



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607, de 17/10/05, D.O.U. nº 202, de 20/10/2005

ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

Priscilla Maysa Vieira de Sousa

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE PALMAS-TO

Palmas – TO

2015

Priscilla Maysa Vieira de Sousa

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS NO
MUNÍCIPIO DE PALMAS-TO

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. M.Sc. Marta Cristina de Menezes Pavlak

Palmas – TO

2015

Priscilla Maysa Vieira de Sousa

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ESPECIARIAS COMERCIALIZADAS NO
MUNICÍPIO DE PALMAS-TO

Trabalho de Conclusão de Curso submetido
ao Centro Universitário Luterano de Palmas
(CEULP/ULBRA), como parte dos requisitos
necessários para obtenção do Grau de
bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. M.Sc. Marta Cristina de
Menezes Pavlak

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. M.Sc. Marta Cristina de Menezes Pavlak

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP ULBRA

Prof. M. Sc. Grace Priscila Pelissari Setti

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP ULBRA

Prof. Dra. Dayane Otero Rodrigues

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP ULBRA

Palmas – TO

2015

RESUMO

SOUSA, PRÍSCILLA MAYSA VIEIRA. **Análise microbiológica de especiarias comercializadas no município de Palmas-TO**. 2015. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Bacharel em Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2015.

As especiarias são amplamente utilizadas na culinária para realçar o sabor dos alimentos, mas quando apresentam condições higiênico-sanitárias inadequadas, podem tornar-se veículo de microrganismos. Portanto o presente trabalho propõe identificar e quantificar microrganismos presentes em amostras de especiarias, tais como açafrão, canela, orégano e pimenta-do-reino, que foram adquiridas em supermercados de Palmas-TO. As técnicas de preparo pós-colheita de especiarias, realizadas manualmente podem contribuir para o surgimento de microrganismos, inclusive patogênicos, causando riscos à saúde humana, por isso é tão importante avaliar se há microrganismos, e se sua presença está acima do limite estabelecido pela legislação. Seguiu-se metodologia descrita por Silva e colaboradores (2010 b), em que foi empregada a técnica do Número Mais Provável (NMP), para coliformes totais e termotolerantes. Realizou-se a técnica de plaqueamento em superfície para contagem de bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras e *Salmonella sp.* Os resultados encontrados para a marca A, açafrão e pimenta-do-reino indicaram contaminação por coliformes totais, já canela e orégano não obtiveram. Para a marca B canela foi a única amostra sem contaminação, mas açafrão, orégano e pimenta-do-reino estavam contaminadas. Para coliformes termotolerantes, canela e orégano das duas marcas não apresentaram contaminação, porém açafrão das duas marcas e pimenta-do-reino apenas da marca B estavam acima do limite preconizado pela legislação. Todas as amostras analisadas apresentaram contaminação para bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras. E apenas açafrão de ambas as marcas exibiram presença de *Salmonella sp.* Conclui-se, que amostras de açafrão das duas marcas e pimenta-do-reino da marca B estavam reprovadas. Os resultados encontrados sugerem falhas na realização das Boas Práticas de Fabricação, ou seja, condições higiênicas sanitárias insatisfatórias, que propiciam a contaminação, podendo trazer riscos aos consumidores, decorrente de microrganismos patogênicos, por isso é tão importante avaliar estes alimentos.

Palavras-chaves: Condimentos. Qualidade microbiológica. Legislação.

Dedico este trabalho a Deus
À minha querida mãe Vanilda Vieira
A meu noivo Guilherme Santana
Ao meu irmão Marcos Vieira

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar ao meu querido Deus por guiar meus passos até a realização deste sonho e por jamais me deixar só. A minha mãe Vanilda que proporcionou meus estudos desde sempre. Ao meu noivo Guilherme, por todo apoio e companheirismo durante esta etapa. Ao meu irmão Marcos pelo incentivo. Ao meu pai Adonir. A todos os meus colegas e amigos que contribuíram de alguma forma para esta conquista. E a minha orientadora Marta Pavlak.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1 - (A) Folha e (B) Rizoma do <i>Curcuma longa</i> | 12 |
| Figura 2 - Folha do <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 13 |
| Figura 3 - Folhas e flores de <i>Origanum vulgare</i> | 14 |
| Figura 4 - (A) Folhas e (B) Frutos de <i>Piper nigrum</i> | 15 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1- Resultados para coliformes termotolerantes..... | 24 |
| Tabela 2- Resultados para bactérias mesófilas, bolores e leveduras..... | 26 |
| Tabela 3- Resultados para <i>Salmonella</i> sp. | 28 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 9 |
| 2 OBJETIVOS | 10 |
| 2.1 Objetivo geral | 10 |
| 2.2 Objetivos específicos | 10 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 11 |
| 3.1 História do uso das especiarias..... | 11 |
| 3.2 Especiarias..... | 12 |
| 3.2.1 Açafrão | 12 |
| 3.2.2 Canela | 13 |
| 3.2.3 Orégano | 14 |
| 3.2.4 Pimenta-do-reino..... | 15 |
| 3.3 Qualidade microbiológica das especiarias | 16 |
| 3.3.1 Coliformes totais e termo tolerantes..... | 17 |
| 3.3.2 Bactérias mesófilas aeróbias..... | 18 |
| 3.3.3 Bolores e leveduras..... | 19 |
| 3.3.4 <i>Salmonella</i> | 19 |
| 4 METODOLOGIA | 21 |
| 4.1 Obtenção das amostras | 21 |
| 4.2 Preparo das amostras | 21 |
| 4.3 Contagem para coliformes totais e termotolerantes | 21 |
| 4.4 Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias..... | 22 |
| 4.5 Bolores e leveduras..... | 22 |
| 4.6 Buscar presença de <i>Salmonella sp.</i> | 22 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 24 |
| 5.1 Coliformes totais e termotolerantes..... | 24 |
| 5.2 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras | 26 |
| 5.3 Buscar presença de <i>Salmonella sp.</i> | 28 |
| 6 CONCLUSÃO | 32 |
| REFERÊNCIAS | 33 |

1 INTRODUÇÃO

As plantas exercem importante influência na cultura humana, visto que desde a antiguidade o homem não mediu esforços para ter em sua mesa sementes, frutos, verduras, legumes, grãos, folhas, ervas, conhecidos como especiarias. Estas tinham a função de realçar o sabor e aroma dos alimentos, além de grande valor nutritivo e cultural, proporcionava grandes negócios no mundo comercial (BRACHT; CONCEIÇÃO; SANTOS, 2011).

Apesar de sua ampla utilização e inúmeros benefícios como fins medicinais, aromatizantes e conservantes, as especiarias são alimentos de origem vegetal e estão sujeitas a contaminação por microrganismos, que podem ser provenientes de uma produção em condições desfavoráveis e armazenamento em locais úmidos, que propiciam o crescimento desses microrganismos (SILVA et al., 2012).

Dessa forma, avaliar microbiologicamente especiarias tornou-se uma preocupação, pois o mercado consumidor está cada vez mais exigente com a qualidade dos alimentos. Um alimento contaminado pode inviabilizar sua comercialização, por conta de alteração ou deterioração, causando prejuízo ao produtor, além de acarretar enfermidades ao consumidor (SILVA et al., 2013).

Por meio da análise microbiológica é possível identificar a quantidade e tipos de microrganismos presentes, sendo os mais comumente encontrados coliformes totais, coliformes termotolerantes, bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, e *Salmonella* spp. (PEIXOTO; WECKWERH; SIMIONATO, 2009).

As técnicas artesanais geralmente utilizadas nas preparações pós-colheita de especiarias contribuem para o surgimento de microrganismos nestes alimentos. A presença destes microrganismos pode estar acima do limite permitido pela legislação, representando risco à saúde dos consumidores, pois além de influenciarem no aroma e sabor dos alimentos, pode causar toxiiinfecções, o que torna importante a verificação de sua presença nesses produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar microbiologicamente especiarias comercializadas no município de Palmas - TO.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar coliformes totais e termotolerantes nas amostras;
- Analisar a presença de bactérias mesófilas aeróbias nas amostras;
- Identificar o crescimento de bolores e leveduras nas amostras;
- Buscar a presença de *Salmonella* nas especiarias.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 História do uso das especiarias

A Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CENPA) de nº 12, de 1978, na parte intitulado CONDIMENTOS OU TEMPERO, no seu item 03, III afirma que:

III - Especiarias ou condimento vegetal - o produto de origem vegetal que compreende certas plantas ou parte delas, que encerram substâncias aromáticas, sápidas, com ou sem valor alimentício. O condimento vegetal, de acordo com a sua composição, pode ser simples, quando constituído por uma especiaria genuína e pura, e misto quando constituído da mistura de especiarias. (BRASIL, 1978; pag. 60)

As especiarias são muito utilizadas desde a pré-história. Compreendiam um conjunto de produtos, que serviam como condimentos, relaxantes, perfumes e unguentos coloridos, utilizados para tintura e tempero. Havia também a exploração comercial, sendo importante para disfarçar o gosto ruim dos alimentos, principalmente de carnes que estragavam em pouco tempo (PESTANA, 2013).

Esses produtos são provenientes de plantas com características especiais, não possuem apenas a função de realçar o sabor dos alimentos, mas quando utilizados de forma adequada, têm um importante papel na digestão no homem, por promoverem maior salivação, secreção mais abundante das glândulas digestivas e aumento do peristaltismo intestinal, facilitando, assim, a digestão do alimento até a fase final (SILVA et al., 2012).

Del Ré e Jorge (2012) comentam sobre as propriedades antioxidantes das especiarias, que se devem principalmente à presença de compostos fenólicos como, por exemplo, os flavonóides. Estes compostos atuam combatendo radicais livres, quelando metais de transição e interrompendo a reação de propagação dos radicais livres. O mecanismo de ação dos antioxidantes consiste no seqüestro dos metais catalizadores da formação dos radicais livres, aumentando a geração de antioxidantes endógenos. Características estas que tornam as especiarias cada vez mais interessantes ao consumidor, pois se tem a visão de trocar antioxidantes sintéticos por naturais obtidos dos condimentos.

Desde a antiguidade, acreditavam que as especiarias também possuíam propriedades terapêuticas. Inclusive essa função medicinal precedia a utilização da especiaria como condimento, pois os temperos empregados na cozinha no fim da Idade Média eram importados, a princípio, para finalidades medicinais e só depois para temperar alimentos (RODRIGUES; SILVA, 2010).

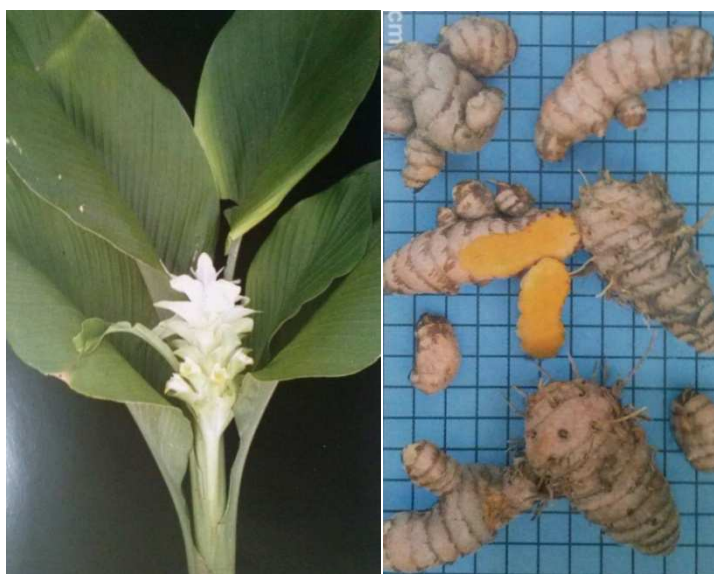
Rodrigues e Silva (2010) comentam que as especiarias eram diluídas ou neutralizadas com ácidos antes de serem adicionadas ao prato. Supunha-se que esses ácidos teriam a propriedade de se infiltrar nos canais mais estreitos e, assim, esperava-se que eles levassem o calor das especiarias para todas as partes do corpo. Dentre as especiarias mais utilizadas na culinária brasileira, destacam-se açafrão, canela, orégano e pimenta-do-reino.

3.2 Especiarias

3.2.1 Açafrão

O açafrão (*Curcuma longa*) é uma pequena erva aromática, de origem asiática pertencente à família *Zingiberaceae*, muito cultivada nos países tropicais como planta medicinal ou condimentar. Tem um rizoma principal longo mais grosso com várias ramificações menores, medindo até 10 cm de comprimento e, quando cortados, mostram uma superfície de cor vermelha alaranjada (Figura 1). Possui um cheiro forte, agradável e um sabor levemente picante, e quando mastigados colorem a boca de amarelo (MATOS, 2007).

Figura 1(A) Folha e (B) Rizoma do *Curcuma longa* (LORENZI; MATTOS, 2008).



O açafrão é uma especiaria utilizada desde a antiguidade, os egípcios utilizavam a mesma para pintar múmias, sendo o primeiro corante a ser utilizado na Histologia em 1714. Esta especiaria é utilizada tradicionalmente na medicina chinesa como remédio, pois atua contra a icterícia, no tratamento de problemas digestivos e hepáticos, como fluidificante do sangue e também na redução dos níveis de colesterol (PINTÃO; SILVA, 2008).

3.2.2 Canela

A canela do ceilão (*Cinnamomum zeylanicum* Ness) pertence à família Lauraceae, é originária de algumas regiões da Índia e do Ceilão e cultivada em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Sua planta possui folhas opostas, ovadas, com flores numerosas (Figura 2). A parte vegetal comercializada é o interior da casca do tronco e dos ramos obtidos de árvores com menos de seis anos e adequadamente cortados e dessecados para garantir seu sabor agradável típico (MATOS et al., 2004).

Figura 2: Folha do *Cinnamomum zeylanicum*
(LORENZI; MATTOS, 2008)



O principal uso da canela no comércio está mundialmente na perfumaria e culinária, devido suas propriedades aromáticas e condimentares, além de ser popularmente utilizada como estimulante, tônica, carminativa e antiespasmódica (PIO CORRÊA, 1984; COSTA, 1975; ALMEIDA, 1993 apud LIMA et al., 2005).

A canela possui algumas atividades farmacológicas, o seu óleo apresenta propriedades antifúngicas, antivirais, bactericidas e larvicidas. As propriedades antissépticas e anestésicas devem-se ao composto eugenol presentes na canela. Tem sido utilizada também no tratamento de anorexia, cólica intestinal, diarreia em crianças, resfriado comum e sensação de desconforto digestivo com náusea, o uso da casca da canela também possui ação adstringente (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2012).

3.2.3 Orégano

Origanum vulgare L. é uma planta herbácea, perene, ereta, aromática, de hastes algumas vezes arroxeadas, de 30-50 cm de altura, suas folhas são esparso-pubescentes, de 1-2 cm de comprimento. Flores esbranquiçadas, róseas ou violáceas, reunidas em inflorescências paniculadas terminais, Figura 3 (LORENZI; MATTOS, 2008).

Figura 3: Folhas e flores de *Origanum vulgare*
(LORENZI; MATTOS, 2008)



O orégano (*Origanum vulgare* L.) pertencente à família *Lamiaceae* é uma planta condimentar e medicinal, apreciada em muitos países sendo utilizadas em panificação, pizzas e diversas massas. A espécie é originária da

região mediterrânea da Europa, Norte da África e Oriente Médio. O Brasil é um dos maiores importadores de orégano chileno (CORRÊA, 2008).

Esta erva tem sido utilizada também na medicina popular desde a antiguidade, o que se deve às suas propriedades tais como: um potente cicatrizante de feridas e úlceras gástricas, indução de partos, anti-hemorrágico, estimulante do sistema nervoso e digestivo, além de antioxidante (YUNES E CALIXTO, 2001 apud CLEFF, 2008).

3.2.4 Pimenta-do-reino

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma trepadeira perene da família das *Piperaceae*, originária da Índia, mas introduzida no Pará por imigrantes japoneses. As flores da pimenta-do-reino são esbranquiçadas, pequenas e numerosas, estão dispostas em espigas de 30 a 50 frutos de cor vermelha quando maduros e se tornam pretos depois de um processo de fermentação controlada e dessecação ao sol (Figura 4). Os frutos triturados são amplamente usados como temperos de carnes e derivados (MATOS, 2007).

Figura 4: (A) Folhas e (B) Frutos de *Piper nigrum* (LORENZI; MATTOS, 2008)



A pimenta-do-reino possui uma ampla variedade de metabólicos, distribuídos em diferentes classes de compostos, como por exemplo: amidas/alcalóides, propenilfenalinas. Além de ser rica em retinol (vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), tercoferol (vitamina E), em minerais como ferro e

potássio, que são substâncias excelentes para o bom funcionamento do organismo (BOMTEMPO, 2007; BONG et al., 2010 apud CARNEVALLI; ARAÚJO, 2013).

A maior importância dessa planta é o fato de possuir elevados teores de alcaloides em seus frutos, que lhe confere o sabor picante característico que quando secos, são utilizados como condimento (GAIA et al., 2007). A piperina é o alcalóide majoritário da pimenta-do-reino, é uma substância química que apresenta propriedades terapêuticas, sendo efetiva sobre o sistema imunológico, em doenças que levam a imunossupressão. Possui também atividade citotóxica, antiinflamatória, antipirética, analgésica, antioxidante, antitumoral, antifúngico e bactericida (CARDOSO et al., 2005 apud CARNEVALLI; ARAÚJO, 2013).

Como todos os alimentos destinados ao consumo humano, as especiarias raramente são obtidas em estado estéril ou descontaminado, estando sujeitas à contaminação microbiológica ocasionada pelas condições sanitárias inadequadas durante a estocagem, o transporte ou até mesmo no processo de manipulação. Portanto, alimentos contaminados representam perdas econômicas e principalmente colocam em risco a saúde da população, tornando-se importante avaliar sua qualidade microbiológica (FURLANETO; MENDES, 2004).

3.3 Qualidade microbiológica das especiarias

A avaliação da qualidade microbiológica de alimentos é muito importante para saber a quantidade e tipo de microrganismo presente. É interessante do ponto de vista da Saúde Pública, visto que muitos alimentos são veículos ou substratos adequados para o transporte ou proliferação de microrganismos patogênicos, produzindo surtos de intoxicação ou toxi-infecções alimentares; e sob o aspecto econômico, em que a alteração ou deterioração do alimento inviabiliza a venda do mesmo, gerando prejuízo ao produtor (PEIXOTO; WECKWERH; SIMIONATO, 2009).

Sob o ponto de vista microbiológico, o contato com umidade, temperatura e manipulação inadequadas desde sua produção até sua comercialização e distribuição, contendo cada via seus próprios meios de

contaminação, podem acarretar enfermidades ao consumidor (FRITZEN et al., 2006 apud SILVA et al., 2013).

De acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, há estabelecida uma tolerância de microrganismos presentes em alimentos. Em amostras de especiarias íntegras ou moídas é permitido até 5×10^2 para coliformes termotolerantes, já para *Salmonella* sp, é exigido ausência de contaminação em 25g de produto (BRASIL, 2001).

As doenças mais comuns transmitidas por alimentos contaminados podem ser de origem física, química e microbiológica. As toxinfecções alimentares de origem microbiana são as mais preocupantes, pois ocorrem com maior frequência e têm um importante papel na diminuição da produtividade. Dentre os microrganismos mais encontrados em especiarias destacam-se os coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores, leveduras, aeróbios mesófilos e *Salmonella* sp. (MESQUITA; DANIEL; SACCOL, 2006).

3.3.1 Coliformes totais e termotolerantes

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae*. Mais de 20 espécies se encaixam nessa definição, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos, como também de bactérias não entéricas. Os coliformes termotolerantes são um subgrupo dos coliformes totais, que seleciona bactérias de origem fecal ou não. A *Escherichia coli* está incluída nos dois grupos, seu habitat natural é o trato intestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais como ambiente, ar, animais e pragas (SILVA et al., 2010 a).

As enterobactérias são anaeróbios facultativos, que fermentam uma ampla variedade de carboidratos, além de possuírem uma complexa estrutura antigênica e produzirem diversas toxinas e outros fatores de virulência como lipídio A e peptidoglicano que estimulam a produção de citocinas, sistema de secreção do tipo III e resistência aos antimicrobianos (BROOKS; BUTEL; MORSE, 2000).

Nos meios de cultivo contendo lactose, por exemplo, os coliformes totais são capazes de fermentá-la com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C, esta característica é utilizada nos métodos de contagem de coliformes totais. Já os coliformes termotolerantes, são capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, também com produção de gás (SILVA et al., 2010 b).

A *Escherichia coli*. faz parte da microbiota intestinal normal do homem, sendo encontrada nas fezes de todos os indivíduos normais. Esta associação das fezes do homem (e também dos animais) representa a base do teste para verificar a contaminação de origem fecal em alimentos, o que pode justificar sua ampla utilização pela Saúde Pública, devido em termos quantitativos ser provavelmente o patógeno humano mais importante (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

3.3.2 Bactérias mesófilas aeróbias

A contagem de aeróbios mesófilos não diferencia tipos de bactérias, é utilizado para obter informações gerais sobre a qualidade dos produtos, condições de processamento, manipulação. Populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo (SILVA et al., 2010 b).

As bactérias mesófilas aeróbias como, por exemplo, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *Bacillus Cereus* são indicadoras da qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo na ausência de patógenos, o número elevado indica que o alimento está insalubre. Se a quantidade encontrada no alimento, por exemplo, for maior que 10^6 UFC/g, já se pode observar alterações detectáveis no alimento. Uma contagem elevada em alimentos não perecíveis indica processamento inadequado do ponto de vista sanitário, ou que a matéria-prima estava contaminada (CARVALHO, 2010).

Apesar da contagem de aeróbios mesófilos ser um método simples, com importante significado na microbiologia alimentar, por avaliar a qualidade microbiológica geral dos alimentos, os resultados obtidos não reprovam a amostra, portanto não garantem a segurança sanitária dos produtos (MARQUES, 2011).

3.3.3 Bolores e leveduras

Os fungos encontram-se presentes em vegetais, animais, no homem, em detritos e em abundância no solo, participando ativamente do ciclo dos elementos na natureza. São espalhados na natureza por várias vias, como animais, homens, insetos, água e, principalmente pelo ar atmosférico, através dos ventos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Devido à forma de armazenamento das especiarias em locais úmidos com pouca ventilação, os fungos podem ser considerados predominantes em especiarias, pois estas condições facilitam a multiplicação das espécies contaminantes podendo atingir níveis insatisfatórios para consumo. Podem ser responsáveis pela deterioração dos alimentos e pela produção de micotoxinas carcinogênicas (SILVA et al., 2012).

Os fungos se desenvolvem em meios especiais de cultivo formando colônias de dois tipos: leveduriformes e filamentosas. As colônias leveduriformes, em geral, são pastosas ou cremosas e caracterizam o grupo das leveduras. São microrganismos unicelulares, em que a própria célula cumpre as funções vegetativas e reprodutivas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

As leveduras constituem um grande grupo de microrganismos, a maioria originária do solo ou ar. Muitas são incapazes de assimilar nitrato e carboidratos complexos, algumas exigem vitaminas, já outras espécies não conseguem utilizar a sacarose como única fonte de carbono. Esses fatores limitam uma gama de alimentos susceptíveis à deterioração por leveduras. As leveduras são bastante resistentes a pH ácido e muitas espécies são capazes de crescer na completa ausência de oxigênio (SILVA et al., 2010 b).

3.3.4 *Salmonella*

Salmonella é um gênero da família Enterobacteriaceae, definido como bastonetes Gram negativos não esporogênicos, anaeróbios facultativos e oxidase negativos. As *Salmonellas* são classificadas em duas espécies: *S. entérica* e *S. bongori*, sendo que existem atualmente 2.501 sorotipos de *Salmonella*, entre os quais 1.478 pertencem a *S. entérica* subespécie I, sendo

estas mais comumente encontradas em doenças humanas, que tem por habitat os animais de sangue quente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Os sorotipos de *S. entérica* subespécie I causam infecções em vários animais de sangue quente, mostram uma variação quanto à especificidade a diferentes hospedeiros. Alguns sorotipos são mais restritos, a *S. typhi*, por exemplo, é adaptada e restrita ao ser humano, enquanto *S. typhimurium* causa gastroenterite, até mesmo septicemia, pode causar também diarreia letal em bovinos ou uma doença sistêmica em camundongos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

A *Salmonella* spp. é responsável por graves intoxicações alimentares, sendo um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países. A sua presença em alimentos é um relevante problema de saúde pública, pois os sinais e sintomas podem ser mal diagnosticados. Destaca-se que a maioria dos sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem, apresentando diferentes sintomatologias como dor de cabeça, febre, vômito, cólicas, náuseas e diarreia, em decorrência da variação no mecanismo de patogenicidade (SHINOHARA et al., 2008).

Os coliformes totais, termotolerantes, bactérias mesófilas aeróbias, fungos, leveduras e *Salmonella* sp. são grupos ou espécies de microrganismos denominados indicadores. Quando presentes em alimentos podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, provável presença de patógenos, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção e armazenamento. Portanto, avaliar sua presença em especiarias é muito importante, devido estes alimentos possuírem baixa umidade não se imagina que possa haver uma contaminação (CARVALHO, 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção das amostras

Foram utilizadas as seguintes especiarias: pimenta-do-reino, orégano, canela e açafrão. Todas as amostras estavam na forma de pó, exceto o orégano estava na forma de folhas, mas não houve necessidade de pulverização das amostras. Coletou-se um lote de cada especiaria da marca A e um lote de cada especiaria da marca B nos supermercados do município Palmas - TO, totalizando 08 amostras.

4.2 Preparo das amostras

Seguiu-se a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2010 b). Pesou-se 25g de cada amostra e transferiu-se para um erlenmeyer contendo 225 ml de água peptonada estéril. Manualmente foi agitada a mistura com auxílio de um bastão de vidro, seguida por um período de descanso de 5 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, realizou-se diluições seriadas (10^{-2} , 10^{-3}) utilizadas para as análises microbiológicas.

4.3 Contagem para coliformes totais e termotolerantes

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com a combinação de 3 tubos, contendo caldo Lauril SulfatoTryptose (LST), em seguida adicionou-se 1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Os tubos inoculados foram incubados em estufa à 35°C por um período de 24-48 horas. Após este período, foram considerados positivos os tubos que apresentarem turvação do meio e produção de gás (SILVA et al., 2010 b).

De acordo com Silva e colaboradores (2010 b), para a confirmação da contaminação por coliformes totais e termotolerantes, retirou-se uma alçada dos tubos que apresentaram turvação e transferiu-se para tubos contendo meios seletivos como Caldo Verde Brilhante (VB) e Caldo *E. coli* (EC)

Os tubos contendo VB foram utilizados para detectar coliformes totais, os mesmos foram incubados em estufa à 35° por 24 horas. Para determinar coliformes de origem fecal, utilizou-se tubos contendo caldo EC, incubados em banho-maria à 45°C por um período de 24 horas (SILVA et al., 2010 b).

4.4 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias

Realizou-se o método de plaqueamento em superfície. Pipetou-se 0,1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) na superfície de placas de Petri esterilizadas contendo meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA), fazendo de cada diluição placas em duplicata. Em seguida promoveu-se o espalhamento das diluições com o auxílio de uma alça de Drigalski.

As placas foram incubadas invertidas em estufa à 35-37°C por um período de 5 dias. Transcorrido o tempo de incubação, fez-se a contagem das unidades formadoras de colônias, com o auxílio de um contador de colônias, das duplicatas que apresentaram número entre 30 e 300 UFC; multiplicou-se a média das duplicatas pelo respectivo fator de diluição (SILVA et al., 2010 b).

4.5 Bolores e leveduras

Realizou-se o método de plaqueamento em superfície. Pipetou-se 0,1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) na superfície de placas de Petri esterilizadas contendo meio de cultura Ágar Batata Dextrose, fazendo de cada diluição placas em duplicata. Em seguida promoveu-se o espalhamento das diluições com o auxílio de uma alça de Drigalski.

As placas foram incubadas invertidas em estufa à 35-37°C por um período de 5 dias. Transcorrido o tempo de incubação, fez-se a contagem das unidades formadoras de colônias, com o auxílio de um contador de colônias, das duplicatas que apresentaram número entre 30 e 300 UFC; multiplicou-se a média das duplicatas pelo respectivo fator de diluição (SILVA et al., 2010 b).

4.6 Buscar presença de *Salmonella* sp.

Realizou-se o método de plaqueamento em superfície. Pipetou-se 0,1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) na superfície de placas de Petri esterilizadas contendo meio de cultura Ágar *Salmonella-shigella*, fazendo de cada diluição placas em duplicata. Em seguida promoveu-se o espalhamento das diluições com o auxílio de uma alça de Drigalski.

As placas foram incubadas invertidas em estufa à 35-37°C por um período de 5 dias. Transcorrido o tempo de incubação, fez-se a contagem das

unidades formadoras de colônias, com o auxílio de um contador de colônias, das duplicatas que apresentaram número entre 30 e 300 UFC; multiplicou-se a média das duplicatas pelo respectivo fator de diluição (SILVA et al., 2010 b).

Os resultados obtidos com o presente estudo foram comparados com o padrão estabelecido pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Coliformes totais e termotolerantes

Após a análise, foram encontrados os seguintes resultados para coliformes totais e termotolerantes em especiarias de marcas diferentes, comercializadas no município de Palmas-TO, expostas na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados encontrados para coliformes totais e termotolerantes em especiarias comercializadas no município de Palmas-TO.

| Amostras | Coliformes Totais NMP/g | | Coliformes Termotolerantes NMP/g | |
|-----------------------|-------------------------|---------------------|----------------------------------|---------------------|
| | Marca A | Marca B | Marca A | Marca B |
| Açafrão | $> 1,1 \times 10^3$ | $> 1,1 \times 10^3$ | $> 1,1 \times 10^3$ | $> 1,1 \times 10^3$ |
| Canela | $< 0,3 \times 10^1$ | $< 0,3 \times 10^1$ | $< 0,3 \times 10^1$ | $< 0,3 \times 10^1$ |
| Orégano | $< 0,3 \times 10^1$ | $1,1 \times 10^1$ | $< 0,3 \times 10^1$ | $< 0,3 \times 10^1$ |
| Pimenta-do-reino | $9,3 \times 10^1$ | $1,1 \times 10^3$ | $9,3 \times 10^1$ | $> 1,1 \times 10^3$ |
| Preconizado RDC 12/01 | - | - | 5×10^2 | 5×10^2 |

NMP: Número Mais Provável.

De acordo com a tabela 1, dentre as especiarias da marca A, o açafrão apresentou o maior índice de contaminação por coliformes totais, seguido da pimenta-do-reino. A canela moída e o orégano apresentaram baixa contaminação por coliformes totais. As amostras da marca B indicaram uma contaminação elevada, o açafrão atingiu o maior índice de contaminação, seguido da pimenta-do-reino e orégano. A canela em pó foi a única amostra da marca B que não apresentou elevada contaminação para coliformes totais.

O grupo dos coliformes totais é utilizado como um indicador das condições higiênico-sanitárias do ambiente de processamento dos alimentos. De acordo com Silva Júnior (2012), estas condições higiênico-sanitárias consistem num conjunto de boas práticas que devem ser realizadas no local de

fabricação dos alimentos que visam melhorar a higiene como um todo. Por meio de procedimentos de higiene pessoal como lavagem correta das mãos, uso de uniformes ou jalecos; higiene ambiental, através da limpeza dos equipamentos, utensílios de preparação; armazenamento correto dos produtos, e cuidados com os alimentos transportados, desde a colheita até a exposição este conjunto de ações pode evitar a contaminação por microrganismos.

Nos resultados apresentados para coliformes termotolerantes (Tabela 1), as amostras da marca A, alcançaram resultados semelhantes aos de coliformes totais, canela e orégano, atingiram resultados abaixo do preconizado e pimenta-do-reino uma pequena contaminação. O açafrão apresentou resultado acima do limite estabelecido pela legislação para as duas marcas analisadas, além da pimenta-do-reino da marca B, que também estava acima do limite. A Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, estabelece uma tolerância de 5×10^2 para coliformes termotolerantes. O açafrão de ambas as marcas e pimenta-do-reino da marca B apresentaram valores superiores a $1,1 \times 10^3$.

Em 2004, Furlaneto e Mendes, ao realizar análise microbiológica de especiarias comercializadas em hipermercados e feiras livres, em 10 amostras de especiarias analisadas, encontraram resultados para coliformes termotolerantes que variavam de 0,3 a 110 NMP/g, sendo que canela apresentou $0,4 \times 10^1$ NMP/g e orégano $2,1 \times 10^1$ NMP/g.

Em um estudo realizado na região metropolitana de Curitiba-PR, com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do gengibre “in natura”, verificou-se que das 10 amostras analisadas, todas apresentaram índices superiores a 10^3 NMP/g para coliformes totais e 5 amostras estavam acima do limite permitido para coliformes termotolerantes, assim como o açafrão analisado no presente trabalho que apresentou índice maior que 10^3 para termotolerantes (ELPO; NEGRELLE; GOMES, 2004).

Os coliformes termotolerantes podem ser considerados microrganismos indicadores, ou seja, são grupos ou espécies de bactérias que quando presentes em um alimento sugerem a ocorrência de contaminação. Segundo Silva e colaboradores (2010 b), os coliformes termotolerantes são capazes de fermentar a lactose a 45°C , a *Escherichia coli* e algumas cepas da *Klebsiella* e *Enterobacter* se enquadram nesse perfil, mas somente a *E. coli* tem como

habitat primário o intestino humano e de animais. A *Klebsiella* e *Enterobacter* são encontradas em vegetais e no solo, portanto não é correto afirmar que determinado alimento apresenta contaminação de origem fecal, apenas porque foi encontrado coliforme termotolerante, mas sugere-se que pode ter havido contaminação de origem fecal.

5.2 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras

Após a realização das análises em especiarias das duas marcas diferentes, foram obtidos os seguintes resultados para bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, expostos na Tabela 2.

Tabela 2– Resultados encontrados para bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, em amostras de especiarias comercializadas no município de Palmas-TO.

| Amostras pó | Bactérias mesófilas aeróbias UFC/g | | Bolores e leveduras UFC/g | |
|------------------|---------------------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| | Marca A | Marca B | Marca A | Marca B |
| Açafrão | $3,3 \times 10^4$ | $1,2 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^5$ | $1,4 \times 10^5$ |
| Canela | $6,5 \times 10^4$ | $8,3 \times 10^4$ | $3,8 \times 10^4$ | $5,1 \times 10^4$ |
| Orégano | $3,2 \times 10^3$ | $1,1 \times 10^5$ | $5,6 \times 10^3$ | $9,9 \times 10^4$ |
| Pimenta-do-reino | $4,1 \times 10^5$ | $4,1 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^4$ |

UFC – Unidade formadora de colônia

Observa-se na tabela 2 que todas as amostras apresentaram contaminação por bactérias aeróbias mesófilas, sendo que as especiarias da marca B apresentaram um maior número de contaminação e que a pimenta-do-reino de ambas as marcas obteve o maior índice.

A legislação ainda não estabeleceu um padrão para avaliar a quantidade de bactérias presentes em alimentos que possa torná-lo impróprio para o consumo. Segundo Silva e colaboradores (2010 b), a contagem total de

aeróbios mesófilos não diferencia tipos de bactérias, ou seja, é um método utilizado para se ter informações gerais sobre a qualidade dos alimentos, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. Porém, não é um indicador de segurança devido não apresentar relação direta com a presença de patógenos ou toxinas. Mas avaliar a presença destas bactérias torna-se importantes, devido a altas populações destes microrganismos em alimentos sugerirem falhas na sanitização do local de produção.

Observa-se na tabela 2, que todas as amostras analisadas de especiarias apresentaram contaminação por bolores e leveduras. Loyola e colaboradores (2014), ao analisarem especiarias comercializadas em feiras livres e supermercados em Pouso Alegre, Minas Gerais, em 20 amostras analisadas, observou-se que canela em pó coletada em feira apresentou contaminação por bolores com valores de 1×10^5 UFC/g e amostras de orégano coletadas em feiras e supermercados apresentaram contaminação abaixo de 1×10^5 UFC/g.

Furlaneto e Mendes (2004) ao realizar análise microbiológica de especiarias comercializadas em feiras e hipermercados do município de Londrina-PR, na contagem total de mesófilos encontrou valores entre $4,1 \times 10^3$ a 10^6 UFC/g em especiarias comercializadas em feiras e de $1,0 \times 10^3$ a 10^6 UFC/g nas amostras comercializadas em hipermercados. A presença destes microrganismos pode causar alterações sensoriais do produto.

A presença desses microrganismos em alimentos também é sugestiva de condições higiênicas deficientes. As especiarias estão frequentemente expostas a muitos contaminantes. Segundo Rodrigues e colaboradores (2005), as condições de estocagem, como armazenar os condimentos em locais úmidos, com problemas na higienização, com temperatura inadequada para a especiaria, mas que favoreça o crescimento de fungos pode contribuir para a contaminação por estes microrganismos. Contagens altas de fungos em alimentos podem trazer riscos aos consumidores, pois estes podem produzir micotoxinas carcinogênicas.

As especiarias não sofrem deterioração como os demais alimentos devido ao processo de desidratação, mas como são adicionados a estes para realçar o sabor, pode intensificar a contaminação microbiana, podendo também

alterar o sabor dos alimentos, diminuindo sua qualidade (RODRIGUES et al., 2005).

5.3 Presença de *Samonella sp.*

Os resultados encontrados para *Salmonella*, em análises de especiarias da marca A e B, estão exposto na Tabela 3 comercializadas no município de Palmas-TO.

Tabela 3 - Resultados encontrados para *Samonella*.

| Amostras | <i>Samonella</i> UFC/g | |
|-----------------------|------------------------|----------|
| | Marca A | Marca B |
| Açafrão | Presença | Presença |
| Canela | Ausência | Ausência |
| Orégano | Ausência | Ausência |
| Pimenta-do-reino | Ausência | Ausência |
| Preconizado RDC 12/01 | Ausência | Ausência |

UFC – Unidade formadora de colônia

Dentre todas as amostras analisadas, açafrão foi a única que apresentou contaminação por *Salmonella spp.* para ambas as marcas.

A presença desse microrganismo em alimentos é preocupante, pois a *Salmonella spp.* é uma bactéria entérica responsável por graves intoxicações alimentares. A possibilidade de haver a presença deste microrganismo em especiarias pode ocorrer desde a colheita, transporte, até armazenamento impróprio, em locais úmidos, sem controle correto da temperatura que propiciam a contaminação (RODRIGUES et al., 2005). Os resultados encontrados sugerem que as condições higiênico-sanitárias de ambos os locais de fabricação estão deficientes, ou seja, as boas práticas de fabricação não foram bem executadas.

Em uma pesquisa publicada pela Portaria SDA no 44, de 08 de maio de 2015, o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes nas culturas agrícolas de Pimenta do reino, foram encontrados contaminantes como *Salmonella spp.* que não são permitidos presença pela legislação. Foram analisadas 16 amostras de pimenta do reino (12 do Espírito Santo e 4 do Pará), 13 amostras estavam conformes, mas em 3 amostras analisadas foi detectada a presença desta.

De acordo com Marques (2011), os casos em que a presença de *Salmonella* em alimentos provoca doença, ocorrem quando uma pessoaingere células de *Salmonella* que sobrevivem à passagem pelo estômago, crescem e se multiplicam no intestino, provocando sintomas de cólicas abdominais, diarreia, febre e vômito.

De forma geral, a canela e o orégano foram especiarias analisadas que apresentaram o menor índice de contaminação. Isto pode ocorrer devido à presença de óleos essenciais nestes condimentos, que possuem substâncias químicas que atuam como antimicrobianos. Dentre os componentes presentes no óleo, destacam-se os hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, em diferentes concentrações. Mas, não significa que estas especiarias estão livres de contaminação, pois muitos microrganismos podem apresentar resistência às substâncias químicas presentes (SIMÕES; SPITZER, 2000 apud SANTURIO et al., 2011).

Conforme Luzzi (2010), a canela apresenta em sua composição química o aldeído cinâmico presente na casca e o eugenol presente na folha. O aldeído cinâmico é responsável pelo odor característico da canela, já o eugenol presente no óleo essencial, tem sido apontado como o principal componente contra os microrganismos.

O orégano também apresenta em sua estrutura química substâncias antimicrobianas, como timol e isotimol. O mecanismo de ação dessas substâncias se justifica devido os compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais serem hidrofóbicos, sendo que seu sítio de ação é a membrana celular da célula microbiana. Os compostos acumulam-se na bicamada lipídica provocando um desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram na célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular,

provocando lise e liberação do DNA intracelular (WALSH et al., 2003 apud SILVA et al., 2010 a).

O açafração também contém óleo essencial, com compostos que apresentam atividade antimicrobiana, mas sua efetividade frente a microrganismos deteriorantes de alimentos é pouco estudada. De acordo com Takeuchi (2012), o óleo essencial curcumina e resina possuem ação contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Sacharomices cerevisiae* e *Candida albicans*.

Já o extrato aquoso e etanólico da pimenta-do-reino apresentam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*. Mas os mecanismos pelos quais os microrganismos sobrevivem à ação biológica dos compostos antibacterianos ainda não são bem compreendidos (CHAUDHRY; TARIQ, 2006 apud CARNEVALLI; ARAÚJO, 2013).

A presença de umidade em especiarias não é a causa predominante para contaminação por microrganismos. Existem muitos fatores que podem contribuir para a contaminação microbiológica de alimentos. Pode-se ocorrer a transmissão da contaminação de forma direta, em que o homem a faz através de si, por meio de resíduos de origem fecal, nariz (coriza, espirros), boca (tossir, falar sobre os alimentos), mãos (mal lavadas, com cortes, alergias). A contaminação pode ocorrer também por transmissão indireta, por meio dos vetores como moscas, baratas e ratos que carregam consigo material contaminado. E pela transmissão ambiental, em que os vetores contaminam o ambiente no qual o alimento é manipulado como superfícies de trabalho, utensílios e equipamentos (SILVA JÚNIOR, 2012).

Portanto, apenas a presença de substâncias com ação antimicrobiana em especiarias, não garante a estabilidade do alimento, pois a quantidade presente é relativamente baixa em relação aos inúmeros fatores contaminantes.

Microrganismos presentes em alimentos podem originar alterações indesejáveis nos mesmos, prejudicando a qualidade. Mas o maior problema está na possibilidade de veiculação de patógenos causando doenças ao consumidor. As doenças transmitidas por alimentos podem desenvolver quadros clínicos gastrentéricos ou alérgicos. A agressividade do microrganismo

depende de sua capacidade de penetrar nos tecidos e se multiplicar causando lesões e invadindo outros tecidos, provocando sintomas típicos de uma infecção, como inflamação, dor, febre, rubor e formação de pus (SILVA JÚNIOR, 2012).

Dessa forma as amostras de açafrão da marca A e B e pimenta-do-reino da marca B foram consideradas reprovadas, por não atenderem a legislação em relação à presença de microrganismos em especiarias.

6 CONCLUSÃO

Após a realização da análise microbiológica de especiarias comercializadas em supermercados no município de Palmas-TO, pode-se concluir que amostras de açafrão e pimenta-do-reino apresentaram contaminação por microrganismos potencialmente patogênicos e deteriorantes.

Especiarias contaminadas levam a preocupação com a higiene dos manipuladores, utensílios e equipamentos, além das condições de armazenamento das mesmas. Pois, a contaminação por microrganismos, principalmente *Salmonella* sp., apresentam riscos à saúde dos consumidores, sugerindo a necessidade de adoção de Boas Práticas de Fabricação, através da higiene pessoal, os equipamentos e utensílios devem estar em boas condições, a empresa deve estabelecer um cronograma de limpeza e sanitização, deve haver um controle de pragas e vetores, ações que garantem a qualidade e treinamentos para capacitar os profissionais.

Conclui-se que as amostras de açafrão da marca A e B e pimenta-do-reino da marca B analisadas no presente estudo estão reprovadas, por não atenderem a Legislação em relação à presença de microrganismos em especiarias. Entretanto, devido à pequena quantidade ingerida diariamente de especiarias, apesar de existir a contaminação, os riscos causados pela presença de microrganismos nestes alimentos também é menor. Mas como são alimentos amplamente utilizados, é de suma importância avaliar a presença de microrganismos patogênicos.

REFERÊNCIAS

- BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Fitoterápicos**. 3ª edição. Artmed. Porto Alegre, 2012.
- BRACHT, F.; CONCEIÇÃO, G. C.; SANTOS, C. F. M. A América conquista o mundo: uma história da disseminação das especiarias americanas a partir das viagens marítimas do século XVI. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão (PR), v. 2, n. 1, p.11-16, 2011.
- BRASIL, Agencia Nacional. Vigilância Sanitária Resolução - CNNPA nº 12, 1978. **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. São Paulo – SP. Julho, 1978.
- BRASIL, Agencia Nacional. Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo**. Janeiro de 2001
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SDA nº 44, 2015. **Publicada no DOU – Seção 01**. Maio, 2015.
- BROOKS, G. F.; BUTEL, J.; MORSE, S. A. **Jawetz, Melnick e Adelberg Microbiologia Médica**. 21 ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ, 2000.
- CARNEVALLI, D. B.; ARAÚJO, A. P. S. Atividade biológica da pimenta preta (*Piper nigrum* L.): Revisão de Literatura. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 41-46. Maringá - PR, Dez. 2013.
- CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos Alimentos**. Programa Escola Técnica Aberta do Brasil (ETEC). Recife: EDUFRPE, 2010.
- CLEFF, M. B. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. frente a fungos de importância em veterinária com ênfase em *Candida* Spp.** Requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias. Porto Alegre, 2008.
- CORRÊA, R. M. **Adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz no crescimento de plantas características anatômicas e composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.)**. Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2008.
- DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.
- ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. Avaliação da Qualidade Microbiológica do Gengibre “in natura” comercializado na região Metropolitana de Curitiba, PR. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 139 -146, ISSN: 1518-5192, 2004.

FURLANETO, L.; MENDES, S. Análise microbiológica de especiarias comercializadas em feira livre e em hipermercados. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 87-91, 2004.

GAIA, J. MD.; MOTA, M. GC.; DERBYSHIRE, M. T. VC.; OLIVEIRA, V. R.; COSTA, M. R.; MARTINS, C. S. M.; POLTRONIERI, M. C. Caracterização de acessos de pimenta-do-reino com base em sistemas enzimáticos. **Horticultura Brasileira**. v. 25, n. 3, jul.-set. 2007.

LIMA, M. P.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H.; SILVA, T. M. D.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Acta Amazonica**. V. 35, n. 3, p. 363-366. Manaus-AM, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. M. **Plantas Medicinais no Brasil, Nativas e Exóticas**. 2 ed. Nova Odessa – São Paulo, 2008.

LOYOLA, A. B. A. T.; SIQUEIRA, F. C.; PAIVA, L. F.; SCHREIBER, A. Z. Análise Microbiológica de especiarias comercializadas em Pouso Alegre, Minas Gerais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 5, n. 1, p. 515-529. Pouso Alegre-MG, 2014.

LUZZI, C. J. **Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de folhas de louro – *Laurusnobilis* L. – Frente às bactérias *Escherichia coli* e *Salmonellaenteritidis***. Monografia apresentada para obtenção de título de Bacharel em Química Industrial. Lajeado, 2010.

MARQUES, C. S. S. **Determinação da vida útil de pastéis sortidos**. Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Lisboa, 2011.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: Guia de Seleção e Emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 3 edição. Editora: UFC. P. 394, 2007.

MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A.; SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L. **Constituintes Químicos Ativos e Propriedades Biológicas de Plantas medicinais brasileiras – 2ª edição**. Editora: UFC, ISBN: 85-7282-147-3, p. 448, 2004.

MESQUITA, M. O.; DANIEL, A. P.; SACCOL, A. L. F. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 198-203. 2006.

PEIXOTO, D.; WECKWERH, P. H.; SIMIONATO, E. M. R. S. Avaliação da qualidade microbiológica de produtos de confeitaria comercializados na cidade de Ribeirão Preto/SP. **Alimento e Nutrição**. Araraquara v. 20, n. 4, p. 611-615, ISSN 0103-4235, 2009.

PESTANA, F. **No tempo das especiarias: O império da pimenta e do açúcar**. 4 ed. São Paulo: Contexto, 2013.

PINTÃO, A. M.; SILVA, I. F. A verdade sobre o açafrão. **Workshop Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos**. IICT /CCCM, 29, 30 e 31 de Outubro de 2008.

RODRIGUES, R. S.; SILVA, R. R. A história sob o olhar da química: As especiarias e sua importância na alimentação humana. **Química nova escola**. v. 32, n. 2, 2010.

RODRIGUES, R. M. M. S.; MARTINI, M. H.; CHIARINI, P. F. T.; PRADO, S. P. T. Matérias estranhas e identificação histológica em manjerona (*Origanum majorana* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e salsa (*Petroselinum sativum* Hoffm.), em flocos, comercializados no estado de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1. São Paulo, 2005.

SANTURIO, D. F.; COSTA, M. M.; MABONI, G.; CAVALHEIRO, C. P.; FACCO DE SÁ, M.; POZZO, M. D.; ALVES, S. H.; FRIES, L. L. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1051-1056. Santa Maria-RS, Jun, 2011.

SHINOHARA, S. N. K.; BEZERRA, B. V.; CASTRO, J. S. M.; C, L. M. E.; FIREMAN, D. R. A.; LIMA, J. L. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, v. 13, n. 5, p. 1669-1674, Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, J. P. L.; ALMEIDA, J. M. D.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.1, p. 136-141, Campinas-SP, maio, 2010 a.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**. 6 ed. São Paulo: Varela. 2012.

SILVA, L. P.; ALVES, A. R.; BORBA, C. M.; MOBIN, M. Contaminação fúngica em condimentos de feiras livres e supermercados. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71(1), n. 6, p. 202, 2012.

SILVA, J. F.; MELO, B. A.; LEITE, D. T.; CORDEIRO, M. F. R.; PESSOA, E. B.; BARRETO, C. F.; FERREIRA, T. C. Análise microbiológica de condimentos comercializados na feira central de Campina Grande – PB. **Agropecuária científica no seminário**. v. 9, n. 2, p. 83-87, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Varela. 2010 b.

TAKEUCHI, A. P. **Caracterização antimicrobiana de componentes do açafrão (*Curcuma longa* L.) e elaboração de filmes ativos com montimorilonita e olpeo resina de açafrão**. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Goiânia-GO, Junho, 2012.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4 ed. Atheneu. São Paulo, 2005.