

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO
ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES
CURSO DE AGRONOMIA**

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*) E DO AÇAFRÃO-DA-ÍNDIA (*Curcuma zedoaria*)

INGRID NASCIMENTO BALDUÍNO

Goiânia

2023

INGRID NASCIMENTO BALDUÍNO

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*) E DO AÇAFRÃO-DA-ÍNDIA (*Curcuma zedoaria*)

Artigo apresentado como requisito parcial para composição de média final na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de graduação em Agronomia, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Casaletti

Goiânia

2023

INGRID NASCIMENTO BALDUÍNO

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*) E DO AÇAFRÃO-DA-ÍNDIA (*Curcuma zedoaria*)

BANCA EXAMINADORA

Presidente - Dra. Luciana Casaletti
Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC Goiás

Membro I – Ma. Caroline Domingos Bittencourt
Universidade Federal de Goiás, UFG

Dra. Luciana Domingues Bittencourt Ferreira
Universidade Estadual de Goiás, UEG

Aprovada em ___/___/___.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVO	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
6. CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*) E DO AÇAFRÃO-DA-ÍNDIA (*Curcuma zedoaria*)

Microbiological Analysis of Saffron (*Curcuma longa* and *Curcuma zedoaria*)

Ingrid Nascimento Balduino

Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola Politécnica e de Artes, Goiânia,
Goiás (GO), Brasil

RESUMO

O açafrão, *Curcuma longa* e *Curcuma zedoaria*, são amplamente utilizados na culinária por conta do cheiro, sabor e coloração, além dos benefícios à saúde como suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes devido o seu componente ativo, a Curcumina. O problema surge quando essas especiarias apresentam condições inadequadas de sanidade e higiene, podendo conter microrganismos em altas quantidades. A pesquisa realizada propõe a identificação e quantificação de microrganismos presentes em 10 amostras de especiarias, sendo essas, cinco da *Curcuma longa* e cinco *Curcuma zedoaria*, estas foram cedidas pela Agência Goiânia de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária, Goiás. As técnicas utilizadas pós-colheita de especiarias, quando realizadas manualmente podem agregar a relação de contaminação para o aparecimento de microrganismos, sem exclusão dos patogênicos, que causam riscos à saúde. A averiguação e análise dessas amostras é de suma importância, para garantir que a presença não esteja acima do limite estabelecido pela legislação. Na metodologia de análise de microrganismos foi utilizado a técnica do Número mais Provável. Realizou-se a técnica de plaqueamento em superfície para contagem de bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras. Conclui-se, que as amostras estão aprovadas nos parâmetros de qualidade por bolores e leveduras, mas não pode ser afirmado o mesmo para bactérias por não haver identificação das espécies.

Palavras-chave: microrganismos; contaminação; especiarias.

ABSTRACT

Saffron, *Curcuma longa* and *Curcuma zedoaria*, are widely used in cooking due to their smell, flavor and color, in addition to health benefits such as their anti-inflammatory and antioxidant properties due to their active component, curcumin. The problem arises when these spices have inadequate health and hygiene conditions and may contain microorganisms in high quantities. The research carried out proposes the identification and quantification of microorganisms present in 10 samples of spices, these being five from *Curcuma longa* and five *Curcuma zedoaria*, these were provided by the Goiania Agency for Technical Assistance, Rural Extension and Agricultural Research, Goias. The techniques used after -harvesting of spices, when carried out manually, can add to the contamination ratio for the appearance of microorganisms, without excluding pathogenic ones, which cause health risks. The investigation and analysis of these samples is extremely important to ensure that the presence is not above the limit established by legislation. In the microorganism analysis methodology, the Most Probable Number technique was used. The surface plating technique was performed to count aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts. It is concluded that the samples passed the quality parameters for molds and yeasts, but the same cannot be said for bacteria as there is no identification of the species.

Keywords: microorganism; contamination; spices.

1. INTRODUÇÃO

As especiarias exercem grande influência na humanidade, principalmente quando analisadas dentro da política e economia. No ano de 1455, o império turco-otomano tomou Constantinopla e todo comércio dos principais temperos utilizados na alimentação Europeia como também a rota para alcançá-las. No antigo continente, as especiarias eram utilizadas para conservar os alimentos, realçar o sabor, remédios afrodisíacos e para doenças, perfumes, entre outros. Praticamente todas as pessoas necessitavam dessas especiarias (NEPOMUCENO, 2005).

Os metais preciosos apesar de sempre serem alvos cobiçados, davam espaço para as especiarias. Pode ser observado essa grande importância sob análise do primeiro mapa atribuído por nome de América, feito pelo monge alemão Martim Waldsee-müller, no ano de 1507. Este mapa mostrava e identificava certas regiões com comentários que identificavam a respeito desses alimentos (MENEZES, SANTOS, 2006).

Mesmo com uma extensa procura pelas especiarias, não só por propriedades curativas e preservativas, por serem aromáticas e usadas para criar perfumes, elas são produtos vegetais e podem ser afetadas pela presença de microrganismos. Essa contaminação pode ser gerada por uma produção em ambientes desvantajosos e armazenagem em locais com umidade, que favorecem a proliferação desses microrganismos (SILVA et al., 2012).

A legislação em vigor referentes aos padrões microbiológicos em alimentos condiz com a resolução RDC n. 331/2019 da Instrução Normativa n 69/2019 é proteger a saúde dos consumidores introduzindo padrões microbiológicos a serem adotados pela cadeia produtiva de alimentos. Esses padrões microbiológicos servem para dar apoio as decisões tomadas em relação aos testes microbiológicos, averiguando se o alimento é seguro ao consumidor (LIMA et al., 2020).

Para alimentos que se enquadram exclusivamente como ingredientes e que possuem característica intrínseca, que são aqueles que não possuem atividade metabólica por água por conta da desidratação deste, não permite a multiplicação desses organismos, portanto, não foram incluídos na resolução citada a cima (LIMA et al., 2020).

Antigamente era poderado a respeito do potencial microbiológico patógeno das espécies fúngicas contidas nos condimentos, referindo a Portaria n. 451 de setembro de 1997, Anvisa, da qual descreve o valor para fungos 5×10^3 unidades formadoras de colônia por grama do condimento (UFC/g). A avaliação microbiológica de fungos tem menores números de avaliação quando comparados a avaliação das bactérias. Entretanto, é fundamental o conhecimento de ambos microorganismos como forma de segurança e qualidade, já que estes temperos podem contaminar outros alimentos na hora do preparo e com a atividade metabólica da água, a sua multiplicação pode causar danos à saúde (SILVA et al., 2012).

Na pós-colheita de plantas bioativas a serem utilizadas como condimentos, contribuem para o surgimento de microrganismos quando produzidos principalmente de forma manual e sem equipamentos corretos e estéreis. Altos limites de contaminantes microbiológicos influenciam no aroma e sabor dos alimentos e principalmente causa riscos à saúde. O objetivo do estudo realizado foi avaliar a contaminação por fungos, leveduras e bactérias nas especiarias *Curcuma longa* e *Curcuma zedoaria*, que passaram pelo processo de colheita, pós colheita, processamento do alimento, até chegarem em um ponto da qual poderiam ser comercializados com o intuito de ser um condimento.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar microbiologicamente as especiarias açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) e açafrão-da-índia (*Curcuma zedoaria*) colhidas na Agência Goiânia de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária (EMATER/GO).

2.2 Objetivo específico

Realizar análise microbiológica dos açafrões da terra e da índia cultivados e processados na EMATER/GO.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Açafrão-da-Terra

A morfologia do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) é caracterizada por folhas longas, lanceoladas e de cor verde. O rizoma é a parte subterrânea utilizada, da qual possui um rizoma principal longo e mais espesso com inúmeras ramificações laterais menores, sendo amarelo por fora e alaranjado por dentro. As flores são pequenas e brancas, agrupadas em espigas, é uma planta herbácea perene da família Zingiberaceae. Além da morfologia mencionada, é importante destacar que a parte mais valiosa é o rizoma, que contém a curcumina, responsável por muitos dos benefícios à saúde associados ao açafrão-da-terra (RAVINDRAN et al., 2007).

Na medicina tradicional, em particular na Ayurveda, o açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) desempenha um papel significativo. É frequentemente utilizado para tratar uma variedade de condições devido às suas propriedades medicinais. Na Ayurveda, é considerado um "rasayana", que significa rejuvenescedor, e é associado à promoção da vitalidade e longevidade (Figura 1). O açafrão é utilizado para tratamento de distúrbios digestivos, utilizado para reduzir a inflamação e aliviar condições como artrite, na pele quando aplicado sob a pele promove melhor cicatrização da acne e machucados, utilizado para aliviar tosses e bronquite (KHARE, 2015).

O açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) aparece na história de uso há muitos anos atrás. Originário da Índia, este era cultivado como corante, condimento e para uso medicinal. Seu uso remete-se ao período Védico, há mais de 4.000 anos, onde era utilizado em rituais religiosos e práticas medicinais. Os egípcios utilizavam para rituais religiosos, como em pintar o corpo mumificado, e sendo o primeiro corante datado desde os anos de 1714 (RAVINDRAN et al., 2012).

Figura 1 – Rizoma e pó do açafrão *Curcuma longa*.



Fonte: SANTOS (2012)

3.2 Açafrão-da-Índia

O açafrão-da-índia, conhecida popularmente como Zedoária, é uma planta que apresenta uma morfologia distintiva. Suas principais características compõe-se por folhas grandes, lanceoladas e de cor verde. O rizoma, parte utilizada, é amarelado na parte de fora e possui um aroma característico, quando cortados ao meio sua coloração é branco no centro e azulado nas laterais (Figura 2). As flores são pequenas e podem variar em cores, incluindo branco e rosa. É uma planta herbácea da família Zingiberaceae, pertence ao gênero *Cúrcuma* (RAVINDRAN et al., 2012).

O uso da *Cúrcuma zedoaria* tem raízes históricas na medicina tradicional asiática. Suas propriedades medicinais foram exploradas ao longo dos séculos em sistemas como a Ayurveda e a Medicina Tradicional Chinesa. O rizoma da planta é conhecido por conter compostos bioativos, como óleos essenciais e curcumina, estes são associados a benefícios anti-inflamatórios e antioxidantes. Sua presença na medicina ayurvédica remonta a séculos, sendo usada para tratar uma variedade de condições, desde problemas digestivos até inflamações. Na Medicina Tradicional Chinesa, a *Curcuma Zedoária* é associada à promoção da circulação de energia vital, conhecida como "qi" (DUKE et al., 2002).

Figura 2 – Rizoma do açafrão *Curcuma Zedoaria*



Fonte: Kinupp, V. Lorezi (2015)

3.3 Qualidade Microbiológica das especiarias

É de extrema importância a realização da análise microbiológica de alimentos para determinar a quantidade e natureza dos microrganismos presentes. Essa análise reveste-se de relevância no âmbito da Saúde Pública, haja vista que diversos alimentos desempenham o papel de veículos ou substratos propícios para o transporte ou a proliferação de microrganismos patogênicos. Tal fenômeno pode resultar em surtos de intoxicação ou toxi-infecções alimentares. Do ponto de vista econômico, a alteração ou deterioração dos alimentos compromete a sua comercialização, acarretando prejuízos ao produtor (PEIXOTO et al., 2009).

De acordo com a resolução RDC n. 331/2019 e da instrução normativa n. 60/2019, tem como objetivo proteger os consumidores, fornecendo padrões microbiológicos a serem adotados à cadeia produtiva, garantindo assim a saúde dos consumidores (Tabela 1). A segurança dos alimentos é assegurada pela adesão do emprego de boas práticas e, quando necessário a utilização das primordiais Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Deve-se seguir parâmetros para averiguação microbiológica é seguro e se a prática de higiene da empresa de alimentos está correta (LIMA et al., 2020).

Tabela 1: Padrões microbiológicos de alimentos

2. HORTALIÇAS, RAIZES, TUBERCULOS, FUNGOS COMESTÍVEIS E DERIVADOS					
Categorias Específicas	Micro-organismo/Toxina/Metabólito	n	c	m	M
a) "In natura", inteiros, selecionados ou não	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	102	103
b) Preparados (inteiros, descascados ou fracionados), sanificados, branqueados, refrigerados ou congelados, que não necessitam de tratamento térmico efetivo, previamente ao consumo	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
c) Preparados (inteiros, descascados ou fracionados), sanificados, branqueados, pré-fritos, refrigerados ou congelados, que necessitam de tratamento térmico efetivo previamente ao consumo	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	3	5x10	5x102
d) Secos, desidratados ou liofilizados	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
	Bolores e leveduras/g	5	1	103	104

Fonte: ANVISA (2019)

Para fins determinantes das análises microbiológicas, deve-se compreender as siglas presentes na tabela 1, da Instrução Normativa n. 60, de 23 de dezembro de 2019, Anexo I, da qual o n representa o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e serem analisadas individualmente, M e m são os limites microbiológicos estabelecidos, sendo m qualidade aceitável e M qualidade inaceitável, o c representa o número de unidades amostrais toleradas em quantidades intermediárias.

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs), associadas à contaminação microbiológica, podem ser provocadas pelo consumo de alimentos ou condimentos contaminados, sendo as principais sintomas vômitos, diarreia, inchaço abdominal, dor de cabeça, febre, alteração da visão, olhos inchados. Estes sintomas podem variar de acordo com o microrganismo que está presente no alimento. As doenças principais causadas por esses micro-organismos são Salmonelose, intoxicação por *Staphylococcus aureus*, Botulismo (SOUZA, 2023).

3.4 Bactérias mesófilas aeróbias

As bactérias mesófilas aeróbicas são microrganismos que prosperam em ambientes com temperaturas moderadas e requisitos de oxigênio. Quando presentes nos alimentos desempenham um papel fundamental para a avaliação da qualidade microbiológica desses produtos. Principalmente, espécies como *Bacillus* e *Listeria* são identificadas, indicando condições de armazenamento inadequadas ou falhas nos processos de higiene (MONTVILLE et al., 2005).

Um relato da presença encontrado em condimentos foi no trabalho nomeado de: Ocorrência de *Listeria* spp. em embutidos resfriados comercializados na cidade do Recife/PE de Lapenda e colaboradores (2013), revelando um alto percentual de *Listeria monocytogenes* nos alimentos analisados.

A quantificação de aeróbios mesófilos, embora não discriminatória quanto aos tipos bacterianos, revela-se instrumental na obtenção de dados abrangentes relativos à qualidade dos produtos, assim como às condições de processamento e manipulação. A presença de elevadas populações bacterianas pode indicar lacunas na sanitização ou falhas no controle do processo. Além disso, é pertinente ressaltar que o monitoramento da contagem de aeróbios mesófilos desempenha um papel crucial na preservação da integridade sanitária de produtos alimentícios, proporcionando insights relevantes para a salvaguarda da saúde pública e a manutenção dos padrões higiênicos na cadeia alimentar (SILVA et al., 2010).

Quando há inadequada refrigeração ou sanitização de alimentos, bactérias mesófilas aeróbicas como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* são frequentemente encontradas. Essas condições propícias ao crescimento bacteriano podem resultar em contaminação alimentar, representando riscos para a saúde pública (GRUMEZESCU, 2016).

Costa e colaboradores (2020) ao realizar análise microbiológica em diferentes especiarias comercializadas em feiras livres nos municípios do Recôncavo Baiano, tais como pimenta-do-reino, orégano e canela durante seis meses, foram encontradas *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.

3.5 Fungos do tipo Bolores e Leveduras

Os fungos são organismos eucarióticos que desempenham papéis diversos na natureza, incluindo decomposição de matéria orgânica, produção de alimentos (como fermentação) e, em alguns casos, podem causar infecções em plantas, animais e seres humanos. Desempenham funções fundamentais na ecologia, agronomia e patologia. Sua diversidade e papel na decomposição de matéria orgânica, bem como na produção industrial, conferem-lhes uma importância significativa (MADIGAN et al., 2018).

As leveduras se reproduzem por gemulação, são células solitárias. Elas se diferenciam com base no tamanho e formatos das células, na formação das pseudos hifas e hifas verdadeiras, na presença ou ausência de cápsulas e dos seus esporos. O conjunto para identificar espécies é através da morfologia juntamente com a competência de fermentar e assimilar fontes de carbono e utilizar nitrato como fonte de azoto (MCGINNIS et al., 1996).

As leveduras contribuem para um papel fundamental na indústria alimentar, sendo utilizadas na produção de pães e fabricação de bebidas alcoólicas. Estas são encontradas abundantemente no ambiente, especialmente em frutas, cereais e vegetais. Contudo, as leveduras podem ser agentes deteriorantes e contaminantes dos alimentos, pela sua capacidade desenvolver-se em temperaturas baixas e tolerar ambientes de estresse físico-químico. Nos produtos que são fermentados com leveduras, a panorâmica da levedura recuperável indica qual estágio do processo de fermentação se encontra (NESTLÉ, 2022).

Os bolores são organismos eucariotas, filamentosos e multicelulares. A sua reprodução pode ocorrer por meio da divisão celular, sendo mitose (assexuada) ou meiose (sexuada). O bolor consiste nas hifas, conjunto de filamentos ramificados, já o conjunto de hifas é denominado de micélio. As hifas que estão internas degradam os compostos orgânicos, absorvendo a água e seus nutrientes. Com a maturação do bolor, as hifas que estão presentes na superfície produzem esporos sexuais ou assexuais que são dissipados pelo ar. A coloração, forma e tamanho desses esporos são fatores importantes para classificação dos bolores (OSMAN et al., 2016).

3.6 Coloração de Gram

A etapa crucial na identificação e classificação inicial das bactérias é a coloração de Gram. Esse método, essencial para visualizar as bactérias no microscópio óptico, foi nomeado em homenagem ao patologista dinamarquês Hans

Christian Joachim Gram, que fez a descoberta em 1884. Até hoje, essa técnica permanece amplamente utilizada em laboratórios de análises clínicas e microbiologia, permitindo a identificação e diferenciação entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (MARTINS et al., 2001).

A permeabilidade da parede celular varia entre microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. As bactérias Gram-positivas retêm o cristal violeta devido à presença de uma camada espessa de peptidoglicano em suas paredes celulares, resultando na cor roxa, já as bactérias Gram-negativas têm uma parede de peptidoglicano mais fina, incapaz de reter o cristal violeta durante a descoloração, e acabam adquirindo a cor vermelha no estágio final da coloração (MARTINS et al., 2001).

Alguns exemplos de bactérias Gram-positivas (coloração roxo) são: *Bacillus*, *Nocardia*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Listria*, *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Mycoplasma*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Streptococcus*. Alguns exemplos de bactérias Gram-negativas (coloração vermelha) são: *Escherichia*, *Helicobacter*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Chlamydia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* (MARTINS et al., 2001).

Esse método é utilizado para avaliação em alimentos e condimentos pois possibilita a identificação entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, podendo quantificá-las. Tebaldi e colaboradores (2008), utilizaram o método para identificação de microrganismos em leite cru do ponto de vista de saúde pública, pois dependendo das espécies isoladas, ações direcionadas podem ser tomadas visando a melhoria de sua qualidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção das amostras

As especiarias utilizadas foram as seguintes: açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) e Zedoária (*Curcuma zedoaria*). As amostras foram cedidas in natura pela Dra. Cristiane Rachel de Paiva Felipe na EMATER/GO (Agência Goiânia de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária). A colheita ocorreu no dia 4 de

setembro de 2023. Após a colheita dos rizomas, elas foram lavadas, pesadas, efetuado tratamento térmico em água com temperatura de 160°C por 10 minutos, retiradas e colocadas em papel toalha para absorver o excesso de água, logo foram fatiadas e levadas para a estufa com temperatura de 105°C por 6 dias, depois de secas foram pesadas, trituradas no liquidificador industrial até estarem um quase todo pulverizadas mas sobrando alguns grânulos pequenos, logo, foram pesadas novamente e colocadas em sacos plásticos novos e selados. Foram realizados 5 amostras de açafião e 5 de zedoário, da qual, todo o processo foi realizado de forma individual.

4.2 Preparo das amostras

A realização das análises microbiológicas ocorreu no laboratório de Microbiologia, no Campus II, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), utilizando-se a metodologia descrita por Silva et al (2007). Para as análises, fez-se necessário pesar 25g de cada amostra, de forma asséptica, onde a primeira diluição teve início ao (10^{-1}) ocorreu em 225ml do diluente solução salina 0,85%, seguida de homogeneização manual por aproximadamente 5 minutos. A amostra permaneceu sem agitação por 10 minutos a temperatura ambiente seguindo para demais diluições, sendo elas os tratamentos, (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7}), utilizando tubos com 9,0ml de solução salina 0,85%.

Para o plaqueamento foi utilizado o método *Spreader Plate*. Com o auxílio da micropipeta de 0,1mL (=100 µL) em condições assépticas, adicionada dentro da placa de Petri com meio de cultura solidificado. Foram utilizados meio Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico para verificar a presença de fungos e Agar Método Padrão (PCA) para bactérias. O plaqueamento ocorreu em duplicada para cada diluição.

Em seguida ao plaqueamento em superfície as placas foram levadas invertidas na estufa à 35-37°C por um período de 5 a 7 dias para análise de fungos e 2 a 3 dias para análise de bactérias. Com o auxílio de um contador de colônias a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) das diluições 10^{-1} à 10^{-7} foram fotografadas.

A amostra foi colocada no tubo de ensaio 10^{-1} , esse processo foi repetido até chegar no tubo 10^{-7} .

Para o plaqueamento foi utilizado o método por semeadura. Com o auxílio da micropipeta de 0,1mL (=100 µL) em condições assépticas, adicionada dentro da placa

de Petri com meio de cultura solidificado, sendo uma placa para cada diluição do mesmo modo que uma ponteira para cada. Após adição da alíquota no meio de cultura na placa de Petri correspondente, foi homogeneizada com o auxílio de uma alça de Drigalsky esterilizada com éter e fogo. A cada utilização da alça de Drigalsky o mesmo era esterilizado com o mergulho em éter e passado no fogo para secar.

Em seguida ao plaqueamento em superfície no meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA) e Ágar Método Padrão (PCA), as placas foram levadas invertidas na estufa à 37°C por um período de 3 dias para bactérias e 5 dias para fungos . Passado o tempo de incubação, foi realizado com o auxílio de um contador de colônias a contagem das unidades formadoras de colônias 10^{-1} à 10^{-7} .

4.3 Métodos para Coloração de Gram

O esfregaço foi coberto com violeta-de-metila e deixado por aproximadamente 15 segundos, foram adicionados igual a quantidade de água sobre a lâmina coberta com violeta-de-metila e deixado agir por mais 45 segundos; escoou-se o corante e lavou-se em um filete de água corrente; cubriu a lâmina com lugol diluído (1/20) e deixou agir por aproximadamente 1 minuto; escoou o lugol e lavou em um filete de água corrente; adicionou-se álcool etílico (99,5° GL) sobre a lâmina; descorando-a, até que não desprenda mais corante; lavou novamente em água corrente; cubriu a lâmina com safranina agiu por aproximadamente 30 segundos; lavou em um filete de água corrente; foram secos suavemente com o auxílio de um papel de filtro limpo e visualizado no microscópio em objetiva de imersão (100 X).

O método foi aplicado em 13 colônias de bactérias mesófilas aeróbias, passaram pelo processo citado acima, sendo feito a contagem das mesma e tipo de bactéria que estavam presentes nos dois tipos de açafrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias encontradas na *Curcuma zedoaria* e *Curcuma longa*

Com a realização das análises na *Curcuma zedoaria* e na *Curcuma longa*, foram obtidos os seguintes resultados para bactérias mesófilas aeróbias expostas na tabela abaixo. Das quais foram realizadas a média das duplicatas de cada amostra e depois a media de todas as amostras, diluição 10^{-1} até 10^{-7} , para fins comparativos dos números microbiológicos (Tabela 2. Figura 3).

Tabela 2: Comparação entre bactérias mesófilas aeróbias encontradas na *Curcuma longa* e *Curcuma zedoaria*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Zedoaria	INC	INC	INC	$4,38 \times 10^7$	$3,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$4,1 \times 10^7$
Longa	INC	INC	INC	$4,9 \times 10^7$	$4,1 \times 10^6$	$3,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$

Fonte: Autora (2023)

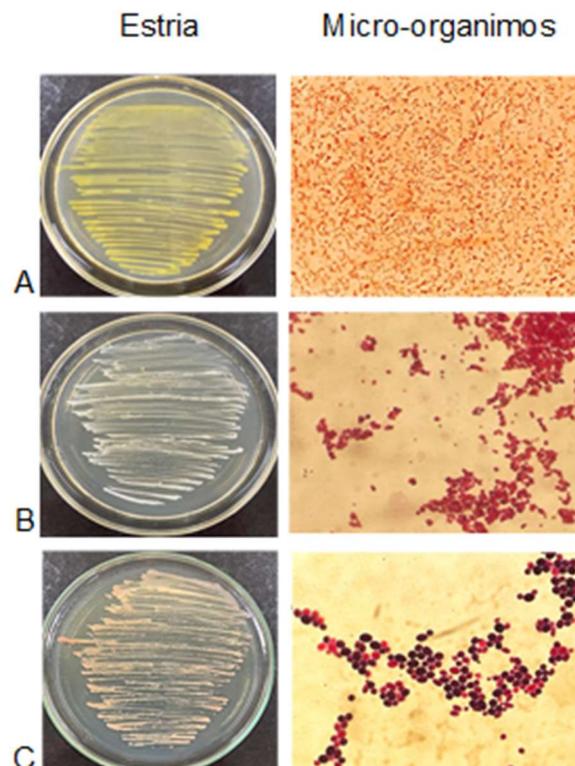
Observa-se que na tabela 2, as amostras da *Curcuma longa* apresentaram no total, praticamente o mesmo valor que a *Curcuma zedoaria*, com a média de 3,39 para a zedoaria e 3,3 para a longa. Obtendo resultados similares para bactérias mesófilas aeróbias.

Em relação as bactérias, a legislação ajustou um padrão para quantidades presentes nos condimentos para torná-las impróprias para venda e consumo. Sendo que para Bactérias, os padrões estabelecidos são para *Salmonella* e *Escherichia coli*.

Conforme destacado por Silva e colaboradores (2007), a análise microbiológica de especiarias desempenha um papel crucial na avaliação da qualidade e segurança desses produtos alimentícios. Parâmetros como a contagem de bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras oferecem insights valiosos sobre a presença de microrganismos, revelando as condições higiênicas ao longo do cultivo,

processamento e armazenamento. É destacado a sensibilidade dessas análises às práticas inadequadas de estocagem, reforçando a importância da implementação regular desses procedimentos para garantir a conformidade com padrões de segurança alimentar e proteger a saúde dos consumidores.

Figura 3: Coloração de Gram



Fonte: Autora (2023)

Foram analisadas e feitas a coloração de Gram de 13 colônias de bactérias mesófilas aeróbias, onde a figura 3 mostra a estria realizada após o isolamento da bactéria encontrada e ao lado o micro-organismo visualizado no microscópio em objetiva de imersão (100 X). Obtendo os seguintes resultados: 1 *Levedura* (Gram positivo), 10 *Bastonetes* (Gram negativo) e 2 *Cocos* (Gram negativo). Lembrando que os Gram positivos possuem a coloração roxa e Gram negativo a cor vermelha.

5.2 Contagem dos fungos do tipo bolores e leveduras encontradas na *Curcuma zedoaria* e *Curcuma longa*

A detecção desses microrganismos em produtos alimentícios também pode indicar condições higiênicas inadequadas, dependendo de quais forem encontradas, na maioria das vezes ocorre essas contaminações quando são realizadas de modo manual e sem os equipamentos de segurança necessários como luvas e toucas e ambiente esterelizado, e trabalho todos os equipamentos foram utilizados. As especiarias frequentemente ficam susceptíveis à presença de vários contaminantes (Tabela 3).

De acordo com as observações de Rodrigues e colaboradores (2005), fatores como as práticas de armazenamento, como acondicionar os condimentos em ambientes úmidos, com deficiências na higienização e em temperaturas inadequadas para as especiarias, propícias ao crescimento de fungos, podem contribuir para a contaminação destes.

Tabela 3: Comparação entre bolores e leveduras encontradas na *Curcuma longa* e *Curcuma zedoaria*

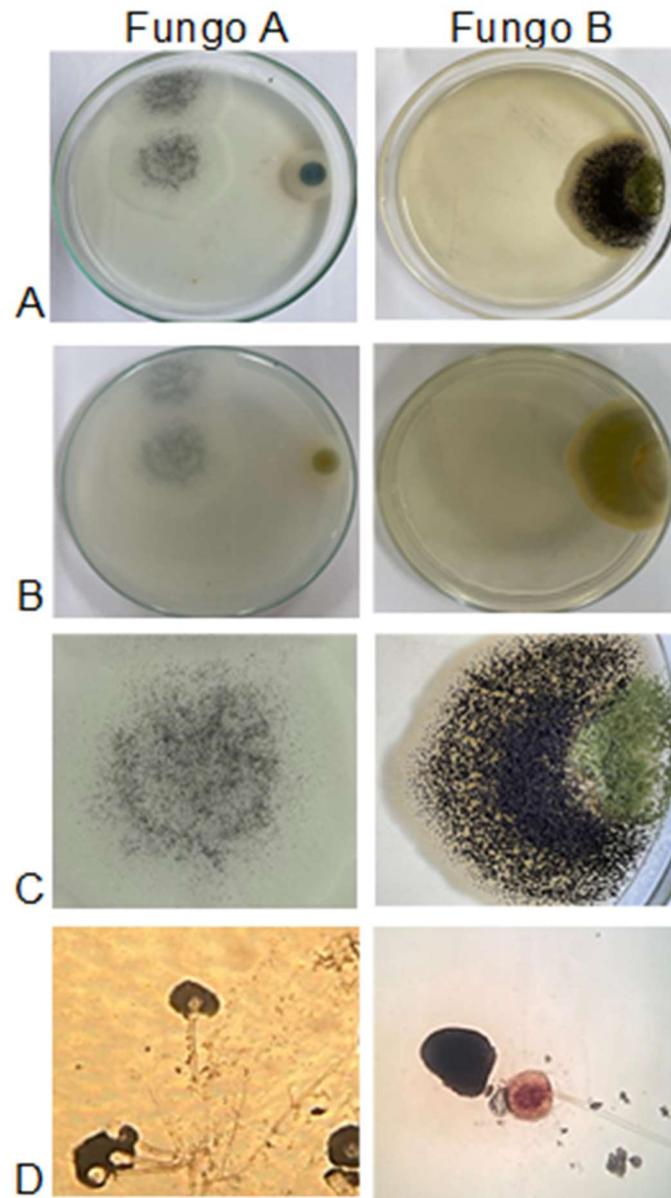
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Zedoaria	$2,6 \times 10^1$	$1,2 \times 10^2$	$0,7 \times 10^3$	$0,8 \times 10^4$	$3,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$
Longa	$2,6 \times 10^1$	$1,4 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	$0,6 \times 10^4$	1×10^6	$0,9 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$

Fonte: Autora (2023)

Observa-se que na Tabela 3, as amostras da *Curcuma longa* apresentaram no total, praticamente o mesmo valor que a *Curcuma zedoaria*, com a média de 1,65 para a zedoaria e 1,38 para a longa. Obtendo resultados próximos para os dois tipos de acafrão.

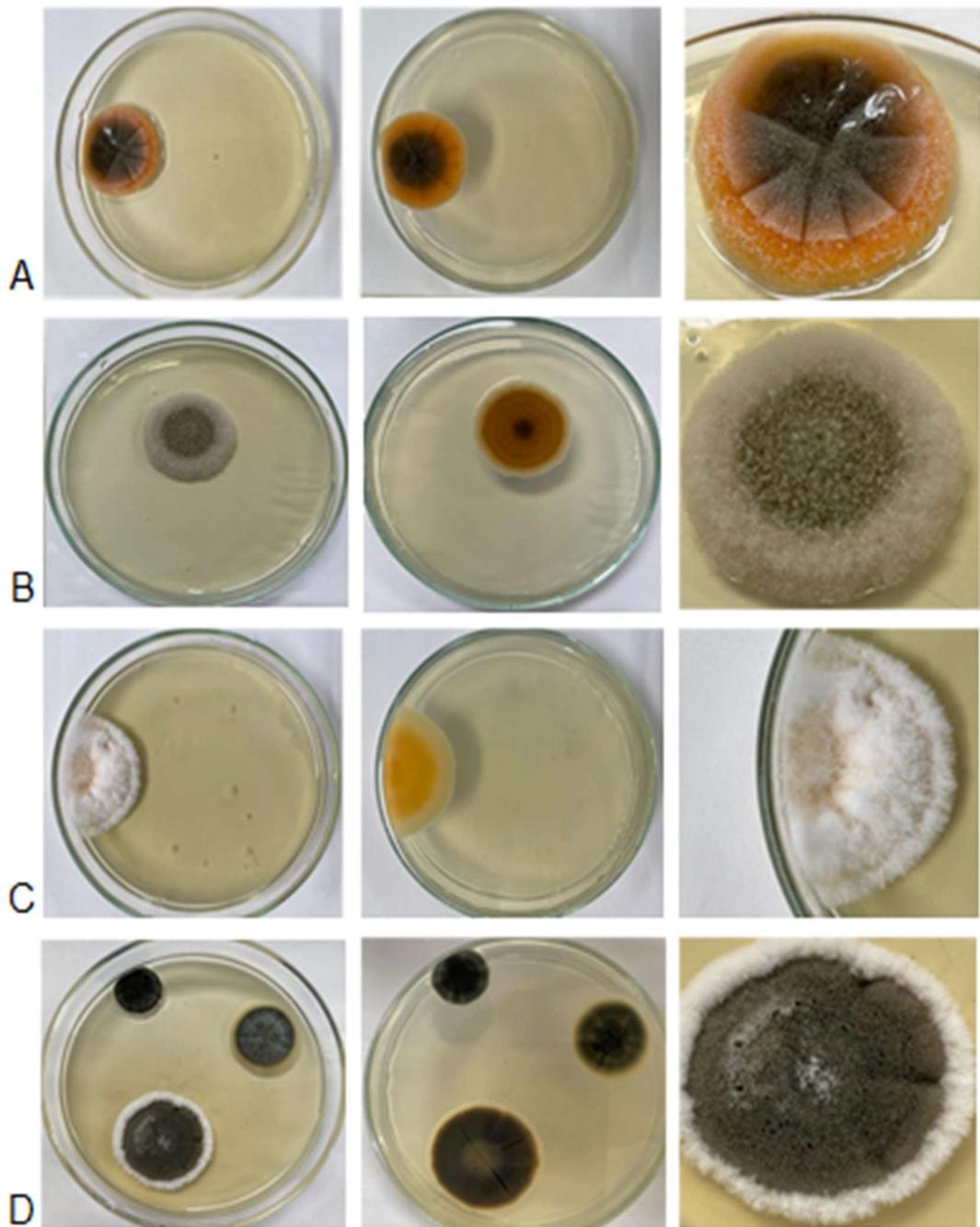
Contagens elevadas de fungos em produtos alimentícios representam um potencial risco para os consumidores, uma vez que esses microrganismos têm a capacidade de produzir micotoxinas com propriedades carcinogênicas (Figuras 4 e 5).

Figura 4: Fungos filamentosos, partes reprodutivas.



Fonte: Autora (2023)

Figura 5: Micélio Aéreo, Micélio Vegetativo, Detalhe Micélio Aéreo



Fonte: Autora (2023)

Na Figura 4 há dois tipos diferentes de fungos, o fungo da coluna A e o fungo da coluna B, sendo as figuras da linha A representando o micélio aéreo, na linha B o micélio vegetativo, na figura C detalhe do micélio e na Figura 4 as estruturas reprodutivas do fungo visto no microscópio.

Na Figura 5 há quatro tipos, onde na primeira coluna temos o micélio aéreo, na segunda o micélio vegetativo e na terceira o detalhe do micélio e nas linhas denominadas de A, B, C e D está representando os quatro tipos de fungos encontrados. Ao decorrer do trabalho foram encontrados 14 tipos de fungos diferentes.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentado, conclui-se que as especiarias analisadas microbiologicamente, sendo elas o açafrão-da-terra e o açafrão-da-Índia, apresentam contaminação por microrganismos, não sendo esses necessariamente patogênicos mas podem ser deteriorastes para a especiaria. Da qual o que mais sofreu contaminação, apesar da pouca diferença, foi a *Curcuma zedoaria*, apesar dos processos de pós colheita, produção e armazenagem serem os mesmos da *Curcuma longa*.

Sendo assim, constatamos uma presença de bactérias mesófilas aeróbias e bolores e leveduras na *Curcuma zedoaria* superior a quantidade existente na *Curcuma longa*, apesar da colheita, pós colheitas seguirem o mesmo protocolo e a armazenagem e temperatura serem iguais. Podendo sugerir que os princípios ativos como a curcuminoide presentes no açafrão-da-terra possui maior eficiência do que no açafrão-da-Índia, surgere-se um estudo sobre a quantidade presente da curcumina nos dois tipos de Curcuma. A curcuminoide é uma substância capaz de agir na membrana de bactérias e fungos sendo usadas juntamente ao um antibiótico para potencializar seu efeito principalmente em bactérias, segundo García e colaboradores (2017).

Analisando as duas especiarias utilizadas no trabalho, segundo a Instrução Normativa n. 60, de 23 de dezembro de 2019, as amostras utilizadas estão aprovadas nos parâmetros de quantidade de Bolores e Leveduras permitidas estão aceitáveis. Para bactérias não é possível afirmar se está aceitável ou não, pois não houve a identificação da espécie encontrada.

REFERÊNCIAS

ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>.

ANVISA. RESOLUÇÃO – RDC Nº 331, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. 2019. Disponível em: <http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>.

COSTA, Milena da Cruz *et al.* Ocorrência e resistência antimicrobiana de bactérias em especiarias comercializadas no varejo. **Ciência Rural**, [S. l.], p. 1-7, 17 abr. 2020. DOI SciELO. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190775>. Acesso em: 3 dez. 2023. García ALL, Olaya MQJH, Sierra AJI, Padilla SL. Actividad biológica de tres Curcuminoides de *Curcuma longa* L. (Cúrcuma) cultivada en el Quindío-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2017; 22:1-8.

DUKE, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., Ottesen, A. R. (2002). *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*. CRC Press.

GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. "Food Safety: Basic Concepts, Recent Issues, and Future Challenges" (2016),

KHARE, C. P. **Ayurvedic Pharmacopoeial Plant Drugs: Expanded Therapeutics**. 1ª Edição. ed. rev. [S. l.]: Routledge, 2015. 655 p. ISBN B017A30V12. Disponível em: eBook Kindle. Acesso em: 5 dez. 2023.

LAPENDA, Anízia Maria Vieira de Souza. Ocorrência de *Listeria* spp. em embutidos resfriados comercializados na cidade do Recife/PE. 2010. 86 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

LIMA, T.; e colaboradores. "Padrões Microbiológicos". Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia de Alimentos. 2ª edição. Brasília, junho de 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/arquivos-noticias-anvisa/>

MADIGAN, Michael T. *et al.* **Brock Biologia de Microrganismos**. 15ª edição. ed. [S. l.]: Global Edition, 2018. 1064 p. ISBN 9781292235103.

McGinnis, Michael R, and Stephen K. Tyring - Introduction to Micology. In: Albrecht, Thomas *et al.* *Medical Microbiology*, 4th ed. Galveston (TX): Baron, S. 1996.

MARTINS, C.; e colaboradores. "Técnica de coloração de GRAM. Brasília. Ministério da saúde. 2001. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/115_03gram.pdf

MONTVILLE, Thomas J. *et al.* *Food Microbiology: An Introduction*. In: *FOOD Microbiology: An Introduction*. 3ª edição. ed. rev. [S. l.]: ASM Press, 2008. p. 1-570. ISBN 1555816363.

NESTLE. Quality Assurance, Nestlé. “News - Nestlé Quality Assurance Center (NQAC) - Dublin.” Nestlé Quality Assurance. 22 de abril 2022. Disponível em: <https://www.nqacdublin.com/News/>

NEPOMUCENO, E. “Dinâmica, Modelagem e Controle de Epidemias”. Belo Horizonte. 20 de Dezembro 2005. Disponível em: <https://www.ppgee.ufmg.br/defesas/534D.PDF>
OSMAN, Erkmen; and Bozglu, T. Faruk. Food Microbiology : Principles into Practice. 1ª ed. Chichester, West Sussex : Hoboken, Nj, John Wiley & Sons, Inc. 2016.

RAVINDRAN, P. N. **Herbs and Spices: Natural Source for Human Health**. 1ª Edição. ed. [S. l.]: CRC Press, 2012.

RAVINDRAN, P. N. **Turmeric: The genus Curcuma: Medicinal and Aromatic Plants**. 1ª Edição. ed. [S. l.]: CRC Press, 2007. ISBN 978-0849370342. Disponível em: eBook Kindle. Acesso em: 28 nov. 2023.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. “Cúrcuma”; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/saude/curcuma.htm>. Acesso em 14 de dezembro de 2023

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, N.; e colaboradores. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo. Logomarca Varela. 2007. p. 13-98.

SOUZA, R.; “Doenças transmitidas por alimentos: Tudo o que você precisa saber”. GEPEA. 21 de Abril 2023. Disponível em: <https://gepea.com.br/doencas-transmitidas-por-alimentos/>

TEBALDI, Victor Maximiliano Reis *et al*. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, p. 1-8, 3 set. 2008. DOI SciELO. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/6sFPqdtVDQD5NYm4DJG95dt/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 3 dez. 2023