



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FERNANDA GABRIELA DOS SANTOS GUEDES

**Aspectos Microbiológicos das Especiarias Comercializadas na
Região Metropolitana do Recife/PE**

Recife

2022

FERNANDA GABRIELA DOS SANTOS GUEDES

**Aspectos Microbiológicos das Especiarias Comercializadas na
Região Metropolitana do Recife/PE**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco em cumprimento a disciplina Estágio Curricular Obrigatório II, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Neide Kazue Sakugawa Shinohara

Recife
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G924a Guedes, Fernanda Gabriela dos Santos
Aspectos Microbiológicos das Especiarias Comercializadas na Região Metropolitana do Recife/PE / Fernanda Gabriela dos Santos Guedes. - 2022.
26 f.
- Orientadora: Neide Kazue Sakugawa Shinohara.
Inclui referências e anexo(s).
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2022.
1. Ervas aromáticas; . 2. Óleos essenciais; . 3. Patógenos alimentares. I. Shinohara, Neide Kazue Sakugawa, orient. II. Título

FERNANDA GABRIELA DOS SANTOS GUEDES

**Aspectos Microbiológicos das Especiarias Comercializadas na
Região Metropolitana do Recife/PE**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco em cumprimento a disciplina Estágio Curricular Obrigatório II, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Data de aprovação: ___/___/___

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Neide Kazue Sakugawa Shinohara
Presidente da banca/ UFRPE

MSc. Maria Karollyna Gomes da Silva
Membro titular/ UFRPE

Prof^o MSc. Rodrigo Rossetti Veloso
Membro titular/ IFPE

MSc. Indira Maria Estolano Macêdo
Suplente/ UFRPE

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fazer resiliente para que fosse possível me reerguer todas as vezes e assim chegar até aqui.

A minha mãe Paula Arruda e ao meu irmão Fabrício Guedes pelo apoio incondicional em todo e qualquer momento, pelos esforços e sacrifícios feitos para que eu pudesse cursar e concluir esse curso de graduação. Este título é para vocês.

Ao meu amor Bruno José por todo o amor, paciência, compreensão, ajuda, momentos de escape e por estar sempre comigo me dando força nos momentos mais difíceis que vivi.

A minha avó Heloiza Arruda por cuidar de mim e com toda sua fé ter ido, mesmo sem ter plena saúde, rogar a Nossa Senhora Aparecida pela minha saúde.

Aos meus amados filhos de quatro patas Sheron, Bill José, Nikolaj, Simba e Sekiro e meu sobrinho também de quatro patas Jon Snow pelo suporte emocional e pelo amor me dado até quando eu não tinha mais forças para ser dedicada o suficiente à eles. À minha amada Nyre.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Departamento de Biologia da mesma pelos recursos disponibilizados para minha formação.

Aos meus professores desta longa jornada, pelo conhecimento e atenção prestados. Irei levar um pouco de cada um em minha bagagem.

A minha orientadora prof^a Neide Shinohara por ter me acolhido no momento mais difícil da minha vida, por toda paciência e apoio, por tornar possível o meu título de bióloga.

A Maria Karollyna pela amizade e ajuda quando eu mesma já tinha desistido.

Ao meu grupinho de anjos do Senhor Tulio, Luis e Ingrydt, os almoços ficaram mais longos e a graduação mais fácil com vocês.

Ao coordenador do curso prof^o Dr. Marcus Sperandio por toda a ajuda quando precisei.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho.

RESUMO

A primeira grande globalização da Idade Moderna, iniciada pelos Portugueses e Espanhóis nos séculos XV e XVI foi fortemente estimulada pela busca de novas fontes de especiarias, até então desconhecidas pela nobreza europeia e que rapidamente foram sendo incorporadas ao seu repertório culinário. A prática de uso das especiarias agrega sabor e conserva naturalmente os alimentos, devido a presença de óleos essenciais com ação antimicrobiana. O objetivo foi investigar a presença/ausência de possíveis patógenos nas especiarias: Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), Orégano (*Origanum vulgare*) e Urucum (*Bixa Orellana* L.), comercializadas na Região Metropolitana do Recife (RMR). Foram realizados ensaios microbiológicos para verificar as condições higiênico-sanitárias das especiarias obedecendo à legislação vigente. Todas as amostras estavam ausentes de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Na pesquisa de bolores e leveduras as concentrações mais elevadas foram encontradas no orégano seguido da pimenta-do-reino e do urucum. A alta presença de fungos em especiarias é um problema de saúde pública, pela capacidade de algumas espécies em produzir micotoxinas, causando quadros carcinogênicos e hepatotóxicos. Esse risco sanitário necessita de monitoramento da gestão pública em toda a cadeia de produção e armazenamento, para mitigar os efeitos deletérios junto a população consumidora e em produtos da indústria alimentícia.

Palavras-chave: Ervas aromáticas; Óleos essenciais; Patógenos alimentares.

ABSTRACT

The first great globalization of the Modern Age, initiated by the Portuguese and Spanish in the 15th and 16th centuries, was strongly stimulated by the search for new sources of spices, hitherto unknown to the European nobility and which were quickly incorporated into their culinary repertoire. The practice of using spices adds flavor and naturally preserves food, due to the presence of essential oils with antimicrobial action. The objective was to investigate the presence/absence of possible pathogens in spices: Black pepper (*Piper nigrum*), Oregano (*Origanum vulgare*) and Urucum (*Bixa Orellana* L.), marketed in the Metropolitan Region of Recife (RMR). Microbiological tests were carried out to verify the hygienic-sanitary conditions of the spices in compliance with current legislation. All samples were absent from *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. In the research of molds and yeasts, the highest concentrations were found in oregano, followed by black pepper and annatto. The high presence of fungi in spices is a public health problem, due to the ability of some species to produce mycotoxins, causing carcinogenic and hepatotoxic conditions. This health risk requires monitoring by public management throughout the production and storage chain, to mitigate the deleterious effects on the consumer population and on products from the food industry.

Keywords: Aromatic herbs; Essential oils; Food pathogens.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados microbiológicos em amostras de especiarias comercializadas na RMR..... 15

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 METODOLOGIA	11
2.1 Obtenção de amostras	11
2.2 Avaliação da qualidade microbiológica	12
2.3 Determinação de Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	12
2.3.1 Teste presuntivo	12
2.3.2 Teste confirmativo	12
2.3.4 Determinação de Bolores e Leveduras	13
2.3.5 Determinação de <i>Bacillus cereus</i>	13
2.3.6 Determinação de <i>Salmonella sp.</i> e <i>S. aureus</i>	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4 CONCLUSÃO	19
5 REFERÊNCIAS	19
6 ANEXO - <i>Template</i> norma da revista <i>Conjecturas</i>	24

Aspectos Microbiológicos das Especiarias Comercializadas na Região Metropolitana do Recife/PE

Microbiological Aspects of Spices Commercialized in the Metropolitan Region of Recife/PE

Fernanda Gabriela dos Santos Guedes^{1*}, Neide Kazue Sakugawa Shinohara²

RESUMO

A primeira grande globalização da Idade Moderna, iniciada pelos Portugueses e Espanhóis nos séculos XV e XVI foi fortemente estimulada pela busca de novas fontes de especiarias, até então desconhecidas pela nobreza europeia e que rapidamente foram sendo incorporadas ao seu repertório culinário. A prática de uso das especiarias agrega sabor e conserva naturalmente os alimentos, devido a presença de óleos essenciais com ação antimicrobiana. O objetivo foi investigar a presença/ausência de possíveis patógenos nas especiarias: Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), Orégano (*Origanum vulgare*) e Urucum (*Bixa Orellana* L.), comercializadas na Região Metropolitana do Recife (RMR). Foram realizados ensaios microbiológicos para verificar as condições higiênico-sanitárias das especiarias obedecendo à legislação vigente. Todas as amostras estavam ausentes de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Na pesquisa de bolores e leveduras as concentrações mais elevadas foram encontradas no orégano seguido da pimenta-do-reino e do urucum. A alta presença de fungos em especiarias é um problema de saúde pública, pela capacidade de algumas espécies em produzir micotoxinas, causando quadros carcinogênicos e hepatotóxicos. Esse risco sanitário necessita de monitoramento da gestão pública em toda a cadeia de produção e armazenamento, para mitigar os efeitos deletérios junto a população consumidora e em produtos da indústria alimentícia.

Palavras-chave: Ervas aromáticas; Óleos essenciais; Patógenos alimentares.

ABSTRACT

The first great globalization of the Modern Age, initiated by the Portuguese and Spanish in the 15th and 16th centuries, was strongly stimulated by the search for new sources of spices, hitherto unknown to the European nobility and which were quickly incorporated into their culinary repertoire. The practice of using spices adds flavor and naturally preserves food, due to the presence of essential oils with antimicrobial action. The objective was to investigate the presence/absence of possible pathogens in spices: Black pepper (*Piper nigrum*), Oregano (*Origanum vulgare*) and Urucum (*Bixa Orellana* L.), marketed in the Metropolitan Region of Recife (RMR). Microbiological tests were carried out to verify the hygienic-sanitary conditions of the spices in compliance with current legislation. All samples were absent from *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. In the research of molds and yeasts, the highest concentrations were found in oregano, followed by black pepper and annatto. The high presence of fungi in spices is a public health problem, due to the ability of some species to produce mycotoxins, causing carcinogenic and hepatotoxic conditions. This health risk requires monitoring by public management throughout the production and storage chain, to mitigate the deleterious effects on the consumer population and on products from the food industry.

Keywords: Aromatic herbs; Essential oils; Food pathogens.

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). *E-mail: fernandagsguedes@gmail.com

² Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade o homem busca além do alimento em si praticar a arte de comer e beber, inovando e maximizando o gosto e sabores nos alimentos com a incorporação das especiarias. Usa-se o todo, partes dos vegetais ou a mistura de partes exóticas, como as especiarias de origem indiana, que são aromáticas, de forte sabor, picantes e algumas consideradas afrodisíacas. As especiarias têm se destacado na vida do homem desde a Grécia antiga, sendo utilizadas para fins medicinais e símbolo de crenças, além da prática culinária. Por muitos anos, as ervas aromáticas e especiarias constituíram importantes fontes do comércio mundial que interferiam diretamente na soberania, sendo os países mais ricos, como Portugal e Espanha, os responsáveis pelo controle comercial no velho mundo destes produtos tão disputados pela elite europeia (COSTA, 2021; VELOSO et al., 2019).

Segundo a RDC Nº 276 de 22 de setembro de 2005, as especiarias são os produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais, tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas. Essa resolução de âmbito nacional no Brasil, classifica o Orégano, o Colorífico (Urucum) e a Pimenta-do-reino como especiarias, das quais devem ser observados parâmetros higiênico-sanitários para comprovação de identidade e qualidade.

A palavra especiaria se refere a qualquer produto de origem vegetal, ervas ou plantas que possuem um teor aromático. Eram utilizadas para disfarçar o gosto forte que os alimentos cárneos apresentavam no decorrer do tempo. Essa questão sanitária era preocupante, pois não havia formas de conservação de uso prolongado e facilmente vinham a deteriorar as carnes, ficando rapidamente com um sabor desagradável. A prática de marinar a carne com sal e especiarias disfarçava esse sabor e odor acre. Sabe-se que não existia desde tempos remotos uma grande oferta de alimentos disponível para atender a todos, então produtos como fonte alimentar não poderiam ser facilmente descartados pois colocavam em risco a sobrevivência (CARDIN, 2021).

As especiarias são usualmente secas ao sol em campos abertos ou gramados e empilhadas em montes uma sobre a outra, em sacos de juta, sacolas tecidas de sisal e cestas forradas com papéis simples ou folhas, sendo transportadas nesses objetos. Comumente crescem e são colhidas em precárias condições sanitárias, algumas vezes, em

áreas com elevada umidade e temperatura, condicionando tais alimentos a um potencial contaminação microbiológica. Contaminantes fúngicos, parasitas, fragmentos de pragas e agentes bacterianos com capacidade deteriorante, têm sido frequentemente isolados desses alimentos (CUNHA NETO et al., 2013).

As especiarias podem ser contaminadas por diferentes gêneros de fungos durante a produção agrícola, colheita, lavagem, secagem e armazenamentos subsequentes. Uma vez que se encontram amplamente distribuídos na natureza, na água, no solo e matéria orgânica, são através destas fontes de contaminação cruzada que surgem as contaminações fungicas nos alimentos, especialmente os de origem vegetal (IHA; TRUCKSESS, 2019).

Os principais países produtores mundiais de especiarias são a Índia, Etiópia, Turquia, Bangladesh, Indonésia, China, Paquistão, Nepal, Colômbia e Mianmar. O Brasil se destaca pela produção de pimenta-do-reino, salvo imprevistos climáticos, gira em torno de 40 mil toneladas por ano, sendo grande parcela destinada à exportação (COSTA, 2021; FAO, 2020). Ressalta-se que a de pimenta-do-reino está muito presente nas compras mensais das famílias brasileiras, tal a paixão pela picância promovida por essa especiaria nos cozidos, marinados e até nas preparações doces.

Diante da preocupação, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) acordaram em 2013 uma chamada internacional para obtenção de dados sobre qualquer risco microbiológico associado com especiarias e ervas aromáticas desidratadas, a fim de identificar os agentes biológicos que representam perigo para os consumidores (FAO, 2013).

Essa pesquisa investigou o perfil microbiológico de especiarias mais consumidas pela população da Região Metropolitana do Recife (*Piper nigrum*, *Origanum vulgare* e *Bixa Orellana* L.), para conhecer a concentração viável de prováveis patógenos alimentares, que poderiam promover contaminação microbiológica cruzada nas preparações culinárias do público consumidor, representando assim risco sanitário em insumos aromáticos tão empregados na culinária nordestina e na indústria de alimentos.

METODOLOGIA

Obtenção das amostras

Foram adquiridas 50 gramas de amostras das especiarias: colorífico (urucum),

orégano e pimenta-do-reino comercializados em supermercados, mercados e feiras livres na Região Metropolitana do Recife (RMR). Foram escolhidas para coleta de amostras, as cidades de Recife, Olinda, Camaragibe e São Lourenço da Mata. Foram selecionadas 30 amostras: 10 amostras de colorífico (urucum); 10 amostras de orégano e 10 amostras de pimenta-do-reino em grãos. Todas as amostras foram tabeladas de forma alfanumérica, para preservar as cidades pesquisadas e preservar o anonimato dos comerciantes.

Avaliação da qualidade microbiológica

As análises laboratoriais foram realizadas buscando a confirmação em razão da presença ou ausência, bem como a quantidade de UFC/grama (Unidade Formadora de Colônia por grama de amostra), de determinados microrganismos conforme solicitação de normas sanitárias vigentes (BRASIL, 2019). Dentre eles:

Determinação de Coliformes totais e *Escherichia coli*

A técnica do Número Mais Provável (NMP) é um método de análise quantitativo, que permite determinar o NMP mais provável do microrganismo alvo na amostra, através de inoculação de alíquotas dessa amostra em uma série de tubos contendo um meio de cultura líquido adequado ao seu crescimento, sendo o caldo lauril sulfato triptose e o caldo verde brilhante para detecção de coliformes totais e caldo *E.coli* para detecção de *E. coli*. O número de alíquotas contendo microrganismos ou não, permitiu estimar através de cálculo de probabilidade, a densidade original de coliformes na amostra. Essa técnica envolve as etapas de teste presuntivo e confirmativo (SILVA et al., 2017).

Teste presuntivo

Das diluições de 1/10 das especiarias, 1mL foram inoculadas numa série de 9 tubos, contendo 9 mL de caldo lauril sulfato triptose (LST). Após a inoculação, as amostras foram incubadas a 35°C por 24/48h. Consideraram-se positivos (suspeitos) os tubos que apresentaram turvação do meio e formação de gás no interior do tubo de Durhan.

Teste Confirmativo

Dos tubos considerados suspeitos, foram retirados 1mL da diluição e transferidos para tubos de ensaio dotados de um tubo de Durhan invertido, contendo caldo verde brilhante bile 2% (VB) e Caldo *E. coli* (EC) que são meios seletivos de identificação de

coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24/48 horas de incubação a 35°C, foram características relevantes para confirmação da presença de coliformes totais. O crescimento com produção de gás nos tubos de EC, após 24 horas de incubação a 45°C em banho-maria, foi considerado positivo para a presença de *E. coli*. Os resultados foram confrontados com a tabela de NMP da *Bacteriological Analytical Manual* (LIMA et al., 2009; SILVA et al., 2017).

Determinação de Bolores e Leveduras

Para a análise de presença e quantificação de bolores e leveduras, foi utilizado o meio de cultura PDA (Potato Dextrose Àgar). Com uma pipeta automática foram inoculados 0,1mL de cada diluição da amostra na superfície das placas de petri com o meio PDA solidificado (spread plate), incubadas à 30°C e foram observadas no 3º, 5º e 7º dia, para avaliação de formação de colônia. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de colônias por grama de amostra.

Determinação de *Bacillus cereus*

Foi empregado o plaqueamento direto, usando o meio de cultura Àgar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), que combina o antibiótico polimixina como agente seletivo e a gema de ovo e o manitol, como agentes diferenciais. O ensaio é positivo se as colônias apresentarem reação de lecitinase, caracterizada por halo de precipitação ao redor das colônias, característica de cepas de *B. cereus*. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de colônias por grama de amostra (JAY, 2005; FRANCO, LANDGRAF, 2008; SILVA et al, 2017).

Determinação de *Salmonella* sp. e *S. aureus*

As análises de *Salmonella* sp. e *S. aureus* foram realizadas utilizando-se kits comerciais Compact Dry®, que são aprovados pela Codex Alimentarius, I.C.M.S.F., APHA, FDA, ISSO Standards e AOAC para uso em análises microbiológicas de alimentos. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de colônias por grama de amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pimenta preta (*Piper nigrum*), conhecida como “rei das especiarias”, é uma das especiarias mais consumidas no mundo. Os dois principais componentes que controlam a qualidade da pimenta preta são a piperina e os óleos voláteis, responsáveis por seu aroma. A pimenta preta é obtida através da exposição à luz solar de bagas maduras de pimenta verde durante vários dias. Após a secagem ao sol, as bagas são submetidas ao processo de escurecimento. Pimentas pretas contêm vários compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos e óleos com atividade antimicrobiana (AHMAD et al., 2012; MARTINI et al., 2021; WANG et al., 2020).

A *Piper nigrum* L. é uma planta que apresenta grande produtividade e um dos condimentos mais valorizadas do mundo. Apresenta grande valor econômico, permitindo que a atividade desenvolvida pelos pipericultores proporcione alta rentabilidade. Devido ao seu sabor único, é frequentemente utilizada como condimento alimentar, utilizada especialmente no preparo e processamento de alimentos para atender diferentes públicos, uma vez que apresenta grande aceitação sensorial (LOURINHO et al., 2014).

O orégano (*Origanum vulgare*) pertence à família *Lamiaceae*, cujos efeitos bacteriostáticos são reconhecidos devido ao alto teor de compostos fenólicos, especialmente carvacrol. Nesse caso, os compostos fenólicos presentes podem apresentar além da atividade antimicrobiana também propriedades antioxidantes e podem ser utilizados como potencial conservante natural e de diminuição dos riscos dos radicais livres (OZAKI, 2021).

O urucum (*Bixa orellana* L.) pertence à família *Bixaceae*, é uma planta nativa da América Central e do Norte. Suas sementes são utilizadas na medicina tradicional como laxante, expectorante, cicatrizante e antibiótico. A camada externa das sementes possui coloração que varia do vermelho ao amarelo, a concentração de compostos coloridos é o que define a tonalidade para diferentes usos na indústria alimentícia. A parte utilizada como especiaria é a semente triturada, que quando adicionada a preparações agrega sabor suave e coloração agradável (SANTOS, 2021).

Os patógenos microbianos em alimentos podem causar a deterioração dos mesmos além de contribuir para a incidência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) e o surgimento de bactérias resistentes e multirresistentes. Doenças de origem alimentar são resultado da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou substâncias químicas, oriundos desse crescimento microbiano. Diversos patógenos são conhecidos por

causarem doenças quando veiculados em alimentos e água, entre os quais as bactérias e os fungos constituem grandes grupos de microrganismos causadores de doenças alimentares (SANTOS; PICCOLI; TEBALD, 2017; LIU et al., 2017).

Especiarias e ervas podem apresentar uma carga microbiana maior do que outros alimentos devido à sua cadeia de suprimentos (ERHAN, 2022). Embora as especiarias geralmente tenham um baixo teor de umidade, o que reduz/controla o crescimento microbiano, sua contaminação tem contribuído significativamente para infecções e surtos de origem alimentar. Tem sido relatado que as especiarias são um veículo de contaminação cruzada por micotoxinas e endotoxinas microbianas produzidas por bactérias patogênicas, como a *Salmonella* spp. (EL DARRA et al., 2021).

Em uma pesquisa publicada pelo MAPA (2015), denominada de Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes nas culturas agrícolas de Pimenta-do-reino, foram encontrados contaminantes biológicos como *Salmonella* spp., patógeno alimentar cuja presença pela legislação em vigor não é permitida. Barbosa (2017) em seu estudo sobre o perfil de contaminação das especiarias, verificou que 67% das amostras de pimenta-do-reino analisadas apresentaram o gênero *Salmonella*.

Após as análises realizadas nessa pesquisa, pode-se observar na Tabela 1, que todas as amostras apresentaram ausência de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Tal fato corrobora com os estudos de Walker et al. (2014) e Furlaneto & Mendes (2004), que também atestaram a ausência desse enteropatógeno em orégano, salsinha e manjerição desidratados.

Tabela 1 – Resultados microbiológicos em amostras de especiarias comercializadas na RMR.

Especiaria	Amostra	<i>B. cereus</i> (UFC/g ⁻¹)	<i>S. aureus</i> (UFC/g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> sp. (UFC/g ⁻¹)	Coliformes Totais (NMP/g-1)	<i>E. coli</i> (NMP/g-1)	Bolores e Leveduras (UFC/g ⁻¹)
Colorífico (Urucum)	1	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,11x10 ²
	2	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	5,0x10 ¹
	3	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,56x10 ²
	4	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,23x10 ²
	5	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	2,03x10 ²
	6	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	2,9x10 ¹
	7	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	2,17x10 ²
	8	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	4,2x10 ¹
	9	<10	<10	Ausente	6,1	<3	9,1x10 ¹
	10	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,31x10 ²
Orégano	1	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	9,8x10 ¹
	2	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	0,5x10 ¹
	3	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	2,8x10 ¹
	4	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	2,93x10 ²
	5	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	6,9x10 ¹

	6	<10	<10	Ausente	6,1	<3	1,04x10 ³
	7	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,75x10 ⁸
	8	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	5,3x10 ⁶
	9	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	5,3x10 ¹
	10	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	6,6x10 ⁷
Pimenta-do-reino	1	<10	<10	Ausente	3,6	<3	1,2x10 ²
	2	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	6,4x10 ¹
	3	<10	<10	Ausente	1,8x10 ²	<3	9,5x10 ¹
	4	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	5,4x10 ¹
	5	<10	<10	Ausente	2,9x10 ²	<3	1,4x10 ⁶
	6	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	8,0x10 ⁶
	7	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,3x10 ⁶
	8	<10	<10	Ausente	4,2x10 ²	<3	0,8x10 ⁶
	9	<10	<10	Ausente	<3,0	<3	1,2x10 ⁶
	10	<10	<10	Ausente	7,2	<3	5,0x10 ⁶
Valores de Referência da IN n°60 (BRASIL, 2019)							
	SR	SR	Ausente	SR	500	SR	

SR – sem referência na legislação em vigor (BRASIL, 2019).

Fonte: Autoria Própria

A ausência do *S. aureus* nas amostras pesquisadas (Tabela 1) é um resultado desejado para os indicadores de contaminação microbiana, indicando uma mudança na cadeia das especiarias, visto que Silva et al. (2013) registrou a presença de *Staphylococcus aureus* em 86% das amostras de pimenta-do-reino analisadas. Antes dessa pesquisa, Rocha et al. (2010) estudando a presença de *Staphylococcus aureus* em plantas medicinais, detectou 25% desse agente biológico nas amostras analisadas. Segundo Franco e Landgraf (2008), a presença de *S. aureus* indica que pode ter havido falhas nas condições de higiene durante a manipulação e exposição das especiarias. *Staphylococcus aureus* pode produzir na temperatura ambiente toxinas danosas ao trato gastrintestinal de humanos, provocando possíveis intoxicações incapacitantes e até quadros letais.

Silva et al. (2013) registrou que 78% de suas amostras de especiarias comercializadas em uma feira de Campina Grande – PB apresentavam coliformes fecais, sendo que em 22% os números eram superiores a 1.100 NMP/g. A pimenta-do-reino foi um dos produtos com maior contagem de microrganismos, estando fora dos padrões microbiológicos estabelecidos. Além disso, em todas as especiarias analisadas pelos autores houve presença de *E. coli*, indicando as condições higiênico-sanitárias inadequadas dos produtos.

Todas as amostras de especiarias do presente estudo que atestaram positivo para o teste presuntivo de NMP (caldo lauril), foram submetidas aos testes confirmativos (caldos VB e EC), cujos resultados atestaram ausência de termotolerantes (*E. coli*) e

confirmou a presença apenas de Coliformes Totais (Tabela 1). Corroborando com o que pesquisou Oliveira et al. (2017), em que as amostras de pimenta-do-reino, canela, açafraão e cominho apresentaram crescimento indicativo de coliforme fecal (*E. coli*), em contraponto a Silva et al. (2013) em seus estudos, obtiveram nos condimentos pimenta-do-reino e cominho a presença abundante de *Escherichia coli*.

Franco e Landgraf (2008), afirmam que o consumo de alimentos com número de células viáveis de *B. cereus* entre 10^7 e 10^9 levam a manifestação da síndrome diarreica e síndrome emética, provenientes da toxina diarreica e emética, respectivamente. Os ensaios realizados para detecção de *B. cereus* nessa pesquisa (Tabela 1), foram ausentes em todas as amostras, portanto não representam esse risco biológico aos consumidores. Barbosa (2017) apresentou valores de *B. cereus* superiores a 10^7 UFC/g⁻¹ em parte das amostras de pimenta-do-reino, ratificando a importância do estudo sanitário, que representa para preocupações reais com a saúde pública.

Constatou-se que todas as amostras analisadas de especiarias apresentaram contaminação por bolores e leveduras (Tabela 1). Os dados obtidos neste estudo foram próximos aos obtidos por Furlaneto et al. (2004) e por Teixeira-Loyola (2014), que apresentaram valores elevados para bolores e leveduras, variando de 69,0 a $1,75 \times 10^8$ NMP/g⁻¹. Teixeira-Loyola et al. (2014), ao analisarem especiarias comercializadas em feiras livres e supermercados de Pouso Alegre em Minas Gerais, observaram que amostras de orégano coletadas em feiras e supermercados apresentaram contaminação abaixo de $1,0 \times 10^5$ UFC/g.

A presença destes fungos pode causar alterações sensoriais do produto, além de sugestivas condições higiênico-sanitárias deficientes. As especiarias estão frequentemente expostas a muitos contaminantes: condições de estocagem em locais úmidos, problemas na higienização e temperatura inadequada, que podem favorecer o crescimento de fungos e contribuir para a contaminação visível. Contagens altas de fungos em alimentos podem trazer riscos aos consumidores, pois estes podem produzir micotoxinas carcinogênicas e mutagênica (RODRIGUES et al., 2005; SOUSA, 2015).

SILVA et al. (2012) realizaram estudo sobre contaminação fúngica em especiarias, dentre elas a pimenta-do-reino e o colorífico, nas feiras livres e supermercados da cidade de Teresina-PI. Nesse estudo, cerca de 77,77% das amostras apresentaram resultado positivo para fungos, encontrando-se 9 (nove) espécies diferentes. *Aspergillus* foi o gênero predominante, com seis espécies identificadas, seguido do

gênero *Penicillium*, com três espécies. Os condimentos analisados apresentaram contaminação por fungos potencialmente patogênicos e produtores de micotoxinas, os quais podem constituir um risco para a saúde dos consumidores.

Cunha Neto et al. (2013) analisaram especiarias, dentre elas a pimenta-do-reino, o colorífico e o orégano, concluíram que os isolados fúngicos estavam presentes em 86,6% das amostras de especiarias avaliadas. Os gêneros mais prevalentes foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Paecilomyces*, entre as espécies de *Aspergillus* ocorreram *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. oryzae* e *A. parasiticus*, que são citados na literatura como potenciais produtores de micotoxinas. Portanto, a contaminação fúngica de especiarias podem representar um problema de saúde pública.

Garcia (2015) realizou estudo sobre contaminação fúngica em especiarias e constatou o potencial de produção de micotoxinas nos fungos isolados. Concluiu-se que as amostras analisadas apresentaram ampla contaminação por fungos de espécies potencialmente micotoxigênicas, representando perigo para a saúde dos consumidores. A frequência de *Aspergillus* spp. potencialmente toxigênicos foi intensa na pimenta-do-reino com presença de *A. flavus* (32%); *A. nomius* (12%); *A. parasiticus* (4%); *A. niger* (52%); *A. ochraceus* (12%) e *A. carbonarius* (4%). Das 21 cepas isoladas e testadas de *A. flavus* na pimenta preta, 14,2 % apresentaram capacidade de produção de aflatoxina B1 (AFB1). *A. parasiticus* demonstrou potencial toxigênico de produção de AFB1, B2 e G1 em 100% dos casos. Com relação aos fungos potencialmente produtores de ocratoxina A (OTA), *A. carbonarius* (100 %); *A. ochraceus* (20 %), e *A. niger* (3,7 %), foram capazes de sintetizar OTA. O orégano foi a especiaria com maior número de isolados de *A. niger* testados, resultado preocupante quanto a possibilidade de produção de compostos tóxicos.

Outro importante fator de risco para as especiarias contaminadas está na ingestão de micotoxinas, que são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos durante as etapas do manejo da pré e pós-colheita. Entre as micotoxinas conhecidas destacam-se, a aflatoxina e ocratoxina A. Compostos que pertencem ao gênero *Aspergillus*, possuem propriedades altamente tóxicas e efeitos carcinogênicos, teratogênicos, imunossupressores, hepatotóxicos e nefrotóxicos (SILVA, 2021).

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 contaminação de forma direta, em que o homem o faz através

de si, por meio de resíduos de origem fecal, nariz (coriza, espirros), boca (tossir, falar sobre os alimentos) e 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. Assim como 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; SOUSA, 2015).

Santos et al. (2017) fizeram uma análise microscópica de especiarias adquiridas em feiras livres e supermercados e descobriu-se inúmeras sujidades e contaminantes no orégano, sendo os mais relevantes: pedras, areia, fragmentos de acrílico e vidro, insetos inteiros e fragmentos e pêlo humano, sendo o orégano a especiaria mais contaminada de corpos estranhos na matriz alimentar.

CONCLUSÃO

No mercado local, especiarias vendidas a granel em recipientes abertos, são altamente suscetíveis à contaminação microbiana. As condições higiênicas, ambientais e sanitárias durante o processamento, distribuição e armazenamento de especiarias e ervas não embaladas devem ser controladas para evitar contaminação cruzada. Nesse sentido, manipuladores de alimentos, fornecedores e consumidores devem estar cientes das práticas adequadas de manuseio e armazenamento para reduzir o risco de contaminação. Este estudo também sugere a necessidade da implantação de um sistema de gestão de segurança alimentar, aplicação de boas práticas higiênicas de fabricação, realização de inspeção de rotina e teste do produto final, a fim de garantir a segurança microbiana em todas as etapas de produção das especiarias. Para evitar a contaminação de especiarias com microrganismos em níveis insatisfatórios, os padrões de produção que abordam medidas higiênicas são cruciais e devem ser aplicados em toda a cadeia.

Considerando os resultados encontrados no presente estudo, faz-se necessária uma orientação efetiva ao consumidor quanto a forma segura de utilização destes produtos, para qual sugere-se a cocção adequada das preparações alimentícias contendo especiarias. Em relação aos riscos oferecidos à saúde, no que concerne a culinária familiar, onde o consumo dá-se logo após o preparo, há menor risco. O problema maior diz respeito ao comércio informal de alimentos, onde a utilização é em larga escala e os produtos serão consumidos após um prazo variável de estocagem e distribuição.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, N.; FAZAL, H.; ABBASI, B. H.; FAROOQ, S.; ALI, M.; KHAN, M. A. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. S1945-S1953, 2012.
- BARBOSA, I. B. Perfil de contaminação microbiológica de especiarias. **Anais dos Seminários de Iniciação Científica**, n. 21, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para especiarias, temperos e molhos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2005.
- CARDIN, L. M. A. G.; DEDUBIANI, A. L.; MIRANDA, G. Z. T.; PEREIRA, M. A.; DA SILVA CINTRA, V. L.; MIRANDA, I. T. P. Especiarias e sua importância na gastronomia. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 10, p. 97282-97291, 2021.
- COSTA, B. G. **Presença de fungos potencialmente toxigênicos em amostras de especiarias comercializadas no Brasil: uma revisão**. 2021. 41 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, 2021.
- CUNHA NETO, A.; SILVA, F. V.; MACHADO, A. P. Incidência de espécies fúngicas potencialmente toxigênicas em especiarias. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 1, 2013.
- EL DARRA, N.; XIE, F.; KAMBLE, P.; KHAN, Z.; WATSON, I. Decontamination of *Escherichia coli* on dried onion flakes and black pepper using Infra-red, ultraviolet and ozone hurdle technologies. **Heliyon**, v. 7, n. 6, p. e07259, 2021.
- ERHAN, I. C. Quantitative viscosity determination in irradiated major spices (black pepper, cardamom, cinnamon, ginger, and turmeric) by using a vibro viscometer for long-term storage. **Food Control**, v. 133, p. 108679, 2022.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Call for data and experts on microbiological hazard associated with spices and dried aromatic herbs**. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/Call_for_data_and_experts_on_spices_Final_20121220.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2022
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Production of Spices: top 10 producers**. 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 19 mar. 2022.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAFF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. 192p.

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, 2008.

GARCIA, M. V. **Contaminação fúngica de especiarias e potencial micotoxigênico dos isolados**. 2015. 68 p. Dissertação (Mestrado em em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria 2015.

IHA, M. H.; TRUCKSESS, M. W. Management of Mycotoxins in Spices. **Journal of AOAC International**, v.102, n.6, p.17321739, 2019.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

LIU, Q.; MENG, X.; LI, Y.; ZHAO, C. N.; TANG, G. Y.; LI, H. B. Antibacterial and antifungal activities of spices. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1283, 2017.

LOURINHO, M.; COSTA, C. A.; SOUZA, L.; SOUZA, L.; NETO, C. O. Conjuntura da pimenta-do-reino no mercado nacional e na região norte do brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, 1016-1031p., 2014.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria SDA n° 44, 2015**. Diário Oficial da União, Brasília, 2015.

MARTINI, S.; CATTIVELLI, A.; CONTE, A.; TAGLIAZUCCHI, D. Black, green, and pink pepper affect differently lipid oxidation during cooking and in vitro digestion of meat. **Food Chemistry**, v. 350, p. 129246, 2021.

OLIVEIRA, J. O.; DE OLIVEIRA VILELA, L. T.; DE OLIVEIRA SILVA, L. H.; SOARES DO NASCIMENTO, T.; DA CRUZ MAGALHÃES, F. A.; VIVI, V. K. Análise microbiológica de especiarias desidratadas comercializadas em feiras livres de Cuiabá, Mato Grosso. **Journal Health NPEPS**, v. 2, n. 2, p. 365–379, 2017.

OZAKI, M. M.; DOS SANTOS, M.; RIBEIRO, W. O.; FERREIRA, N. C. A.; PICONE, C. S. F.; DOMÍNGUEZ, R.; POLLONIO, M. A. R. Radish powder and oregano essential oil as nitrite substitutes in fermented cooked sausages. **Food Research International**, v. 140, p. 109855, 2021.

ROCHA, F. A. G.; MEDEIROS, F. G. M. de; SILVA, J. L. A. Diagnóstico da qualidade sanitária de plantas medicinais comercializadas no município de currais novos, RN. **Holos**, v. 2, p. 71-79, 2010.

SANTOS, C. H. DA S.; PICCOLI, R. H.; TEBALD, V. M. R. T. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, p. 1-8, 2017.

SANTOS, D. C.; BARBOZA, A. S.; RIBEIRO, J. S.; JUNIOR, S. A. R.; CAMPOS, Â. D.; LUND, R. G. *Bixa orellana* L. (Achiote, Annatto) as an antimicrobial agent: A scoping review of its efficiency and technological prospecting. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 114961, 2021.

SANTOS, P. C.; SOUZA, E. M.; LOPES, L. C. M.; VIEIRA, M. C.; CUNHA, L. R.; LIMA, E. M. F. Avaliação microscópica e pesquisa de sujidades em amostras comerciais de orégano (*Origanum vulgare* L.), salsa (*Petroselinum sativum* Hoffm.) e chimichurri. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, supl. 1, p. 11-16, 2017.

SILVA, C. S. **Métodos de prevenção e controle do fungo *Aspergillus* em alimentos: revisão bibliométrica.** 2021. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Unidade em Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2021.

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 Semiárido**, v. 9, n. 2, p. 83-87, 2013.

SILVA, L. P. DA; ALVES, A. R.; BORBA, C. DE M.; MOBIN, M. Contaminação fúngica em condimentos de feiras livres e supermercados. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 202-206, 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; FERREIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M., **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** São Paulo: Blucher, 2017. 560p.

SOUSA, P. M. V. **Análise microbiológica de especiarias comercializadas no município de Palmas-TO.** 2015. 36 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Centro universitário Luterano de Palmas, Palmas, 2015.

TEIXEIRA-LOYOLA, A. B. A.; SIQUEIRA, F. C.; PAIVA, L. F.; SCHREIBER, A. Z. Análise Microbiológica de especiarias comercializadas em Pouso Alegre, Minas Gerais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 6, n. 1, p. 515-529, 2014.

VELOSO, R. R.; SHINOHARA, N. K. S.; PADILHA, M. R. F.; MATSUMOTO, M. Construção da Cultura Alimentar Mexicana. **Contextos da Alimentação–Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, v. 7, n. 2, 2019.

WALKER, J. F.; OLIVEIRA, T. D. S.; ARAÚJO, J. B. D.; SILVA, P. P. D. A.; COELHO, A. F. S. Avaliação microbiológica de condimentos comercializados em feira livre. **Hig. alim.**, p. 185-189, 2014.

WANG, Y.; CHEN, L.; CHAISIWAMONGKHOL, K.; COMPTON, R. G. Electrochemical quantification of piperine in black pepper. **Food chemistry**, v. 309, p. 125606, 2020.

Recebido em: 2022

Aprovado em: 2022

Publicado em: 2022

Título do trabalho no idioma do artigo, fonte Times New Roman, corpo 14, espaçamento simples, centralizado, até duas linhas

Título no segundo idioma, Times New Roman, corpo 12, negrito, centralizado, espaço simples e até duas linhas

Autor Correspondente^{1*}, Co-autor 1², Co-autor 2¹, Co-autor 3¹

[São permitidos no máximo **8 autores**, note que autores da mesma instituição compartilham do mesmo número que está descrito no rodapé, Times New Roman 11]

RESUMO

No mesmo idioma do artigo, com no mínimo cinco e no máximo 12 linhas. Deve constar em fonte Times New Roman, corpo 10, justificado, espaçamento 1,15 entre as linhas. O resumo é obrigatório e considerado um dos principais componentes do manuscrito. Lembre-se que um bom resumo deve descrever quais são os objetivos do trabalho e os pontos metodológicos de forma sucinta. Mostrar os principais resultados que respondem ao propósito do estudo.

Palavras-chave: Palavra-chave 1; Palavra-chave 2; Palavra-chave 3;

[Separadas por ponto e vírgula, começando cada uma em maiúscula, com no mínimo 3 e no máximo 5]

ABSTRACT

Resumo no segundo idioma, com as mesmas regras e a mesma formatação do anterior.

Keywords: [1-5]

INTRODUÇÃO [Times New Roman, caixa alta, corpo 12]

Os artigos devem conter no máximo 10 mil palavras em folha tamanho A4. As margens laterais devem estar em 3cm e as margens superior e inferior, 2,5cm.

¹ Instituição de afiliação 1. *E-mail: correspondente@autor.com

² Instituição de afiliação 2

O texto do artigo deve ser digitado em fonte Times New Roman, corpo 12, justificado, em espaço 1,5, e empregar itálico para termos estrangeiros, em vez de sublinhado.

Veja como usar a nota de rodapé³ neste exemplo.

As citações diretas (mais de 3 linhas) precisam ser apresentadas com deslocamento de 4 cm da margem esquerda, com espaçamento simples, fonte Times New Roman, corpo 11, acompanhadas da indicação do sobrenome do autor, ano e página(s) da publicação.

As tabelas e ilustrações (mapas, diagramas, organogramas, quadros, fotografias, gráficos, fluxogramas, entre outros) devem ser apresentadas no corpo do documento, centralizados, com identificação na parte de cima e fonte na parte de baixo, ambos tamanho 11pts, sempre com a melhor qualidade gráfica possível. Veja o exemplo abaixo.

Figura 1 – Título da figura 1



Fonte: Nome da fonte ou sobrenome do(s) autor(es) (ano, p. XX)

REFERÊNCIAS

As referências completas devem ser apresentadas de acordo com as normas técnicas NB-66 (NBR 6023) da ABNT e somente das citações feitas no corpo do texto, não de outras obras consultadas; devem aparecer em ordem alfabética e não numeradas ou com marcadores de texto. Utilizar fonte 12, sem parágrafo, alinhado a esquerda, espaçamento simples e espaço entre cada referência.

³ As notas de rodapé devem ser apresentadas no pé da página onde seus índices numéricos aparecem, utilizando-se os recursos do Microsoft Word, em fonte Times New Roman, corpo 10, justificado.

Para a melhor compreensão e visualização, a seguir são transcritos exemplos de referências de diversos tipos de materiais.

Exemplos:

Livro:

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

Capítulo de Livro:

SOUZA, D. dos S. de L et al. Transformação genética de cana-de-açúcar. In: FIGUEIREDO, M. do V. B. et al (Ed.). **Biotecnologia aplicada à agricultura**: textos de apoio e protocolos experimentais. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2010. p. 333-356.

Artigo de Periódico:

SANTANA, J. A.; COLOMBO, A.; SCALCO, M.; ASSIS, G. Evolução do índice de área foliar de cafeeiro arábica sobdiferentes níveis e formas de parcelamentos de adubação. **Conjecturas**, v. 2, n. 2, p. 3-17, 2020.

Trabalho publicado em Anais de Evento:

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS, 9, 1994, São Paulo. **Anais[...]** São Paulo: USP, 1994. p. 16-29.

Teses e Dissertações:

ARAUJO, U. A. M. **Máscaras inteiriças Tukúna**: possibilidades de estudo de artefatos de museu para o conhecimento do universo indígena. 1985. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Sociais) - Fundação Escola de Sociologia e Política de São Paulo, São Paulo, 1986.

Recebido em: 2022

Aprovado em: 2022

Publicado em: 2022