gradient⁶.

The Health Sector has emphasized in the promotion of fish consumption, especially in children, youngsters, and older adults to bear obesity problems in the population. This way, it is expected that fish integrated in the daily diet would be a healthy contribution for the consumer, and not a source of risk to develop diseases. For that reason, monitoring, control, and audit processes are used to assure the safety of these nourishments from sea to fork.

Sanitary Food Regulation (RSA) of the Ministry of Health of Chile (“MINSAL”, *Ministerio de Salud*) establishes in its Title IV, section I that the presence of arsenic in fresh, refrigerated, frozen and preserved fish⁷ must not exceed the maximum limit of 1 mg/kg, cadmium is not mentioned for these products. At an international level, the *Codex Alimentarius* have recommended for cadmium a maximum limit (ML) in food in a range that goes from 0.05 mg/kg (vegetables) to 2 mg/kg (marine bivalve molluscs). In the same way, for arsenic the recommended MLs range from 0.1 to 0.5 mg/kg in food, with no ML values for matrixes of marine origin⁸. In this context, both public and private laboratories must conduct their laboratory tests in a way to guarantee quality and comparability of their results, so decisions based on these outcomes are appropriate.

The *Servicio Nacional de Pesca* (“SERNAPESCA”, National Fisheries Service) and the MINSAL raise the necessity of incorporate in the PEEC a proficiency test round in order to determine the presence of metals in foodstuff coming from fishery industry. Facing this need, the ISP, through the Designated Metrology Laboratory, together with the Chemical Metrology Section of the *Comisión Chilena de Energía Nuclear* (“CCHEN”, Chilean Nuclear Energy Commission) developed a traceable reference material for elements in hydrobiological product (fish meal). There are several methods for the determination of elements in food, so to characterize the reference material, three techniques were selected with the capacity to measure traces of these substances (Cd and As): Neutron Activation Analysis (NAA), Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy (GFAAS). These methods are sensitive and accurate enough to characterize a reference material.

As a result of the increase in both national and international quality standards compared to exports and imports at the food industry level, new needs have been generated to comply with adequate quality and to comply with these, a demand has also been generated in the quality assurance of the laboratories. The demand for new CRM and RM traceable to the International Systems of Units (SI) has been growing in all areas, especially in the food industry, due to the variability of measurands and food matrices, access to these materials is hampered by the lack of supply and/or their high cost. The laboratories in charge of food control must demonstrate that the methods used are duly validated for the analytes and food matrices required. Food matrices are generally complex, so it is essential to use RM/CRM as a support to be able to demonstrate with accuracy and reliability the results obtained by these methods. The major limiting factor for the general use of RMs in food analysis laboratories is their restricted availability considering the huge range of possible analyte/concentration level/matrix combinations of the real samples to be analyzed⁹.

RMs can be used to a great extent for internal quality control purposes in a food testing laboratory in control charts, in method validation and in ring tests, among others. However, in many cases they are not available in the market or are expensive due to production costs, and also because in most cases they must be imported. For these reasons, not all the needs for quality assurance tools for food control laboratories are covered in accordance with the requirements of ISO/IEC 17025. Metrological traceability and quality assurance in food production play an important role for food trade. Hence the importance that national metrology institutes (NMIs) or designated metrology institutes (DIs) can produce RMs and CRMs, according to the main analytical needs of their countries, ensuring the accessibility of national laboratories to these, and in this way to respond to the requirements of public and private food control laboratories, thus supporting a more reliable food trade.

The production of reference materials is a complex process, where producers must comply with the requirements of ISO/IEC 17025, ISO 17034 and ISO Guide 35, so that the RM/CRM produced satisfy the requirements of metrological traceability and uncertainty for the intended purpose. Scientific work aimed at the production of new RMs will contribute to reduce existing gaps in the market, allowing better access to RMs for national public and private laboratories.

Expanding the production of new RMs in food matrices, focused to certain analytical needs derived from “Food Surveillance Programs”, such as nutrients, pollutants, residues and toxins, allows directing efforts towards developing RMs for assay processes critical associated with food control, generating tools helping to improve the quality and safety of food, for the benefit of consumer protection and the confidence of the food trade.

The aim of this scientific work is to present the elaboration of a traceable reference material to SI for determining As and Cd in fishmeal, destined to be used in a proficiency test to support the quality assurance of food analysis laboratories, in charge of the control and surveillance of the production of the fishing industry in Chile.

MATERIAL AND METHODS

Candidate Reference Material Preparation

The ISP used fish meal as a matrix for the elaboration of the reference material, because its composition characteristics (66% protein, 12% total fat, and moisture less than 10%) and its dry powder state facilitate its handling and preservation. Fish meal belonging to a sample of 4 kg from the same set was processed through drying, sieving and homogenizing. Subsequently, it was divided, packed and labeled in amber glass bottles of 35 g each, which were exposed to a minimum dose of gamma irradiation of 25 kGy for their sterilization in the CCHEN. 93 units of candidate reference material bottles were obtained.

The produced units were stored in a desiccator to room temperature between 20 and 27°C.

The elaboration and assessment processes of the reference material were in accordance with the quality standards ISO 17034³, ISO Guide 35¹⁰ and ISO/IEC 17025⁴.

Reference Materials and testing methods

Testing methods used for the assessment of the reference material were validated by relevant authorities in order to be used for this purpose. The ISP was in the charge of the Analysis of food elements by ICP-MS for microwave digestion¹¹. The ISP is a National Designated Metrology Laboratory of the *National Metrology Network* of Chile (RNM, its acronym in Spanish: *Red Nacional de Metrología*), complying with the normative requirements of ISO/IEC 17025 and ISO 17034.

The CCHEN was responsible for the execution of the tests following the NAA^{12,13}, ICP-MS¹⁰, and GFAAS¹⁴. The CCHEN is a reference laboratory for nuclear techniques in Chile, under an ISO/IEC 17025 quality management system and is recognized by the International Atomic Energy Agency (IAEA) as a laboratory of high performance level for its good participation in the proficiency testing that this agency organizes annually.

The processing of the samples of the candidate reference material consisted of taking a portion of 0.2 to 0.5 g of dry sample in a microwave glass, adding 1 mL of water, 8 mL of high purity nitric acid (HNO₃, 65% v/v) and 2 mL of high purity hydrogen peroxide (H₂O₂, 30% v/v), letting it stand closed at room temperature under a hood for at least 12 hours and then placed in the microwave digester in a gradient program from 250 to 500 watts for 35 minutes. The digestion solution was transferred to a 25 mL volumetric flask with reagent grade water, for analysis by the defined method.

The SI traceable NIST (National Institute of Standards and Technology) reference materials that were used as calibration standards for the above mentioned methods were:

- *Cadmium (Cd) Standard Solution* SRM[®] 3108 Lot No. 130116.
- *Arsenic (As) Standard Solution* SRM[®] 3103a Lot No. 100818.

For tests quality control purposes, the *Fish protein certified reference material for trace metals* DORM-4 of NCR-CNRC (National Research Council Canada) traceable to SI, containing arsenic in 6.80 ± 0.64 mg/kg ($U; k = 2$) and cadmium in 0.306 ± 0.015 mg/kg ($U; k = 2$) was used in parallel to samples. The analytical results reported by the ISP and CCHEN were accepted, when the recovery rate of the material was between 80-110%.

Humidity was determined by the coulometric Karl Fischer method¹⁵⁻¹⁷ using a certified standard oven 1%, Apure[®], Merck[®]. Traceability to the SI of mass and volume measurements is to the National Mass Metrology Laboratory of Chile (CESMEC S.A.).

Homogeneity and stability study

A stratified random sample was taken from the set produced from the candidate reference material, obtaining a total of 25 bottles for the material characterization and assessment. Homogeneity and stability studies were statistically conducted in accordance with the ISO Guide 35¹⁰ guidelines.

The ISP was responsible for conducting the homogeneity and stability studies. The number of samples required for the purposes of the homogeneity study was established based on 10% of the batch size, that is, the total number of units (bottles) produced by the batch ($N_{prod} = 93$ units), this due to the fact that the batch size was less than 100 units¹⁰. Finally, the material homogeneity study involved the analysis of 9 duplicate samples (bottles) of arsenic and cadmium elements with the ICP-MS method under repeatability conditions, which was previously validated for this purpose. For analysis of variance (ANOVA) of the duplicated data, the acceptability criteria were established as *F-value* must be less than *F-table*, with a 95% percent of confidence interval¹⁰. The study of the homogeneity of the material was carried out between and within the bottles, with their respective uncertainties.

The material stability study was established with the same method used in homogeneity study. The temperature for homogeneity and stability study was established between 20 to 25°C. For the evaluation of stability, a classical stability study was carried out in a short-term period of 10 days and 70 days, a long-term

period of 150 days, 200 days, and 250 days. For this, 6 bottles were analyzed in duplicate, 3 in the short-term study and 3 in the long-term stability study in intermediate conditions of measurement by ICP-MS Method.

Reference material characterization

Three analytical methodologies were used for the material characterization, since there is no primary method such as isotopic plasma mass dilution (IDMS). The ISP conducted the analysis of 9 bottles in duplicate and repeatability conditions with ICP-MS Method.

The CCHEN analyzed in duplicate and repeatability conditions 5 bottles by GFAAS for cadmium, 9 bottles NAA for arsenic and 10 bottles by ICP-MS for both elements, the treatment of the samples was carried out by microwave digestion. The methods were previously validated by ISP and CCHEN for their intended purpose.

The allocation of the value of the reference material was made in accordance with the ISO *Guide 35* and the associated uncertainty was determined according to the GUM¹⁸.

The reference assigned value was obtained from the average of results found for the three methods in each case, which was calculated as the Equation 1:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (1)$$

where: \bar{X} = average of the results reported by the ISP and CCHEN methods; x_i = average of the result reported by each method; n = number of methods.

Expanded uncertainty of the assigned value was determined as the combined uncertainty of characterization, homogeneity, and stability applying an coverage factor for a 95% of confidence interval^{10,19,20}, $k = 2$, that is, it was calculated as the Equations 2-6:

$$U = k \times u_c = 2 \times \sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{stab}^2} \quad (2)$$

where: u_{char} = standard uncertainty associated with material characterization; u_{hom} = standard uncertainty associated with homogeneity; u_{stab} = standard uncertainty associated with stability; k = coverage factor; $k = 2$: corresponds to a level of confidence of approximately 95%.

$$u_{char} = \sqrt{u_{c(I)}^2 + u_{c(II)}^2 + u_{c(III)}^2} \quad (3)$$

where: $u_{c(I)}$ = standard uncertainty of the measurement of bottles ($n = 10$) by the ISP; $u_{c(II)}$ = standard uncertainty of the measurement of bottles ($n = 10$) by the CCHEN method 1; $u_{c(III)}$ = standard uncertainty of the measurement of bottles ($n = 10$) by the CCHEN method 2;

$$u_{hom} = \sqrt{u_{bb}^2} \quad (4)$$

where: u_{bb} = standard uncertainty between-bottles, obtained from ANOVA. When ANOVA mean square between-bottles is less to Mean Square within-bottles, that is, $MSB < MSW$ and the Equation 5 is used:

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MSW}{n_0}} \times \sqrt[4]{\frac{2}{v_{MSW}}} \quad (5)$$

where: n_0 = duplicates ($n = 2$); ν = degrees of freedom of MSW, number bottles in homogeneity test minus 1.

$$u_{stab} = s_{(b1)} \times t \quad (6)$$

where: $s_{(b1)}$ = standard deviation of slope of lineal regression of stability study; t = time interval the RM is considered stable, i.e., 250 days.

Proficiency test

Once its homogeneity and stability had been verified, it was determined that the material was suitable for the purposes of the proficiency test.

Reference material was sent to eleven national laboratories for its analysis in a proficiency test round as per the ISO/IEC 17043²¹. Reported data by the participants were requested on a dry basis for both analytes and were assessed according to ISO 13528, using the z-score statistics²² using Equation 7:

$$z = \frac{(x - X)}{\hat{\sigma}} \quad (7)$$

where: z = z score; X = assigned value for proficiency test (mg/kg); x = result of the participant (mg/kg); $\hat{\sigma}$ = standard deviation for proficiency assessment (mg/kg).

Standard deviation for proficiency test round ($\hat{\sigma}$) was established as the Horwitz standard deviation, determined as the Equation 8²³:

$$CV_R, \% = RSD_R, \% = 2^{(1-0.5 \log C)} \quad (8)$$

where: C is the concentration of analyte expressed as dimension less mass fraction (g/g); CV_R or RSD_R is a coefficient of variation of reproducibility, it is the average ratio of the standard deviation to the mean of assigned value for proficiency test mean (% average) (Equation 9).

$$CV_R = RSD_R = \frac{RSD_R}{100} \quad (9)$$

The standard deviation estimated from the Horwitz Equation for proficiency test is calculated with the Equation 10:

$$\hat{\sigma} = \sigma_h = \bar{X} \times CV_R \quad (10)$$

where: $\hat{\sigma}$ = standard deviation for proficiency assessment (mg/kg).

For the purposes of this procedure, the z-score values, considering the assigned value obtained from the reference value of the material produced.

For purposes of the suitability of the reference material, it was established that the standard uncertainty of the RM (assigned value) developed for proficiency testing purposes will be less than the target standard deviation (Horwitz) of the proficiency testing round, i.e (Equation 11):

$$u_{RM} < \hat{\sigma} \quad (11)$$

where: u_{RM} = standard uncertainty of the reference material ($k = 1$); $\hat{\sigma}$ = standard deviation for proficiency assessment (mg/kg).

The mean values of cadmium and arsenic were calculated from the results of the participating laboratories with the Equation 12:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (12)$$

where: \bar{X} = average of the reported results by laboratories (mg/kg); x_i = reported result by the laboratory (mg/kg); n = number of laboratories.

Regarding the number of participants, the median was calculated as follows:

- if n is odd, the median (Me) is determined as the Equation 13:

$$Me = X_{\frac{n+1}{2}} \quad (13)$$

- if n is even, the median (Me) is determined as the Equation 14:

$$Me = \left(x_{\frac{n}{2}} + x_{\frac{n}{2}+1} \right) \quad (14)$$

where: Me = median of the results reported by laboratories; x = value of the results in the position $\frac{n}{2}$ or $\frac{(n+1)}{2}$; n = number of laboratories.

The standard deviation of the median ($MADe$) was established as the Equation 15:

$$MADe = 1,483 \times [Me(xi - Me)] \quad (15)$$

where: Me = median of the results reported by laboratories; xi = results of laboratories.

The Grubbs²⁴ statistical test was used to identify outliers. Data were not excluded for the assessment, because they do not affect the assignment of the value for the performance evaluation, the assigned value was the reference value of the material.

RESULTS

Humidity

The results obtained by the humidity measuring method delivered a 5.4% of water content in fish meal in the three samples analyzed in duplicated ($n = 6$) ($CV = 2.87\%$). Results of elements measurement were reported in a dry basis.

Homogeneity of the candidate reference material

The homogeneity of the reference material was assessed in relation to between and within-bottles homogeneity. The results obtained from the nine samples in duplicate they are presented in [Table 1](#).

Table 1. Results of the homogeneity study of arsenic and cadmium in fishmeal

# Bottle	Arsenic		Cadmium	
	I (a)	II (b)	I (a)	II (b)
3	2.69	2.64	0.868	0.841
5	2.53	2.49	0.823	0.864
21	2.54	2.64	0.796	0.923
37	2.72	2.83	0.864	0.853
49	2.66	2.98	0.864	0.930
57	2.59	2.68	0.872	0.850
63	2.88	2.57	0.828	0.839
78	2.61	2.63	0.912	0.871
84	2.74	2.53	0.854	0.824
Average Homogeneity, $X_{\text{Homogeneity}}$, mg/kg	2.664		0.860	
Homogeneity Standard Uncertainty, u_{hom} , mg/kg	0.035		0.019	
Minimum Value, Min, mg/kg	2.494		0.796	
Maximum Value, Max, mg/kg	2.985		0.930	
Variance within-bottle, S^2_{an}	0.015 71		0.001 46	
Variance between-bottle, S^2_{am}	0.00125		0.018	
Paired Samples, m	9		9	
Calculated F value, F_{obs}	1.16		0.65	
F critical value, F_{table}	3.23		3.23	
$F_{\text{obs}} < F_{\text{table}}$	Yes		Yes	
p-value ($\alpha = 0.005$)	0.412		0.724	
Is homogeneous?	Yes		Yes	
Cochran's test	Value C	0.379	0.611	
	Value C critical, C_{critic}	0.638	0.638	
	$C < C_{\text{critic}}$	No outliers	No outliers	

The outliers' assessment was conducted with Cochran test, concluding that there was not presence of outliers, because the C values obtained of 0.379 for arsenic and 0.611 for cadmium were lower than the critical C of 0.638 for a 95% of confidence for the nine pair data (m). RM homogeneity value and the standard uncertainty (u_{hom} ; $k = 1$) of each metal were: arsenic 2.664 ± 0.035 mg/kg and for cadmium 0.860 ± 0.019 mg/kg.

Stability of the candidate reference material

For the stability study under controlled temperature conditions and in intervals of established time, the material demonstrated to be stable in a period of 250 days for both measurands. The stability standard uncertainty (u_{stab}) obtained from the measuring was ± 0.14 mg/kg for arsenic and ± 0.056 mg/kg for cadmium.

In a linear regression for a 95% of confidence, a p -value higher than $\alpha = 0.05$ indicates there is no significant difference in the regression, meaning that, the material was stable, obtaining a p -value 0.384 for arsenic and a p -value 0.732 for cadmium. The absolute value of the slope $|b_1|$ for arsenic is 0.000 5 and for cadmium 0.000 08. The values of the Student's t value for 95% confidence interval for 4 degrees of freedom was 2.78, the t value multiplied by the standard deviation of the slope of regression were 0.001 5 for arsenic and 0.000 62 for cadmium (Table 2). The stability values were established for arsenic 2.58 ± 0.14 mg/kg (u_{stab} ; $k = 1$) and for cadmium 0.832 ± 0.056 mg/kg (u_{stab} ; $k = 1$).

Table 2. Results of stability study for arsenic and cadmium in fishmeal

Test	Arsenic	Cadmium
Average, \bar{X} , mg/kg	2.58	0.832
Slope, b_1	-0.000 5	-0.000 08
Intercept, b_0	2.641	0.842
Sample size (i.e., number of observations), n	6	6
Degrees of freedom for this test, $df = n-2$	4	4
Stability uncertainty, $u_{\text{stability}}$	0.14	0.056
p-value	0.384	0.732
$ b_1 $	0.000 5	0.000 08
t-Student critical, $t_{0,95, n-2}$	2.78	2.78
Standard deviation of slope, $s(b_1)$	0.000 545	0.000 224
$t_{0,95, n=2} \cdot s(b_1)$	0.001 5	0.000 62
$ b_1 < t_{0,95, n=2} \cdot s(b_1)$	Yes	Yes
Is stable?	Yes	Yes

Characterization of the candidate reference material

The characterization of the candidate reference material from the laboratories allowed the value assignment of the reference material. It was established based on the mean of the results obtained in the three reference methods used for ISP and CCHEN (Figure 1). The uncertainty of characterization was obtained according to GUM¹⁷, combining the standard uncertainty obtained from the measurements made with the 3 methods with which the elements were analyzed. From this data, the obtained values of 2.64 ± 0.16 mg/kg (u_{char} ; $k = 1$) for arsenic and 0.862 ± 0.052 mg/kg (u_{char} ; $k = 1$) for cadmium.

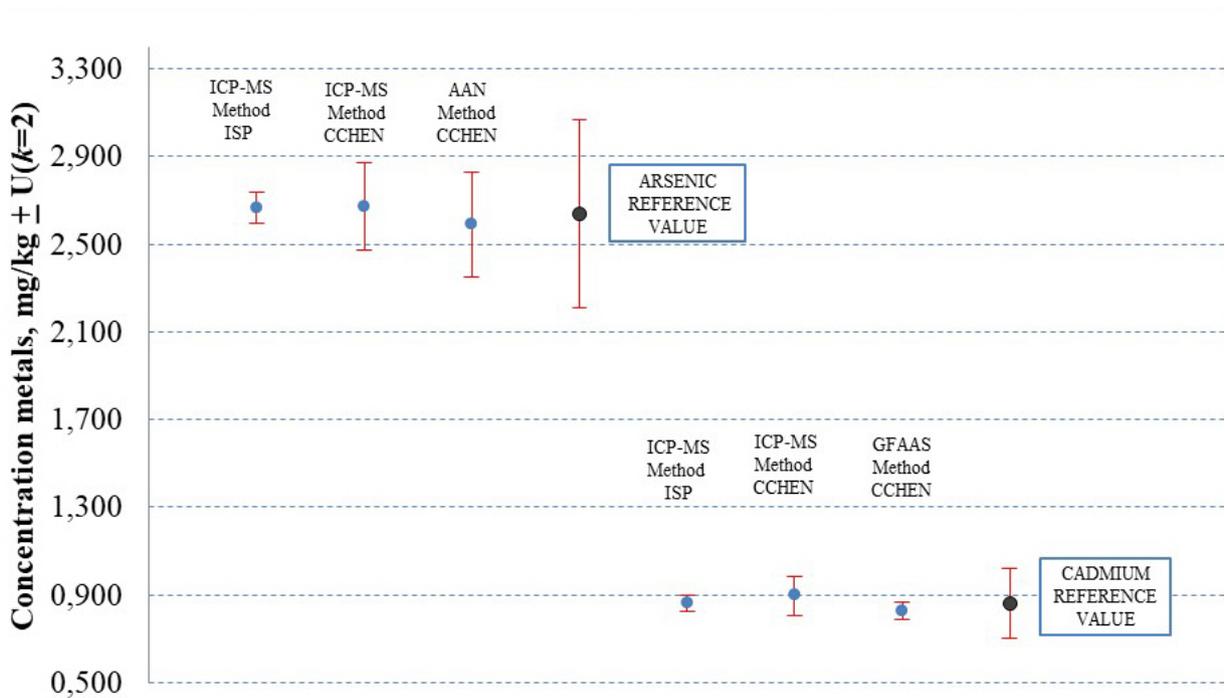


Figure 1. Comparison of results for different methods in the study of characterization of arsenic and cadmium – RM fishmeal

Material reference value

The combined uncertainty associated to the reference value was obtained through the combined uncertainty of the characterization, homogeneity and stability (Table 3). Reference values were established for arsenic 2.64 ± 0.42 mg/kg (U ; $k = 2$) and for cadmium 0.86 ± 0.16 mg/kg (U ; $k = 2$). The standard uncertainty (u_{RM} , $k = 1$) of the RM reference material was ± 0.21 mg/kg for arsenic and ± 0.079 mg/kg for cadmium.

Table 3. Value assignment for the reference material – RM Fishmeal

Test	Arsenic (As) mg/kg		Cadmium (Cd) mg/kg	
	C	$u_{(k=1)}$	C	$u_{(k=1)}$
Characterization	2.64	0.16	0.862	0.052
Homogeneity	2.664	0.035	0.860	0.019
Stability	2.58	0.14	0.832	0.056
Certified value	C	$U_{(k=2)}$	C	$U_{(k=2)}$
	2.64	0.42	0.86	0.16

C: concentration (mg/kg), u : standard uncertainty (mg/kg), U : expanded uncertainty (mg/kg).

Proficiency test

In the proficiency test, the results reported by the laboratories ($n = 10$) for arsenic were: Lab#1 2.771 mg/kg, Lab#2 1.742 mg/kg, Lab#3 2.087 mg/kg, Lab#4 1.610 mg/kg, Lab#5 2.140 mg/kg, Lab#6 3.350 mg/kg, Lab#7 2.730 mg/kg, Lab#8 2.400 mg/kg, Lab#9 1.023 mg/kg and Lab#10 1.742 mg/kg. For cadmium the results ($n = 11$) were: Lab#1 0.866 mg/kg, Lab#2 0.911 mg/kg, Lab#3 0.827 mg/kg, Lab#4 0.800 mg/kg, Lab#5 0.870 mg/kg, Lab#6 0.453 mg/kg, Lab#7 0.560 mg/kg, Lab#8 0.885 mg/kg, Lab#9 0.860 mg/kg, Lab#10 1.406 mg/kg and Lab#11 0.863 mg/kg. The laboratories reported the use of the hydride generation method of atomic absorption spectrometry for the determination of arsenic and the flame atomic absorption spectrophotometric method for the analysis of cadmium.

In the case of arsenic, the average from the participants was 2.160 mg/kg with a median of 2.114 mg/kg with a minimum reported value of 1.023 mg/kg and a maximum of 3.350 mg/kg. On the other hand, for cadmium the average was 0.846 mg/kg and the median 0.863 mg/kg, with a minimum reported value of 0.453 mg/kg and a maximum of 1.406 mg/kg. The robust standard deviations (MADe) were 0.649 mg/kg for arsenic and 0.053 mg/kg for cadmium. After applying the Grubbs test to both cases, it was identified that there were three outliers for cadmium (Lab#6, Lab#7 and Lab#10) and that there were no outliers for arsenic. The outliers were not excluded from the performance evaluation, since they did not affect the objective standard deviation that was established through the Horwitz statistical model.

The standard deviation of the Horwitz for proficiency test was 0.365 mg/kg for arsenic and 0.141 mg/kg for cadmium based on the reference value. The performance obtained by the laboratory by z-score, it is observed that most laboratories have a satisfactory evaluation for both elements (6 laboratories satisfactory for arsenic and 8 for cadmium), only an unsatisfactory result was obtained for cadmium (Lab#10) and one for arsenic (Lab#9) (Figure 2).

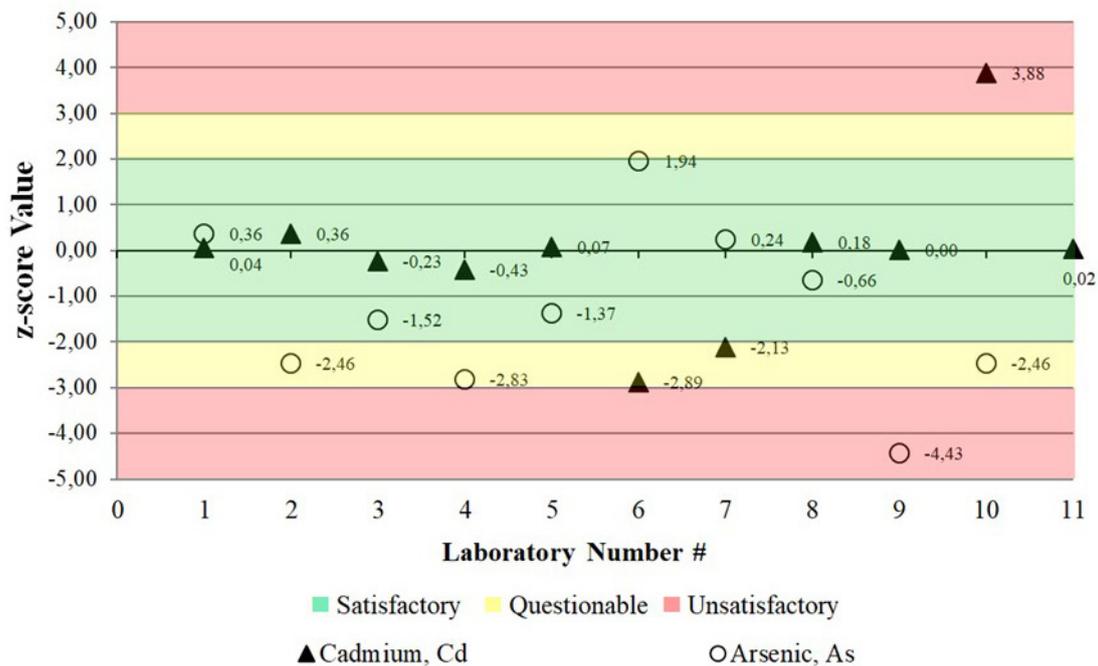


Figure 2. Performance z-score for cadmium and arsenic

DISCUSSION

The results obtained in the evaluation study of the reference material according to the ISO Guide 35 demonstrated its homogeneity, due to the ANOVA analysis, which revealed that the observed F was less than the critical F of the table for a 95% confidence interval¹⁰, that is, $\alpha = 0.05$, with a *p-value* of 0.412 for arsenic and 0.723 for cadmium (Table 1). The results when applying Cochran’s test in the evaluation of both elements, it is observed that the calculated value is smaller than the critical value C ($C_{crit} = 0.638$): arsenic $C = 0.379$ and cadmium $C = 0.611$. Therefore, we maintain the null hypothesis of homogeneity of variance²⁵.

No outliers were detected in the study, based on this and the results of the variances and mean values, the RM proved to be sufficiently homogeneous for the intended purpose, to be used in proficiency testing. The RM homogeneity value for arsenic was 2.664 ± 0.035 mg/kg ($u_{hom}; k = 1$) and for cadmium it was 0.860 ± 0.019 mg/kg ($u_{hom}; k = 1$).

The results of the stability study showed that in the regression obtained (Table 2), the absolute value of the slope $|b_1|$ for both measurands is less than a standard deviation value of the linear regression slope for the value of the factor t with 95% of confidence, for degrees of freedom $n-2$, i.e. $|b_1| < [t_{0.95, n=2} \cdot s(b_1)]$, indicating that no instability was observed in the samples. The RM stability study demonstrated a shelf life of 250 days, 8 months.

In the characterization study, as seen, the greatest contribution to the overall pooled uncertainty came from the method characterization uncertainty for arsenic, while the contribution from the stability uncertainty was more significant for cadmium. For both arsenic and cadmium, the characterization results obtained by both laboratories (CCHEN and ISP) and their uncertainty are comparable to each other, as can be seen in Figure 1.

The obtained statistical results and evaluations prove that the reference material for elements in fish meal, resultant of the ISP and the CCHEN collaboration, is homogeneous, stable and traceable

to the SI, allowing the definition of reference values for arsenic 2.64 ± 0.42 mg/kg ($U; k = 2$), and for cadmium 0.86 ± 0.16 mg/kg ($U; k = 2$). The standard uncertainty of the reference material ($k = 1$) met the defined criteria to be used for the proficiency test ($u_{RM} < \hat{\sigma}$). The reference value for cadmium is below the regulated ML in marine bivalve molluscs (2 mg/kg), in the case of arsenic the reference value is above the range of MLs in food in Chile (0.1 to 0.5 mg/kg). Therefore, the reference material would satisfy the analytical requirements of the laboratories in terms of its concentration level, food matrix and metrology traceability. The results obtained demonstrated the suitability of the material to be used in a proficiency test.

The ISP organized a proficiency testing round in which 11 food testing laboratories participated, but only 10 reported values for arsenic. The median of the participating laboratories of 2.144 mg/kg and mean of 2.160 mg/kg for arsenic, are below the reference value of arsenic of 2.64 ± 0.42 mg/kg ($U; k = 2$), in the case of cadmium the value of the median of the participants 0.843 mg/kg and the mean of 0.846 mg/kg that are within the reference value for cadmium [0.86 ± 0.16 mg/kg ($U; k = 2$)]. The Horwitz standard deviation obtained for the proficiency test ($\hat{\sigma}$) was 0.141 mg/kg for cadmium and 0.365 mg/kg for arsenic. No outliers were detected in the participants' results when applying the Grubbs test in arsenic, however; in cadmium 3 outliers were detected.

The performance evaluation z-score is based on statistics from a normal distribution meaning that about 95% of the data points will be within plus or minus two target standard deviations ($\pm 2\hat{\sigma}$). If a participant's z-score is outside $|z\text{-score}| \geq 2$ there is a 1 in 20 chance that the result is in fact that your result is in fact an acceptable result from the end of the distribution. If a participant's z-score is outside $|z\text{-score}| \geq 3$, the probability that your result is actually acceptable is only 1 in 300²⁶.

The performance of the laboratories in the analysis of arsenic was 60% satisfactory ($|z\text{-score}| \leq 2$), 30% questionable and 10% unsatisfactory ($|z\text{-score}| \geq 3$). In the case of cadmium, 73% of the laboratories had a satisfactory evaluation however, 18% obtained a questionable score and 9% unsatisfactory. It is observed that for cadmium and for arsenic, only one laboratory has an unsatisfactory result. The proficiency test allowed evaluating the analytical performance of the fisher product control laboratories, and in this way, the laboratories were able to detect needs for improvement in their internal laboratory quality assurance system. The proficiency test organized with this RM provided the authorities with an independent and reliable tool to assess the competence of the national laboratories in charge of the control of fishery products.

CONCLUSION

The produced fish meal reference material met the requirements established in the ISO 17034 standard, allowing its subsequent certification. Also, the material demonstrated its adequacy by meeting the requirements established in the ISO/IEC 17043 standard, to be used in proficiency tests.

The results of the performance assessment revealed that only 60% of the laboratories obtained satisfactory results for arsenic and 73% for cadmium, which reveals that control processes in laboratories that conduct these determinations must be improved, as well as the need of the use of reference material and certified reference material in their validation processes. Intercomparison test allowed these laboratories to identify failings in their performance. According to ISO/IEC 17025 requirements standard, they should set corrective actions to improve their process.

Intercomparison tests are tools that allow to state and accreditation organizations to evaluate the performance of the authorized or accredited laboratories and this way request the necessary improvements so that their results are reliable and comparable for decision making.

The reference material RM Fishmeal Lot #12013 with reference values for arsenic 2.64 ± 0.42 mg/kg ($U; k = 2$), and for cadmium 0.86 ± 0.16 mg/kg ($U; k = 2$) allows to deliver a homogeneous, stable, and

traceable to SI reference material to laboratories, in order to be nationally used for proficiency testing and the validation of testing methods.

CONFLICT OF INTEREST

The Authors declare that there is no conflict of interest.

FUNDING

Not declared.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Pharmaceutical Chemistry Julieta de la Cruz and Biochemist Jaminton Ramirez for their collaboration in the elaboration of RM and in ICP-MS assay.

REFERENCES

1. Rosas CO, Rodrigues JM, de la Cruz MHC, Lopes SMR, Souto ASS, Brandão MLL et al. Microbiological reference material (bacterial and fungal domains): definition, production rules, use and need for establishment in Brazil. *Brazilian J Food Tech.* 2019;22:e2017208.
<https://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.20817>
2. Wieggers AL. The quality assurance of proficiency testing programs for animal disease diagnostic laboratories. *J Vet Diagn Invest.* 2004;16:255-63.
<https://dx.doi.org/10.1177/104063870401600401>
3. International Organization for Standardization (ISO). ISO 17034. General requirements for the competence of reference material producers. 1.ed. Geneva (Switzerland): ISO; 2016.
4. International Organization for Standardization (ISO). ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. 3.ed. Geneva (Switzerland): ISO; 2017.
5. Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT). Los sectores pesca y acuicultura en Chile, Capacidades de investigación y áreas de desarrollo científico-tecnológico. [Internet]. Santiago, Chile; 2007 Jun. [cited 2020 Nov 30]. Available from:
https://www.conicyt.cl/documentos/dri/ue/Pesca_Acuic_Fishery_Aquac_BD.pdf
6. Universidad de Chile. Encuesta Nacional de Consumo Alimentario: Informe final. [Internet]. Santiago, Chile: Facultad de Medicina – Centro de microdatos Facultad de economía y negocios, Universidad de Chile; 2011. [cited 2020 Nov 30]. Available from:
http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME_FINAL.pdf
7. Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). Decreto DTO N° 977, 6 of august of 1996. Aprueba Reglamento Sanitario de los Alimentos. Santiago, Chile, 13 may 1997. Title IV, Section I. Available from:
<https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=71271>
8. Codex Alimentarius Commission (CAC). General standard for contaminants and toxins in food and feed CXS 193-1995. Adopted in 1995 Revised in 2009. Amended in 2019. Annex II: 45-7. Available from:
http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf

9. Emons H, Held A, Ulberth F. Reference materials as crucial tools for quality assurance and control in food analysis. *Pure Appl Chem*. 2006;78(1):135-43.
<https://doi.org/10.1351/pac200678010135>
10. International Organization for Standardization (ISO). ISO Guide 35. Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. 4.ed. Geneva (Switzerland): ISO; 2017.
11. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Analysis of Foods for As, Cd, Cr, Hg and Pb by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS)-Current method CFSAN/ORS/DBC/CHCB. FDA Elemental Analysis Manual 2020; Section 4.7, p.2-25. [cited 2020 Nov 27]. Available from:
<https://www.fda.gov/media/87509/download>
12. Munoz L, Andonie O, Kohnenkamp I. Use of reference materials for validating analytical methods applied to the determination of As, Co, Na, Hg, Se and Fe using neutron activation analysis. Second Scientific Meeting of Chilean Nuclear Energy Commission; 2000; Santiago (Chile): Abstracts. p. 54.
13. Gras N, Munoz L, Thieck M, Hurtado S. A study on some trace elements in Chilean seafood. *J Radioanal Nucl Chem*. 1993;169(1):247-53.
<https://doi.org/10.1007/bf02046799>
14. Ronco AM, Gutierrez Y, Gras N, Muñoz L, Salazar G, Llanos MN. Lead and arsenic levels in women with different body mass composition. *Biol Trace Elem Res*. 2010;136:269-78.
<https://doi.org/10.1007/s12011-009-8546-z>
15. Scholz E. Karl Fischer Titration. Determination of Water. Chemical Laboratory Practice with Selected Applications. 1.ed. SpringerVerlag Berlin Heidelberg (NY): SpringerVerlag; 1984. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-69989-4>
16. Rivera J, Pérez M. Empleo del sistema potenciométrico Karl-Fischer en el desarrollo y la certificación de materiales de referencia. Simposio de Metrología of Centro Nacional de Metrología (CENAM); 2006; Querétaro (México). Abstracts. Available from:
<https://www.cenam.mx/memsimp06/Trabajos%20Aceptados%20para%20CD/Octubre%2025/Bloque%20A/A2-QUIMICA%20I-Materiales%20de%20Referencia/A2-3.pdf>
17. Mettler Toledo. Good Titration Practice in Karl Fischer Titration. GTP® Brochure. Schwerzenbach (Switzerland); 2011: p. 5-37. [cited 2020 Nov 27]. Available from:
<https://www.tennysonlab.org/wp-content/uploads/2019/08/msp-06-002-kfgtp.pdf>
18. Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) Joint Committee for Guides in Metrology. JCGM 100:2008. Evaluation of Measurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM 1995 with minor corrections). 1.ed. Paris: BIPM; 2008. p.8-27.
19. Rodrigues J, Guimarães E, Sousa M, Silva V, Fraga IC, Souza V et al. Certified reference material to water content determination in bioethanol fuel. *Quim Nova*. 2015;35(5):1011-5. [cited 2020 Nov 30]. Available from:
<http://www.scielo.br/pdf/qn/v35n5/a26v35n5.pdf>

20. Van der Veen A, Linsinger TP, Schimmel H, Lamberty A, Pauwels P. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 4. Characterisation and certification. *Accred Qual Assur.* 2001;6:290-4.
<https://doi.org/10.1007/PL00010459>
21. International Organization for Standardization (ISO). ISO/IEC 17043. Conformity assessment - General requirements for proficiency testing. 1.ed. Geneva (Switzerland): ISO; 2010.
22. International Organization for Standardization (ISO). ISO 13528. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. 1.ed. Geneva (Switzerland); 2005.
23. Cote I, Robouch P, Robouch B, Bisson D, Gamache P, LeBlanc A et al. Determination of the standard deviation for proficiency assessment from past participant's performances. *Accred Qual Assur.* 2012;17:389-93.
<https://doi.org/10.1007/s00769-012-0906-2>
24. Miller JN. Analytical Methods Committee. AMC Technical Briefs. AMCTB. Using the Grubbs and Cochran tests to identify outliers. *Anal Methods.* 2015;7(19):7948-50.
<https://dx.doi.org/10.1039/c5ay90053k>
25. Mair P, Von Eye A. Cochran's C Test. In: Brian S. Everitt & David C. Howell, Editors. *Encyclopedia of statistics in behavioral science.* Chichester: John Wiley & Sons; 2009. p.316-7.
26. Powell J, Owen L. Reliability of food measurements: the application of proficiency testing to GMO analysis. *Accred Qual Assur.* 2002;7:392-402.
<https://doi.org/10.1007/s00769-002-0519-2>





Isolamento e identificação microscópica de elementos histológicos vegetais: contribuições para o controle de qualidade e segurança dos alimentos

Isolation and microscopic identification of vegetable histological elements: contributions to quality control and food safety

Laís Fernanda de PAULI-YAMADA^{1*} , Márcia Nogueira DIMOV¹ , Augusta Mendes da SILVA¹ , Regina Sorrentino Minazzi RODRIGUES² , Maria Aparecida Moraes MARCIANO¹ 

¹ Núcleo de Morfologia e Microscopia, Centro de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

² Centro de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

A microscopia alimentar atua no controle da qualidade e identidade dos alimentos utilizando recursos microscópicos para a identificação de elementos histológicos vegetais e de matérias estranhas. O objetivo do estudo foi apresentar as principais contribuições da análise microscópica de isolamento e identificação de elementos histológicos vegetais na vigilância dos alimentos analisados no Instituto Adolfo Lutz Central (IAL), de 2016 a 2020. Os dados das análises realizadas no período do estudo foram tabulados para categorização e avaliação dos resultados. Foram analisadas 4.189 amostras de alimentos e água, sendo 1.096 para pesquisa e identificação de elementos histológicos vegetais, com maior demanda para as análises de controle. As categorias de alimentos mais analisadas foram as misturas para o preparo de alimentos e alimentos prontos para consumo; café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis; e os suplementos alimentares. Dentre as amostras analisadas, 5% não estavam de acordo com a rotulagem, principalmente devido à adição de ingrediente, com destaque para os açúcares e produtos para adoçar; as especiarias, temperos, molhos; e os suplementos alimentares. Por meio da análise microscópica foram verificadas adulterações em diversas categorias de produtos, demonstrando a sua contribuição às ações de vigilância na prevenção de fraudes e na segurança dos alimentos.

Palavras-chave. Microscopia, Vigilância, Segurança dos Alimentos, Qualidade dos Alimentos, Fraude.

ABSTRACT

Food microscopy acts to control the quality and identity of foods using microscopic resources to identify vegetable histological elements and foreign matter. The aim of the study was to present the main contributions from microscopic analysis on isolation and identification of vegetable histological elements in the surveillance of foods analyzed at the Instituto Adolfo Lutz Central (IAL) from 2016 to 2020. Data from the analysis performed during the studied period were tabulated for categorization and further evaluation. Altogether, 4.189 food and water samples were analyzed and 1.096 samples underwent research and identification of vegetable histological elements, with greater demand for the control analysis. The most analyzed food categories were mixtures for food preparation and ready-to-eat foods; coffee, barley, tea, yerba mate and soluble products; and food supplements. Among the analyzed samples, 5% were not in accordance with the labeling, mainly due to the addition of an ingredient, especially sugars and sweetening products; spices, seasonings, sauces; and food supplements. Through microscopic analysis, adulterations were found in several categories of products, demonstrating its relevance to surveillance actions in fraud prevention and food safety.

Keywords. Microscopy, Surveillance, Food Safety, Food Quality, Fraud.

* Autor de correspondência/Corresponding author: lais.yamada@ial.sp.gov.br

Recebido/Received: 08.07.2021 - Aceito/Accepted: 13.12.2021

INTRODUÇÃO

A microscopia alimentar é uma área do conhecimento que contribui com o controle da qualidade e da identidade dos produtos alimentícios, além de auxiliar na elucidação de surtos epidêmicos de doenças de transmissão alimentar e hídrica. A identidade dos produtos alimentícios é verificada por meio da pesquisa e identificação dos elementos histológicos vegetais, e a qualidade sanitária é analisada pela pesquisa de matérias estranhas. No contexto da saúde pública torna-se uma ferramenta importante para as ações de vigilância e controle sanitário dos alimentos, visando à proteção da população^{1,2}.

A pesquisa e identificação microscópica de elementos histológicos vegetais em alimentos é uma análise qualitativa, que possibilita a confirmação dos ingredientes do produto, em comparação com as informações declaradas pelo fabricante. Este procedimento permite evidenciar adulterações ou fraudes, por adição ou substituição de ingredientes, capazes de promover prejuízos financeiros e até mesmo danos à saúde do consumidor^{1,2}. Estudos de análise microscópica em diferentes matrizes alimentares como pimenta-do-reino moída³, chocolate⁴, condimentos⁵, doce de amendoim e de abóbora⁶, cúrcuma e noz-moscada⁷, páprica⁸, açúcar de coco⁹, café¹⁰, entre outros, têm demonstrado a aplicação dessa metodologia na detecção de fraudes.

Baseada em estudos sobre a morfologia dos tecidos vegetais característicos dos alimentos¹¹⁻¹³ ou por comparação com padrões, a identificação microscópica dos elementos histológicos vegetais é uma atividade que exige um longo período de treinamento e experiência do analista. Para a execução dessa análise é necessário um tratamento prévio dos produtos alimentícios, com técnicas que incluem principalmente diluição em água, desengorduramento ou hidrólise alcalina, a fim de possibilitar o isolamento dos elementos histológicos para a identificação¹⁴. Com a globalização, novos produtos surgem a cada dia, advindos das diversas regiões do mundo, tornando o processo de identificação de elementos histológicos vegetais um tanto desafiador, tendo em vista a escassez de estudos atuais sobre a identidade vegetal de diversos alimentos e a dificuldade na aquisição de padrões para comparação.

No Brasil, a referência para a avaliação da conformidade dos alimentos quanto à sua identidade é, principalmente, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 259 de 20 de setembro de 2002¹⁵, que regulamenta a rotulagem de alimentos embalados e determina que esta deva apresentar, obrigatoriamente, entre outras informações, a denominação de venda do alimento e/ou a lista de ingredientes. Os alimentos com um único ingrediente devem apresentar a denominação de venda de acordo com o seu Regulamento Técnico Específico, e os produtos mistos devem conter no rótulo uma lista de ingredientes, em ordem decrescente da respectiva proporção. As definições de alimentos estabelecidas nos Regulamentos Técnicos Específicos também são utilizadas como referência para a avaliação da identidade dos produtos.

Adicionalmente, o Código de Defesa do Consumidor, Lei nº 8078, de 11 de setembro de 1990¹⁶, que estabelece normas de proteção e defesa do consumidor, de ordem pública e interesse social, é aplicado em diversos parâmetros das análises de alimentos, pois determina, em seu Artigo 31, que a oferta e apresentação de produtos ou serviços devem assegurar informações corretas, claras e precisas sobre suas características, qualidade, quantidade, composição, entre outros dados, bem como sobre os riscos que apresentam à saúde e segurança dos consumidores.

Como Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN), referência no estado de São Paulo, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) atua na avaliação da qualidade e segurança dos produtos e serviços disponibilizados à população, com prioridade ao atendimento às demandas do Sistema de Vigilância. De acordo com a motivação da análise e, visando atender a legislação sanitária, o IAL, realiza três modalidades de análise em alimentos e água: Fiscal, Controle e Orientação¹⁷. A análise Fiscal é realizada em amostras colhidas exclusivamente pelas unidades de Vigilância Sanitária, para verificar a sua conformidade com a legislação. A análise de Controle, também efetuada em amostras colhidas

pela Vigilância Sanitária, visa comprovar a sua conformidade com o respectivo padrão de identidade e qualidade, após o registro no Ministério da Saúde para os alimentos com registro obrigatório; após comunicação de início da fabricação de alimentos dispensados de registro; ou na liberação de lotes de alimentos importados. A modalidade de Orientação não está prevista na legislação sanitária, porém é utilizada em situações especiais como investigação de surto, programas de monitoramento, além das demandas de outros órgãos públicos, pessoas físicas ou jurídicas^{17,18}.

Este trabalho objetivou apresentar as principais contribuições da análise microscópica de isolamento e identificação de elementos histológicos vegetais na vigilância dos alimentos analisados no Instituto Adolfo Lutz Central, no período de 2016 a 2020, com vistas no controle de qualidade e segurança dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma compilação dos resultados de análises de Pesquisa e identificação de elementos histológicos vegetais no Sistema de Gerenciamento de Amostras Laboratoriais Harpya®, realizados no Núcleo de Morfologia e Microscopia do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central de São Paulo, entre outubro de 2016 a dezembro de 2020. Os dados das análises foram tabulados em planilhas no programa Microsoft Excel® 2010 para quantificação e categorização das amostras, agrupamento dos dados por tipo de análise e conclusão dos laudos analíticos.

As amostras analisadas para este ensaio foram preparadas segundo os métodos de análise microscópica de alimentos descritos por Rodrigues et al¹⁴, de acordo com a composição de cada produto e os não contemplados por estes métodos foram preparados por similaridade com a matriz principal, definida conforme o primeiro item relacionado na lista de ingredientes. A identificação dos elementos histológicos vegetais foi realizada em microscópio óptico de campo claro, conforme referências de identificação disponíveis na literatura científica¹¹⁻¹³ e com auxílio de padrões para comparação, em aumentos de 10X a 40X.

RESULTADOS

De outubro de 2016 a dezembro de 2020 foram realizadas no Instituto Adolfo Lutz Central, 4.189 análises microscópicas de alimentos e água, sendo que 1.096 amostras incluíram o ensaio de “Pesquisa e identificação de elementos histológicos”, correspondendo a 26% do total de análises microscópicas realizadas.

A frequência de análises de Pesquisa e identificação de elementos histológicos, de acordo com a modalidade de análise, está apresentada na **Tabela 1** e indica que a maior demanda do período derivou de análises na modalidade Controle.

Tabela 1. Frequência de realização do ensaio de pesquisa e identificação de elementos histológicos, de 2016 a 2020, no IAL/SP, de acordo com a modalidade de análise

Modalidades de análise	n	%
Controle	716	65
Fiscal	214	20
Orientação	166	15
Total	1.096	100

Das 1.096 amostras analisadas, 95% (1.043) obtiveram resultados satisfatórios para este ensaio, enquanto 5% (53) foram insatisfatórias. Dentre as amostras insatisfatórias, 21 eram análises de Controle,

16 análise Fiscal e 16 análise de Orientação. Os produtos analisados foram distribuídos em 20 categorias de alimentos (**Tabela 2**), de acordo com o disposto na RDC ANVISA nº 240/2018¹⁹.

Tabela 2. Categorização e conformidade das amostras analisadas para Pesquisa e identificação de elementos histológicos, no período de 2016 a 2020, no IAL/SP

Categoria	Amostras		
	Satisfatórias	Insatisfatórias	Total
Açúcares e produtos para adoçar	4	10	14
Aditivos alimentares	3	0	3
Adoçantes dietéticos	4	0	4
Alimentos para dietas com restrição de nutrientes	5	0	5
Balas, bombons e gomas de mascar	34	1	35
Café, cevada, chá, erva mate e produtos solúveis	201	4	205
Chocolate e produtos de cacau	86	1	87
Coadjuvantes de tecnologia	4	0	4
Especiarias, temperos e molhos	76	12	88
Gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis	52	0	52
Mistura para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo	241	6	247
Óleos e gorduras vegetais e creme vegetal	26	0	26
Produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos	72	3	75
Produtos proteicos de origem vegetal	6	1	7
Produtos vegetais (exceto palmito), produtos de frutas e cogumelos comestíveis	27	2	29
Vegetais em conserva (palmito)	3	0	3
Sal	14	0	14
Suplementos alimentares	125	11	136
Alimentos com alegações de propriedade funcional ou de saúde	57	2	59
Fórmulas para nutrição enteral	3	0	3

As categorias de produtos que se destacaram pelo quantitativo de amostras analisadas foram: mistura para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo (23%); café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis (19%); e os suplementos alimentares (12%). As categorias de açúcares e produtos para adoçar, especiarias, temperos e molhos e suplementos alimentares destacaram-se por apresentar maior número de amostras insatisfatórias.

Entre as 53 amostras insatisfatórias em relação às informações declaradas no rótulo, ocorreu adição de ingrediente em 50 e, em 3, o componente declarado não foi detectado. A **Figura 1** apresenta os principais ingredientes adicionados aos produtos, sendo o amido de milho o mais ocorrente, seguido de elementos histológicos de vegetal não identificado, termo utilizado quando o elemento histológico detectado não é próprio do produto analisado e não apresentou características que permitissem seu reconhecimento e identificação microscópica.

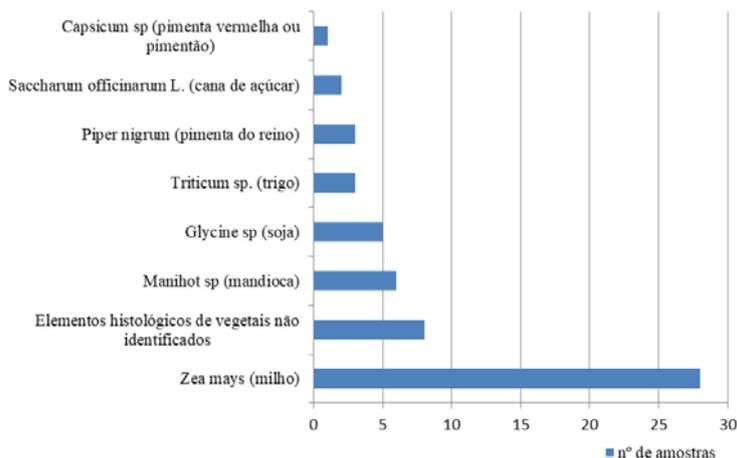


Figura 1. Principais ingredientes não declarados adicionados a produtos alimentícios analisados no Instituto Adolfo Lutz entre 2016 e 2020

Na categoria de açúcares e produtos para adoçar ($n = 14$), as amostras consideradas insatisfatórias representaram 71% das amostras analisadas. Nesta categoria, enquadraram-se 8 amostras de mel, todas insatisfatórias, 2 por apresentarem elementos histológicos de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), amido de *Zea mays* (milho) e elementos histológicos de vegetais não identificados e 6 por conterem amido de *Zea mays* (milho) e não apresentarem grãos de pólen. Das amostras analisadas de açúcar de coco, 2 foram insatisfatórias por apresentarem elementos histológicos de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar).

Na categoria de especiarias, temperos e molhos ($n = 88$), 14% foram insatisfatórias, sendo a maioria amostras de páprica (9/12). Os principais ingredientes adicionados nesses produtos foram o amido de *Zea mays* (milho) e urucum (*Bixa orellana*).

Dos suplementos alimentares analisados ($n = 136$), 8% tiveram resultados insatisfatórios devido à adição de amido, principalmente de *Zea mays* (milho) e de *Manihot* sp. (mandioca). A adição conjunta de *Triticum* sp. (trigo), *Zea mays* (milho), *Glycine* sp. (soja) e substância amilífera alterada foi observada em 3 amostras.

Além dos produtos acima citados, outras amostras insatisfatórias destacaram-se pela adição de ingrediente não declarado, como: farinha de mandioca contendo arroz triturado; macarrão instantâneo com pimenta-do-reino e fécula de batata; molho de tomate com orégano; pó para o preparo de gelatina com amido de mandioca; molho barbecue, achocolatado em pó e creme de avelã com amido de milho; condimento preparado contendo soja; e café torrado e moído com cascas e paus. A **Figura 2** apresenta detalhes microscópicos de ingredientes adicionados às amostras.

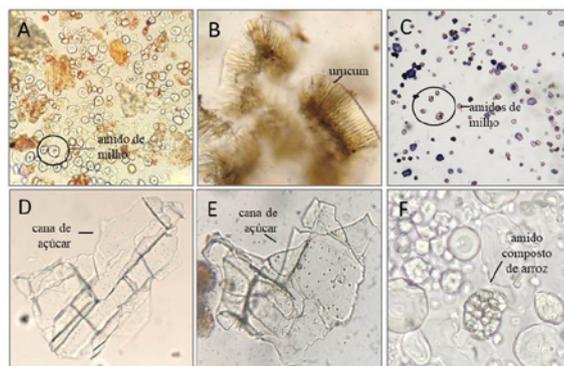


Figura 2. Detalhe microscópico dos elementos histológicos detectados em amostras insatisfatórias por adição de ingrediente não declarado no rótulo: (A) amidos de milho e (B) fragmentos da camada paliádica do urucum em páprica; (C) amidos de milho (corados com lugol) e (D) células parenquimáticas de reserva da cana-de-açúcar em mel; (E) células parenquimáticas de reserva da cana-de-açúcar em açúcar de coco e (F) amido de arroz em farinha de mandioca

Entre os produtos alimentícios insatisfatórios por não apresentarem ingredientes declarados na lista estão: suplemento alimentar de amora sem a presença de elementos histológicos característicos da fruta; bombom de chocolate com recheio de morango sem a presença de elementos histológicos de morango; e suplemento alimentar de café verde com vitaminas e cromo, sem elementos histológicos de café.

DISCUSSÃO

Dentre as análises microscópicas de alimentos realizadas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, a expressiva demanda voltada à pesquisa e identificação de elementos histológicos indica que este ensaio tem considerável relevância nas análises oficiais, contribuindo para as ações de vigilância dos alimentos, principalmente nos aspectos de fraudes. A maior frequência encontrada para as análises na modalidade Controle (**Tabela 1**), em relação às análises Fiscal e de Orientação, evidencia uma prática regular, com o objetivo de assegurar a qualidade dos produtos comercializados no estado tão logo se inicie a comercialização do produto. Trata-se de um tipo de análise efetuada quando da comercialização, com a obrigatoriedade de comunicação à autoridade sanitária, que serve para comprovar a sua conformidade com o respectivo padrão de identidade e qualidade, aprovadas no ato do registro²⁰⁻²². Determinadas análises Fiscal e de Orientação originaram-se de denúncias do consumidor às Vigilâncias Sanitárias, Secretaria de Segurança Pública ou ao Poder Judiciário, devido à suspeita de fraude. Embora tenham sido detectadas adulterações em alguns desses alimentos, os percentuais de amostras insatisfatórias foram pouco variáveis em relação às diferentes modalidades de análise, indicando que esses fatores não apresentam associação entre si.

Os resultados das análises microscópicas para pesquisa e identificação de elementos histológicos demonstraram que, na maioria dos produtos, as condições foram consideradas satisfatórias em relação à legislação pertinente, por não terem sido detectadas divergências entre o resultado analítico e as informações declaradas na lista de ingredientes do rótulo. Destacaram-se as categorias: mistura para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo; e café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis; que apresentaram os maiores percentuais de categorias de produtos analisados, 19 e 23%, respectivamente, e baixo percentual de amostras insatisfatórias (2% para ambas). No entanto, foram detectadas adulterações em alguns alimentos, sendo a adição de componente não declarado na lista de ingredientes a causa mais frequente de resultados insatisfatórios, indicando inconformidade em relação à legislação de rotulagem¹⁵, aos regulamentos Técnicos específicos e ao Código de Defesa do Consumidor¹⁶, neste caso, por falta de clareza e precisão nas informações quanto à composição do produto.

A presença de ingredientes não declarados no rótulo pode ocorrer até mesmo sem o conhecimento do fabricante do produto, devido à associação com outros ingredientes como aditivos alimentares (aromas, corantes, espessantes) e coadjuvantes de tecnologia de fabricação que podem conter amidos como veículos, ou através de contaminações cruzadas, decorrentes de falhas nas Boas Práticas de Fabricação. Por outro lado, a adição de ingredientes não declarados ou a substituição por outro de menor valor e qualidade pode ser intencional, com a finalidade de adulteração do alimento para ganho econômico²³⁻²⁵. Um levantamento sobre fraudes com motivações econômicas realizado no Brasil por Tibola et al²⁶ entre 2007 e 2017, indicou como principais alimentos sujeitos as adulterações, o leite, produtos lácteos, óleos vegetais, peixes e frutos do mar, principalmente por substituição, destacando também a ocorrência de fraudes em café e chás por adição de ingredientes estranhos ao produto.

A maioria das adulterações e fraudes em alimentos foram detectadas por meio da identificação dos seus constituintes químicos²⁶, poucos foram identificados por análise microscópica, como os destacados nesse estudo. As causas para a escassez de estudos de microscopia nessa área podem estar associadas a aspectos tecnológicos dos alimentos, como filtração, extração ou aquecimento extremo, que podem alterar os elementos histológicos e comprometer a identificação microscópica. Outra questão relevante é que, embora seja uma técnica acessível e de baixo custo em comparação a métodos mais sofisticados, há uma carência de profissionais com prática em técnicas microscópicas voltadas ao reconhecimento dos

tecidos vegetais, imprescindível para um diagnóstico adequado. A fim de verificar a eficácia da análise microscópica na detecção e identificação de amidos em amostras de biscoitos, Santos et al²⁷ realizaram uma comparação com métodos imunoenzimático e molecular, e demonstrou uma boa concordância e sensibilidade do método na detecção do amido de trigo, além da identificação de amidos não declarados na lista de ingredientes em todos os produtos analisados.

A literatura científica demonstra que diferentes matrizes alimentares foram objeto de estudos sobre avaliação microscópica de sua identidade, resultando na detecção de ingredientes não declarados por contaminação incidental ou fraude intencional, como: amido de milho e soja em chocolate em pó e em tablete⁴; farinha de trigo em açúcar; cascas e paus de café e soja em amostras de café¹⁰; farinha de trigo em doces de amendoim; batata-doce em doces de abóbora⁶; entre outras adulterações.

As fraudes e adulterações podem representar uma ameaça à segurança dos alimentos, pois alteram o desempenho nutricional dos produtos²⁵ e além disso, determinadas adulterações podem promover danos à saúde do consumidor. As amostras de açúcar de coco do presente estudo, da categoria de açúcares e produtos para adoçar, contendo elementos histológicos de cana-de-açúcar, são um exemplo de adulteração com possibilidade de promoção de danos à saúde, pois se trata de um produto natural, extraído da seiva de inflorescências de palmeiras, com alegações nutricionais de apresentar menor índice glicêmico em relação ao açúcar de cana^{28,29}, e por esse motivo vem sendo indicado para pessoas diabéticas. Pauli-Yamada et al⁹ detectaram nesse produto, além da cana-de-açúcar, amidos compatíveis com os de trigo, o que pode ser considerada uma adulteração ainda mais importante, uma vez que o trigo é um cereal que contém glúten em sua composição, e essa proteína é prejudicial à saúde de pessoas com doença celíaca. Como agravante, diversas amostras do estudo apresentaram a informação de ausência de glúten em seu rótulo. Da mesma forma, Wrage et al²⁹ relataram a detecção de amidos característicos do trigo em amostras de açúcar de coco e confirmaram a presença de glúten por meio de ensaio imunoenzimático.

O mel é outro produto alimentício utilizado para adoçar, de importante valor nutritivo, destacado neste estudo devido às amostras insatisfatórias por ausência de grãos de pólen e adição de cana-de-açúcar e de amido de milho. Segundo a Instrução Normativa nº 11 de 20/10/2000³⁰, é produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores, das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, que ficam sobre partes vivas de plantas que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia³⁰. Segundo esta norma, o mel deve, necessariamente, apresentar grãos de pólen, sendo estes o padrão microscópico utilizado para o ensaio de Pesquisa e Identificação de elementos histológicos de mel. A ausência de grãos de pólen e a presença de elementos histológicos de vegetais são indicativas de fraude no mel, porém a presença de grãos de pólen não exclui a possibilidade de fraude por adição de outro ingrediente concomitantemente. É comum a ocorrência de adulterações e fraudes em mel por adição de outras fontes de carboidratos como xarope de açúcar, substâncias com elevado teor de sacarose, glicose comercial, entre outras, detectadas principalmente por métodos químicos³¹⁻³³, para fins de diluição do produto, ou até mesmo substituição total. Segundo revisão realizada por Moore et al³⁴, o mel está entre os 5 produtos mais adulterados no mundo, ocupando o 3º lugar no ranking.

Na categoria das especiarias, temperos e molhos sobressaíram-se como produtos adulterados diversas amostras de páprica contendo amido de milho e urucum, em vez de conterem exclusivamente páprica (pimentão-vermelho moído), sugerindo uma fraude intencional, já que páprica é um produto de maior valor econômico em relação ao colorífico, que é a combinação de amido de milho e urucum. Outros autores, em estudos nacionais, detectaram fraudes em condimentos ou especiarias por identificação microscópica, e indicaram o amido de milho como o principal ingrediente adicionado, semelhante aos resultados do presente estudo: Pauli-Yamada et al⁸ evidenciaram fraude em 30% das pápricas analisadas principalmente por adição de amido de milho, além de urucum, pimenta-do-reino e cúrcuma; Rodrigues

et al⁷ detectaram a adição de amido de milho em cúrcuma, urucum e noz-moscada; Zamboni et al⁵ identificaram amido de milho em canela, cominho, cravo e erva-doce, além de outros ingredientes e pedúnculos ou partes da planta de origem, com maior porcentagem de fraudes aos condimentos moídos; e Silveira et al³, verificaram a presença de amidos ou farinha de milho, trigo, mandioca, pedúnculos de pimenta-do-reino e areia em amostras de pimenta-do-reino moída.

Os suplementos alimentares são produtos apresentados em formas farmacêuticas, destinados a suplementar a alimentação de indivíduos saudáveis com nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos, isolados ou combinados³⁵. Embora tenham apresentado um percentual de amostras insatisfatórias inferior a 10%, as principais adulterações detectadas nesses produtos se referem à adição de amidos, principalmente de milho ou de mandioca, não declarados na lista de ingredientes da rotulagem. Corroborando com esses resultados, Silva et al³⁶ analisaram 58 amostras de suplementos vitamínicos e minerais e 76 amostras de alimentos para atletas e detectaram a presença de amido de milho em 5 e 3% delas, respectivamente. Entre os alimentos para atletas, 1% apresentou amido de mandioca e em 1% não foi encontrada a presença de ingrediente declarado no rótulo (soja). Segundo o anexo I da IN nº 76/2020³⁷, atualmente os amidos de milho resistentes, que se comportam como fibra por serem mais estáveis frente as enzimas digestivas³⁸, compõem a lista de constituintes autorizados para uso em suplementos alimentares, desde que declarados na rotulagem. A ausência dessa declaração torna o produto insatisfatório e pode caracterizar fraude por adição de ingrediente de menor valor econômico.

O crescente consumo de suplementos para fins nutricionais torna necessária a fiscalização para verificação de sua conformidade quanto às informações declaradas no rótulo, tanto em relação à lista de ingredientes quanto à sua composição nutricional, uma vez que a adição ou ausência de ingredientes pode comprometer os níveis de nutrientes esperados. Há estudos indicando a falta de compatibilidade de diversos suplementos com as informações descritas no rótulo, como demonstrado por Genovese et al³⁹, em estudo sobre suplementos alimentares a base de soja, que verificaram conteúdos totais de isoflavonas em desacordo com o apresentado nos rótulos/embalagens em todos os produtos analisados, e Crivelin et al⁴⁰, que analisaram diversas marcas de suplementos e verificaram que a maior parte continha as quantidades de nutrientes descritas no rótulo, porém algumas amostras apresentaram divergências nas concentrações dos nutrientes em relação aos limites de variação permitidos.

Além das principais categorias de produtos adulterados supracitadas, destacaram-se também outros produtos aos quais os consumidores evidenciaram alterações significativas ou suspeitaram de fraudes e efetivaram denúncias às autoridades sanitárias. Foi o caso de um suplemento alimentar a base de amora, em que o consumidor alegou não ter obtido os benefícios esperados do produto e a análise microscópica confirmou a ausência de elementos histológicos da fruta e a presença em grande quantidade de amido de milho. O mesmo ocorreu com amostras de farinha de mandioca, onde consumidores perceberam alterações de aparência, textura e sabor, e a análise microscópica confirmou a fraude com a detecção de elementos histológicos de arroz. Neste caso os resultados auxiliaram a Vigilância na investigação de fraude intencional, realizada por meio da adição de arroz cru e deteriorado, destinado ao descarte, sendo utilizado para aumentar o volume do produto.

Os resultados do presente estudo evidenciam a contribuição da pesquisa e identificação microscópica de elementos histológicos vegetais na detecção de adulterações e fraudes em diversos alimentos, por meio de uma metodologia acessível e eficiente, com o potencial de ser ainda mais explorada, inclusive em associação com outros métodos.

CONCLUSÃO

A análise microscópica para pesquisa e identificação de elementos histológicos vegetais contribuiu para a detecção de adulterações em diversas categorias de produtos, destacando-se os açúcares e produtos para adoçar; especiarias, temperos e molhos; e suplementos alimentares, principalmente por adição de ingrediente não declarado no rótulo.

As adulterações apontadas ressaltam a importância da atuação dos Laboratórios de Saúde Pública na prevenção de fraudes em alimentos, de forma a assegurar a sua autenticidade e qualidade, zelando pela saúde e segurança dos consumidores.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Antonio Roberto de Souza Ferreira, técnico de apoio à pesquisa do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz Central, pelos registros fotográficos realizados; à Sandra Zoraide Obando Ayad, Hilberto Matosalém de Souza e Leovil Loreno Lira da Silva pelo apoio técnico na execução dos ensaios analíticos; e à Dra. Adriana Hissae Hayashi, pesquisadora científica do Núcleo de Conservação da Biodiversidade do Instituto de Pesquisas Ambientais, pelo auxílio com a anatomia dos vegetais.

REFERÊNCIAS

1. Rodrigues RMM, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Penteadó MVC. Vigilância sanitária. Tópicos sobre legislação e análise de alimentos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2015. p.55-61.
2. Mattos EC, Marciano MAM, Nogueira MD, Soares JS, Silva AM. Avaliação microscópica de alimentos: fundamentos e aplicações no controle de qualidade. In: Granato D, Nunes DS. Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016. p.481-99.
3. Silveira NVV, Zamboni CQ, Takahashi MY. Fraudes da pimenta-do-reino preta (*Piper nigrum*) moída. Rev Inst Adolfo Lutz. 1983;43(1/2):69-79. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/36809>
4. Zamboni CQ, Alves HI, Rodrigues RMMS, Spiteri N, Atuí MB, Batistic MA. Sujidades e fraudes em chocolates. Rev Inst Adolfo Lutz. 1988;48(1/2):37-41. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/36904>
5. Zamboni CQ, Alves HI, Rodrigues RMMS, Spiteri N, Atuí MB, Santos MC. Fraudes e sujidades em condimentos comercializados na cidade de São Paulo. Rev Inst Adolfo Lutz. 1991;51(1/2):19-22. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/35188>
6. Marques CA, Nascimento XP, França LB, Freitas ACL, Rocha LS, Nery IA. Análise microscópica em amostras de doces comercializados no estado do Rio de Janeiro. Rev Eletron Perspect Cienc Tecnol. 2016;8(2):29-35. Disponível em: <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/revistapct/article/view/691/471>

7. Rodrigues ML, Aquino CI, Iha MH, Prado SPT. Pesquisa de matérias estranhas e adulterações em cúrcuma e noz-moscada comercializadas no estado de São Paulo. 7º Simpósio de segurança alimentar; outubro de 2020; online: Anais [Trabalho 328]. Disponível em: http://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3_328.pdf
8. Pauli-Yamada LF, Aquino CI, Silva AM, Marciano MAM, Mattos EC, Nogueira MD. Estudo microscópico de páprica (*Capsicum annuum* L.): detecção de fraudes e matérias estranhas. Vigil. Sanit. Debate. 2021;9(1):123-8. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.01431>
9. Pauli-Yamada LF, Aquino CI, Marciano MAM, Silva AM, Dimov MN. Parâmetros microscópicos de augar de coco comercializados na cidade de São Paulo, Brasil: identidade e qualidade. Rev Inst Adolfo Lutz. 2020;79:e1791. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/36025>
10. Daros VSMG, Prado SPT, Martini MH, Graciano RAS, Stancari RCA, Gonzaga ZM et al. Alimentos embalados que compoem as cestas básicas: avaliação microscópica e da rotulagem. Rev Inst Adolfo Lutz. 2010;69(4):525-30. <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32611>
11. Menezes Junior JBF. Investigações sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. Rev Inst Adolfo Lutz. 1949;9(1-2):18-77. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33185>
12. Menezes Junior JBF. A estrutura microscópica de sementes oleaginosas comestíveis. Rev Inst Adolfo Lutz. 1958;18(1-2):5-44. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33316>
13. Winton AI, Winton KB. The structure and composition of foods. London (UK): Wiley; 1932.
14. Rodrigues MMS, At MB, Correia M. Métodos de análise microscópica de alimentos: isolamento de elementos histológicos. São Paulo (SP): Letras & Letras; 1999.
15. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 set 2002. Seção 1(184):33-4.
16. Brasil. Atos do Poder Legislativo. Lei n 8.078, de 11 de novembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 12 set 1990. Seção 1 (176-Supl.):1-12.
17. Instituto Adolfo Lutz – IAL. Ensaios – Produtos e serviços. [acesso 2021 Mar 25]. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/ensaios-produtos-e-servicos>
18. Coordenadoria de Controle de Doenças. (SP). Portaria Conjunta CVS-IAL n 9, de 12 de novembro de 2004. Aprova o manual de procedimentos operacionais padronizados para análise fiscal de produtos da área de alimentos. Diário Oficial do Estado. São Paulo, SP, 17 mar 2005. Seção 1(115):25-31.

19. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 240, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 27 jul 2018. Seção 1(144):96.
20. Brasil. Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 21 out 1969. Seção 1:8935. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/Del0986.htm
21. Ministério da Saúde (BR). Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Análise de Controle. [acesso 2021 Mar 25]. Disponível em: <https://www.incqs.fiocruz.br/images/stories/incqs/legislacao/3CONTROLE.pdf>
22. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 23, de 15 de março de 2000. Dispõe sobre o Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 16 mar 2000. Seção 1(52):125-31. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/diarios/1084609/pg-125-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-16-03-2000>
23. Johnson R. Food fraud and economically motivated adulteration of food and food ingredients. Congressional Research Service; 2014. [acesso 2020 Mar 2]. Disponível em: http://www.fredsakademiet.dk/ORDBOG/lord/food_fraud.pdf
24. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Trade Organization (WTO). Trade and food standards; 2017. Disponível em: https://www.wto.org/english/res_e/booksp_e/tradefoodfao17_e.pdf
25. Spink J, Moyer DC. Defining the public health threat of food fraud. J Food Sci. 2011;76(9):157-63. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x>
26. Tibola CS, Silva SA, Dossa AA, Patrício DI. Economically motivated food fraud and adulteration in Brazil: incidents and alternatives to minimize occurrence. J Food Sci. 2018;83(8):2028-38. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14279>
27. Santos JMD, Pires BAD, Marin VA, Godoi BKB, Luiz RA, Morais CMQDJ et al. Proposta de método de triagem por microscopia na pesquisa de amido em alimentos industrializados rotulados como “não contém glúten e contém glúten”. Rev Analytica. 2017;15(88):16-30. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18991>
28. Saputro AD, Van de Walle D, Dewettinck K. Palm sap sugar: a review. Sugar Tech. 2019;21(6):862-7. <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00743-8>
29. Wrage J, Burmester S, Kuballa J, Rohn S. Coconut sugar (*Cocos nucifera* L.): Production process; chemical characterization, and sensory properties. LWT - Food Sci Technol. 2019;112:108227. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.125>
30. Ministério da Agricultura e Abastecimento (BR). Instrução Normativa (IN) nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 out 2000. Seção 1(204):160-1[versão online].

31. Cano CB, Zamboni CQ, Alves HI, Spiteri N, Atuí MB, Santos MC et al. Mel: fraudes e condições sanitárias. Rev Inst Adolfo Lutz. 1992;52(1/2):1-4.
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/35956>
32. Richter W, Jansen C, Venzke TSL, Mendonça CRB, Borges CD. Physical-chemical quality evaluation of honey produced in the municipality of Pelotas/RS. Aliment Nutr. 2011;22(4):547-54. Disponível em:
<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1586/1166>
33. Martins VC, Aquino GAS, Marques CA, Torres JC. Avaliação da qualidade de méis comercializados no município de São João de Meriti, RJ. Rev Eletron Perspect Cienc Tecnol. 2014;6(1-2):14-21. Disponível em:
<https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/revistapct/article/view/415>
34. Moore JC, Spink J, Lipp M. Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. J Food Sci. 2012;77(4):118-26.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02657.x>
35. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 243 de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 27 jul 2018. Seção 1(144):100-1.
36. Silva AM, Pauli LF, Dimov MN, Aquino CI, Soares JS, Marciano MAM. Pesquisa de matérias estranhas e fraudes em suplementos vitamínico e minerais e alimentos para atletas. XXI Congresso Brasileiro de Nutrologia; setembro de 2017; São Paulo: Int. J Nutr. p.428-9 [trab. 651].
37. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa IN nº 76, de 5 de novembro de 2020. Dispõe sobre a atualização das listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 11 nov 2020. Seção 1(215):75-7.
38. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur J Clin Nutr. 1992;46(Suppl 2):533-50. Disponível em:
<https://europepmc.org/article/med/1330528>
39. Genovese MI, Pinto MS, Barbosa ACL, Lajolo FM. Avaliação do teor de isoflavonas de “suplementos nutricionais à base de soja”. Rev Bras Cienc Farm. 2003;39(2):159-67.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322003000200006>
40. Crivelin VX, Chaves RRS, Pacheco MTB, Capitani CD. Suplementos alimentares: perfil do consumidor e composição química. Rev Bras Nutr Esportiva. 2018;12(69):30-6. Disponível em:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6306088>





Veracidade da rotulagem quanto a presença de amido baseado em um teste laboratorial em iogurtes nacionais comercializados no sul de Santa Catarina

Veracity of labeling as the presence of starch based on a laboratory test in national yogurts commercialized in southern Santa Catarina

Ricardo FERREIRA NETO^{1*} , Andriele Aparecida da Silva VIEIRA¹ 

¹ Laboratório de Bromatologia, Grupo de Pesquisa de Inovação Alimentar, Pesquisa e Tecnologia, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC, Brasil.

RESUMO

Com o crescimento diário do número de consumidores em nível mundial, a indústria alimentícia se caracteriza como um ramo em ascensão contínua. Como consequência, a sociedade procura obter informações nutricionais dos produtos consumidos por meio dos rótulos. O iogurte, objeto do presente estudo, é tido pela sociedade de consumo como um alimento rico em nutrientes, que promove benefícios ao organismo e, por isso, apresenta-se como vantajoso à saúde. No entanto, torna-se fundamental analisar a veracidade nos rótulos desses produtos quanto à presença de amido. Tal análise pode ser efetivada por meio de um exame laboratorial chamado de teste de iodo, também conhecido como teste Lugol. Com isso, o presente estudo objetivou analisar a veracidade da rotulagem quanto à presença de amido, baseando a pesquisa em um teste laboratorial em iogurtes nacionais comercializados no sul de Santa Catarina. Sendo assim, os resultados das 28 amostras deste estudo demonstraram alguma inconformidade. Observou-se que 85,7% apresentavam amido declarado como espessante na rotulagem, porém o teste foi positivado para 89,3% dos iogurtes. Diante disso, são de suma importância as análises na veracidade das rotulagens, visto que, corriqueiramente, o consumidor é lesado ao que diz respeito às informações contidas nos rótulos de produtos alimentícios.

Palavras-chave. Rótulos de Alimentos, Amido, Método Qualitativo, Alimentos e Bebidas Fermentados.

ABSTRACT

With the daily growth of the number of consumers worldwide, the food industry is characterized as a branch in continuous growth. As a result, society seeks to obtain nutritional information on the products consumed through the labels. Yogurt, the object of this study, is considered by the consumer society as a food rich in nutrients, which promotes benefits to the body and, therefore, presents itself as advantageous to health. Such an analysis can be carried out through a laboratory test called iodine test, also known as Lugol test. Whithin this context, the present study aims to analyze the veracity of the labeling regarding the presence of starch by testing national yogurts commercialized in the south of Santa Catarina. Thus, the results of this study showed that samples were not in conformity. It was observed that 85.7% had starch declared as a thickener on the label, but the test was positive for 89.3% of yogurts. Therefore, it is of utmost importance to analyze the veracity of the labeling, once routinely, the consumer is harmed when it comes to the information contained in the labels of food products.

Keywords. Food Labeling, Starch, Qualitative Method, Fermented Foods and Beverages.

*Autor de correspondência/Corresponding author: ricardoferreiranutricionista@gmail.com

Recebido/Received: 21.10.2020 - Aceito/Accepted: 25.01.2021

INTRODUÇÃO

O iogurte é um alimento conhecido há milênios e seu consumo é crescente no mundo todo, devido aos seus inúmeros benefícios como auxiliar na absorção, digestão e na restauração da microbiota intestinal, além de apresentar elevados valores de proteínas, lipídios, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais¹.

Acredita-se que os iogurtes tenham sido incorporados à dieta humana com a domesticação de animais produtores de leite por volta de 10.000 a 5.000 aC. Mesmo sem sua origem comprovada, uma das prováveis teorias, é que no mediterrâneo, onde povos nômades atravessavam o deserto em seus camelos e transportavam o leite em bolsas confeccionadas com pele de cabra, estas em contato com o corpo do camelo, ofereciam condições favoráveis para a proliferação de bactérias, que por sua vez transformavam o leite em iogurte através da sua fermentação².

A fabricação de iogurtes no Brasil cresceu nas últimas décadas, porém se comparado a outros países o consumo ainda é baixo, aproximadamente 3,0 kg/ano por pessoa³. De acordo com a POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares, no Brasil 99% dos adultos não atingem a quantidade mínima de ingestão recomendada de cálcio³.

O iogurte é uma rica fonte de diversos nutrientes e está relacionado com uma imagem de produto saudável e nutritivo, além de ser uma forma indireta de consumir o leite, facilitando o consumidor a atingir a ingestão recomendada de seus compostos, como o cálcio⁴. Destacam-se também outros benefícios, como proporcionar melhor digestibilidade do que o leite comum, devido à fermentação da lactose presente, o mesmo é facilmente digerível, por sua concentração original de lactose apresentar-se hidrolisada, sendo assim pessoas com deficiência dessa enzima podem na sua maioria, consumir o produto⁵.

Para produção do iogurte, pode ser usado leite desnatado, integral, parcialmente desnatado, com o intuito de se adequar necessidades dos consumidores, aspectos econômicos e suas restrições. A partir da fermentação do leite, dada por meio da introdução de bactérias específicas, tem-se a obtenção do iogurte⁴.

Para obtenção do iogurte, é necessário acrescentar ao leite as bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*⁵, que produzem ácido láctico, causando a redução do pH, induzindo a desnaturação das proteínas do leite, deixando a textura espessa e o sabor ácido, característico do alimento⁶.

Um dos ingredientes usados na fabricação do iogurte para melhorar a consistência e viscosidade são os espessantes, como o amido, que apesar de agregar valor nutritivo, são usados para alterar as propriedades físicas dos alimentos, aumentando quantidade sólida do produto, que além de ser barato, pode corrigir erros ou então possibilitar fraudes na fabricação⁷.

De acordo com a Instrução Normativa nº 46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), salvo algumas exceções, a legislação traz que o amido pode estar presente no iogurte em uma concentração até 1% (m/m) do produto final, desde que esteja explícito na rotulagem, logo, valor acima estão relacionados ao encobrimento de falhas, melhoramento da viscosidade e das propriedades sensoriais. Sendo assim, torna-se essencial o desenvolvimento de técnicas sensíveis para detecção de adulterações em produtos lácteos e maior fiscalização dos mesmos⁸.

As empresas utilizam-se da adição de amido para obter consistência, espessura e viscosidade para que tenham uma melhor aceitação. Considerando a importância do controle de qualidade, da ética do mercado e a veracidade entre as informações repassadas aos consumidores, o presente estudo teve como objetivo verificar de acordo com a legislação, a veracidade entre as informações prestadas nos rótulos de iogurte, realizando o teste qualitativo de Lugol nas amostras de iogurtes adquiridas para elaboração deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de uma pesquisa de cunho experimental com a finalidade de identificar a presença de amido em iogurtes comercializados no sul de Santa Catarina. O procedimento experimental foi realizado no Laboratório de Bioquímica, que integra o complexo de Laboratórios Didáticos de Saúde da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão.

Para realização desse estudo, foram adquiridas diferentes marcas de iogurtes em embalagens íntegras e lacradas, sendo improvável a contaminação externa, estas foram enumeradas aleatoriamente, com a finalidade de preservar o anonimato das marcas testadas, a fim de manter o sigilo, bem como todas as informações referentes aos produtos.

Para a avaliação da presença de amido no iogurte, foram adquiridas sete marcas de iogurtes, de quatro sabores: morango, coco, ameixa e salada de frutas. Foram avaliadas 28 amostras de iogurtes, testados em triplicata. Estes foram adquiridos em Imbituba-SC, nos principais supermercados da região. Após a seleção, as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas até o laboratório, onde foram analisadas.

Teste de iodo / Lugol

O teste com o iodo e iodeto de potássio, foi realizado a primeira vez em 1829 pelo pesquisador francês J.G.A Lugol, e partir da data o teste ficou conhecido como teste qualitativo de Lugol, ou solução/reagente de Lugol⁹.

O iodo reage com a molécula de amido, e esta reação resulta numa coloração azul, resultado da interação do reagente com a cadeia de amilose, esta por sua vez apresenta sua estrutura helicoidal, e por meio do aquecimento ocorre a abertura da molécula, permitindo a adsorção do iodo com o desenvolvimento da coloração característica após o resfriamento^{6,9}.

Identificação de amido – Teste de Lugol

A determinação do amido se deu após aquecimento da amostra e a adição de solução iodo (solução de Lugol) na mesma. A presença do espessante foi verificada por meio do desenvolvimento da coloração azulada.

A técnica laboratorial qualitativa foi realizada seguindo a metodologia: 10 mL de cada amostra foram medidos em proveta, posteriormente foram transferidos para um béquer e aquecidos até ebulição em chapa aquecedora, após o resfriamento foram adicionadas duas gotas de solução de Lugol. Na presença de amido, a amostra apresentou coloração azul, na ausência a coloração marrom. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Análise do rótulo e preço comercial

Após realizar o teste de Lugol em triplicata nos iogurtes, foram comparadas as informações presentes nos rótulos com os resultados obtidos no teste para presença de amido. Além da presença do amido, as amostras foram classificadas de acordo com o teor de gordura, em integral, desnatado e semidesnatado.

A análise do preço foi realizada após aquisição de amostras de diferentes tamanhos, desde 150 mL a 1000 mL, a média de preço foi calculado por litro. Já a verificação do rótulo foi orientada segundo a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007, do MAPA⁸.

Análise estatística

Os resultados da análise do teste qualitativo de Lugol, bem como da verificação da rotulagem, foram apresentados e analisados de forma descritiva, por meio de tabelas confeccionadas com base nas

análises realizadas no *software* SPSS versão 21[®], sendo adotado como nível para significância estatística um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A partir das análises nos rótulos e teste feitos no decorrer do estudo, pode-se identificar divergências no que diz respeito à presença de amido de forma verídica em rótulos de iogurtes.

Verificou-se que a maioria dos iogurtes era integral, e 85,7% apresentavam amido declarado como espessante na rotulagem, porém, o teste foi positivado para 89,3% dos iogurtes evidenciando inconformidade entre as informações apresentadas.

Segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁰, é indispensável verificar a presença de amido em produtos alimentícios, o qual pode ser determinado facilmente por meio do teste qualitativo de Lugol/Iodo. No que tange à apresentação e veracidade de rótulos, é fundamental estabelecer um parâmetro de análise, como se pode observar na **Tabela 1**, em que a relação entre amido declarado e determinação do espessante via teste apresentou relevância estatística, onde se percebeu que uma das amostras não estava em concordância com as informações apresentadas pelo fabricante por meio do rótulo.

Tabela 1. Relação entre rotulagem e teste de Lugol

Variável	Teste Lugol		Valor <i>p</i>
	Positivo	Negativo	
Rotulagem			0,001^b
Amido declarado	24	-	
Amido não declarado	1	3	

^bValor obtido após aplicação do teste Exato de Fisher

Na **Tabela 2**, foram classificadas e separadas as amostras que apresentaram amido declarado na rotulagem, bem como resultado positivo no teste de Lugol, destas 18 (64,3%) eram classificadas como integral, 1 (3,6%) desnatada e 9 (32,1%) semi desnatada. Ao avaliar a relação entre a classificação do iogurte, segundo teor de gordura, com a presença de amido, não se encontrou relevância estatística. Observou-se que a amostra de iogurte que positivou para amido no teste e não constava amido em seu rótulo era semidesnatado.

Tabela 2. Resultado do teste de Lugol correlacionado com o teor de gordura nos iogurtes avaliados

Variável	Lugol (+)		Lugol (-)		Valor <i>p</i>
	Amido Declarado	Amido Não Declarado	Amido Declarado	Amido Não Declarado	
Classificação					0,291*
Integral	15	-	-	3	
Semidesnatado	8	1	-	-	
Desnatado	1	-	-	-	
Total	24	1	-	3	

*Valor obtido após aplicação do teste Razão de Verossimilhança

DISCUSSÃO

Assim como exposto no decorrer desse estudo, foi verificado que 96,4% dos 28 iogurtes analisados estavam de acordo com a legislação quando comparado a presença ou ausência de amido no rótulo e o resultado do teste qualitativo de Lugol/Iodo. Uma amostra em discordância com a legislação mostra a importância da veracidade nas informações de produtos do setor alimentício¹¹. A busca pelo conhecimento nutricional e os benefícios alimentares são, atualmente, um fator presente na sociedade¹¹.

Dessa forma, o rótulo se caracteriza como o primeiro contato do indivíduo com o produto de consumo. Assim, há uma relação entre compras, vendas e busca por informações que devem ser repassadas de forma acessível e verídica¹¹.

Afirma-se, segundo as análises realizadas no presente estudo, que é necessário um equilíbrio entre os padrões de qualidade e veracidade na rotulagem dos produtos. A regulamentação a nível nacional dos produtos de origem animal é uma responsabilidade compartilhada entre a União e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A legislação visa resguardar o mercado de consumo, e isso abrange o mercado de iogurtes, objeto do presente estudo. Tal organização regula, além disso, rotulagens e veracidade do conteúdo nutricional desse tipo de produto¹².

Partindo do pressuposto de que a rotulagem nutricional pode ser efetiva no processo de escolha mais adequado dos alimentos embalados industrializados, mas que, entretanto, nem sempre o consumidor está apto a ler e interpretar as informações nutricionais, os dados apresentados na rotulagem, quando apropriados, orientam com maior precisão a escolha de determinados produtos pelos consumidores¹².

De acordo com Coutinho e Recine¹², 43% dos consumidores brasileiros, no ato da compra dos alimentos, buscam nas embalagens informações sobre os benefícios para a saúde. Muitos entrevistados afirmaram acreditar na capacidade de prevenção e controle que a alimentação pode exercer sobre doenças como o câncer, a hipertensão arterial, a obesidade e as doenças do coração¹³.

Outro estudo, realizado com frequentadores de supermercados, concluiu que 61% dos entrevistados liam os rótulos dos produtos que compravam, porém, a autora ressaltou que tal conduta referia-se, particularmente, a aqueles indivíduos com problemas de saúde ou de classe social mais elevada¹⁴. Dentre os produtos utilizados por consumidores acometidos por patologias diversas, o consumo de iogurte está associado aos benefícios que o mesmo traz ao organismo tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, além de ser uma forma indireta de se ingerir o leite, sendo assim considerado um alimento saudável⁴.

Ao analisar a veracidade entre rotulagem e presença de amido em amostras de iogurte, Valladão¹⁵, encontrou resultados diferentes dos apresentados neste estudo, a autora ao realizar o teste qualitativo de Lugol, verificou que 15 das 48 amostras do produto, apresentavam irregularidade por não declarar amido nos ingredientes do rótulo. Verificou-se também que 12 amostras analisadas, as quais declaravam presença de amido no rótulo, negativaram no teste, ou seja, 27 amostras estavam em desacordo quando comparado o rótulo e o teste.

A autora supracitada verificou ainda que das 48 amostras dos iogurtes analisados 23% eram classificadas como integral, 69% semidesnatado e 3% desnatado e uma amostra não declarou no rótulo. Diferentemente a esta pesquisa que apresentou 64% integral, 32% semidesnatado e 3% desnatado¹⁵.

Para Lobanco et al¹³, a indústria alimentícia utiliza-se do amido além de sua função como espessante para encobrir falhas no processamento, aumentar volume, peso, esconder características físicas, como no caso da fraude no leite, onde o amido é utilizado com finalidade de mascarar a adição de água no leite, corrigindo sua densidade original. Ao acrescentar água ao leite a indústria tem maior lucro, diminuindo preço na produção de laticínios como o iogurte. Contudo, a variável preço não foi associada à presença/ausência de amido, nas amostras analisadas no presente estudo.

Diante do exposto, pode-se concluir que o teste de Lugol para verificar a presença de amido em iogurtes, é um teste qualitativo simples e eficaz. Sendo assim, os resultados das 28 amostras coletadas demonstraram inconformidade em uma amostra, quando analisada as informações presentes no rótulo e o resultado do teste, logo, as demais 27 amostras analisadas estavam de acordo com a legislação.

A partir disso reforça-se a importância das análises em alimentos, que além de permitir o conhecimento das propriedades dos produtos, também nos permite detectar adulteração e evitar fraudes nestes, garantindo assim proteção ao consumidor.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Não declarado.

AGRADECIMENTO

Não declarado.

REFERÊNCIAS

1. Ferreira MAC, Freire LAS, Barbosa TA, Siqueira APS. Desperdício de iogurte por embalagens. Rev Agric Neotrop 2016;3(3):24-7.
<https://doi.org/10.32404/rean.v3i3.1204>
2. Moreno Aznar LA, Cervera Ral P, Ortega Anta RM, Díaz Martín JJ, Baladia E, Balsuto J et al. Evidências científicas sobre el papel del yogur y otras leches fermentadas em la alimentación saludavble de la población española. Nutr Hosp. 2013;28(6):2039-89.
<https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.6.6856>
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (BR). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro (RJ): IBGE; 2011. 150 p. Disponível em:
<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>
4. Pinheiro LAF. Detecção de fraude no leite com água pela capacidade térmica volumétrica. 2015. 57 f. [dissertação de mestrado] Minas Gerais (MG): Universidade Federal de Juiz de Fora; 2015. Disponível em:
<https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/1454>
5. Silva RCL, Falcão Filho RS, Medeiros IF. Avaliação qualidade de iogurtes produzidos na usina-escola do IFRN campus Currais Novos e distribuídos na merenda escolar. In: IV Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação; de 19 a 21 outubro de 2012; Palmas (TO). Disponível em:
<https://propi.iftto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/3461/3074>
6. Nelson DL, Cox MM. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 7. ed. Porto Alegre: Artmed Editora; 2018.
7. Malik AH, Anjum FM, Sameen A, Khan MI., Sohaib M. Extraction of starch from Water Chestnut (TrapabispinosaRoxb) and its application in yoghurt as a stabilizer. Pak. J. Food Sci. 2012;22(4):209-18.

8. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa (MAPA) N° 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1(205):4-7.
9. Neuzil E. Jean Giuççaume Auguste Lugol (1788-1851): his life and this works. A brief encounter, 150 years after his death. Hist Sci Med. 2002;36(4):451-64. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12613445/>
10. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo – Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Zenebon O, Pascuet NS, Tiglea P, coordenadores. 6. ed. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020 p. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf
11. Almeida-Muradian LB, Penteado MVC. Vigilância Sanitária. Tópicos sobre Legislação e Análise de Alimentos. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2007. 203p.
12. Coutinho JG, Recine E. Experiências internacionais de regulamentação das alegações de saúde em rótulos de alimentos. Rev Panam Salud Pública. 2007; 22(6):432-7. Disponível em: <https://scielosp.org/article/rpsp/2007.v22n6/432-437/pt/>
13. Lobanco CM, Vedovato GM, Cano CB, Bastos DHM. Fidedignidade de rótulos de alimentos comercializados no município de São Paulo, SP. Rev Saúde Pública. 2009;43(3):499-505. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102009005000020>
14. Marins BR. Avaliação do uso e entendimento das informações contidas nos rótulos de alimentos/bebidas embalados, pela população adulta frequentadora de supermercados, no município de Niterói. [dissertação de mestrado] Rio de Janeiro (RJ): Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde; 2016.
15. Valladão AS. Avaliação do método oficial IN 68/2006 para análise de amido em iogurtes. [dissertação de mestrado] Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 2012. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/BUOS-92WHS7>





Comparação entre métodos de pré-tratamento para determinação de sujidades leves em amostras de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e páprica (*Capsicum annuum* L.)

Comparing pretreatment methods for determination of light filth in turmeric (*Curcuma longa* L.) and paprika (*Capsicum annuum* L.) samples

Sonia de Paula Toledo PRADO¹ , Maria Helena IHA¹ , Matheus Leandro RODRIGUES¹ 

¹ Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto, Instituto Adolfo Lutz, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

RESUMO

O estudo teve como objetivo modificar, otimizar e avaliar através de estudo comparativo um método para a extração de sujidades leves em amostras de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e páprica (*Capsicum annuum* L.). Foram analisadas dez amostras de cúrcuma e vinte de páprica. As etapas de pré-tratamento dos métodos da AOAC, 975.49 (16.14.05) para cúrcuma e 977.25b (16.14.22) para páprica, foram modificadas, com adição do extrator Soxhlet. A avaliação do desempenho analítico foi realizada pela comparação entre os resultados das recuperações dos métodos. A recuperação média para cúrcuma utilizando o método AOAC foi 91,9% para fragmentos de insetos e 97,0% para pelos de roedor, enquanto que para o método modificado foi de 89,6% e 97,4%, respectivamente. Para páprica, usando método original a recuperação foi de 93,1% para os fragmentos de insetos e 96,5% para pelos de roedor, e para o método modificado, 92,2% e 93,1%, respectivamente. A análise estatística mostrou que não houve diferença significante entre os métodos. Apesar do maior tempo de análise, o método modificado apresenta vantagens tais como: permitir realização de análises simultâneas, baixa complexidade, economia de 57% de solvente e desempenho satisfatório, sendo uma alternativa para pesquisa de sujidades leves nas especiarias estudadas.

Palavras-chave. Especiarias, Contaminação de Alimentos, Química Verde, Microscopia, Estudo de Validação, Metodologia.

ABSTRACT

The study aimed to modify, optimize and evaluate through a comparative study a method for extraction of light filth from turmeric (*Curcuma longa* L.) and paprika (*Capsicum annuum* L.) samples. Ten samples of turmeric and twenty samples of paprika were analyzed. The pretreatment steps of the AOAC methods, 975.49 (16.14.05) for turmeric and 977.25b (16.14.22) for paprika, were modified by adding the Soxhlet extractor. The evaluation of the analytical performance was carried out by comparing the results of the method recoveries. The average recovery for turmeric using the AOAC method was 91.9% for insect fragments and 97.0% for rodent hair. While using modified method, it was 89.6% and 97.4%, respectively. For paprika, using the original method, the average recovery was 93.1% for fragments and 96.5% for hair; and after the modifications, the average was, 92.2% and 93.1%, respectively. Statistical analysis showed that there was no significant difference between the methods. Despite the longer analysis time, the modified method has advantages such as: allowing simultaneous analysis, low complexity, 57% solvent economy and satisfactory performance; proving to be an alternative for light filth research in the studied spices.

Keywords. Spices, Food Contamination, Green Chemistry, Microscopy, Validation Study, Methodology.

*Autor de correspondência/Corresponding author: sonia.prado@ial.sp.gov.br

Recebido/Received: 24.02.2021 - Aceito/Accepted: 30.12.2021

INTRODUÇÃO

Algumas especiarias apresentam atividades nutracêuticas, por exemplo, a cúrcuma possui atividade anti-inflamatória e anticoagulante¹, enquanto a páprica é rica em ácido ascórbico, e carotenoides². Porém, estas especiarias, podem conter matérias estranhas, dentre elas sujidades leves como fragmentos de insetos, insetos inteiros, ácaros, pelos de roedor e bárbulas de aves. Uma forma de verificar a qualidade destas especiarias quanto às sujidades, é através da microscopia alimentar, que pesquisa matérias estranhas, macroscópicas e/ou microscópicas^{3,4}. Os métodos oficiais da AOAC⁵ e recomendados pela RDC ANVISA nº 14/2014⁶ para determinação de sujidades leves em cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e páprica (*Capsicum annuum* L.), utilizam volume elevado de solvente orgânico, utilizando para a realização da etapa de lavagem (ou pré-tratamento) das especiarias, cerca de 1.200 mL de isopropanol, (3 etapas de fervura e sucção) gerando elevada quantidade de resíduo químico.

A etapa de pré-tratamento é importante para o método, pois as sujidades leves apresentam caráter lipofílico e a retirada de gorduras da amostra propicia uma melhor extração das matérias estranhas, diminuindo interferentes e perdas⁷.

A Química Verde foi idealizada e definida em 1998 por Anastas e Warner⁸: “A invenção, *design* e aplicação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso e geração de substâncias perigosas”. Possui 12 princípios, contendo orientações para o desenvolvimento de novos produtos e/ou processos químicos empregando a sustentabilidade. Preza pela busca por meios de reduzir riscos, com intuito de diminuir o impacto de possíveis acidentes⁹ ao meio ambiente.

Levando em conta a Química Verde, a quantidade de isopropanol utilizada para a pesquisa de matérias estranhas deve ser diminuída. Existem outras técnicas para a extração de gordura como a extração por Soxhlet, desenvolvida em 1879 por Franz von Soxhlet com o intuito de determinar gorduras em leite. É empregada em extrações do tipo sólido-líquido e ocorre continuamente¹⁰. A extração por Soxhlet é uma técnica simples para extrações de compostos voláteis, por exemplo, compostos fenólicos¹¹. Como é um sistema de refluxo, que reutiliza o solvente, é econômico, não consumindo muito solvente e nem gerando resíduo químico em grande volume.

Existem poucos trabalhos na área da microscopia de alimentos relacionados à validação de metodologia, sendo que o primeiro desenvolvido no Brasil foi realizado por Dimov et al¹² no qual estudaram a modificação introduzida ao método de extração de sujidades leves em farinha de trigo integral publicado nos métodos analíticos da AOAC⁵. O presente trabalho teve como objetivo modificar, otimizar e avaliar através de estudo comparativo um método para análise de sujidades leves em amostras de cúrcuma e páprica levando em consideração, principalmente, a geração de resíduos químicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

As amostras foram adquiridas em estabelecimentos comerciais ou coletadas por agentes da Vigilância Sanitária, sendo 10 amostras de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e 20 de páprica (*Capsicum annuum* L.).

Os fragmentos de insetos foram obtidos a partir de asas de baratas *Periplaneta americana* cedidas pelo Instituto Biológico de São Paulo/SP. Os pelos de *Mus musculus* foram cedidos pelo Biotério Geral da Universidade de São Paulo, *campus* de Ribeirão Preto/SP.

A extração de gordura foi realizada utilizando um balão de fundo chato, um extrator Soxhlet, um condensador de refluxo do tipo bola e chapa de aquecimento.

Para a pesquisa de sujidades empregou-se o microscópio estereoscópico Leica S9 D, com zoom de 9:1 e ampliação de 6.1x – 55x (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha).

Métodos

Método padrão da AOAC

As amostras foram analisadas de acordo com os métodos da AOAC⁵ 975.49 (16.14.05) para cúrcuma e 977.25b (16.14.22) para páprica.

Preparação dos padrões para contaminação das amostras

Os padrões de fragmentos de insetos e pelos de roedor foram obtidos de maneira análoga ao descrito por Brickey et al¹³. Os fragmentos de insetos foram cortados com auxílio de bisturi e papel milimetrado, com tamanho aproximado de 0,25 x 0,25 mm e para os pelos de roedor, comprimento aproximado de 2 mm, **Figura 1B (a) e (b)**. A **Figura 1** apresenta o esquema do procedimento otimizado neste estudo.

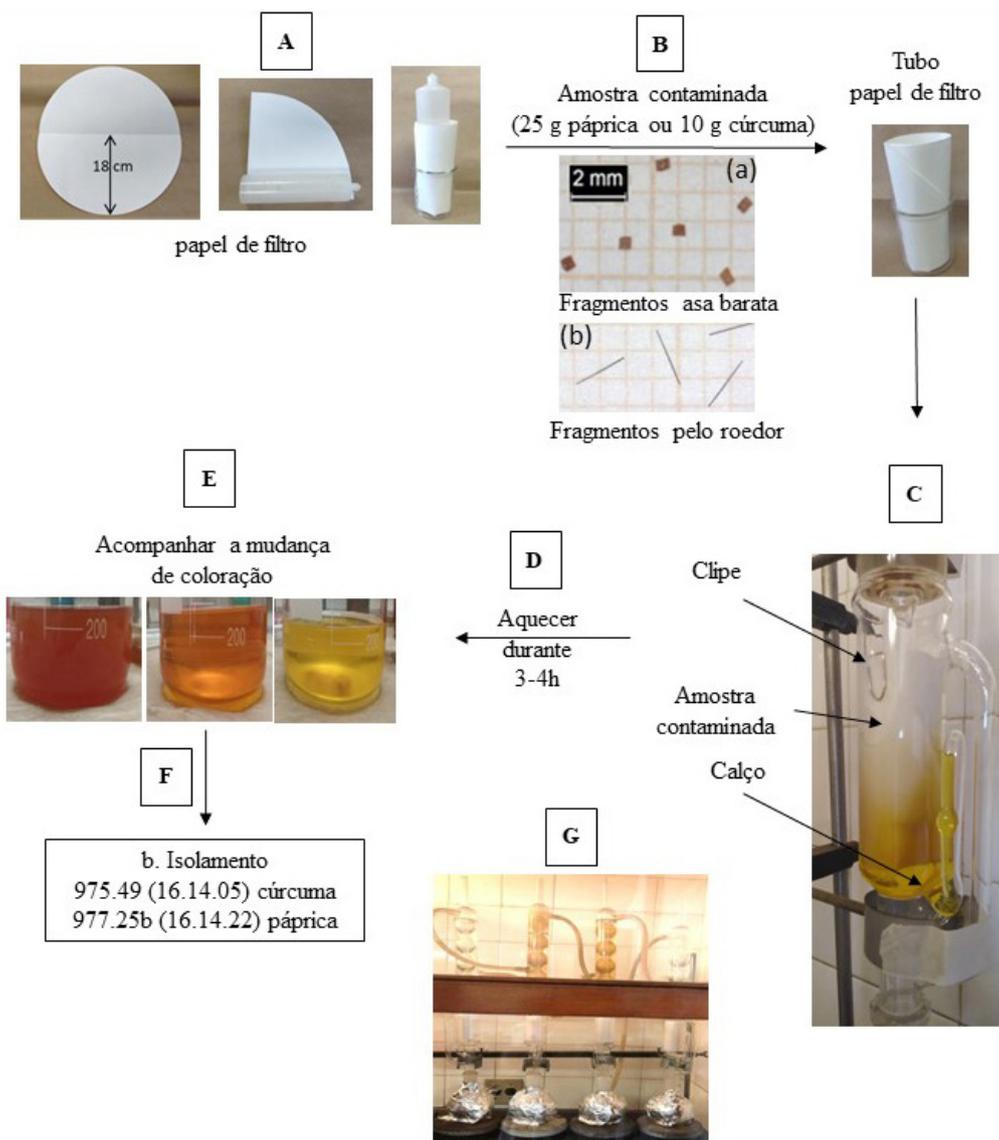


Figura 1. Procedimento do pré-tratamento modificado da AOAC⁵ para análise de sujidades leves em páprica e cúrcuma. A) Moldagem do tubo; B) Pesagem da amostra contaminada com (a) fragmentos de asas de barata e (b) fragmentos de pelos de roedor no tubo de papel; C) Posicionamento da amostra no Soxhlet; D) Aquecimento do sistema; E) Mudança de coloração da amostra de páprica; F) Amostra preparada para próxima fase; G) Sistemas de extração funcionando simultaneamente

A identificação dos pelos foi feita de acordo com Teerink¹⁴, por meio do reconhecimento do padrão medular característico de *Mus musculus*.

Método para extração de sujidades leves modificado e otimizado a partir do método oficial da AOAC⁵

O método de determinação de sujidades leves por flutuação padrão da AOAC⁵ é composto de duas etapas: um pré-tratamento, nas quais as impurezas são desengorduradas e o isolamento e identificação das sujidades realizado no microscópio estereoscópio. Foi realizada modificação somente na parte de pré-tratamento. A etapa de isolamento não sofreu alterações, sendo realizado de acordo com as respectivas metodologias oficiais da AOAC⁵, para a cúrcuma e para a páprica. A etapa modificada, pré-tratamento da amostra, foi realizada utilizando um sistema para a extração de gordura (Figura 1).

Foram testadas várias formas para a colocação da amostra no extrator de Soxhlet, como por exemplo, diferentes formas de dobrar o papel de filtro e posições do papel de filtro no Soxhlet, de forma que o solvente ficasse em contato com toda a amostra e a extração da gordura e impurezas lipossolúveis fossem bem-sucedidas.

Procedimento do método modificado

A moldagem (Figura 1A) do papel de filtro (diâmetro 33 cm), que foi utilizado para desengordurar a amostra, foi feita usando uma seringa de 60 mL de 13 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro. O papel foi dobrado como mostra a Figura 1A, depois foi moldado do lado de fora da seringa, ficando com o formato cilíndrico, com papel duplo. Para poder pesar a amostra, este papel duplo foi aberto formando um tubo, depois o tubo de papel foi cortado para ficar no tamanho ideal para encaixar corretamente no extrator Soxhlet (aproximadamente, 10 cm), e foi colocado um clipe para manter o formato do tubo (Figura 1C).

As amostras foram pesadas (Figura 1B) de acordo com o respectivo método: 25 g de páprica e 10 g de cúrcuma no papel de filtro moldado em formato de tubo. A amostra foi contaminada com os fragmentos de asas de barata cortados em quadrados e fragmentos de pelos de roedor, de acordo com a Tabela (procedimento item *Contaminação das amostras*). Depois o tubo foi posicionado (Figura 1C), cuidadosamente, no interior do extrator Soxhlet, evitando a obstrução da passagem do líquido do extrator para o balão de fundo chato.

Tabela. Distribuição dos níveis de contaminação para a comparação dos métodos e resultado da recuperação da análise de sujidades leves em cúrcuma e páprica

Contaminação		Recuperação páprica				Recuperação cúrcuma			
		Fragmentos de insetos		Pelos de roedor		Fragmentos de insetos		Pelos de roedor	
FI*	PR**	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado
30	10	93,3	90	100	80	100	100	100	100
15	5	93,3	93,3	100	100	93,3	93,3	100	100
15	10	86,7	93,3	100	90	86,7	86,7	80	100
5	15	80	100	93,3	100	100	100	100	86,7
30	5	100	93,3	100	60	90	90	100	100
5	10	100	80	100	100	80	80	100	90
0	15	0	0	93,3	100	0	0	93,3	100
5	5	100	100	100	100	80	60	100	100

Continua na próxima página

Continuação

Contaminação		Recuperação páprica				Recuperação cúrcuma			
		Fragmentos de insetos		Pelos de roedor		Fragmentos de insetos		Pelos de roedor	
FI*	PR**	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado	AOAC ⁵	Modificado
15	15	-	-	-	-	100	100	100	100
30	0	-	-	-	-	96,7	96,7	0	0
5	15	100	80	100	93,3	-	-	-	-
0	5	0	0	100	100	-	-	-	-
30	15	93,3	90	93,3	100	-	-	-	-
15	10	66,7	80	100	80	-	-	-	-
5	0	100	100	0	0	-	-	-	-
5	15	100	100	86,7	93,3	-	-	-	-
30	5	100	96,7	100	100	-	-	-	-
30	15	100	90	93,3	100	-	-	-	-
15	5	86,7	93,3	100	100	-	-	-	-
15	0	86,7	93,3	0	0	-	-	-	-
30	15	96,7	86,7	86,7	80	-	-	-	-
15	10	93,3	100	90	100	-	-	-	-
Média		96	93	94	97	92	90	97	97
DP		5,7	6,9	5,8	6,8	8,2	13,1	6,8	5,2
CV		6,0	7,4	6,1	7,0	8,9	14,6	7,0	5,3

*FI = Fragmentos de insetos

**PR = Pelo de roedor

Utilizou-se um calço (tampa de vidro de balão 1,5 x 3,8 cm) no fundo do extrator de modo que o tubo cônico de papel com a amostra ficou suspenso como mostra a **Figura 1C** e o solvente conseguiu atravessar a amostra antes de ficar parada no tubo; foi adicionado isopropanol no extrator Soxhlet até o líquido encher o reservatório no nível do tubo lateral que leva o solvente ao balão de fundo chato. Depois de escorrido o líquido, foi repetido o procedimento mais uma vez e deixado o extrator com mais metade do isopropanol (150 – 170 mL). O balão de fundo chato foi embrulhado com papel alumínio para ajudar a manter o aquecimento do isopropanol.

Ao iniciar o aquecimento (**Figura 1D**), aguardou-se o isopropanol ferver, até início da condensação do solvente no condensador e seu gotejamento na amostra que estava no extrator. O extrator foi preenchido gradualmente com o solvente recém-evaporado proveniente do balão de fundo chato, até que o líquido chegasse ao nível de transbordamento e retornasse ao balão através do tubo lateral. Por isso o conteúdo do papel de filtro foi mantido abaixo do nível do sifão lateral, evitando perdas do sólido. Mais uma vez deu-se início a esta etapa, evaporando o solvente, com os ciclos se repetindo para desengorduramento da amostra, sempre com o solvente puro proveniente da evaporação e condensação.

Este ciclo permaneceu de 3 a 4 horas. Foi acompanhado a mudança de cor no solvente do Soxhlet, a cúrcuma iniciando em um amarelo claro e turvo, finalizando a extração com amarelo claro e límpido; a páprica iniciando com um alaranjado turvo, finalizando com amarelo claro (**Figura 1E**). Foi retirado a amostra do Soxhlet e procedido o isolamento de acordo com os métodos oficiais da AOAC⁵, para a cúrcuma e para a páprica.

Estudo comparativo

Para avaliar o desempenho analítico do método, foi realizado o teste de recuperação: as amostras foram contaminadas com fragmentos de insetos e pelos de roedor, sendo cada amostra analisada pelo método da AOAC⁵ e pelo método modificado. Os resultados foram comparados utilizando estudos estatísticos.

Contaminação das amostras

Os níveis de contaminação utilizados para fragmentos de insetos foram 5, 15 e 30 e para pelos de roedor 5, 10 e 15. A divisão de níveis e amostras para a cúrcuma foi de 3 amostras por nível de contaminação e 1 amostra como branco, utilizando 10 gramas de amostra (**Tabela**) e para a páprica, 6 amostras para cada nível de contaminação e 2 amostras utilizadas como branco, utilizando 25 gramas de amostra (**Tabela**). A contaminação foi realizada da mesma maneira descrita por Glaze e Bryce¹⁵. Após a preparação dos padrões, a contaminação foi feita a partir da contagem das sujidades em uma ponta de espátula contendo gotas de água, ou seja, os fragmentos de insetos e pelos de roedor selecionados foram colocados em uma gota de água, que posteriormente foi adicionada na amostra. Este procedimento foi realizado para auxiliar na transferência das matérias estranhas e evitar a perda dos fragmentos, devido a ação do vento ou por queda dos mesmos, e por serem diminutos ficaria difícil visualizar se a contaminação foi realizada corretamente. Foi realizado o teste cego, o analista que realizou a contagem de sujidades não tinha conhecimento sobre os níveis de contaminação.

Tratamento estatístico

A comparação entre os métodos padrão da AOAC⁵ e o método modificado foi realizado utilizando os resultados das recuperações obtidas nos dois métodos. Foi utilizado o Excel para o cálculo das médias das recuperações, desvio padrão, coeficiente de variação e teste *t* pareado, bi-caudal, com nível de significância, $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Levando em consideração os princípios da Química Verde, a utilização de um grande volume de solvente gerando resíduo químico é uma preocupação que deve ser levada em consideração na escolha de um método de análise. A técnica para determinação de sujidades da AOAC⁵ para a cúrcuma e para a páprica utiliza um grande volume de isopropanol gasto durante a preparação da amostra, gerando, além de um alto custo, resíduo químico em grande quantidade.

O objetivo do pré-tratamento no método da AOAC⁵ é a remoção de gorduras e impurezas lipossolúveis. A extração utilizando extrator de Soxhlet pode ser empregada quando um composto sólido apresenta baixa solubilidade em determinado solvente, mas as impurezas são solúveis. Portanto, a técnica de extração por Soxhlet é propícia para aplicação na determinação de sujidades de cúrcuma e páprica, pois estas especiarias apresentam baixa solubilidade no isopropanol, enquanto as gorduras ou outras impurezas lipossolúveis contidas na fase sólida diluem facilmente no solvente. Além do mais, o extrator Soxhlet economiza solvente, pois o processo de desengorduramento é realizado através do refluxo do solvente extrator, o líquido condensado passa várias vezes puro pela amostra, extraíndo as gorduras e impurezas lipossolúveis, que são coletadas no balão de fundo chato (**Figura 1**).

Foi adicionado quantidade de isopropanol no balão de fundo chato de modo que, mesmo com as perdas por evaporação, o sistema de refluxo tivesse solvente suficiente para funcionar até o final da extração. Juntou-se ao balão de fundo chato, pérolas de vidro para evitar a ebulição turbulenta.

O método analítico da AOAC⁵ é constituído por três lavagens, a quente, de 400 mL cada, contabilizados 10 minutos após o início da fervura do solvente. Deste modo, a lavagem via extrator Soxhlet foi finalizada comparando as cores finais após as três lavagens do método oficial AOAC⁵. O tempo da

extração utilizando o extrator de Soxhlet foi de 3 a 4 horas, devido à diferença entre as cores das amostras (**Figura 1E**). A cúrcuma apresentou pouca variação de coloração, iniciando em um amarelo claro e turvo, finalizando a extração com amarelo claro e límpido. No caso da páprica, a alteração de cor foi nítida como se pode verificar na **Figura 1E** cujo processo iniciou-se com um alaranjado turvo, finalizando com amarelo claro, após cada etapa de lavagem da páprica pelo método padrão AOAC⁵.

Foram avaliadas 10 amostras de cúrcuma e 20 de páprica em ambos os métodos, a **Tabela** mostra os resultados da avaliação do desempenho dos métodos da AOAC⁵ padrão e o modificado.

Na análise de cúrcuma, como podemos ver na **Tabela**, as médias de recuperação dos fragmentos de insetos e pelos de roedor foram semelhantes para os métodos, da AOAC⁵ e o método modificado. O teste *t* pareado, bicaudal foi escolhido para avaliar a comparação dos resultados, pois, foi realizada análise em alíquota de uma mesma amostra usando métodos diferentes. O limite utilizado foi valor de $p > 0,05$, ou seja, se p for maior que 0,05 não há diferença significativa entre os métodos. No caso dos fragmentos de insetos, o valor de p encontrado foi de 0,34, e para pelos de roedor o valor de p encontrado foi de 0,91, portanto não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos para análise microscópica em cúrcuma.

Para a páprica, **Tabela**, tanto as médias de recuperação como os coeficientes de variação dos fragmentos de insetos e pelo de roedor foram semelhantes para ambos os métodos. Para fragmentos de insetos o valor de p encontrado foi de 0,71, e para pelos de roedor o valor de p foi de 0,28, portanto, neste caso também, não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos para pesquisa de sujidades.

Uma desvantagem do método modificado foi o tempo longo para realização do pré-tratamento, sendo necessário 3 a 4 horas de refluxo, enquanto que a metodologia original da AOAC⁵ leva entre 50 a 60 minutos. Porém, o pré-tratamento modificado permite o acoplamento em sistema, ou seja, realizar mais de uma extração com extrator Soxhlet ao mesmo tempo, interligando os sistemas de refluxo. Deste modo, ao invés de utilizar o tempo de extração somente para uma amostra, mais amostras poderiam ser realizadas no intervalo de tempo, **Figura 1G**. Outra vantagem é que durante o pré-tratamento não é necessário o analista manipular a amostra, pois o extrator de Soxhlet, depois de controlada a temperatura, extrai a gordura sem necessidade de manipulação e exposição do analista ao solvente. No método original da AOAC⁵ o analista precisa manipular a amostra durante o pré-tratamento: adicionando o isopropanol, esperando o tempo de aquecimento e retirando o solvente no final do aquecimento.

A vantagem do método modificado foi com relação a redução do volume de solvente utilizado, aproximadamente 85-87,5% do volume original do pré-tratamento e 56-58% do volume total de isopropanol utilizado no método. Conseqüentemente, um menor gasto com aquisição de solvente e uma menor geração de resíduo químico. Tal redução respeita o primeiro dos doze princípios da Química Verde, conhecido como “Prevenção”, no qual recomenda evitar a geração de resíduos ao invés de tratamentos e limpezas posteriores após sua formação⁹.

Apesar do fator tempo, a técnica modificada não demonstrou complexidade para execução e mostrou-se como um método satisfatório para pesquisa de sujidades leves nas especiarias estudadas, principalmente devido aos resultados comparados com os da técnica padrão não serem estatisticamente significantes.

CONCLUSÃO

Os valores obtidos nas análises estatísticas demonstraram que os métodos modificados para análise de sujidades em cúrcuma e páprica não apresentaram diferenças significativas quando comparados com os resultados dos métodos padrões, indicando que a modificação feita na etapa de pré-tratamento não alterou o desempenho do método.

Portanto, a substituição da lavagem a quente para o extrator Soxhlet, possibilita a diminuição de custos e de geração de resíduos sem que haja prejuízo na performance do método analítico. Apesar de

requerer maior período de execução, é possível o acoplamento de sistemas com a perspectiva de realizar as lavagens em amostras de cúrcuma e páprica simultaneamente, não havendo necessidade de manipulação da amostra na fase de pré-tratamento.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP: 2018/07009-7).

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Ganjre A, Kathariya R, Bagul N, Pawar V. Anti-carcinogenic and anti-bacterial properties of selected spices: implications in oral health. Clin Nutr Res. 2015;4(4):209-15.
<https://doi.org/10.7762/cnr.2015.4.4.209>
2. Mathew AG. Natural food flavors and colorants. 2.ed. John Wiley & Sons; 2017.
3. Atui MB, Castejon MJ, Yamashiro R, De Lucca T, Flinn PW. Condições higiênic-sanitárias da pimenta do reino em pó (*Piper nigrum* L.) com o emprego de duas diferentes técnicas para detecção de sujidades leves. Rev Inst Adolfo Lutz. 2009;68(1):96-101. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32748>
4. Correia M, Daros VSMG, Silva RP. Matérias estranhas em canela em pó e páprica em pó, comercializadas no estado de São Paulo. Cienc Tecnol Aliment. 2000;20(3):375-80.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612000000300016>
5. Association of Official Analytical Collaboration (AOAC) International – AOAC International. Extraneous Materials: Isolation. In: Latimer GW, organizador. Official Methods of Analysis of AOAC International; 2016.
6. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 31 mar 2014. Seção 1(61):58-61.
7. Dent RG. Elements of filth detection. In: Gorham JR, editor. Principles of food analyses for filth decomposition and foreign matter. 2.ed. Washinton, DC: FDA; 1981.
8. Anastas PT, Warner JC. Green chemistry: theory and practice. New York: Oxford University Press; 1998.
9. Anastas P, Eghbali N. Green chemistry: principles and practice. Chem Soc Rev. 2010;39(1):301-12.
<https://doi.org/10.1039/B918763B>

10. Luque de Castro MD, Priego-Capote F. Soxhlet extraction: past and present panacea. J Chromatogr A. 2010;1217(16):2383-9.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
11. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Soxhlet extraction of phenolic compounds from Vernonia cinerea leaves and its antioxidant activity. J Appl Res Med Aromat Plants. 2018;11:12-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>
12. Dimov MN, Silveira VR, Elian SN, Penteado MVC. Extração de sujidades leves em farinha de trigo integral: validação de metodologia. Rev Inst Adolfo Lutz. 2004;63(1):91-6. Disponível em:
<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/34799>
13. Brickey PM, Gecan JS, Thrasher JJ, Eisenberg WV. Notes on Microanalytical Techniques in the Analysis of Foods for Extraneous Materials. J Assoc Off Anal Chem. 1968;51(4):872-6.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/51.4.872>
14. Teerink BJ. Hair of West-European Mammals. Cambridge (UK): Cambridge University Press; 1991.
15. Glaze LE, Bryce, JR. Extraction of light filth from whole wheat flour, flotation method: collaborative study. J AOAC Int. 1994;77(5):1150-2.





Estudo da contaminação por bifenilas policloradas e parâmetros de qualidade do mel orgânico e do mel convencional do Rio Grande do Sul

Study of contamination by polychlorinated biphenyls and quality parameters of organic honey and conventional honey from Rio Grande do Sul

Dos Santos M. Estudo da contaminação por bifenilas policloradas e parâmetros de qualidade do mel orgânico e do mel convencional do Rio Grande do Sul. Santa Maria, RS. 2021. [Tese de Doutorado – Área de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria – UFSM]. Orientador: Ijoni Hilda Costabeber.

O mel passa uma imagem de ser naturalmente saudável e livre de contaminantes. A grande valorização deste produto, principalmente no mercado externo, exige a aplicação de rigorosos padrões de qualidade e segurança do mel, assim como o investimento em sistema de produção orgânico. As bifenilas policloradas, do inglês *Polychlorinated biphenyls* (PCBs), são compostos organoclorados sintéticos tóxicos que apesar de terem sua fabricação e comercialização proibidas há vários anos, devido ao seu descarte inapropriado, contaminaram o meio ambiente e ainda são detectadas. No presente trabalho foram analisados os padrões de identidade e qualidade e a contaminação por PCBs em 90 méis de diferentes origens florais (monoflorais e multiflorais) de sistemas de produção orgânico e convencional provenientes do Rio Grande do Sul. Foi investigada a ocorrência de 11 congêneres de bifenilas policloradas: PCBs 28, 52, 77, 81, 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180. A extração foi realizada pelo método QuEChERS modificado (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) seguido de cromatografia gasosa com detector de captura de microelétrons com limites de detecção de 5 ng g⁻¹ e 10 ng g⁻¹. Os resultados mostraram a presença de 4 congêneres em 15 amostras de mel provenientes de 9 municípios, confirmando a contaminação ambiental no Sul do Brasil. Os níveis máximos de concentração detectados foram 635 ng g⁻¹ para PCB 28, 194 ng g⁻¹ para PCB 101, 65 ng g⁻¹ para PCB 77 e 50 ng g⁻¹ para PCB 81. Embora essa contaminação no mel represente um baixo risco, trata-se de um poluente orgânico persistente, classificado como comprovadamente carcinogênico para seres humanos e animais. Entre as amostras contaminadas, não foram identificadas diferenças significativas quanto ao sistema de produção e origem floral. Ao analisar os resultados dos padrões de identidade e qualidade individualmente, a grande maioria dos méis estava dentro dos limites definidos pela legislação nacional e internacional, o que permite afirmar que o mel produzido no Rio Grande do Sul tem boa qualidade, fato que evidencia a adoção de boas práticas apícolas pelos produtores do estado. Através da análise dos componentes principais foi possível explicar grande parte da variabilidade entre os parâmetros umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF dos méis conforme o sistema de produção e a origem floral. A análise por agrupamento hierárquico, classificando em grupos usando distâncias euclidianas, exibiu a diferenciação desses 10 parâmetros de qualidade das amostras.

Palavras-chave. Poluentes Orgânicos, PCBs, Alimentos Orgânicos, Contaminação Ambiental, Segurança e Qualidade dos Alimentos, Padrão de Identidade e Qualidade do Mel.

Tese disponível na Biblioteca do Centro de Ciências Rurais da
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. <https://www.ufsm.br/>

*Autor de correspondência/Corresponding author: marieleweigel@hotmail.com

AGRADECIMENTOS

O Corpo Editorial agradece a todos os relatores abaixo relacionados que, com seu trabalho voluntário e anônimo ao longo de 2021, contribuíram para o bom andamento das atividades e elevação do nível dos artigos publicados pela Revista

- **Adriane Elisabete Antunes de Moraes** Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicada, Laboratório de Lácteos, Probióticos e Prebióticos (LLPP). Campinas, SP
- **Aline Santana da Hora** Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária. Uberlândia, MG
- **Ana Carolina de Mello Santos Gheller** Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Microbiologia Imunobiologia e Parasitologia, Disciplina de Microbiologia. São Paulo, SP
- **Camila Cardoso de Oliveira** Instituto Adolfo Lutz, Centro de Materiais de Referência, Núcleo de Análise e Tratamento de Dados. São Paulo, SP
- **Carlos Alexandre Marques** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro. Nilópolis, RJ
- **Carlos Henrique Camargo** Instituto Adolfo Lutz, Centro de Bacteriologia, Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais. São Paulo, SP
- **Cátia Regina Storck** Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, RS
- **Cícero Armídio Gomes Dias** Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Departamento de Ciências Básicas da Saúde. Porto Alegre, RS
- **Clarissa Damiani** Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia, Departamento de Tecnologia de Alimentos. Goiânia, GO
- **Clícia Maria de Jesus Benevides** Universidade do Estado da Bahia, Centro de Ciências da Saúde e dos Alimentos. Salvador, BA
- **Darlila Aparecida Gallina** Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia de Laticínios. Campinas, SP
- **Edson Gonçalves Moreira** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear. São Paulo, SP
- **Eduardo Pompeu** Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Biotério Central. São Paulo, SP
- **Endler Marcel Borges de Souza** Fundação Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Química. Blumenau, SC
- **Felipe Rebelo Lourenço** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia. São Paulo, SP
- **Fernando Gustavo Marques Violante** Instituto Nacional de Metrologia, Diretoria de Metrologia Científica e Industrial, Qualidade e Tecnologia. Duque de Caxias, RJ
- **Flávio Alves da Silva** Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia. Goiânia, GO
- **Francisco Chiaravalloti Neto** Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Epidemiologia. São Paulo, SP
- **Irene Satiko Kikuchi** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia, Laboratório de Controle Biológico de Qualidade de Medicamentos e Cosméticos. São Paulo, SP



- **Luiz Carlos Gonçalves Costa Junior** Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Instituto de Laticínios Candido Tostes, Centro de Ensino e Pesquisa. Juiz de Fora, MG
- **Márcia Elena Zanuto** Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar de Saúde. Vitória da Conquista, BA
- **Márcia Lombardo** Instituto Adolfo Lutz, Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes. São Paulo, SP
- **Marcia Regina Beux** Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Departamento de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas. Curitiba, PR
- **Maria Cristina Zborowski de Paula** Centro Universitário Filadélfia, Curso de Pós-graduação em Armazenamento de Grãos e a Segurança Alimentar. Londrina, PR
- **Patricia de Souza Santos** Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Programa de Pós-Graduação em Ciências. São Paulo, SP
- **Paulo Afonso Lopes** Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia de Construção. Rio de Janeiro, RJ
- **Pedro Ysmael Cornejo Mujica** Universidade Federal do Tocantins, Laboratório de Tecnologia de Carnes, Pescados e Derivados, Campus Universitário de Palmas. Palmas, TO
- **Regiane Maria Tironi de Menezes** Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), Laboratório de Entomologia Médica. São Paulo, SP
- **Renata Alexandra Moreira das Neves** Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Saúde Coletiva e Nutrição. Natal, RN
- **Sidinéia Cordeiro de Freitas** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, Laboratório de Físico-Química e Mineral. Rio de Janeiro, RJ
- **Silvia Conceição Reis Pereira Mello** Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, Centro Estadual de Pesquisa em Qualidade de Alimentos. Niterói, RJ
- **Ticiania Zwarg Dias Bianchi** Divisão da Fauna Silvestre da Prefeitura de São Paulo, Laboratório de Estudos da Fauna (LabFau) laboratório de patologia e de análises clínicas. São Paulo, SP
- **Valéria Adriana Pereira Martins** Instituto Adolfo Lutz, Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes, Núcleo de Ensaios Físicos e Químicos em Medicamentos. São Paulo, SP
- **Virginia del Carmen Troncoso Valenzuela** Fundação Ezequiel Dias, Serviço de Microscopia de Produtos. São Paulo, SP
- **Viviane de Paula Acosta Iglesia** Instituto Adolfo Lutz, Centro de Alimentos, Núcleo de Química, Física e Sensorial. São Paulo, SP

Agradecimento especial pela revisão do inglês

- **Leonardo José Tadeu Araújo**



SECRETARIA
DA SAÚDE

