
SCIENTIA

vitæ

Novembro a dezembro de 2018

6

Número 22

**Revista eletrônica
Publicação on-line exclusivamente**

ISSN 2317-9066

<http://www.revistaifpsr.com>

Editoração:

Prof. Dr. Fernando Santiago dos Santos (editor-chefe)

Administração e preparação de manuscritos desta edição:

Prof. Dr. Ricardo dos Santos Coelho (editor associado)

Prof. Me. Alequexandre Galvez (administrador da revista)

SCIENTIA

vitæ

Comitê gestor

Editor-chefe

Fernando Santiago dos Santos (IFSP São Roque)

Editor associado: educação e filosofia

Frank Viana Carvalho (IFSP São Roque)

Editor associado: meio ambiente

Ricardo dos Santos Coelho (IFSP São Roque)

Editora associada: economia e gestão

Ivy Judensnaider (UNIP São Paulo)

Administrador da revista

Alequexandre Galvez (IFSP São Roque)

Revisor: português e inglês

Fernando de Oliveira Souza (IFSP São Roque)

Equipe editorial e colaboradores externos

Adna Viana Dutra (IFCE)

Alberto Paschoal Trez (IFSP São Roque)

Alessandra Aparecida Viveiro (Unicamp)

Alexandre Shigunov Neto (IFSP câmpus Itapetininga)

Amanda Faria Querido (Unitau)

André Rodrigues dos Reis (Unesp câmpus Tupã)

André Victor Lucci Freitas (Unicamp)

Anna Carolina Salgado Jardim (IFSP São Roque)

Beny Spira (USP)

Breno Bellintani Guardia (IFSP São Roque)

Caio Abércio da Silva (UEL)

Carlos Suetoshi Miyazawa (UFABC)

Cibelle Celestino Silva (USP São Carlos)

Cláudio Afonso Pinho Lopes (Universidade de Brasília)

Cristaine Valéria de Toledo-Plaça (FAAP-SP)

Daisi Teresinha Chapani (UESB)

Fabio Laner Lenk (IFSP São Roque)

Fernando Manuel Seixas Guimarães (Universidade do Minho, Portugal)

Flavio Trevisan (IFSP São Roque)

Francisco Rafael Martins Soto (IFSP São Roque)

Guilherme Augusto Canella Gomes (IFSP Barretos)

Helena de Godoy Bergallo (UERJ)

Hudson Alves Pinto (Fiocruz/UFMG)

Iolanda Cristina Silveira Duarte (UFScar Sorocaba)

Ivan Fortunato (IFSP Itapetininga)

João Garcia Caramori Júnior (UFMT)

Jorge de Lucas Junior (UNESP Jaboticabal)

Jorge Megid Neto (Unicamp)

Jose Ferraz Neto (IFSP Campinas)

José Hamilton Maturano Cipolla (IFSP São Roque)

Karina Arruda Cruz (IFSP São Roque)

Leonardo Preto de Azevedo (IFSP São Roque)

Lucas Emmanuel Misseri (Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina)

Luciano Elsinor Lopes (UFScar São Carlos)

Magda Medhat Pechliye (Universidade Presbiteriana Mackenzie)

Marcio Pereira (IFSP São Roque)

Marco Antônio Andrade de Souza (UFES)

Milton Meira do Nascimento (FFLCH - USP)

Mônica Huguenin de Araujo Faria (UFRJ)

Nelio Fernando dos Reis (IFSP São Roque)

Patricia Fernanda Schons (IFSC)

Patrícia Riberto Lopes (Pref. Municipal de Belo Horizonte)

Rebeca Chiacchio Azevedo Fernandes (UFScar)

Rogério de Souza Silva (IFSP São Roque)

Rosana Mendes Roversi (IFSP São Roque)

Sandro Eugênio Pereira Gazzinelli (Colégio Militar de Belo Horizonte, MG)

Sandro José Conde (IFSP São Roque)

Sergio Santos de Azevedo (UFCG)

Silvana Haddad (IFSP São Roque)

Silvio Arruda Vasconcellos (USP)

Sonia Regina Pinheiro (USP)

Vânia Ballestin (IFSP São José dos Campos)

Waldemar Hazoff Júnior (IFSP São Roque)

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| <p>EDUCAÇÃO AMBIENTAL CRÍTICA POR MEIO DE UMA SEQUÊNCIA DIDÁTICA COM O TEMA RESÍDUOS SÓLIDOS EM UMA ESCOLA MUNICIPAL DE SÃO ROQUE CRITICAL ENVIRONMENTAL EDUCATION THROUGH A DIDACTIC SEQUENCE WITH THE SUBJECT SOLID WASTE IN A MUNICIPAL SCHOOL OF SÃO ROQUE</p> | 5 |
| Izabela Chaves Pedro, Glória Cristina Marques Coelho Miyazawa | |
| <p>PESQUISA DE OVOS E LARVAS DE HELMINTOS INTESTINAIS, CISTOS DE PROTOZOÁRIOS E BACTÉRIAS DO GRUPO COLIFORME EM ALFACES COMERCIALIZADAS EM UMA FEIRA LIVRE DO MUNICÍPIO DE SÃO ROQUE-SP RESEARCH EGGS AND LARVAE OF INTESTINAL HELMINTHES, PROTOZOAN CYSTS AND BACTERIA COLIFORM GROUP IN LETTUCES SOLD IN A FREE FAIR IN SÃO ROQUE-SP</p> | 10 |
| Giovanna Aparecida Domingues de Oliveira, Nicolas Brandão Mesquita, Felipe Ribeiro do Amaral, Márcio Pereira, Francisco Rafael Martins Soto | |
| <p>LEVANTAMENTO QUANTITATIVO DAS FORMAS LIQUÊNICAS EM ÁRVORES DE TRÊS DIFERENTES ÁREAS (ARBORETO FASE I, ARBORETO FASE II E SISTEMA AGROFLORESTAL) DO IFSP CÂMPUS SÃO ROQUE QUANTITATIVE SURVEY OF ARBOREAL LICHENIC FORMS OCCURRING ON THREE DIFFERENT AREAS (ARBORETUM PHASE 1, ARBORETUM PHASE 2 AND AGROFOREST SYSTEM) AT IFSP, CAMPUS SÃO ROQUE</p> | 16 |
| Angela Caroline de Carvalho, Erika Garcia, Gabriella Sales Nascimento Calaço, Larissa Oliveira Lage | |
| <p>TANASE: UMA REVISÃO DAS APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS TANNASE: A REVIEW OF APPLICATIONS AND PERSPECTIVES</p> | 24 |
| Mateus Cabral de Vasconcellos Teixeira, Ester Helena Alves, Fabíola Pisciotto de Oliveira, Vania Battestin | |
| <p>DIAGNÓSTICO DAS CONDIÇÕES SANITÁRIAS NO COMÉRCIO AMBULANTE DE ALIMENTOS NA ESTÂNCIA TURÍSTICA DE SÃO ROQUE-SP DIAGNOSIS OF SANITARY CONDITIONS IN TRADE FOOD STREETS IN SÃO ROQUE, SAO PAULO STATE, BRAZIL</p> | 33 |
| Felipe Ribeiro do Amaral, Giovanna Aparecida Domingues de Oliveira, Wesley de Matos Pereira, Francisco Rafael Martins Soto | |

EDUCAÇÃO AMBIENTAL CRÍTICA POR MEIO DE UMA SEQUÊNCIA DIDÁTICA COM O TEMA RESÍDUOS SÓLIDOS EM UMA ESCOLA MUNICIPAL DE SÃO ROQUE

CRITICAL ENVIRONMENTAL EDUCATION THROUGH A DIDACTIC SEQUENCE WITH THE SUBJECT SOLID WASTE IN A MUNICIPAL SCHOOL OF SÃO ROQUE

Izabela Chaves Pedro¹, Glória Cristina Marques Coelho Miyazawa¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São Roque (IFSP – SRQ). E-mail: izabela_pedro@yahoo.com.br

RESUMO. Este relato descreve uma sequência didática utilizando o tema “resíduos sólidos” desenvolvida por discentes do IFSP-SRQ em uma escola municipal de ensino fundamental de São Roque, dentro do Projeto de Extensão Educação Ambiental na Prática. O objetivo do trabalho foi proporcionar aos alunos a oportunidade de discutir o tema, considerando sua complexidade e refletir sobre as ações individuais e coletivas, para estimular a busca de soluções através da mudança de atitudes. Foram utilizadas metodologias diferenciadas para envolvimento e participação dos alunos como aulas expositivas dialogadas, exibição de vídeos, leitura de livro, oficina de reciclagem de papel e visita técnica. Os resultados alcançados foram significativos, pois conseguiram sensibilizar os alunos e gerar mudanças efetivas. A parceria entre escolas e instituições de ensino superior é importante para garantir que essas ações aconteçam na prática, além de fortalecer a formação dos licenciandos que atuarão nessa área. **Palavras-chave:** Educação Ambiental. Ensino Fundamental. Resíduos sólidos.

ABSTRACT. This report describes a didactic sequence using solid waste subject, developed by students of the IFSP - SRQ in a municipal school of basic education of São Roque, within the Project of Extension Environmental Education in Practice. The objective of the work was to provide students the opportunity to discuss the subject, considering its complexity and to reflect individual and collective actions, stimulating the search for solutions through changing attitudes. Different methodologies were used for the involvement and participation of the students as dialogic exposition classes, video exhibition, book reading, paper recycling workshop and technical visit. The results achieved were significant, as they were able to raise awareness of the students and generate effective changes. The partnership between schools and higher education institutions is important to ensure that these actions take place in practice, in addition to strengthening the training of graduates who will work in this area. **Keywords:** Environmental education. Basic Education. Solid Waste.

INTRODUÇÃO

O lixo é um problema ambiental que atinge toda a população e vem se agravando com o passar dos anos; exigindo conhecimento, comprometimento, mudança de atitudes e novas estratégias para sua solução (PENTEADO, 2011). Por ser um tema atual, precisa ser abordado na sala de aula, “no intuito de fomentar no aluno um desenvolvimento crítico no que se refere às questões sociais, culturais, econômicas e tecnológicas ligadas aos temas ambientais”. O aluno precisa ser desafiado a pensar sobre sua geração, seu destino, sua ação danosa, sua redução e até mesmo a não produção (MELO; KONRATH, 2010).

Muitos projetos de Educação Ambiental desenvolvidos nas escolas utilizam os resíduos sólidos como tema central e tem sido objetos de estudo de várias pesquisas e relatos de experiência (OLIVEIRA; SILVEIRA, 2014; GALLO; GUENTHER, 2015; MENEZES; NASCIMENTO, 2016; SILVA, ANJOS, 2016; OLIVEIRA; MOURA, 2017; SCUPINO; VAN KAICK, 2017; dentre outros). Guanabara, Gama e Eigenheer (2008) destacam que a maioria dos projetos vem utilizando uma abordagem reducionista, trabalhando apenas com a coleta seletiva e a reciclagem e deveriam trabalhar com a educação ambiental dentro de uma concepção crítica, inserindo outros conceitos além desses, para melhor compreensão da complexidade do tema e transformação real da problemática.

A Educação Ambiental Crítica apresenta uma leitura da realidade, que considera a articulação das dimensões sociais, culturais, econômicas, políticas e ecológicas na reflexão sobre o padrão do lixo gerado no atual modelo de produção (LAYRARGUES; LIMA, 2014).

Com base nesse contexto, desenvolveu-se uma sequência didática com o tema resíduos sólidos em uma escola de ensino fundamental, como parte das ações do projeto de extensão “Educação Ambiental na Prática”, em que discentes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas e Tecnologia em Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São Roque, ministram semanalmente aulas de temas ambientais, de forma interdisciplinar. Adotou-se a perspectiva da educação ambiental crítica, considerando a complexidade existente em torno do tema, com objetivo de proporcionar aos alunos a oportunidade de discussão sobre o problema dos resíduos sólidos no ambiente, levando-os a refletir sobre as ações individuais e coletivas, para estimular a busca de soluções através da mudança de atitudes.

A experiência foi de grande relevância, uma vez que cumpriu com a finalidade do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP) de se tornar um centro de referência no apoio à oferta do ensino de Ciências nas instituições públicas de ensino e desenvolver programas de extensão, de divulgação científica e tecnológica; atendeu a demanda da escola no desenvolvimento de ações de Educação Ambiental e contribuiu para um entendimento mais abrangente dos discentes dos cursos de Licenciatura em Ciências Biológicas e Tecnologia em Gestão Ambiental de como se faz educação ambiental dentro do espaço escolar, considerando um caráter permanente, interdisciplinar, integrado às questões sociais e econômicas, destinado à resolução de problemas e preocupado com as perspectivas para o futuro.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

Este trabalho foi desenvolvido com aproximadamente 300 alunos de 11 turmas do ensino fundamental, do 3º ao 7º anos, de uma escola municipal de São Roque, utilizando uma sequência didática com o tema "resíduos sólidos" constituída por cinco intervenções, com duração de duas a quatro horas-aulas de 50 minutos cada uma, aplicada em cada turma, com adaptações de acordo com a faixa etária e com o uso de diferentes metodologias (Quadro 1).

Quadro 1. Atividades desenvolvidas na sequência didática com o tema resíduos sólidos.

| INTERVENÇÃO | Nº DE AULAS | ATIVIDADES DESENVOLVIDAS |
|-------------|-------------|--|
| 1 | 4 | Aulas expositivas dialogadas com conceitos gerais |
| 2 | 2 | Trabalho com o livro "A quarta-feira de Jonas" de Socorro Acioli (2010) |
| 3 | 2 | Oficina de reciclagem de papel |
| 4 | 3 | Aula expositiva sobre hábitos alimentares, consumo de óleo e destinação do produto |
| 5 | 2 | Visita a usina de biodiesel móvel |

As aulas ocorreram semanalmente durante o horário regular, através de um revezamento das disciplinas envolvidas, ministradas por discentes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. Isso foi possível devido a colaboração e sensibilização da equipe gestora e dos professores quanto a importância de trabalhar a educação ambiental no espaço escolar.

A primeira intervenção consistiu em aulas expositivas dialogadas, com utilização de slides, a partir dos quais os conceitos foram apresentados e discutidos com os alunos, sempre estimulando a participação deles. Assim, discutiu-se sobre a definição de lixo; a diferença entre lixo e resíduo; a quantidade de lixo produzido diariamente por uma pessoa, com a diferenciação entre os diferentes níveis sociais; composição do lixo doméstico; consumismo; destino dado aos resíduos domésticos de uma forma geral e no município de São Roque; diferenças entre um lixão e um aterro sanitário; redução, reaproveitamento e reciclagem. Pelos comentários dos alunos ficou evidente não ser um tema preocupante para eles em um primeiro momento, mas pensando sobre o assunto, perceberam estar presente na vida de todos, sem preocupação com as consequências do seu destino inadequado.

De forma complementar, à medida que o conteúdo avançava, utilizaram-se vídeos para facilitar a compreensão e estimular a reflexão sobre o tema. Os vídeos da série "De onde vem", da TV Escola, que tem como centro a personagem Kika, possibilitaram através de uma linguagem simples, divertida e acessível, discutir a origem e destino do papel, plástico, metal e vidro, mostrando o uso dos recursos naturais como fonte de matéria-prima, onde o uso exagerado e o destino inadequado resultam no esgotamento deles, sendo a reciclagem um caminho para diminuir a extração de matéria-prima virgem, economizar água e energia.

Os alunos foram levados a refletir que, embora a reciclagem tenha um grande valor para o destino adequado dos resíduos, o ponto central gira em torno da redução do consumo e reutilização. Como mencionado por Logarezzi (2006, p. 121), na pedagogia dos 3R (reduzir, reutilizar e reciclar),

(...) as pessoas procuram exercer o terceiro R – do descarte seletivo para a reciclagem – e, com isso, sentem-se autorizadas, ou ao menos aliviadas, para um consumo que não reflete a responsabilidade social e ambiental que cada um deve ter como cidadã/o de sua região, de seu país e do mundo.

Na segunda intervenção, que ocorreu apenas com os alunos das séries iniciais do ensino fundamental, trabalhou-se o livro “A quarta-feira de Jonas” de Socorro Acioli (2010), que trata da história de um menino que tem como hábito observar uma família de golfinhos semanalmente e esse programa é prejudicado quando um dos animais morre após ingerir sacos plásticos. O livro permitiu a discussão com os alunos, por meio de um debate, sobre a relação entre a morte dos animais e os hábitos das pessoas, analisando o final trágico e o final feliz apresentado pelo livro. Durante a leitura e discussão os alunos se mostraram animados e participativos.

Na terceira intervenção, os alunos participaram de uma oficina de reciclagem de papel, feita com jornais, cola e água (Figura 1).

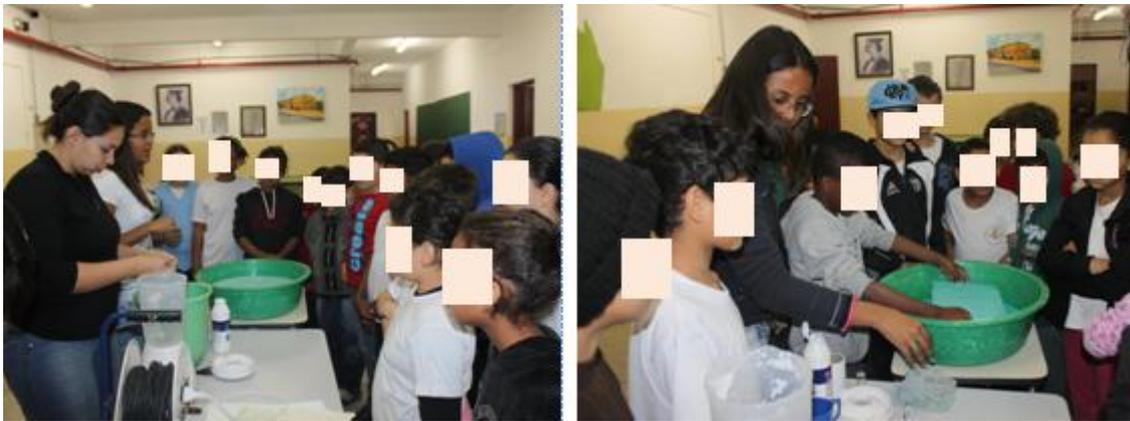


Figura 1. Oficina de reciclagem de papel com alunos do ensino fundamental.

Na aula seguinte, as folhas de papel produzidas pelos alunos foram utilizadas para produção de atividades relacionadas ao tema, explorando formas de reduzir a quantidade de papel utilizada diariamente, o que fazer com o papel usado, descrição do processo de reciclagem de papel e a associação entre as lixeiras coloridas e o material correto a ser depositado em cada uma, para coleta seletiva (Figura 2). Os alunos ficaram muito satisfeitos com o resultado do trabalho.

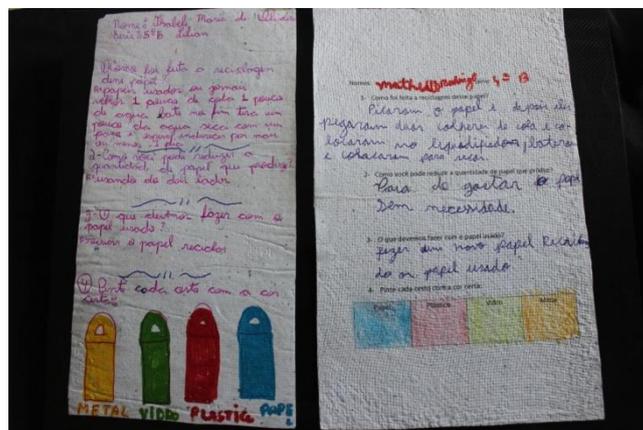


Figura 2. Atividade dos alunos feita com papel reciclado.

Na quarta intervenção se trabalhou o conteúdo óleo, considerando o ponto de vista nutricional e ambiental. Inicialmente fez-se uma pesquisa sobre os hábitos alimentares dos alunos,

investigando a frequência com que consumiam alimentos fritos, os alimentos consumidos, bem como o destino dado ao óleo após o uso. Como já se esperava a maioria dos alunos, informou consumir alimentos fritos quase diariamente, abrangendo bife, batata, polenta, mandioca, hambúrguer, pastel, *nuggets* e muitos ainda colocaram ser a forma predileta de consumo. Quanto ao destino dado ao óleo após o uso, muitos disseram haver o reaproveitamento do óleo na casa até ele ficar escuro e não dar mais para usar, sendo depois disso jogado na pia, no vaso sanitário, no lixo ou na terra do quintal; alguns citaram que faziam a doação para pessoas do bairro que produziam sabão.

A partir dessa discussão inicial se apresentou aos alunos os riscos e as doenças que uma dieta contendo um consumo excessivo de óleo pode causar e também os benefícios que o uso moderado desse produto pode trazer dando bastante ênfase à alimentação de crianças e adolescentes. Em seguida, abordou-se o impacto ambiental relacionado ao despejo inadequado do óleo no esgoto ou lixo e alternativas mais sustentáveis para esse tipo de resíduo. Foram apresentadas iniciativas de vários municípios que em parceria com empresas e organizações não governamentais, colocam pontos de coleta para recolher óleo usado e dar o destino correto a ele, com destaque para o município de São Roque que conta com alguns ecopontos.

Para ilustrar na prática, na quinta intervenção, os alunos das séries finais do ensino fundamental fizeram uma visita a Usina de Biodiesel Móvel, em Sorocaba, que transforma o óleo de cozinha usado, residencial ou comercial, em biodiesel que abastece a frota de caminhões da coleta seletiva do município (Figura 3). Após a visita, foi montado um ponto de coleta de óleo de cozinha usado na escola, onde quinzenalmente foi encaminhado para a Usina de Biodiesel.



Figura 3. Usina de Biodiesel Móvel, em Sorocaba.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados alcançados com a presente experiência foram significativos, pois conseguiram sensibilizar os alunos em relação ao problema dos resíduos sólidos, possibilitando atrelar os conhecimentos teóricos à vida cotidiana, para assumirem uma postura crítica frente às questões ambientais, com uma mudança efetiva de atitude.

O trabalho com educação ambiental em espaços escolares de forma contínua é necessário e, o uso de metodologias diferenciadas facilitam a participação e envolvimento dos alunos. No entanto, cabe destacar que o planejamento e execução dessas ações demandam um grande tempo, o que muitas vezes impossibilita o desenvolvimento pelos professores. Nesse sentido, a parceria entre escolas e instituições de ensino superior é importante para garantir que essas ações aconteçam na prática, além de fortalecer a formação dos licenciandos que atuarão nessa área.

REFERÊNCIAS

- GALLO, A. C. P.; GUENTHER, M. Reciclagem e reutilização de resíduos: um projeto socioambiental desenvolvido na Educação de Jovens e Adultos (EJA) do Sesc Santo Amaro, Recife (PE). **Revbea**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 11-23, 2015.
- GUANABARA, R.; GAMA, T.; EIGENHEER, E. M. Os resíduos sólidos como tema gerador: da pedagogia dos três R's ao risco ambiental. **Rev. Eletrônica Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande, v. 21, p. 121-132, 2008.
- LAYRARGUES, P. P.; LIMA, G. F. C. As macrotendências político-pedagógicas da educação ambiental brasileira. **Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 23-40, 2014.
- LOGAREZZI, A. Educação ambiental em resíduo: o foco da abordagem. In: CINQUETTI, H. C. S.; LOGAREZZI, A. (Orgs) **Consumo e resíduo: fundamentos para o trabalho educativo**. São Carlos: EdUFSCAR, 2006.
- MELO, M. G. A.; KONRATH, V. L. Trabalhando o lixo na escola: uma atividade que integra a comunidade. **Ciência em Tela**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2010.
- MENEZES, J. B. F.; NASCIMENTO, V. S. Abordagem da temática de resíduos sólidos na visão de discentes de Capistrano/CE. **Educação Ambiental em Ação**, Novo Hamburgo, v. 15, n. 57, p. 1-10, 2016.
- OLIVEIRA, L. A.; MOURA, J. D. P. Educação Ambiental por meio da reutilização de resíduos e construção de jogos. **Revbea**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 127-135, 2017.
- OLIVEIRA, T. P. D.; SILVEIRA, G. T. R. Educação Ambiental na escola: se é possível evitar, porque desperdiçar? **Ambiente & Educação**, Rio Grande, v. 19, n. 2, p. 66-86, 2014.
- PENTEADO, M. J. **Guia pedagógico do lixo**. São Paulo: SMA/CEA, 2011.
- SCUPINO, F.; KAICK, T. S. V. Avaliação de programas de Educação Ambiental voltados para gestão de resíduos sólidos em escolas municipais de Pinhais/PR. **Pesquisa em Educação Ambiental**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 71-84, 2017.
- SILVA, L.; ANJOS, M. B. Possibilidades de construção de uma consciência cidadã a partir de novas práticas educativas e ambientais. **Rev. Eletrônica Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande, v. 33, n. 2, p. 177-192, 2016.

PESQUISA DE OVOS E LARVAS DE HELMINTOS INTESTINAIS, CISTOS DE PROTOZOÁRIOS E BACTÉRIAS DO GRUPO COLIFORME EM ALFACES COMERCIALIZADAS EM UMA FEIRA LIVRE DO MUNICÍPIO DE SÃO ROQUE-SP

RESEARCH EGGS AND LARVAE OF INTESTINAL HELMINTHES, PROTOZOAN CYSTS AND BACTERIA COLIFORM GROUP IN LETTUICES SOLD IN A FREE FAIR IN SÃO ROQUE-SP

Giovanna Aparecida Domingues de Oliveira¹, Nicolas Brandão Mesquita¹, Felipe Ribeiro do Amaral¹, Márcio Pereira¹, Francisco Rafael Martins Soto¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São Roque- SP. E-mail: sotofrm@ifsp.edu.br

RESUMO. As hortaliças fazem parte da dieta mundial e o hábito de consumi-las na forma *in natura* potencializa a preocupação sanitária, a fim de prevenir intoxicações alimentares. O objetivo deste estudo foi investigar bactérias do grupo coliforme e estruturas parasitárias em alfaces provenientes de uma feira livre no município de São Roque- SP. Foram analisadas 35 amostras para identificar coliformes totais e termotolerantes por meio de cultivo bacteriológico, e o método de sedimentação espontânea para verificação de estruturas parasitárias. Observou-se a presença de coliformes totais em todas as amostras, sendo a maior contaminação com 2400 NMP/g. Já os coliformes termotolerantes foram indicados em 10 amostras, com o máximo de crescimento de 2400 NMP/g para a com maior contaminação. Verificou-se a presença de 91 estruturas parasitárias (ovos e larvas de helmintos, cistos e trofozoítos de protozoários), da espécie *Schistosoma mansoni*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* entre outros. Concluiu-se que a qualidade higiênico-sanitária das hortaliças se apresentou deficiente a partir da ocorrência de micro-organismos e parasitas que podem transmitir doenças na população. **Palavras-chave:** Hortaliças. Higiene. Toxinfecção alimentar.

ABSTRACT. The vegetables are part of the global diet and habit of consuming them *in natura* potentiates health concern in order to prevent food poisoning. The aim of this study was to investigate bacteria coliform and parasitic structures in lettuces from a free fair in São Roque- SP. An amount of 35 samples were analyzed to identify total and thermo tolerant coliforms by bacterial culture, and spontaneous sedimentation method to check parasitic structures. The presence of coliforms was observed in all samples, to greater contamination with NMP at 2400 / g. Already fecal coliforms were indicated in 10 samples, with growth of up to 2400 MPN / g for more contamination. It is the presence of parasitic structures 91 (eggs and larvae of helminthes, protozoa cysts and trophozoites), *Schistosoma mansoni* species, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and others. It is concluded that the sanitary conditions of vegetables presented deficient from the occurrence of micro-organisms and parasites that can transmit diseases in the population. **Keywords:** Vegetables. Hygiene. Food intoxication.

INTRODUÇÃO

As hortaliças fazem parte da dieta mundial, são fontes de nutrientes e possuem baixo valor calórico (CARVALHO et al., 2006). O seu consumo anual, per capita, deve ser de 150 kg/ano, a fim de assegurar à saúde da população (WHO, 2003). Dentre as hortaliças folhosas, a alface é a mais produzida e comercializada no Brasil (ABCSEM, 2012).

A cada dia, cresce a preocupação com a qualidade sanitária das alfaces, uma vez que o hábito cultural da população é consumir esses vegetais folhosos na forma *in natura* (SILVA et al., 2014). Estudos têm mostrado o aumento dos casos de intoxicação alimentar causados pela ingestão de hortaliças, provenientes de uma elevada carga de micro-organismos, com potencial patogênico presente nestes alimentos (TAKAYANAGUI et al., 2001.; BARBOSA et al., 2016.; BELLOTO et al., 2011).

A contaminação bacteriana e parasitológica está relacionada à falta de boas práticas de produção, desde o cultivo da hortaliça até a sua comercialização (SILVA et al., 2011). A presença de bactérias do grupo coliforme, principalmente os termotolerantes, é utilizada como parâmetro da qualidade higiênico sanitária dos alimentos, e a sua ocorrência pressupõe o contato direto ou indireto do alimento com material de origem fecal (FRANÇA et al., 2014). As ingestões de hortaliças com indícios fecais podem potencializar um risco à saúde pública, principalmente a ocorrência de diarreias em crianças de tenra idade (PERES JUNIOR et al., 2012). Entre esses contaminantes se destacam os ovos e larvas de helmintos, cistos e trofozoítos de protozoários (FERRO et al., 2012).

Dias e Gazzinelli (2014), em uma investigação no Município de São Roque-SP, identificaram estruturas parasitárias em todas as amostras de hortaliças comercializadas em feiras, supermercados e diretamente do produtor, sendo os gêneros mais comuns: *Ancylostoma* spp, *Ascaris* spp, *Entamoeba* spp, *Enterobius* spp, *Giardia* spp, *Hymenolepis* spp, *Strongyloides* spp e *Toxoplasma* spp.

O Ministério da Saúde estabelece por meio da resolução RDC nº 12, 2 de novembro de 2001 (ANVISA), o valor máximo de 500 NMP.g⁻¹ para a presença de coliformes a 45°C (termotolerantes) em hortaliças frescas.

A Agência Nacional da Vigilância Sanitária, na Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA (BRASIL, 1978) estabelece a ausência de sujidades, parasitas e larvas nas hortaliças.

Em virtude do alto interesse pelo consumo alimentar da alface na forma in natura, este trabalho teve por objetivo a investigação de ovos e larvas de helmintos intestinais, cistos de protozoários e bactérias do grupo coliforme em alfaces comercializadas em feira livre no Município de São Roque-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 35 amostras de alfaces comercializadas em uma feira livre do Município de São Roque-SP, entre março e maio de 2016. Este material foi acondicionado em sacos plásticos estéreis e transportado aos laboratórios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - Câmpus São Roque, onde imediatamente o mesmo recebeu a devida refrigeração.

As análises microbiológicas tencionaram a identificação de coliformes totais por análises presuntivas e termotolerantes pela técnica confirmativa. Seguiu-se a técnica de tubos múltiplos com Durhan, estimando o Número Mais Provável (NMP) para densidade de bactérias em pesquisa (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992; SILVA et al., 2007).

Para a preparação das amostras, pesou-se 10 g de alfaces e adicionaram-se 100 mL de água peptonada 0,1 %, semeando em triplicata esse conteúdo a diluições de 10 mL e 10⁻¹ mL em tubos contendo 10 mL de concentração simples com caldo lauril-sulfato de sódio, e semeando 10¹ da amostra homogeneizada em tubos de 10 mL contendo concentração dupla de caldo lauryl sulfato de sódio. Os tubos foram incubados a 35°C±1°C/24-48 horas, para a identificação de coliformes totais.

A leitura da presença de coliformes totais baseou-se na presença de gás no tubo de Durhan. As análises positivas foram repicadas para tubos de 10 mL contendo caldo EC. Os tubos foram incubados a 45°C±1°C/24-48 horas, para a identificação de coliformes termotolerantes. A leitura dos tubos propendeu a mesma técnica para coliformes totais.

Para as análises parasitológicas foi utilizado o método de sedimentação espontânea (HOFFMAN et al., 1934). As folhas de alfaces remanescentes que não foram utilizadas na avaliação microbiológica, foram submetidas a uma lavagem por fricção manual em bandejas esterilizadas com 100 mL de água destilada. O líquido obtido foi filtrado por gaze dobrada quatro vezes, despejando-o em cálice um de sedimentação, e deixado em repouso por uma hora.

Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi coletado o sedimento, e aplicado 2 a 3 gotas entre a lâmina e lamínula, realizando esse procedimento em triplicata. Para a visualização das estruturas parasitárias, utilizou-se microscópio óptico de luz com a objetiva de 10 x. Os parasitos observados foram identificados e quantificados (OMS, 1991).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados obtidos a partir de análises de bactérias do grupo coliforme e de estruturas parasitárias nas 35 amostras de alfaces comercializadas em uma feira livre do Município de São Roque- SP.

Observou-se a presença de coliformes totais em todas as amostras analisadas, variando os resultados de 7,3 NMP/g a 2400 NMP/g, porém não existe regulamento técnico que estabeleça a quantidade tolerável de coliformes totais em uma amostra.

A Resolução RDC nº 12, 2 de novembro de 2001 (ANVISA) estabelece o valor máximo de 500 NMP.g⁻¹ para coliformes termotolerantes. Das 35 amostras analisadas, dez indicaram

contagem para coliformes termotolerantes (28,57 %), sendo apenas uma amostra (2,86 %) com 2400 NMP. g⁻¹ que se apresentou em desacordo com a resolução referida.

Tabela 1. Resultados obtidos em relação as estruturas pesquisadas e o número de amostras positivas expressos numericamente e a sua respectiva percentagem.

| Estruturas pesquisadas | Amostras Positivas | Porcentagem (%) |
|-------------------------------|---------------------------|------------------------|
| Coliformes Totais | 35 | 100 |
| Coliformes Termotolerantes | 10 | 28,57 |
| Ovos de helmintos | 16 | 46 |
| Larvas de helmintos | 6 | 17 |
| Cistos de protozoários | 7 | 20 |
| Trofozoítos de protozoários | 4 | 11 |

Estudo realizado por França e colaboradores (2014) apresentou elevadas contagens de coliformes a 45° C, com o maior valor igual a 2400 NMP/g em hortaliças comercializadas em feiras livres da cidade de Uberlândia (MG). Os coliformes termotolerantes são bioindicadores de material fecal, e podem potencializar a veiculação de organismos patogênicos, causando um risco à saúde da população (ROCHA et al., 2010).

Na análise parasitológica, no quesito de amostras positivas para parasitas, houve a presença de ovos helmintos (46 %), larvas de helmintos (17 %), cistos de protozoários (20 %) e trofozoítos de protozoários (11%) em alfaces (Tabela 1). Observou a repetição da não conformidade sanitária com a presença de parasitas e larvas, como estabelecido na Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA (BRASIL, 1978) que adota a ausência de sujidades, parasitas e larvas nas hortaliças. Na tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos em relação as estruturas parasitárias pesquisadas e a quantidade de amostras positivas.

Tabela 2. Resultados obtidos em relação as espécies parasitárias pesquisadas e a quantidade de amostras positivas expressadas numericamente e a sua respectiva percentagem.

| Estruturas Pesquisadas | Quantidade | Porcentagem (%) |
|------------------------------------|-------------------|------------------------|
| Larvas de helmintos | 17 | 19 |
| Trofozoítos de protozoários | 5 | 5,4 |
| Ovos de <i>Ancylostoma</i> spp | 18 | 20 |
| Ovos de <i>Trichuris</i> spp | 4 | 4 |
| Ovos de <i>Ascaris</i> spp | 5 | 5,4 |
| Ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> | 1 | 1 |
| Cistos de <i>Entamoeba</i> spp | 8 | 9 |
| Cistos de <i>Giardia lamblia</i> | 31 | 34 |
| Cistos de <i>Balantidium coli</i> | 2 | 2,2 |
| Total | 91 | 100 |

Em relação ao número de estruturas nas amostras (91 unidades), houve a presença de larvas de helmintos (19 %), trofozoítos de protozoários (5,4 %), ovos de *Ancylostoma* spp (20 %),

ovos de *Trichuris* sp (4 %), ovos de *Ascaris* sp (5,4%), ovos de *Schistosoma mansoni* (1 %), cistos *Entamoeba* sp (9 %), cistos de *Giardia lamblia* (34 %) e cistos de *Balantidium coli* (2,2 %). Dentre os protozoários identificados houve menor ocorrência de cistos de *Balantidium coli*, e maior incidência de cistos de *Giardia lamblia*. Considerando os ovos encontrados, observou-se a menor presença de *Schistosoma mansoni* e a maior ocorrência de *Ancylostoma* spp.

A alta incidência de *Giardia lamblia* e a ausência de *Strongyloides* spp nas investigações parasitárias do presente estudo se diferem com dados encontrados por Dias e Gazzineli (2011) em estudo semelhante com alfaces de feiras no município de São Roque. Contudo, em ambos os trabalhos, os resultados no tocante a presença de *Ancylostoma* spp e *Entamoeba* spp foram parecidos.

A ocorrência de larvas e ovos de helmintos, trofozoítos e cistos de protozoários, pode estar relacionada com a contaminação por parte dos manipuladores, desde a produção até a comercialização das hortaliças, uso de adubos orgânicos não tratados adequadamente e ou pela a irrigação de águas contaminadas durante o crescimento das hortaliças (SILVA et al., 2009; GREGÓRIO et al., 2012; HENRIQUE et al., 2014).

Os parasitas como ancilostomídeos, *Trichuris* spp e *Ascaris* spp são frequentemente encontrados em inquéritos helmintológicos em diferentes áreas do Brasil (MATI et al., 2011; VASCONCELOS et al., 2011; CHEN, MUCCI, 2012; NETTO et al., 2016). Esses helmintos são recorrentes de regiões quentes e úmidas, de clima tropical e subtropical, e frequentemente são encontrados em solos com adubação indevida de dejetos de animais (ANANTHAKRISHNAN et al., 1997). Tal constatação também pode ser validada, após a análise do número de larvas encontradas (Tabela 2), uma vez que o estágio de vida larval ocorre após os ovos provenientes de material fecal eclodirem no solo (MELO et al., 2004).

Entre os estudos que objetivaram a análise parasitológica em alfaces, raramente houve a presença de ovos de *Schistosoma mansoni*. (NERES et al., 2011; TERTO et al., 2014; RAMOS et al., 2014). Tal agente etiológico é responsável pela doença esquistossomose, na maioria dos casos esse problema somente é colocado em pauta para a população quando existe proximidade dos seres humanos com os caramujos (hospedeiro do *Schistosoma mansoni*), sendo pouco atentado que o agente etiológico da doença pode estar presente em locais de pobreza com baixo desenvolvimento econômico considerando-o como um indicativo de qualidade sanitária (DINIZ et al., 2003). Contudo, somente a ingestão de alfaces com a presença de um ovo não será responsável por desencadear a esquistossomose no ser humano, para isso o ovo tem que entrar em contato com água, libertando os miracídios, que são capazes de penetrar as paredes de um caramujo do gênero *Biomphalaria* spp, de forma que se transforme em uma cercária e assim possa penetrar a pele dos seres humanos, desencadeando a esquistossomose (KATZ, ALMEIDA, 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados e nas condições em que foi feito o trabalho pode se concluir que foram detectadas contagens de coliformes totais em todas as amostras, além da presença de coliformes termotolerantes em 10 amostras.

Foram identificadas 91 estruturas parasitárias, como larvas e ovos de helmintos, cistos e trofozoítos de protozoários com potencial patogênico. Desse modo, é imprescindível o conhecimento da população e de órgãos sanitários sobre a situação sanitária das alfaces, uma vez que se trata de produtos consumidos na forma *in natura* e precisam de uma eficiente higienização e uma rígida fiscalização durante a produção até a comercialização das hortaliças.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo e ao CNPq pelo apoio financeiro dado ao projeto.

REFERÊNCIAS

- ANANTHAKRISHNAN, S.; NALINI, P.; PAN, S. P.; Intestinal geohelminthiasis in the developing world. **The National Medical Journal of India**, v.10, n.2, p.67-71, 1997.
- BARBOSA, V. A. V.; CARDOSO, F. C. F.; SILVA, A. X. L.; OLIVEIRA, D. G. S.; ALBUQUERQUE, W. F.; BARROS, V. C. Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.10, p. 231- 242, 2016.
- BELLOTO, M. V. T.; SANTOS, J. E. J.; MACEDO, E. A.; PONCE, A.; GALISTEU, K. J.; CASTRO, E.; TAUJR, L. V.; ROSSIT, A. R. B.; MACHADO, R. L. D. Enteroparasitoses numa população de escolas da rede pública de ensino do município de Mirassol, São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amaz Saúde**, v. 2, n.1 , p. 37-44, 2011.
- BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA / ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Normas técnicas especiais**, n.12, de 1978. São Paulo, 1978.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil, seção 1, p.45-53.
- CARVALHO, P. G. B.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n.4, p. 397-404, 2006.
- CHEN, A. A.; MUCCI, J. L. N. Frequência de contaminação por helmintos em área de recreação infantil de creches no município de Várzea Paulista, São Paulo, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 2, p. 195-202, 2012.
- DIAS, B. C. O.; GAZZINELLI, S. E. P. Verificação e identificação de formas parasitárias em culturas de alface (*Lactuca sativa*) na Estância Turística de São Roque. **Scientia Vitae**, v. 1, n. 3, p. 27-34, 2014.
- DINIZ, M. C. P.; BRAGA, R. B.; SCHALL, V. T. As apresentações sociais da esquistossomose de escolares de áreas endêmicas de Minas Gerais. **Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências**, v. 5, n. 2, p. 28-47, 2003.
- FERRO, J. J. B.; COSTA-CRUZ, J. M.; BARCELOS, I. S. C. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município de Tangará da Serra, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 1, p. 47-54 2012.
- FRANÇA, B. R.; BONNAS, D. S.; SILVA, C. M. O. Qualidade higiênico-sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p.458-466, 2014.
- GREGÓRIO, D. S.; MORAES, G. F. A.; NASSIF, J. M.; ALVES, M. R. M.; CARMO, N. E.; JARROUGE, M. G.; BOUÇAS, R. I.; SANTOS A. C. C.; BOUÇAS T. R. J.; Estudo da contaminação por parasitas em hortaliças da região leste de São Paulo. São Paulo, Brasil. **Science in Health**, v. 3, n. 2, p. 96-103, 2012.
- HENRIQUE, C. M.; PARISI, M. C. M.; PRATI, P. Contaminação microbiológica pós-colheita. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 11, n. 1, p. 1- 6, 2014.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. San Juan, Porto Rico. **Journal of Public Health Tropical and Medicine**, v. 9, p. 283-298, 1934.
- KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, Xistosa, Barriga d'água. São Paulo Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 55, n.1, p. 38-41, 2003.
- MATI, V. L. T.; PINTO, J. H.; MELO, A. L. Levantamento de parasitoses intestinais nas áreas urbana e rural de Itambé do Mato Dentro, Minas Gerais, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 1, p. 92-100, 2011.
- MELO, M. C. B.; KLEM, V. G. Q.; MOTA, J. A. C.; PENA, F J. Parasitoses intestinais. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 14, p. 3-12, 2004.
- NERES, A. C.; NASCIMENTO, A. H.; LEMOS, K. R. M.; RIBEIRO, E. L.; LEITÃO, V. O.; PACHECO, J. B. P.; DINIZ, D. O.; AVERSI-FERREIRA, R.; AVERSI-FERREIRA, T. A. Enteroparasitos em amostras de alface (*Lactuca sativa* var. *crispa*) no município de Anápolis, Goiás, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 336-341, 2011.
- NETO, A. M.; BRITO, M. G. S.; PAVANELLI, M. F.; Relação entre parasitoses e alterações hematológicas em crianças da região centro-oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 1, p. 78-84, 2016.
- OMS, Organização Mundial de Saúde. **Pranchas para diagnóstico de parasitas intestinais**. 1991.
- PERES JUNIOR, J.; GONTIJO, E. E. L.; SILVA, M. G.; Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi-TO. **Revista Científica do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos**, v.5, n.1, p.1-8, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS (ABCSEM). **Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**, 2012.

RAMOS, M. O.; BECOTTI, J. L.; ROSA, G.; VIERA, G. F. P.; MESSA, V.; MERLINI, L. S. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa* L.) comercializadas no município de Amuarama, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.8, n.3, p.1-12, 2014.

ROCHA, E. S.; ROSICO, F. S.; SILVA, F. L.; LUZ, T. C. S.; FORTUNA, J. L. Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantina das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p. 694-705, 2010.

SILVA, E. J.; SILVA, R. M. G.; SILVA, L. P. Investigação de parasitas e/ou comensais em manipuladores de alimentos de escolas públicas, Uberlândia, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 4, p.160-163, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3.ed. s.l.: Livraria Varela, 2007.

SILVA, P. I. A. P.; CARVALHO, J. S.; MOURA, C. L. F.; DOMINGUEZ, G. F.; CARVALHO, M. R. B.; ORGE, M. D.; VALE, V. L. C. Condições sanitárias e ambientais das águas de irrigação de hortas e de *Lactuca sativa* (alface) nas cidades de Catu e Alagoinhas–Bahia, Brasil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 3, p. 194-199, 2011.

SILVA, L. P.; SANTOS S, V.; LUDWIG, K. M.; MONTENOTE, M. C.; SILVA, R. M. G. Avaliação parasitológica em amostras de alfaces (*Lactuca sativa* var. *crispa*) comercializadas no Município de Quatá, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, p. 1252-1258, 2014.

TAKAYANAGUI, O. M.; OLIVEIRA, C. D.; BERGAMINI, A. M. M.; CAPUANO, D, M.; OKINO, M. H. T.; FEBRÔNIO, L. H. P.; SILVA, A. A. M. C. C.; OLIVEIRA, M. A.; RIBEIRO, E. G. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 34, n. 1, p. 37–41, 2011.

TERTO, W. D. S.; OLIVEIRA, R. B.; LIMA, M. M. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa* L.) comercializadas em Serra Talhada, Pernambuco, Brasil. **Vigilância Sanitária Debate**, v. 2, n. 3, p. 51-57, 2014.

VANDERZANT, C.; SPLITSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for microbiological examination for foods**. 3.ed. Washington, USA: American Public Health Association, 1992.

VASCONCELOS, I. A. B.; OLIVEIRA, J. W.; CABRAL, F. R. F.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Prevalência de parasitas intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, Estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. Maringá, Brasil. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 33, n.1, p.35-41, 2011.

WHO. **Fruit and Vegetable Promotion Initiative**: report of the meeting, Genebra: 25–27 August 2003.

LEVANTAMENTO QUANTITATIVO DAS FORMAS LIQUÊNICAS EM ÁRVORES DE TRÊS DIFERENTES ÁREAS (ARBORETO FASE I, ARBORETO FASE II E SISTEMA AGROFLORESTAL) DO IFSP CÂMPUS SÃO ROQUE

QUANTITATIVE SURVEY OF ARBOREAL LICHENIC FORMS OCCURRING ON THREE DIFFERENT AREAS (ARBORETUM PHASE 1, ARBORETUM PHASE 2 AND AGRO-FOREST SYSTEM) AT IFSP, CAMPUS SÃO ROQUE

Ângela Caroline de Carvalho¹, Érika Garcia¹, Gabriella Sales Nascimento Calaço¹, Larissa Oliveira Lage¹

¹Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFSP campus São Roque. E-mail: larissa.lage98@gmail.com

RESUMO. O presente estudo buscou realizar um levantamento quantitativo das formas liquênicas presentes em árvores de diferentes setores (Arboreto Fase I, Arboreto Fase II e Sistema Agroflorestal) do câmpus São Roque do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP). O trabalho foi executado em uma área de, aproximadamente, 370 m². A quantificação dos fungos liquenizados foi dada pela contemplação de três partes equidistantes do tronco das árvores que possuíam DAP (diâmetro à altura do peito) \geq 15 cm, uma vez que a maior parte das árvores desse câmpus são jovens. Objetivou-se verificar a ocorrência das formas liquênicas por setor. Os resultados evidenciaram uma distribuição variada em cada setor, sendo que, a morfologia mais abundante entre eles foi a folhosa, seguida da crostosa e, por fim, da fruticulosa. Esta pesquisa é a primeira desta natureza a ser realizada no IFSP câmpus São Roque. **Palavras-chave:** Fungos liquenizados. Morfologia vegetal. IFSP campus São Roque. Botânica. Reino Fungi.

ABSTRACT. The present study aimed to perform a quantitative survey of lichen forms in the São Paulo Federal Institute of Education, Science and Technology (IFSP), São Roque campus, in trees of different sectors: Phase I Arboretum, Phase II Arboretum and Agro-forest System. The work was carried out in an area of approximately 370 m². The quantification of lichenous fungi was given by the observation of three parts equidistant from the trunk of the trees with DBH (diameter at breast height) \geq 15 cm, as trees of the campus are young. The objective was to investigate the occurrence of lichen forms by sector. The results show a varied distribution in each sector, and the most abundant morphology among them was the hardwood, followed by the crusty and, finally, the fruticulous. This research is the first of its kind to be carried out at the São Roque campus of the IFSP. **Keywords:** Lichenous Fungi. Plant morphology. IFSP campus São Roque. Botany. Kingdom Fungi.

INTRODUÇÃO

A palavra líquen vem do latim *lichen*, derivada do grego *lie'ken*, e foi usada por Teofrasto de Éreso (372–287 a.C.) em referência às excrescências encontradas nos troncos de oliveiras gregas (MARCELLI, 1995 *apud* REIS, 2005). Segundo Ahmadjian (1993), os líquens são associações simbióticas entre algas e fungos que resultam em um talo.

Os componentes da simbiose liquênica recebem seus próprios nomes – as algas verdes e cianobactérias, por realizarem a fotossíntese, são chamadas de fotobiontes (*foto* = luz; *bionte* = ser vivo); já os fungos constituem os micobiontes (*mico* = fungo). Sendo assim, de acordo com Spielmann (2006), pode-se dizer que o líquen é a junção de um micobionte com um fotobionte (Figura 1).

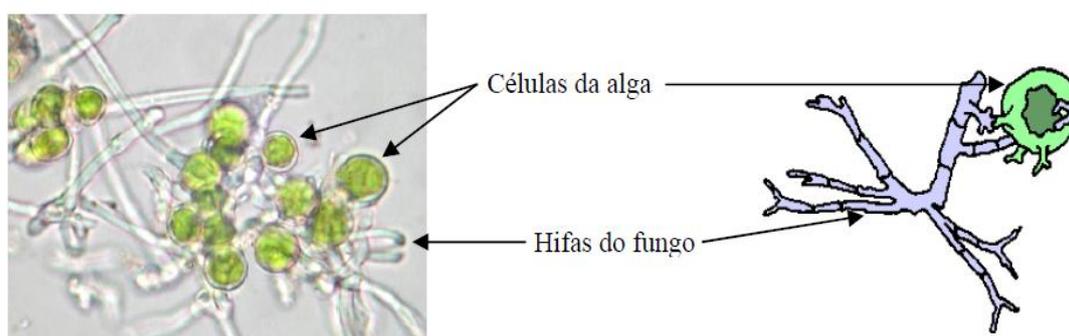


Figura 1. Ilustrações da relação simbiótica entre os organismos micobionte e o fotobionte (FONTE: SPIELMANN, 2006).

A maioria dos fungos liquenizados possui um talo constituído por um córtex e por uma medula, ambos formados por pseudotecidos originados do fungo. Além disso, apresenta uma camada fotobionte, conhecida como camada algal, composta por células de algas ou cianobactérias envolvidas por hifas do micobionte (VIEIRA, 2006).

De maneira geral, existem três tipos de talo liquênico (Figura 2): crostoso, folhoso/folioso e fruticoso/fruticuloso. Esses tipos podem variar muito em aparência, sendo observadas desde

formas muito simples até estruturas morfológica e anatomicamente complexas (SANTOS et al., 2014).



Figura 2. Registro fotográfico das formas liquênicas. Fonte: As autoras, 2018.

De acordo com Spielmann (2006), ainda é um assunto bastante polêmico se a simbiose liquênica é um tipo de mutualismo (em que ambos os componentes se beneficiam da associação) ou um parasitismo controlado (em que o fungo usa o fotobionte para produzir alimento). Experimentos sobre esse tema são difíceis de serem realizados, de modo que ainda não se tem uma resposta conclusiva sobre o assunto, no entanto, a visão de mutualismo é a mais difundida no meio científico.

Os fungos são conhecidos na natureza como decompositores, isto é, eles degradam a matéria orgânica sobre a qual vivem para obter seu alimento. Assim, geralmente a maior parte de um fungo está dentro do substrato, como se pode ver facilmente em um tronco podre, por exemplo. Por outro lado, os fungos liquenizados não precisam decompor a matéria, já que o fotobionte fornece o alimento. Esse fotobionte precisa de luz, de modo que os líquens, em geral, se desenvolvem sobre o substrato, e não dentro dele. É por essa razão que encontramos líquens nas cascas das árvores, sobre folhas, rochas, telhados, muros e paredes, e até sobre vidro. Vale lembrar que o tipo de substrato em que um fungo liquenizado cresce pode ser importante na sua identificação, pois, muitas vezes, determinadas espécies são bastante seletivas (SPIELMANN, 2006).

Até 1981, os líquens eram considerados como um grupo taxonômico (grupo Lichenes) dentro do reino Fungi. E desde então, de acordo com Marcelli (1997), Lichenes passou a ser visto como um grupo biológico, com características fisiológicas e ecológicas próprias.

Essa associação simbiótica também pode ser vista como uma estratégia nutricional dos fungos, assim como o parasitismo ou o saprofitismo – organismos que se alimentam através da

absorção de substâncias orgânicas, normalmente, provenientes de matéria orgânica em decomposição (CRESPO et al., 2006). Dessa forma, deve-se considerar que um líquen é um fungo, ainda que se associe de forma permanente a outro organismo (HAWKSWORTH et al., 1984).

O presente estudo objetivou realizar um levantamento quantitativo das formas líquênicas (crostoso, folhoso/folioso e fruticoso/fruticulosos), também denominados talos líquênicos, em árvores de três diferentes áreas. Este é o primeiro trabalho com fungos liquenizados realizado no câmpus São Roque do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP).

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Para a realização do levantamento das formas líquênicas presentes em árvores de três diferentes áreas do câmpus São Roque, os materiais utilizados foram: barbante, câmera fotográfica (Canon PowerShot SX530HS 16MP), régua, estilete, material sintético do tipo E.V.A. (para a confecção da parcela, que será explicada adiante), caderno de anotações, trena de 8 metros de comprimento e as ferramentas Google Maps Area Calculator Tool® e Google Earth®.

Área de estudo

O estudo das formas líquênicas foi realizado no IFSP câmpus São Roque (coordenadas 23°33'S, 47°09'W), que está localizado na Rodovia Prefeito Quintino de Lima, número 2100. A área do câmpus possui uma cobertura verde de aproximadamente 36.000 m² (SANTOS, 2013), sendo delimitada, com o auxílio do programa Google Maps Area Calculator Tool®, em três subáreas – sistema agroflorestal (SAF), arboreto I e arboreto II – totalizando uma área de aproximadamente 370 m² (Figura 3).



Figura 3. Imagem aérea do IFSP/SRQ. Em verde, está destacada a área estudada neste levantamento. (FONTE: Google Maps Area Calculator Tool®). Os números 1, 2 e 3 representam, respectivamente, as áreas do arboreto I, arboreto II e SAF.

Procedimentos

Para a verificação das formas líquênicas foi necessária a construção de cinco parcelas feitas com E.V.A. de medidas 20x20 cm cada uma. Este levantamento incluiu apenas as árvores com DAP (diâmetro à altura do peito) \geq 15 cm, uma vez que a maioria dos indivíduos presentes nessas subáreas é jovem.

A quantificação das formas foi contemplada por três partes equidistantes verticalmente do tronco das árvores. Tal método possibilita um número maior de dados. Os resultados obtidos foram analisados em cada uma das subáreas citadas acima e, no final, foi realizada uma comparação entre elas – através da elaboração de gráficos. Para os registros fotográficos, foi utilizada a câmera Canon PowerShot SX530HS 16MP.

Os registros fotográficos, a tabela e os gráficos que estão sem créditos na legenda foram produzidos pelos autores do artigo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O levantamento quantitativo das formas liquênicas do IFSP câmpus São Roque em árvores de três diferentes áreas (arboreto fase I, arboreto fase II e sistema agroflorestal) apontou os resultados constantes do quadro 1.

Quadro 1. Dados da quantificação obtidos em campo.

DADOS DA QUANTIFICAÇÃO DAS FORMAS LIQUÊNICAS EM ÁRVORES DE TRÊS DIFERENTES ÁREAS DO IFSP/SRQ.

| ÁREA | Nº de ÁRVORES | CROSTOSA | FOLHOSA | FRUTIOSA |
|--------------------------------|---------------|----------|---------|----------|
| Arboreto fase I | 13 | 219 | 250 | 5 |
| Arboreto fase II | 12 | 180 | 162 | 10 |
| Sistema Agroflorestal (S.A.F.) | 53 | 848 | 904 | 96 |

A partir dessa coleta, foi possível realizar uma análise separada de cada uma das áreas, explicitadas a seguir.

Arboretos Fase I e Fase II

Os Arboretos fase I e fase II (figura 4) correspondem às áreas localizadas atrás dos laboratórios e ao lado do antigo borboletário do IFSP, respectivamente.



Figura 4. Arboreto fase I (à esquerda) e fase II (à direita).

Ambas são áreas de um projeto que visa ao reflorestamento de alguns setores do câmpus, sendo a fase I a primeira reflorestada e, portanto, apresenta uma vegetação mais desenvolvida quando comparada à fase II, que apresenta árvores mais jovens. Outra diferença é a quantidade de sombra e a presença de um corpo d'água – presentes no arboreto fase I – nessas regiões, que contribuem para a umidade do ar.

Devido às diferenças mencionadas acima, verificou-se os dados constantes do arboreto fase I (Gráfico 1) e fase II (Gráfico 2).

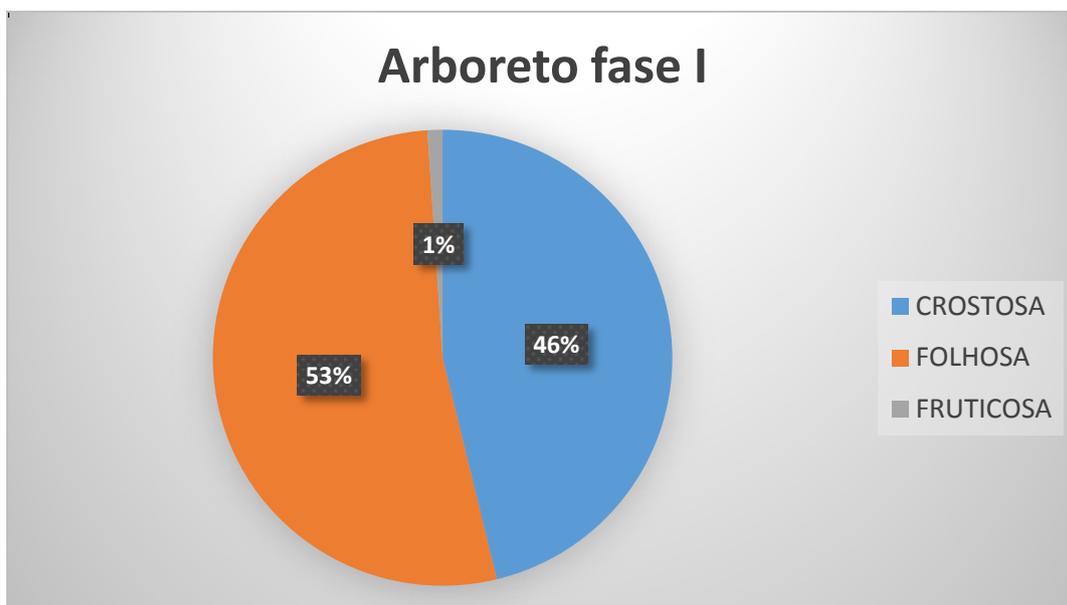


Gráfico 1. Quantificação das formas liquênicas presentes no arboreto (fase I) do câmpus.

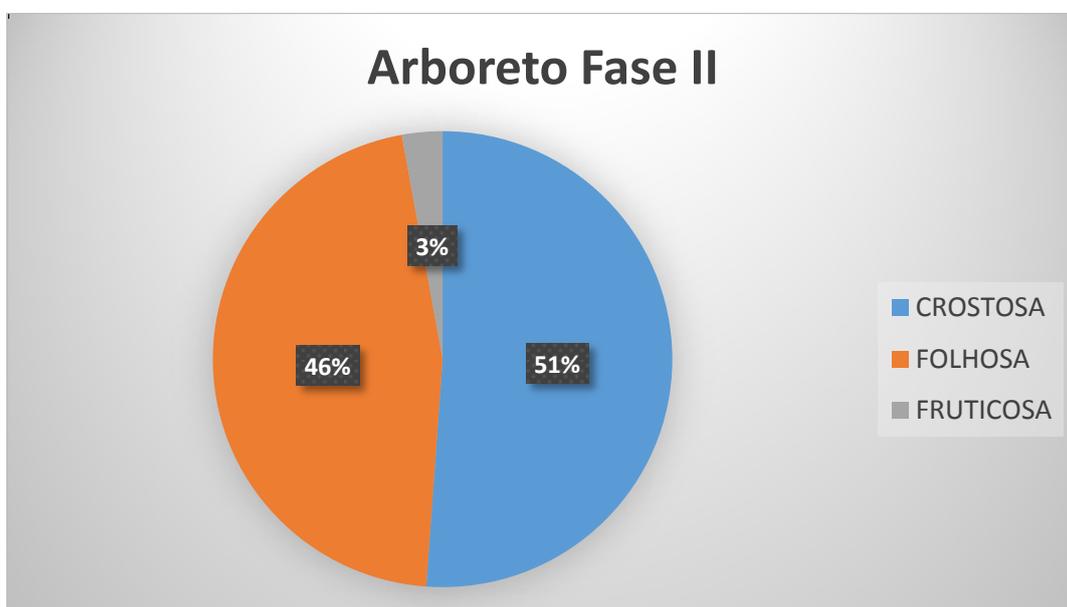


Gráfico 2. Quantificação das formas liquênicas presentes no arboreto (fase II) do câmpus.

Sistema Agroflorestal (S.A.F.)

O SAF (Figura 5) está situado ao redor do corredor que dá acesso à cantina e se estende até, mais ou menos, o antigo borboletário do câmpus. É uma área com bastantes árvores frutíferas, bem desenvolvidas e, por isso, é mais fechada, quando comparada aos arboretos.

Também está próxima a Rodovia Prefeito Quintino de Lima e está distante do corpo d'água presente no arboreto fase I. Dessa forma, obtivemos os dados do gráfico 3.



Figura 5. Registros fotográficos do SAF.

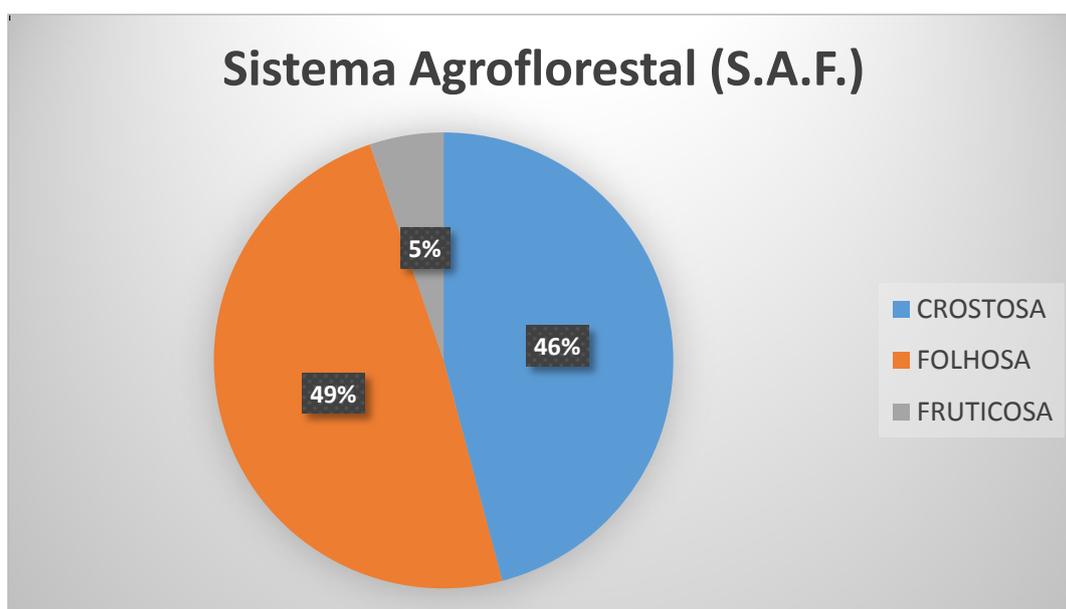


Gráfico 3. Quantificação das formas liquênicas no S.A.F.

Por meio dessa análise, observou-se que a distribuição das formas liquênicas foi variada, principalmente, devido a fatores abióticos como a luminosidade, a umidade e a qualidade do ar de cada área, sendo que a morfologia mais abundante foi a folhosa, seguida da crostosa e, por último, da fruticosa (Gráfico 4).

Percebeu-se, também, que a quantidade das formas folhosas e crostosas é similar em ambos os arboretos, enquanto que a forma fruticosa é mais encontrada no arboreto fase II. Além das características da localização do S.A.F., essa área também possui um número maior de árvores (se comparado com as demais áreas analisadas), contribuindo para a alta incidência das três morfologias contabilizadas.

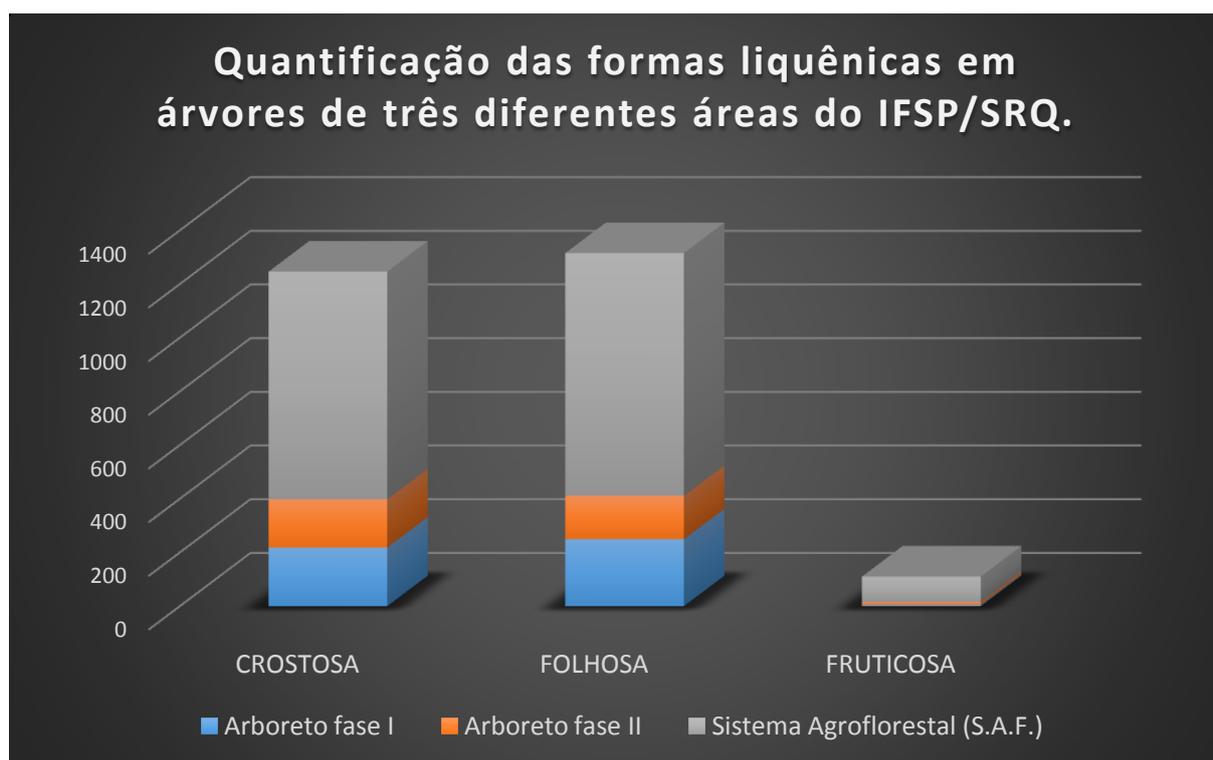


Gráfico 4. Gráfico comparativo da quantificação das três áreas analisadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O propósito deste trabalho foi realizar um levantamento quantitativo das formas liquênicas presentes em árvores de três diferentes áreas do IFSP/SRQ. A partir desse levantamento, pôde-se observar a distribuição dessas formas nas áreas selecionadas para o estudo.

Entretanto, essa disposição não deve ser proposta como regra, e sim como parâmetro, visto que a coleta dos dados não foi sazonal, ou seja, foram coletados apenas em uma época do ano (na primavera).

Contudo, com esses dados será possível elaborar novos estudos acerca do tema – tais como a relação dos fungos liquenizados com a qualidade do ar, ou ainda, um levantamento de riqueza e abundância das espécies presentes no IFSP/SRQ.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem à ajuda de Cinthia Julianny Lemos do Amaral durante a coleta dos dados.

REFERÊNCIAS

- AHMADJIAN, V. **The Lichen Symbiosis**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1993.
- CRESPO, A. et al. Molecular phylogenetic studies on the *Parmotrema reticulatum* (syn. *Rimelia reticulata*) complex, including the confirmation of *P. pseudoreticulatum* as a distinct species. **The Lichenologist**, v. 37, n. 1, p. 55-65, 2005.
- HAWKSWORTH, D. L.; HILL, D. J.; PHIL, D. **The lichen-forming fungi**. Nova Iorque: Chapman and Hall, 1984.
- MARCELLI, M. P. **Estudo da diversidade de espécies de fungos liquenizados do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica/UNESP, 1997.
- REIS, R. A. Estudo Filogenético de Fotobiontes de Líquens: Isolamento e Cultivo de Simbiontes Liquênicos e Estudo Comparativo de Polissacarídeos e Ácidos Graxos do Líquen *Teloschistes* e seus Simbiontes. **Tese** (Doutorado). Curitiba: UEL, 2005.

SANTOS, F. S. dos. Checklist of trees at the Sao Roque campus, Federal Institute of Sao Paulo. **Scientia Vitae**, v. 1, n. 1, jun. 2013, p. 52-61. Disponível em: <http://www.revistaifpsr.com/sv_1_1_santos.pdf>; acesso em: 27 set. 2018.

SANTOS, H. C. P. dos; CARVALHO, T. M.; SANTOS, F. S. dos. Levantamento quantitativo das formas liquênicas que ocorrem na Mata da Câmara, São Roque – SP, em três diferentes microambientes. **Scientia Vitae**, v. 1, n. 3, ano 1, jan. 2014, p. 68-75. Disponível em: acesso em: <http://www.revistaifpsr.com/sv_v1_n3_9.pdf>; 26 ago. 2018.

SPIELMANN, A. A. **Fungos liquenizados (liquens)**. São Paulo: Instituto de Botânica – IBt, 2006.

VIEIRA, I. B. et al. **Manual sobre as algas pluricelulares (Macroalgas)**. São Cristóvão, SE: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Departamento de Biologia/Editora UFSE, 2006.

TANASE: UMA REVISÃO DAS APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS

TANNASE: A REVIEW OF APPLICATIONS AND PERSPECTIVES

Mateus Cabral de Vasconcellos Teixeira¹, Ester Helena Alves², Fabíola Pisciotto de Oliveira², Vania Battestin³

¹Possui graduação em Licenciatura pelo programa de Formação Pedagógica (R2/97) pela Faculdade Corporativa CESPI (2015) e graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de Taubaté (2011). Graduação em andamento em Licenciatura em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Câmpus São José dos Campos. E-mail: mateuscabral1989@bol.com.br

²Graduação em andamento em Licenciatura em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São José dos Campos

³Professor efetivo em Dedicção exclusiva pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São José dos Campos

RESUMO. Nos últimos anos, a acil hidrolase (EC 3.1.1.20) ou tanase tem sido objeto de vários estudos devido à sua importância comercial e complexidade como enzima catalítica. Ela é uma enzima produzida por fungos filamentosos e bactérias. A sua principal característica está ligada à capacidade de clivar taninos hidrolisáveis que possuem ligações éster e ligações depsídicas em substratos como ácido tânico, epicatequina galato, epigalocatequina galato, entre outros. A tanase é amplamente utilizada nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de bebidas, cervejeira e química. A revisão tem como objetivo apresentar um levantamento dos avanços e perspectivas na aplicação da tanase, assim como seu histórico e obtenção.

Palavras-chave: Taninos. Tanase. Aplicações. Fermentação.

ABSTRACT. In recent years, acyl hydrolase (EC 3.1.1.20) or tannase has been the subject of different studies because of its commercial importance and complexity as a catalytic enzyme. It is an enzyme produced by filamentous fungi and bacteria. Its main characteristic is linked to the ability to cleave hydrolysable tannins having ester linkages and depsidic bonds on substrates such as tannic acid, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, among others. Tannase is widely used in the food, pharmaceutical, beverage, brewing and chemical industries. This review paper presents a survey of the advances and perspectives in the application of the tannase, as well as its history and obtaining. **Keywords:** Tannin. Tannase. Applications. Fermentation.

TANINOS

Taninos representam o segundo maior grupo fenólico presente na natureza. Normalmente definidos como polifenóis hidrossolúveis de peso molecular variado e com poder de precipitar proteínas em solução e estão presentes em diversas estruturas de vegetais vasculares como cascas, sementes e flores, atuando como mecanismo de defesa (FRUTOS et al., 2004; DE LIMA, 2014; DHIMAN, et al., 2017). Os taninos são metabólitos secundários e estão associados à algumas doenças da planta. Outro mecanismo de toxicidade pode envolver a complexação de tanino com íons metálicos, os quais são importantes para a atividade de muitas enzimas, formando polímeros naturais tratados com taninos que são degradados por enzimas microbianas. Esse mesmo mecanismo também explica a redução da virulência, como o vírus do mosaico do tabaco, bem como a redução da atividade de endotoxinas de algumas bactérias (DE LIMA, 2014; DHIMAN, et al., 2017).

Os taninos são classificados em três subgrupos: taninos hidrolisáveis, taninos condensados e taninos complexos (Figura 1).

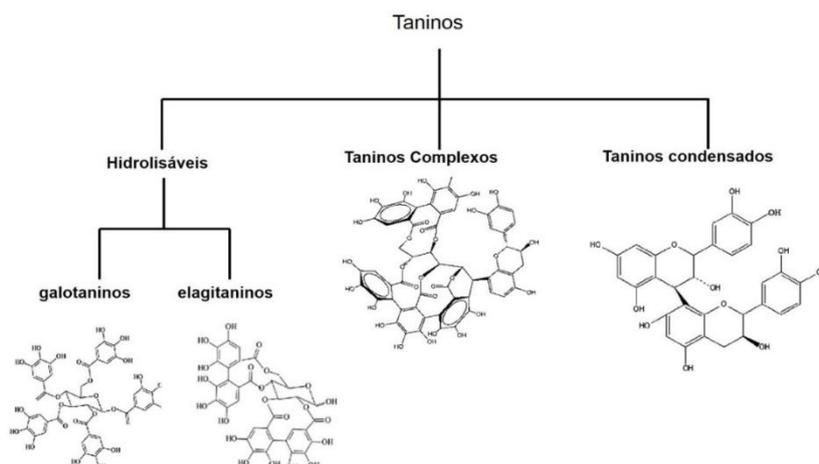


Figura 1. Classificação e estruturas de taninos.

Taninos condensados diferem dos taninos hidrolisáveis por não possuírem qualquer molécula de açúcar em sua estrutura. Os taninos hidrolisáveis são subdivididos em dois tipos:

galotaninos e elagitaninos que são esterificados para uma molécula de açúcar como a glicose. Os taninos hidrolisáveis podem sofrer hidrólise facilmente após tratamento com ácido ou alcalino moderado, bem como por tratamento com água quente e enzimático (BATTESTIN et al., 2004; DE LIMA, 2014; DHIMAN, et al., 2017).

Os galotaninos correspondem aos compostos que apresentam unidades de ácido gálicos unidos por ligações depsídicas, e representam a forma mais simples de taninos hidrolisáveis; e os elagitaninos, são compostos que possuem unidades de ácido elágicos ligados a glicosídeos, e não sofrem hidrólise tão facilmente como os galotaninos, devido a sua estrutura complexa, incluindo ligações C-C (Figura 2; NAKAMURA et al., 2003).

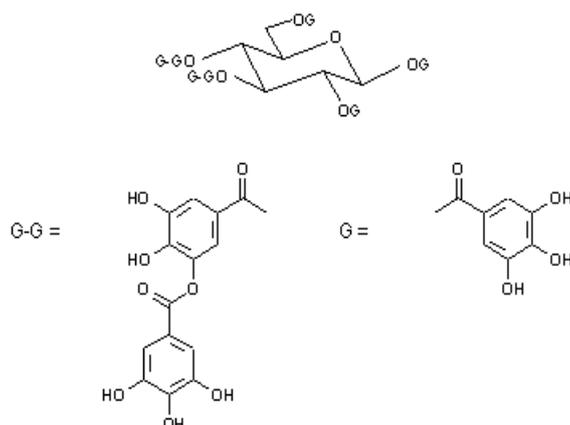


Figura 2. Estrutura de taninos hidrolisáveis (HAGERMAN, 1998).

Os taninos condensados são taninos que apresentam estruturas químicas compactas, são compostos polifenólicos que possuem uma vantagem frente aos outros polifenóis por possuírem a facilidade em reagirem e precipitarem proteínas. Os taninos complexos são um grupo intermediário que possuem características tanto de taninos hidrolisáveis quanto de taninos condensados. São compostos que possuem unidades de catequinas ou epicatequinas ligadas via ligação glicosídica a um tanino hidrolisável (KHANBABAEE & REE, 2001; MINGSHU et al., 2006; AGUILAR et al., 2007; DHIMAN, et al., 2017).

TANASE

A tanino acil hidrolase (EC 3.1.1.20), mais conhecida como tanase, é uma enzima que catalisa a clivagem das ligações ésteres e ligações depsídicas de taninos hidrolisáveis como ácido tânico, galato de metilo, ácido digálico, epicatequina galato, epigalocatequina galato, entre outros, liberando após a reação produtos como glicose e ácido gálico (BENIWAL et al., 2013; RAGHUWANSHI et al., 2014; DE LIMA, 2014; MAKELA et al., 2015; PANESAR et al., 2016; Figura 3).

A tanase por ser uma enzima extracelular pode ser obtida por diversas fontes como plantas, fungos e bactérias, sendo os fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* e *Rhizopus* e de bactérias como *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Serratia*, *Ewinia* e *Pseudomonas* as fontes mais proeminentes de produção da enzima. Porém, fungos como *Paecilomyces variotti* usados em diversos estudos têm se mostrado eficiente na produção da tanase (BATTESTIN & MACEDO, 2007; SOUZA et al., 2015; MAKELA et al., 2015; SAHIRA et al., 2015; PANESAR et al., 2016; SUBBULAXMI & MURTY, 2016).

A enzima apresenta propriedades importantes como uma ampla faixa de pH (3,0-8,0), tendo como ótimo 6,5 e temperatura de atividade ótima em 70°C, atingindo a estabilidade em 30°C e 80°C, e sendo inibidas por íons metálicos Ba²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺ e Ag²⁺, além de tiosulfato, carbonato, bissulfato de sódio, EDTA, 2-mercaptoetanol, ácido 4-aminobenzoico, azida sódica, n-bromo succinato, cisteína, tween 80 e tween 20 (BATTESTIN & MACEDO, 2007; MAKELA et al.,

2015; PANESAR et al., 2016; SOUZA et al., 2015; RAGHUWANSHI et al., 2014; ALIAGA DE LIMA, 2015). Como citado anteriormente, a tanase tem capacidade de hidrolisar taninos e sintetizar ésteres dependendo do solvente utilizado no processo, sendo que os solventes polares (água e tampões) são os mais indicados para as reações, porém solventes apolares (hexano e benzeno) também são utilizados, pois se acredita que o processo de catalise é ativado em meio orgânico, visto que existe um aumento das interações moleculares entre os grupos integrantes no processo enzimático, favorecendo assim o meio reacional (ALIAGA DE LIMA, 2015; SOUZA et al., 2015; PANESAR et al., 2016; ROBERTO, 2016).

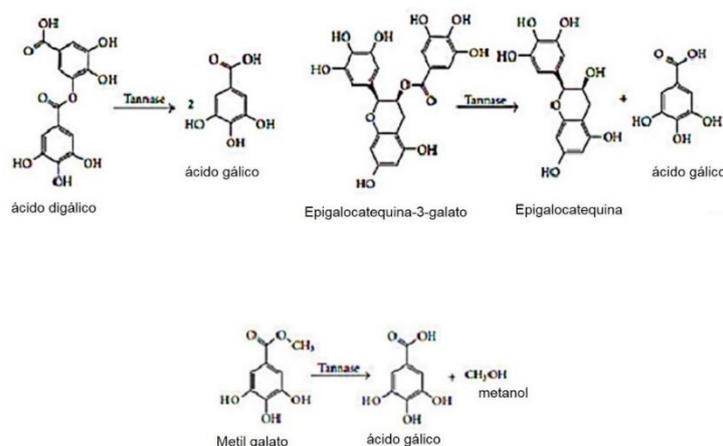


Figura 3. Ação da tanase em diferentes substratos (Traduzido de Rodríguez-Durán et al., 2011).

APLICAÇÃO INDUSTRIAL DA TANASE

A tanase vem apresentando grandes versatilidades para aplicações industriais, uma vez que apresenta diversas vantagens como propriedades bioativas, facilidade de purificação, uso de resíduos agroindustriais como substratos na sua produção e a utilização de vários tipos de microrganismos como bactérias e fungos. A enzima vem sendo comercializada por empresas como Biocon (Índia), Kikkoman (Japão), ASA speciaeznyme GmbH (Alemanha), JFC GmbH (Alemanha) e Amano (Japão) com diferentes unidades catalíticas, dependendo da finalidade do produto (KUMAR et al., 2014).

CHÁS

Os chás possuem diversos componentes químicos denominados fitoquímicos, considerados importantes como compostos bioativos, pois apresentam efeitos benéficos a saúde humana. Dentre esses compostos, encontram-se vários antioxidantes, incluindo polifenóis catequina, flavonoides, vitaminas, epigallocatequina-3-galato, epigallocatequina, epicatequina galato, epicatequina e outros grupos fitoquímicos. Estes compostos podem representar de 20-30% do peso seco e 80% do polifenol total em chás frescos. Durante o processo de extração do chá in natura, as catequinas não são destruídas pois suportam altas temperaturas. (BENIWAL et al., 2013; ZHANG et al., 2015; ROBERTO, 2016).

A tanase vem sendo amplamente utilizada na indústria de bebidas de chá para evitar a formação do “creme” do chá, além de aumentar a taxa de extração, manter a cor e acentuar o sabor (BENIWAL et al., 2013; ROBERTO, 2016; ZHANG et al., 2016). Estudos realizados por Zhang et al. (2016) com chá verde tratado com tanase demonstraram produzir um sabor doce acentuado e uma maior aceitabilidade, pois manteve uma quantidade razoável de epigallocatequina e epicatequina como bioativos. Além disso, teve uma inibição significativa do gosto adstringente do chá. Roberto (2016) estudou a potencialização de chás verde, preto, branco e chá mate com o uso de tanase e constatou efeitos benéficos na redução do sobrepeso e obesidade. A

pesquisa *in vitro* mostrou inibição principalmente da α -amilase e lipase, e os estudos em células indicam redução de cerca de 20% no índice de gordura armazenada pelos adipócitos, quando comparada ao chá convencional, e uma redução de 64% em relação às células que não receberam nenhum tipo de tratamento.

RAÇÃO ANIMAL

A necessidade de alimentos é fator primordial de atendimento em qualquer sociedade, a oferta, o desenvolvimento e a capacidade de mobilizar diferentes setores da economia buscando novos meios de produção e melhoramento nutricional dos alimentos é um fator vital para uma boa saúde humana e animal (BUTOLO, 2002; WEIHUA et al., 2015). Na nutrição animal, o alimento continua sendo o fator determinante das transformações na economia, tendo o animal como consumidor final. Assim, inicia-se a compreensão da importância do estudo do setor de alimentação animal e seu desenvolvimento (BUTOLO, 2002; MADEIRA et al., 2014; WEIHUA et al., 2014).

Os taninos estão presentes em grandes quantidades nos vegetais que são amplamente utilizados como fonte de alimento, por exemplo, folhas de árvores, subprodutos agroindustriais, resíduos agrícolas, e são considerados um dos fatores antinutricionais mais comum (BENIWAL et al., 2013; WEIHUA et al., 2014; MADEIRA et al., 2014; RAGHUWANSHI, et al., 2014). Os taninos presentes nas plantas podem, em geral, afetar negativamente a nutrição animal, reduzindo a ingestão, digestibilidade de proteínas e inibição de enzimas digestivas (BENIWAL et al., 2013; WEIHUA et al., 2014; MADEIRA et al., 2014; RAGHUWANSHI, et al., 2014). Outros efeitos dos taninos incluem danos ao revestimento mucoso do trato gastrointestinal e aumento da excreção de certas proteínas e aminoácidos essenciais. Isso leva a uma redução na ingestão de alimentos, afeta negativamente a fermentação do rúmen e deprime significativamente a digestibilidade de quase todos os nutrientes (MADEIRA et al., 2014; RAGHUWANSHI, et al., 2014).

Para minimizar os efeitos indesejáveis dos taninos, a aplicação de enzimas nas rações animais para a diminuição dos fatores antinutricionais torna a tanase uma enzima eficiente para a redução de compostos que interferem na digestibilidade no trato gastrointestinal de animais (KUMAR et al., 2012; PRETTO et al., 2017). Estudos realizados por Pretto et al. (2017) utilizando tratamento enzimático por tanase em farelo de crumbe nas dietas de peixes, demonstraram haver uma maior retirada de antinutrientes e melhorias no aproveitamento nutricional de outros ingredientes da farinha pelos peixes em comparação com a farinha comercial. Weihua et al. (2015) também testaram os efeitos da tanase *in vivo* em farinhas de feijão faba (*Vicia faba* L.) e constataram que o tratamento enzimático foi eficaz na redução de taninos nos níveis de fitato e no aumento de concentração livre de fósforo, levando a uma aparente melhora na digestibilidade do fósforo e melhores índices bioquímicos para glicose e colesterol e uma menor atividade de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Schons et al. (2011) estudaram o efeito *in vivo* de uma dieta elaborada a base de sorgo tratado com a tanase. Foi constatado que o tratamento enzimático do sorgo promoveu a diminuição nas concentrações de taninos e o aumento do fósforo inorgânico nas rações.

CLARIFICAÇÃO DE VINHOS E SUCOS DE FRUTA

O vinho é um produto obtido através da fermentação alcoólica de suco de uva e de outros sucos fermentados como maçã, bagas, pêssegos, ameixas, damascos e até algumas ervas. Existem uma série de fatores que podem interferir na qualidade dos vinhos, sendo o mais importante o tipo de uva utilizado (SELWAL et al., 2011; BENIWAL et al., 2013). Porém, fatores como compostos fenólicos afetam significativamente aspectos sensoriais do vinho como cor, aparência, sabor e corpo do vinho. Os taninos influenciam o corpo do vinho e produzem um sabor adstringente. Desse modo a utilização da tanase na hidrólise de compostos fenólicos se torna uma ferramenta importante como agente favorável na estabilidade no sabor do vinho. Selwal et al. (2011), em um estudo no uso de tanase em clarificação de vinhos, verificaram que

os valores de tanino em condições de controle de vinho eram 123,42 µg/mL e após o tratamento com a enzima as amostras do vinho apresentaram teor de tanino de 75,73 µg/mL.

Em um estudo semelhante, Kumar et al. (2010) exploraram o tratamento de vinhos com tanase e obteve resultados favoráveis na clarificação e no sabor. Madeira (2014) e colaboradores conseguiram potencializar as propriedades anticancerígenas do suco de laranja utilizando a biotransformação, através da fermentação e da hidrólise enzimática com tanase, o que permitiu aumentar a concentração de compostos fenólicos livres e melhorar a atividade antioxidante do suco da fruta. Ainda, segundo os pesquisadores, dependendo do método empregado, a atividade antioxidante do suco de laranja aumentou de 50% a 70%. Sharma et al. (2014) observaram o tratamento do suco de goiaba com tanase e confirmaram que houve uma redução de 59,23% no teor de tanino após 60 min com extrato enzimático bruto de 2%. Em outro estudo, Lima et al. (2014) avaliaram a atividade do suco de uva usando *Penicillium montanense* e constataram que ele era mais eficiente na redução do teor de tanino em 46% após 120 min de incubação a 37°C e 2 ml do extrato bruto. Este estudo mostrou que a enzima produzida por *Aspergillus carneus* contida em 2 mL do extrato enzimático bruto quando aplicado aos sucos apresentou eficiência quando comparada à literatura, demonstrando assim a relevância da tanase fúngica na clarificação de sucos ricos em taninos.

TRATAMENTO DE EFLUENTES

O setor coureiro tem participação relevante na economia de diversos países, com as indústrias curtidoras processando anualmente aproximadamente 5,5 bilhões de metros quadrados de couro na ordem de US\$ 70 bilhões (ABER et al, 2010). O processo de curtimento do couro demanda diversos processos mecânicos e químicos que resultam em grande quantidade de efluentes com altas concentrações de matéria orgânica e inúmeros produtos químicos tóxicos levando a um problema de poluição ambiental (ARAUJO et al., 2015). Tendo em vista o cenário e a necessidade de alternativas, a tanase foi utilizada no tratamento e eliminação de resíduos de taninos. Murugan e Al-Sohaibani (2010) relataram o uso de *Aspergillus candidus* MTCC 9628 em efluentes contaminados por curtume de couro e Lagemmat e Pyle (2006) também utilizaram a tanase no tratamento de efluente.

PRODUÇÃO DE TANASE POR MICRORGANISMOS

A enzima tanase pode ser extraída de fontes animais, vegetais ou microbiológicos, porém o destaque da produção em altas quantidades e de maneira contínua com grande rendimento se dá por microrganismos, sendo comumente utilizados para produção comercial da enzima (BATTISTEN et al., 2005; BENIWAL et al., 2013; DE LIMA, 2014; MEHTA et al., 2014; KUMAR et al., 2015; DHIMAN et al., 2017).

Os microrganismos como fungos e bactérias vêm ganhando uma importância mundial por serem grandes fontes de produção de enzimas. Além disso, possuem a capacidade de produzir enzimas de alta qualidade. A produção de tanase por meio fúngico tem sido bastante documentada por possuir um maior grau de produção da enzima em comparação com as bactérias. Fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais relatados como principais produtores de tanase através de fermentação submersa ou em estado sólido (PARANTHAMAN et al., 2009; ABDEL-NABEY et al., 2011). Para as bactérias produtoras de tanase os principais são *Bacillus* (BELUR et al., 2012), *Lactobacillus* (RODRIGUEZ et al., 2008), *Pseudomonas* (SELWAI et al., 2010), *Erwinia carotovora* (SAHIRA et al., 2015) e *Bacillus gottheilii* M2S2 (SUBBULAXMI e MURTY, 2016).

PRODUÇÃO DE TANASE ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO

A tanase pode ser produzida através de fermentação em estado sólido (FES) e submerso (FESm). No entanto, a fermentação em estado submerso tem sido o método mais utilizado quando comparado com o estado sólido, isso ocorre por ela permitir um maior controle e

temperatura, pH, aeração e rotação, porém está mais sujeita a contaminações e normalmente apresenta menor produção de enzimas extracelulares quando comparada a fermentação sólida. Entretanto, o estado sólido vem ganhando espaço, pois permite a utilização de diferentes resíduos agroindustriais como substrato, tais como: bagaço de mandioca, bagaço de cana, batida de açúcar polpa / casca, bagaço de laranja, bolos de óleo, bagaço de maçã, suco de uva, semente de uva, casca de café, farelo de trigo, pite de coco etc. (BATTESTIN et al., 2007; BELUR e MUGERAYA, 2011; TEIXEIRA et al., 2016; DHIMAN et al., 2017).

PRODUÇÃO POR FERMENTAÇÃO SÓLIDA

A fermentação em estado sólido é definida como o processo de fermentação em que microrganismos crescem em substratos sólidos sem a presença de água livre circulante (BATTESTIN et al., 2007). Nos últimos anos a FES tem se mostrado muito promissora no desenvolvimento de vários bioprocessos e produção de enzimas. A FES é o método preferido para a produção de tanase devido ao seu baixo custo, menor consumo de água, facilidade de operação e maior atividade enzimática. Na fermentação em estado sólido, a atividade de tanase é expressa em termos de níveis de proteína extracelular, enquanto que em fermentação em estado submerso, a atividade de tanase é expressa em termos de atividade intracelular. Para a produção de tanase, o método por FES tem sido documentada de forma satisfatória como por Battestin et al., (2007) que utilizou como substrato farelo de trigo e casca de café, Martins et al., (2016) também utilizou farelo de trigo, Fonseca et al., (2013) pesquisou a produção usando folhas de *Pisidium guajava* L. obtendo uma produção 103,90 U.mL⁻¹ de tanase. Deepa et al., (2015) documentou a produção de tanase por *Aspergillus niger* utilizando cascas de madeira como substrato sólido. Sabu et al., (2005) usaram farinha de palma e pó de sementes de tamarindo para a produção de tanase sob fermentação em estado sólido. Bhoite e Murthy (2015) utilizaram parâmetros de forma a otimizar a produção de tanase a partir de polpa de café e Mahmoud et al., (2018) usaram bagaço de azeitonas como substrato para otimizar a produção da enzima e obteve uma produção de 1026,12 U/mg de atividade específica, indicando que a enzima purificada poderia levar a cabo 24,65% de conversão de ácido tânico com um aumento de 5,25 vezes na concentração de ácido gálico em apenas 30 minutos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A importância comercial e industrial da tanase é bem estabelecida, assim como a sua grande versatilidade. A aplicação em chá instantâneo para aumentar a capacidade de extração e solubilidade em água fria do chá, o uso nos sucos de frutas para diminuir sua amargura e aumentar sua vida útil, nos vinhos para acentuar sabores, no melhoramento em rações animal, fica evidente que o aumento do consumo de produtos contendo enzimas em regiões em desenvolvimento está impulsionando o mercado para novas aplicações da enzima, assim como novos estudos.

A demanda global por esses produtos é muito alta, como resultado, espera-se que impulse o mercado mundial de tanase. Além disso, os avanços nas ferramentas e técnicas moleculares facilitam uma melhor compreensão da estrutura, sua indução, síntese, regulação e mecanismo de ação. Em conclusão, a tanase é uma enzima importante carregando enormes potenciais para uso em aplicações de bioprocessamento.

Ao longo dos anos, a tanase aumentou sua utilização no setor comercial em várias aplicações industriais. Assim, outras pesquisas relacionadas ao aumento da taxa de hidrólise de taninos, tolerância a taninos, bem como para melhorar controle do processo para o aumento da produção de tanase, seriam consideradas importantes e essenciais.

REFERÊNCIAS

ABDEL-NABEY, M. A.; SHERIEF, A. A.; EL-TANASH, A. B. Tannin biodegradation and some factors affecting tannase production by two *Aspergillus* sp. **Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 149–158, 2011.

- ABER, S.; SALARI, D.; PARSA, M. R. Employing the Taguchi method to obtain the optimum conditions of coagulation-flocculation process in tannery wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 1, p. 127–134, 2010.
- AGUILAR, C. N., RODRÍGUEZ, R., GUTIÉRREZ-SÁNCHEZ, G., AUGUR, C., FAVELA-TORRES, E., PRADO-BARRAGAN, L. A., CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C. Microbial tannases: advances and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, n. 1, p. 47-59, 2007.
- ALIAGA DE LIMA, F. Estudo da biotransformação da farinha de centeio por tratamento enzimático e avaliação da bioacessibilidade de ácidos fenólicos pelo modelo de digestão 'in vitro' e de absorção por células intestinais Caco-2. 2015. **Tese** (Doutora em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
- ARAUJO, E. O; POLICARPO, F; DA SILVA, R. C. Reuso da água na indústria de couro. V Encontro Científico e Simpósio de Educação Unisalesiano. **Anais**, p. 1–10, 2015.
- BATTESTIN V.; MACEDO G.; PASTORE P. Optimizing the fermentation broth for tannase production by a new isolated strain *Paecilomyces variotii*. 12th European Congress in Biotechnology. **Abstracts of the Journal Technology**. Denmark, Copenhagen, 118: S49, 2005.
- BATTESTIN, V.; MACEDO, G. A. Effects of temperature, pH and additives on the activity of tannase produced by *Paecilomyces variotii*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 191-199, 2007.
- BELUR, P. D.; MUGERAYA, G. Microbial Production of Tannase: State of the Art. **Research Journal of Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 25–40, 2011.
- BENIWAL, V.; KUMAR, A.; SHARMA, J.; CHHOKAR, V. Recent Advances in Industrial Application of Tannases: A Review. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 228–233, 2013.
- BHOITE RN, MURTHY PS. Biodegradation of coffee pulp tannin by *Penicillium verrucosum* for production of tannase, statistical optimization and its application. **Food Bioprod Process**, v. 94, p. 727-735, 2015.
- BUTOLO, J. E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Alimentação Animal, 2002.
- DE LIMA, C. S. Bioprospecção de tanases: otimização e caracterização de extrato enzimático de *Pestalotiopsis mangiferae*. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – Bahia – Brasil.
- DHIMAN, S., MUKHERJEE, G., KUMAR, A., MUKHERJEE, P., VEREKAR, S. A., DESHMUKH, S.K. Fungal Tannase: Recent Advances and Industrial Applications. **Developments in Fungal Biology and Applied Mycology**, v. 2, n. 8, p. 295–313, 2013.
- FONSECA, J. C.; CRUZ, R.; SILVA, J. L; MOREIRA, K. A. MOTTA, C. M. S. Tanase produzida por *Penicillium* utilizando folha de goiabeira como substrato. **Resumos Expandidos**. I CONICBIO/II CONABIO/VI SIMC BIO, Universidade Católica de Pernambuco, Recife – PE, 11 a 14 de novembro de 2013, v. 2, p. 1–15, 2013.
- FRUTOS, P., HERVAS, G., GIRÁLDEZ, F. J., MANTECÓN, A. R. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 2, 191-202, 2004.
- HAGERMAN, A. E., RIEDL, K. M., JONES, G. A., SOVIK, K. N., RITCHARD, N. T., HARTZFELD, P. W., RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 5, 1887-1892, 1998.
- KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural product reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.
- KUMAR, R., SHARMA, J., KUMARI, A., SONIA, A., VIKAS, B. S. D. Application of Tannase in Wine Clarification Produced Under Submerged Fermentation Using *Aspergillus ruber*. **International Journal of Tropical Agriculture**, v. 28, n. 3, p. 529–533, 2010.
- KUMAR, V; KHOKHAR, D; SANGWAN, P; AGRAWAL, S. Role of Phytate and Phytase in human health. **Indian Farmers Digest**, v. 45, n. 5, 42-44, 2012
- KUMAR, V.; SINGH, D.; SANGWAN, P.; GILL, PRABHJOT KAUR. Global market scenario of industrial enzymes. **Industrial Enzymes: Trends, Scope and Relevance**, v. 1, n. 1, p. 173–196, 2014.
- KUMAR, M.; RANA, S.; BENIWAL, V.; SALAR, R. K. Optimization of tannase production by a novel *Klebsiella pneumoniae* KP715242 using central composite design. **Biotechnology Reports**, v. 7, p. 128–134, 2015.

- LAGEMAAT, J. V. AND PYLE, D. L. Tannase. In: PANDEY, A., WEBB, C., SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. **Enzyme technology**. Nova Iorque: Springer, 2006.
- LIMA, J. S. D., CRUZ, R., FONSECA, J. C., MEDEIROS, E. V. D., MACIEL, M. D. H. C., MOREIRA, K. A., MOTTA, C. M. D. S. Production, characterization of tannase from *Penicillium montanense* URM 6286 under SSF using agroindustrial wastes, and application in the clarification of grape juice (*Vitis vinifera* L.). **The Scientific World Journal**, 2014.
- MADEIRA, J. V.; NAKAJIMA, V. M.; MACEDO, J. A.; MACEDO, G. A. Rich bioactive phenolic extract production by microbial biotransformation of Brazilian Citrus residues. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, n. 10, p. 1802–1810, 2014.
- MAHMOUD, A. E.; FATHY, S. A.; RASHAD, M. M.; EZZ, M. K.; MOHAMMED, A. T. Purification and characterization of a novel tannase produced by *Kluyveromyces marxianus* using olive pomace as solid support, and its promising role in gallic acid production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 2342–2350, 2018.
- MÄKELÄ, M. R.; MARINOVIĆ, M.; NOUSIAINEN, P.; et al. Aromatic metabolism of filamentous fungi in relation to the presence of aromatic compounds in plant biomass. **Advances in Applied Microbiology**, v. 91, p. 63–137, 2015.
- MARTINS, I. M.; ROBERTO, B. S.; BLUMBERG, J. B.; CHEN, C. Y. O.; MACEDO, G. A. Enzymatic biotransformation of polyphenolics increases antioxidant activity of red and white grape pomace. **Food Research International**, v. 89, p. 533–539, 2016.
- MEHTA, M.; MUDDAPUR, U. M.; PRIYA, V. G. S. Fungal Production of Tannase: A Review Abstract. **International Journal of Scientific Engineering and Technology**, v. 2, n. 8, p. 752–755, 2013.
- MINGSHU, L., KAI, Y., QIANG, H., DONGYING, J. Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. **Journal of basic microbiology**, v. 46, n. 1, p. 68–84, 2006.
- MURUGAN, K., AL-SOHAIBANI, A. Biocompatible removal of tannin and associated color from tannery effluent using the biomass and tannin acyl hydrolase (E.C.3.1.1.20) enzymes of mango industry solid waste isolate *Aspergillus candidus* MTCC 9628. **Research Journal of Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 262–271, 2010.
- NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to tannic acid metabolism in the rat. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 51, 331–339, 2003.
- PANESAR, P. S.; KAUR, R.; SINGLA, G.; SANGWAN, R. S. Bio-processing of Agro-industrial Wastes for Production of Food-grade Enzymes: Progress and Prospects. **Applied Food Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 208–227, 2016.
- PHILIP, D. C.; ARTS, A. V. Purification of Tannase from *Aspergillus niger* Under Solid State Fermentation. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 02, p. 993–1001, 2015.
- PRETTO, A.; PICOLLI, L.; LEITE, M.; et al. Tratamento enzimático em farelo de crumbe e aplicação em dietas para *Rhamdia quelen*. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 38–44, 2017.
- RAGHUWANSHI, S.; MISRA, S.; SAXENA, R. K. Treatment of wheat straw using tannase and white-rot fungus to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 2–9, 2014.
- RODRÍGUEZ-DURÁN, L. V., VALDIVIA-URDIALES, B., CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C., RODRÍGUEZ-HERRERA, R., AGUILAR, C. N. Novel strategies for upstream and downstream processing of tannin acyl hydrolase. **Enzyme research**, p. 20, 2011.
- ROBERTO, B. S.; MACEDO, G. A.; MACEDO, J. A. et al. Immobilized tannase treatment alters polyphenolic composition in teas and their potential anti-obesity and hypoglycemic activities in vitro. **Food and Function**, v. 7, n. 9, p. 3920–3932, 2016.
- SABU, A.; PANDEY, A.; JAAFAR DAUD, M.; SZAKACS, G. Tamarind seed powder and palm kernel cake: Two novel agro residues for the production of tannase under solid state fermentation by *Aspergillus niger* ATCC 16620. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 11, p. 1223–1228, 2005.
- SAHIRA, N. M.; ALAA, N. M.; ISRAA, M. S. A.; SRAA, N. M. Detoxification of zearalenone produced by *Fusarium graminearum* by purified tannase from *Citrobacter freundii*. **Greener Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 001–008, 2015.
- SCHONS, P. F.; RIES, E. F.; BATTESTIN, V.; MACEDO, G. A. Effect of enzymatic treatment on tannins and phytate in sorghum (*Sorghum bicolor*) and its nutritional study in rats. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 6, p. 1253–1258, 2011.

- SELWAL, M. K.; YADAV, A.; SELWAL, K. K. et al. Optimization of cultural conditions for tannase production by *Pseudomonas aeruginosa* IIB 8914 under submerged fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 4, p. 599–605, 2010.
- SELWAL, M. K.; YADAV, A.; SELWAL, K. K. et al. Tannase production by *Penicillium atramentosum* KM under SSF and its applications in wine clarification and tea cream solubilization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 374–387, 2011.
- SHARMA, N. K.; BENIWAL, V.; KUMAR, N. et al. Production of tannase under solid-state fermentation and its application in detannification of guava juice. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 44, n. 3, p. 281–290, 2014.
- SOUZA, P. N. D. C.; MAIA, N. D. C.; GUIMARÃES, L. H. S.; RESENDE, M. L. V. DE; CARDOSO, P. G. Optimization of culture conditions for tannase production by *Aspergillus* sp gm4 in solid state fermentation. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 37, n. 1, p. 23, 2015.
- SUBBALAXMI, S.; MURTY, V. R. Process optimization for tannase production by *Bacillus gottheilii* M2S2 on inert polyurethane foam support. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 7, p. 48-55, 2016.
- TEIXEIRA, M. C. V.; VAZ, L.; BATTESTIN, V. Uso da biotecnologia na produção de enzimas. In: VI Congresso Internacional de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento, 2017, Taubaté-SP. **Anais**. 2017.
- WEIHUA, X.; MIAO, Z.; JING, L.; CHUANXIU, X.; YUWEI, L. Effects of phytase and tannase on in vivo nutritive utilisation of faba bean (*Vicia faba* L.) flour. **International Food Research Journal**, v. 22, n. 4, p. 1550–1556, 2015.
- ZHANG, Y. N.; YIN, J. F.; CHEN, J. X.; et al. Improving the sweet aftertaste of green tea infusion with tannase. **Food Chemistry**, v. 192, p. 470–476, 2016.

DIAGNÓSTICO DAS CONDIÇÕES SANITÁRIAS NO COMÉRCIO AMBULANTE DE ALIMENTOS NA ESTÂNCIA TURÍSTICA DE SÃO ROQUE-SP

DIAGNOSIS OF SANITARY CONDITIONS IN TRADE FOOD STREETS IN SÃO ROQUE, SAO PAULO STATE, BRAZIL

Felipe Ribeiro do Amaral¹, Giovanna Aparecida Domingues de Oliveira¹, Wesley de Matos Pereira², Francisco Rafael Martins Soto¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Câmpus São Roque- SP, E-mail: sotofrm@ifsp.edu.br

²Prefeitura da Estância Turística de São Roque- SP, Departamento de Vigilância Sanitária Municipal.

RESUMO. A comercialização de comida por meio de comércios ambulantes vem crescendo no decorrer dos anos, e os consumidores tendem a optar por essa alimentação de maneira crescente. Este trabalho teve por objetivo o diagnóstico das condições sanitárias no comércio ambulante de alimentos na área central da cidade da Estância Turística de São Roque- SP. A pesquisa foi dividida em duas etapas: elaboração de roteiro de inspeção sanitária e aplicação do mesmo nos estabelecimentos. Os estabelecimentos foram classificados em: insatisfatórios, (menor do que 50 pontos); satisfatórios com restrições (entre 50 e 69 pontos) e satisfatórios (acima de 70 pontos). Os resultados da pesquisa mostraram que dois (25%) comércios foram classificados como insatisfatórios, cinco (62,5%) como satisfatório com restrições e apenas um (12,5%) como satisfatório. A lavagem incorreta das mãos, má higienização dos equipamentos e utensílios e ausência de limpeza e organização do ambiente de manipulação foram as inconformidades sanitárias mais comuns detectadas. **Palavras-chave:** Comida de rua. Inspeção. Inconformidades sanitárias.

ABSTRACT. The market of food by street shops has been growing over the years, and consumers tend to opt for this way of increasing power. This work aimed at the diagnosis of sanitary conditions in street food trade in the downtown area of the tourist resort of São Roque- SP. The research was divided into two stages: preparation of sanitary inspection checklist and application of the same in the establishments. The establishments were classified as unsatisfactory (less than 50 points); satisfactory with restrictions (between 50 and 69 points) and satisfactory (over 70 points). The survey results show that two (25%) businesses were classified as unsatisfactory, five (62.5%) as satisfactory with restrictions and only one (12.5%) as satisfactory. Improper handwashing, poor cleaning of equipment and utensils and lack of cleanliness and organization of handling environment were the most common non-sanitary conformities detected. **Keywords:** Street food. Inspection. Non-sanitary conformities.

INTRODUÇÃO

A comida de rua é consumida por milhões de pessoas, sobretudo de renda média baixa e em áreas urbanas (RODRIGUES et al., 2014). Essa parcela tende a aumentar devido à procura por uma alimentação mais rápida e barata.

Ao longo dos anos, o comércio ambulante vem adquirindo uma melhor estruturação de seus estabelecimentos nas grandes metrópoles e nos centros urbanos mais populosos (MONTEIRO, 2015), trazendo consigo benefícios como a redução da quantidade de pessoas desempregadas da região, que resultam na melhor qualidade de vida para a população como um todo.

É de relevante importância que esses estabelecimentos que oferecem essa alimentação, cumpram as normas sanitárias vigentes, para que forneça maior segurança alimentar ao consumidor, evitando, assim, infecções e ou toxinfecções alimentares que podem comprometer a saúde das pessoas (FRANCO; UENO, 2010).

A comida de rua pode, inclusive, se tornar um alimento que substitui uma refeição principal e, do ponto de vista nutricional, contribuir para a ingestão diária de nutrientes e energia (BEZERRA et al., 2014).

No entanto, a importância da alimentação não se limita apenas às características nutricionais (SANTOS et al., 2015). Os alimentos de rua podem se tornar perigosos quando fiscalizados ou manipulados de maneira incorreta, ação que pode acarretar em problemas na saúde de todo um coletivo.

Com base neste cenário, este trabalho teve por objetivo o diagnóstico das condições sanitárias no comércio ambulante de alimentos na área central da cidade da Estância Turística de São Roque- SP.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi dividida em duas etapas: elaboração de roteiro de inspeção sanitária com base na legislação pertinente e aplicação do roteiro nos estabelecimentos.

O roteiro de inspeção sanitária para vendedores ambulantes (RISVA) foi elaborado com base na combinação entre a Resolução Estadual SS-142/93, (SÃO PAULO, 1993) Portaria Estadual CVS-5 de 09 de abril de 2013 (SÃO PAULO, 2013), Resolução Estadual SS-196 (SÃO PAULO, 1998) e

microcomputadores com os programas Microsoft® Excel 2012 para a elaboração do banco de dados e para análise dos resultados obtidos.

Inicialmente, o roteiro foi colocado em fase de testes, para adaptar as pontuações da Resolução Estadual SS -196 com o contexto do comércio ambulante. Foi necessário um reajuste para que os pontos de cada item solicitado estivesse de acordo com a realidade inicialmente diagnosticada.

Os estabelecimentos foram classificados em: insatisfatórios, (menor do que 50 pontos); satisfatórios com restrições (entre 50 e 69 pontos) e satisfatórios (acima de 70 pontos).

Os roteiros foram divididos em cinco blocos, cada qual avaliando respectivamente as instalações e equipamentos (bloco 1), os utensílios (bloco 2), a higiene pessoal dos manipuladores de alimentos (bloco 3), a qualidade dos produtos expostos à venda (bloco 4) e a manipulação dos alimentos (bloco 5).

Para o cálculo da pontuação, os pesos (P) e constantes (K) considerados foram: instalações e equipamentos, P= 10 e K= 40; utensílios P= 16 e K= 8; higiene pessoal dos manipuladores P= 22 e K= 10; produtos para a venda P= 20 e K= 12 e manipulação dos alimentos P= 32 e K= 8. As constantes foram definidas de acordo com a importância sanitária do bloco avaliado, tendo como base o roteiro da Resolução Estadual SS -196.

Em cada bloco do RISVA, foi aplicada a seguinte fórmula:

$$\frac{TS \times P}{K - NA}$$

Onde: TS é o somatório dos itens satisfatórios; P, peso do bloco; K, uma constante, utilizada com a finalidade de não penalizar o estabelecimento quando determinado item não for aplicável e NA, item que não se aplica nas inspeções. A pontuação final (PF) do estabelecimento foi obtida somando-se os pontos dos cinco blocos, conforme a fórmula abaixo:

$$PF = S1 + S2 + S3 + S4 + S5$$

Onde PF: pontuação final; S1: somatório bloco 1; S2: somatório bloco 2; S3: somatório bloco 3; S4: somatório bloco 4, S5: somatório bloco 5.

A aplicação dos roteiros de inspeção nos comércios foi realizada com o acompanhamento de um representante do Departamento de Vigilância Sanitária do Município de São Roque, sem prévios avisos e/ou agendamentos. As inspeções sanitárias foram realizadas em um espaço amostral de oito comércios ambulantes de lanches, número próximo da quantidade de estabelecimentos ativos desta natureza na área central da cidade de São Roque, SP, durante o período compreendido entre março a maio de 2016.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, estão apresentados os resultados referentes a classificação do comércio ambulante de alimentos.

Tabela 1. Resultados referentes a classificação do comércio ambulante de alimentos expressos numericamente, com a pontuação média e a respectiva porcentagem.

| Classificação | Nº | Pontuações médias | Porcentagem (%) |
|-----------------------------|----|-------------------|-----------------|
| Insatisfatório | 2 | 34,1 | 25 |
| Satisfatório com restrições | 5 | 59,82 | 62,5 |
| Satisfatório | 1 | 70,13 | 12,5 |
| Total | 8 | 54,68 | 100 |

Os resultados da pesquisa mostraram que nos oito comércios de alimentos de rua inspecionados, nenhum estava adequado completamente aos itens exigidos pelo RISVA, sendo que dentre este número dois (25%) foram classificados como insatisfatórios, cinco (62,5%) como satisfatório com restrições e apenas um (12,5%) foi classificado como satisfatório (Tabela 1).

As principais inconformidades sanitárias estavam relacionadas a desorganização do local de trabalho, presença de objetos estranhos ao ambiente de manipulação e o ato dos manipuladores manusearem dinheiro durante a preparação dos alimentos.

Dentre os oito comércios inspecionados, três possuíam mais de um funcionário operando as atividades no estabelecimento, e cinco possuíam as atividades realizadas por apenas um funcionário. Estes resultados foram semelhantes ao que Franko e Ueno (2010) obtiveram em um trabalho onde foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos, em que nenhum dos estabelecimentos inspecionados atenderam completamente as normas exigidas pela Vigilância Sanitária. No presente estudo, o único comércio com pontuação de 70,13 pontos, no limite da classificação como satisfatório, ainda não foi capaz de alcançar a pontuação máxima.

As condições de higiene no comércio de alimentos de rua têm importância na escolha do consumidor. Santos e colaboradores (2012) relataram que os consumidores de alimentos de rua, em sua maioria, selecionam os produtos de acordo com a limpeza do local. No presente estudo a limpeza adequada e a organização do local esteve ausente em cinco (62,5%) dos estabelecimentos avaliados.

Quanto a disponibilidade de água potável, no estudo de Rodrigues e coautores (2014), 54,5% dos comércios dispunham dela, resultado discrepante quando comparado a este presente estudo, onde a disponibilidade de água estava presente em todos os comércios. Vale ressaltar que, neste estudo, mais da metade (62,5%) a utilizava na forma corrente, enquanto a outra parte armazenava a água a ser utilizada em recipientes como garrafas e galões.

Sobre a presença de lavatórios para que os manipuladores realizassem a higienização adequada das mãos, cinco (62,5%) possuíam um local para a realização de tal prática e, dentre estes, apenas um (20%) estava em condições adequadas.

Dos estabelecimentos avaliados, 75% possuíam apenas um manipulador responsável pelo preparo dos lanches e manipulação de dinheiro, enquanto na investigação de Menezes e colaboradores (2012), na qual se avaliou as características do comércio de queijo coalho na cidade de Salvador (BA), não haviam pessoas distintas para a manipulação do alimento e do dinheiro. Este resultado tem implicações sanitárias importantes ao se considerar a elevada contaminação microbiana que pode existir no dinheiro, informação apresentada no trabalho de Sudré e coautores (2012), onde se estudou a contaminação de moedas e cédulas de dinheiro circulantes na cidade de Niterói (RJ).

Quanto aos manipuladores e suas vestimentas, cinco (62,5%) comércios possuíam funcionários com uniformes adequados e em bom estado de uso, valor menor do que o obtido por Monteiro (2015), que ao avaliar as condições dos uniformes dos manipuladores do comércio ambulante da cidade Belo Horizonte (MG), teve como conformidade em relação a limpeza e a conservação 87,5% dos estabelecimentos investigados.

Em relação a lavagem das mãos, os manipuladores dos oito comércios afirmavam conhecer a maneira correta, mas assim como no trabalho de Souza e colaboradores (2015), onde se avaliou as condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimento em Uberlândia (MG), nenhum deles citou o procedimento adequado que envolvia a utilização de sabonete antisséptico e álcool em gel.

Em uma pesquisa realizada por Rodrigues e coautores (2010), que avaliou as condições higiênico-sanitárias do comércio ambulante da cidade de Palmas (TO), os utensílios e equipamentos tiveram condições caracterizadas como boas em 19,2% dos estabelecimentos. No presente estudo, o valor referente as boas condições de uso e armazenamento dos utensílios e equipamentos foi de 50%.

No que se referiu ao alvará sanitário atualizado, apenas 25% dos comércios, apresentaram conformidade neste quesito. Tal resultado reforça a necessidade de uma maior poder fiscalizatório pelas autoridades competentes.

Quanto ao armazenamento dos produtos a serem comercializados, cinco (62,5%) não mantinham os alimentos a temperatura de refrigeração obrigatória para a conservação, de 2°C a 10°C, visto que no trabalho de Santos (2011), de maneira geral, as condições de armazenamento da comida de rua no carnaval da cidade de Salvador (BA) também não estavam de acordo com o que recomendava as Boas Práticas de Fabricação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos e nas condições em que foi realizado o trabalho, pode-se concluir que as principais não conformidades sanitárias encontradas estiveram relacionadas com a lavagem incorreta das mãos, má higienização dos equipamentos e utensílios e ausência de limpeza e organização do ambiente de manipulação.

As inconformidades sanitárias poderiam ser solucionadas com simples ações corretivas, que conseqüentemente gerariam uma melhor qualidade e segurança nos alimentos preparados.

A conscientização dos vendedores ambulantes de tais fatores e a capacitação dos mesmos pode ser uma atitude essencial para que a comida de rua da cidade de São Roque assegure uma qualidade confiável e torne os perigos do seu consumo os menores possíveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo e ao CNPq pelo apoio financeiro dado ao projeto.

REFERÊNCIAS

- BEZERRA, A. C. D.; MANCUSO, A. M. C.; HEITZ, S. J. J. Alimento de rua na agenda nacional de segurança alimentar e nutricional: um ensaio para a qualificação sanitária no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 5, p. 1489-1494, 2014.
- FRANCO, C. R.; UENO, M. Comércio Ambulante de Alimentos: Condições Higiênico-Sanitárias nos Pontos de Venda em Taubaté-SP. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 4, p. 9-13, 2010.
- MENESES, R. B.; CARDOZO R. C. V.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, A. W.; SILVA, S.A.; ARGOLLO, S. V. O comércio de queijo de coalho na orla de Salvador, Bahia: trabalho infantil e segurança de alimentos. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 25, n.3, p. 381-392, 2012.
- MONTEIRO, M. A. M. Caracterização do Comércio Ambulante de Alimentos em BeloHorizonte-MG. **DEMTRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v.10, n.1, p. 87-97, 2015.
- RODRIGUES, B. F.; GOES, J. A. W.; CARDOSO, R. D. C. V.; SOUZA, W. M.; FERREIRA, T. C. B. O comércio de comida de rua no centro histórico de Salvador-BA: caracterização da oferta de alimentos e aspectos higiênico-sanitários. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 21, n. 1, p. 347-358, 2014.
- RODRIGUES, F. M.; MELOVIROLI, S. L.; MENEZES, P. M. C.; SANDI, A. L. S. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do comércio ambulante de alimentos na cidade de Paraíso do Tocantins. **Acta Tecnológica**, v. 5, n. 1, p. 100-112, 2010.
- SANTOS, K. B. O comércio da comida de rua no carnaval de Salvador-BA: desvendando as dimensões social, econômica, alimentar e sanitária. **Dissertação**. Salvador: Universidade Federal da Bahia, 2011.
- SANTOS, V. A. D.; SANTOS, M. P.; MATOS, V. D. S. R.; LÔBO, L. N.; FREITAS, F.; SILVA, I. D. M. M. D. Perfil dos consumidores de alimentos de rua. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 36, n.3, p. 777-791, 2012.
- SÃO PAULO, **Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013**. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção, anexo.

SÃO PAULO, **Resolução No. 196 de 29 de dezembro de 1998**. Dispõe sobre a padronização dos roteiros e guias de inspeção no âmbito do Estado de São Paulo. Diário Oficial do Estado de São Paulo, 19 de março de 1999.

SÃO PAULO, **Resolução SS No. 142 de 03/05/1993**. Secretaria do Estado da Saúde, Centro de Vigilância Sanitária Estadual, São Paulo, SP, 1993.

SOUZA, G. C.; SANTOS, C. T. B.; ANDRADE, A. A.; ALVES, L. Comida de rua: avaliação das condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimentos. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 8, p. 2329-2338, 2015.

SUDRÉ, A. P.; PEREIRA F. B. O.; ZANIBONI, B.; SANTOS, S. G. D.; BRANCO, L. G.; BRENER, B. Estudo da contaminação de moedas e cédulas de dinheiro circulantes na cidade de Niterói-RJ. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 4, p. 465- 470, 2012.