

SANTANA, Y.A.G., SILVA, M.C.M. e PEREIRA, M.M.G. Avaliação microbiológica do feno armazenado no galpão de metabolismo da Universidade Federal do Piauí. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 2, Ed. 189, Art. 1273, 2012.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Avaliação microbiológica do feno armazenado no galpão de metabolismo da Universidade Federal do Piauí

Yânez André Gomes Santana¹; Melina da Conceição Macêdo da Silva¹;
Maria Marlucia Gomes Pereira²

¹Biólogo, Instituto Federal do Piauí, IFPI, Teresina.

²Médica Veterinária, Dra., Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Resumo

A segurança alimentar representa uma preocupação constante, tanto para o alimento de consumo humano quanto o de consumo animal e a manipulação é um fator primordial para a qualidade. O feno é um dos alimentos bastante utilizado para consumo animal. A utilização de adubos orgânicos provenientes de fezes de animais tem sido questionada em função da qualidade sanitária do mesmo. Objetivou-se através desse trabalho fazer a avaliação microbiológica das amostras de feno armazenadas e protegidas com lona e sem proteção no galpão de metabolismo. Foram realizadas as análises de coliformes totais e coliformes fecais (NMP/g) e a contagem de fungos e leveduras. As amostras de feno foram obtidas de um galpão de metabolismo do Departamento de Zootecnia (DZO) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e as análises foram realizadas no Laboratório de Controle Microbiológico do Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamento de Alimentos (NUEPPA) do (CCA) da (UFPI). As amostras foram coletadas aleatoriamente de

SANTANA, Y.A.G., SILVA, M.C.M. e PEREIRA, M.M.G. Avaliação microbiológica do feno armazenado no galpão de metabolismo da Universidade Federal do Piauí. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 2, Ed. 189, Art. 1273, 2012.

cada fardo e coletou-se em torno de 200 gramas de amostra para análise com dez repetições de cada feno, com e sem proteção no período de 90 dias. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nas contagens de coliformes a 35°C no feno com e sem proteção, o que evidencia que a presença de coliformes a 35°C se deve a contaminação do feno no período de fenação onde o mesmo é produzido no campo exposto a diversidades do ambiente. Não foi constatada diferença significativa ($P > 0,05$) no crescimento dos fungos e leveduras em relação ao armazenamento com e sem proteção por lona, embora o feno coberto por lona tenha apresentado uma contagem inferior ao feno sem proteção. O feno analisado apresentou condições de processamento satisfatório e armazenamento adequado, o que favoreceu a qualidade final do produto de acordo com as análises realizadas.

Termos para indexação: segurança alimentar, manipulação, coliformes, fungos.

Microbiological evaluation of hay stored in the shed of metabolism of the Federal University of Piauí

Abstract

Food security is a concern, both for food for human consumption and animal consumption and the handling is a key factor for quality. Hay is a food commonly used for animal feed. The use of organic fertilizers from animal feces has been questioned due to the sanitary quality of it. The objective of this work through to the evaluation of microbiological samples of hay stored and protected with canvas and unprotected in the shed of metabolism. Analyses were performed for total coliforms and fecal coliforms (MPN / g) and the count of fungi and yeasts. The hay samples were taken from a shed metabolism of the Department of Animal Science (DZO) of the Center for Agricultural Sciences (CCA) of the Federal University of Piauí (UFPI) and analysis were performed at the Laboratory for Microbiological Control of the Center for Studies, Research and Food Processing (NUEPPA) of (CCA) of

(UFPI). The samples were collected randomly from each bale and collected around 200 grams of sample for analysis with ten repetitions of each hay, with and without protection in 90 days. There was no significant difference ($P > 0.05$) in coliform counts at 35 °C in the hay with and without protection, which shows that the presence of coliforms at 35 °C is due to contamination of hay in the period of hay where it is produced in diversity of the field exposed to the environment. There was no significant difference ($P > 0.05$) in the growth of fungi and yeasts in relation to storage and unprotected by canvas, while the hay covered with tarpaulin has submitted a score less than the unprotected hay. Hay analysis showed satisfactory processing conditions and proper storage, which favored the final product quality according to the analysis performed.

Index terms: food security, handling, coliforms, fungi.

Introdução

O "Tifton-85" (*Cynodon ssp.*) é um dos alimentos fibrosos mais utilizados em Cuba e no Sudeste dos Estados Unidos, nas formas de pastejo e feno. Esta pastagem é consumida principalmente nos períodos secos. Herrera (1983) afirmou que o *Cynodon dactylon* (L.) Pers é uma gramínea que se adaptou às condições de clima tropical e subtropical, apresentando como características forrageiras desejáveis sua elevada massa seca por unidade de área e alto valor nutritivo para a produção de feno. No Brasil, sua utilização tem sido na forma de feno ou *in natura* no campo, principalmente como parte da dieta em sistemas de produção de leite (VILELA e ALVIM, 1996).

A produção do feno consiste basicamente no corte e na desidratação da forragem verde com 65-85% de umidade para 10 a 20%, em que se procura manter o valor nutritivo original da forrageira. A conservação de forragens é indispensável para manter a produtividade animal durante o ano todo. A produção e comercialização de feno podem representar lucros para o produtor, uma vez que o feno pode ser utilizado no período de estiagem, além de que

uma quantidade de feno significativa pode ser comercializada para outros produtores. A atividade de água e a umidade relativa do ar são consideradas pontos críticos na conservação do feno, pois estes são fatores importantes principalmente para o crescimento de fungos e possível produção de micotoxinas, onde a produção ótima, como nas aflatoxinas ocorre em atividade de água de 0,93 (PRADO et al., 1991).

Na fase ideal para o corte, a gramínea é ceifada e passa por um processo de desidratação e secagem, até o ponto de feno. Antes da secagem e desidratação a umidade da planta deve estar entre 75 e 80% e ser reduzida a 15% quando na obtenção do feno. As condições ambientais que favorecem a secagem são os dias ensolarados, pouca nebulosidade, baixa umidade relativa do ar, ocorrência de ventos e temperaturas elevadas (COSTA, 1997).

Os fungos são microrganismos heterotróficos uni ou multicelulares que crescem em plantas, grãos, alimentos e matéria orgânica em geral; produzem enzimas digestivas que digerem a matéria orgânica, causando deterioração do substrato, resultando em alterações na qualidade dos alimentos. Há casos em que alterações fúngicas são desejáveis, como na reciclagem de resíduos da matéria orgânica, na produção de alimentos e na produção de antibióticos. Em contrapartida, existem os fungos patogênicos, que durante o crescimento sintetizam micotoxinas que estão associadas a alterações na composição dos alimentos (DINIZ, 2002).

A microbiota fúngica natural que coexiste com a produção de alimentos é representada principalmente pelos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Algumas espécies de *Fusarium* são patógenos que deterioram os cereais e outros produtos e a produção de micotoxinas ocorre antes ou logo após a colheita. Algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* também são patógenos vegetais ou saprófitas, estes relacionados mais habitualmente com os produtos e com os alimentos durante a secagem, principalmente no período de armazenamento (ICMSF, 1996).

A presença de Coliformes totais e Fecais em alimentos processados segundo Silva (1997) é considerada uma indicação útil de contaminação pós-processo, evidencialmente práticas de higiene aquém dos padrões requeridos para o processamento. A maioria dos coliformes é encontrada no meio ambiente e essas bactérias possuem limitada relevância higiênica. Devido ao fato de os coliformes serem destruídos com certa facilidade pelo calor, sua contagem pode ser útil em testes de contaminações pós-processamento (FORSYTHE, 2002). Os coliformes fecais e fungos podem permanecer viável no feno por um período de um mês de armazenamento, já os coliformes totais podem sobreviver até 12 meses ou mais de armazenamento (CORAUCCI FILHO et al., 1999).

Geralmente, na determinação de coliformes, realiza-se a diferenciação entre os de origem fecal e não-fecal. Os coliformes não-fecais como a *Serratia* e *Aeromonas* (SILVA e JUNQUEIRA, 1991), são encontradas no solo e vegetais, possuindo a capacidade de se multiplicarem na água com relativa facilidade. No entanto, os coliformes de origem fecal, não se multiplicam facilmente no ambiente externo e são capazes de sobreviver de modo semelhante às bactérias patogênicas (GIOMBELLI et al., 1998).

Segundo Martins e Martins (2001), nas matérias-primas ou em ração de boa qualidade microbiológica a contagem deve ser igual ou inferior a 10^5 UFC de fungos/g. Contagem elevadas de fungos em alimentos deixam odor de mofo, são organolepticamente anormais e, sobretudo representam um perigo potencial para a saúde dos animais por poderem conter substâncias zootóxicas.

A manipulação do feno sem os cuidados necessários pode torná-lo um produto com uma carga microbiana elevada, o que pode ocasionar transtornos a saúde pública, principalmente, no tocante a contaminação por fungos que pode favorecer a produção de micotoxinas, substância de extrema importância pela capacidade toxígena das mesmas e que representam riscos, tanto para os animais como para o homem (NASCIMENTO et al., 2000).

Os esporos dos fungos são abundantes e amplamente encontrados na natureza, crescem rapidamente no solo, em plantas, em alimentos, em papel e até em vidros. Alimentos armazenados representam um excelente campo para a proliferação dos fungos, principalmente onde os princípios básicos adequados de secagem e armazenamento ainda são desconhecidos ou desprezados (FONSECA, 2000).

As micotoxinas estão caracterizadas como substâncias não protéicas resultantes do metabolismo de fungos. São moléculas relativamente pequenas, geralmente não são detectáveis pelo sistema imune do homem e animais e o principal perigo potencial da presença das micotoxinas na dieta humana reside na incapacidade de serem detectadas biologicamente (ICMSF, 1996).

A presença de coliformes fecais em amostras ambientais é um importante indicador da possível presença de patógenos entéricos, os quais geralmente estão presentes em águas residuárias tratadas (CORAUCCI FILHO et al., 1999). Frequentemente estão presentes em fezes de animais bactérias do grupo coliformes fecais, dentre elas as principais são *Escherichia coli* e *Salmonella* sp, as quais podem provocar surtos de toxinfecção alimentar quando atingem quantidades elevadas nos alimentos (SILVA, 1995). A capacidade desses microrganismos de causarem infecções está diretamente relacionada a virulência, carga parasitária ingerida, inalada ou absorvida, e fatores como idade, estado nutricional, condições imunológicas e outras patologias associadas (PACHECO et al., 2002).

A correta manipulação com utilização de práticas higiênicas corretas e armazenamento adequado do feno Tifton-85 (*Cynodon* ssp) são práticas fundamentais para a qualidade do produto final. Assim, objetivou-se através deste trabalho avaliar a qualidade microbiológica de coliformes totais e fecais e fungos e leveduras do feno Tifton-85 produzido no DZO/CCA/UFPI.

Material e Métodos

As amostras do feno foram obtidas do galpão de metabolismo do Departamento de Zootecnia (DZO) e as análises foram realizadas no Laboratório de Controle Microbiologia do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos (NUEPPA) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). O feno apresentava-se armazenado com proteção de lona e sem proteção, exposto ao ambiente. As amostras foram coletadas aleatoriamente de cada fardo com luvas e sacos esterilizados para que não tenha contaminação pelo manipulador e coletou-se em torno de 200 gramas de amostra para análise com dez repetições de cada feno com e sem proteção no período de 90 dias sendo feita a primeira análise com 30 dias de armazenamento e distribuídas a cada 6 dias.

Foram realizadas as análises Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes totais (35°C) e fecais (45°C) e a Contagem de fungos e leveduras (UFC/g) (SILVA et al., 2007).

Para determinação dos coliformes pesou-se assepticamente 25g de amostras do feno e transferiu-se para 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, formando a diluição 10^{-1} , e a partir desta foram preparadas as diluições subseqüentes até a diluição de 10^{-5} . De cada diluição inoculou-se 1,0 mL (10^{-1} a 10^{-5}) em uma série de três tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (teste presuntivo) os quais foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas.

Para confirmação dos coliformes a 35°C e a 45°C transferiu-se uma alçada dos tubos positivos no caldo LST para tubos contendo caldo Verde Brilhante Bile Lactosado (VBBL), e para tubos contendo caldo (EC), onde os primeiros foram incubados em incubadora B.O.D a 35°C por 24 a 48 horas, e os segundos incubados em banho-maria a 45°C por 24 a 48 horas. Os resultados foram expressos em número mais provável de coliformes a 35°C por grama (NMP/g) e NMP/g de coliformes 45°C, respectivamente, sendo

obtidos através da combinação dos números encontrados na tabela de Hoskins.

Para contagem de fungos e leveduras utilizou-se o Ágar Batata Dextrose (ADB) acidificado até pH 3,5 por meio da adição de 1 mL de solução de ácido tartárico 10% para cada 100 mL de meio. De cada diluição preparada previamente inoculou-se 1,0 mL em placas de Petri e cerca de 15 a 20 mL de ADB que foram homogeneizados e solidificados em superfície plana. As placas foram incubadas, sem inverter, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por 5 a 7 dias, em incubadora B.O.D. Ao final, foram selecionadas as placas que apresentem entre 15 e 150 colônias. A partir dos dados obtidos foi calculado o número de microrganismos os quais foram expressos em UFC/g.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando-se o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2002). A verificação das fontes de variação foi feita por meio da análise de variância (ANOVA). Sendo utilizado o delineamento em blocos ao acaso considerados 5% como nível de significância utilizando a comparação de media pelo teste F.

Resultado e Discussão

Os resultados das contagens de coliformes a 35 e a 45°C e fungos e leveduras no feno do DZO/CCA/UFPI estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1- Avaliação microbiológica do feno armazenado no galpão de metabolismo do DZO

ARMAZENAMENTO	Coliformes a	Coliformes a	Fungus e Leveduras UFC/g
	35°C NMP/g	45°C NMP/g	
Feno sem Proteção	$2,2 \times 10^{4a}$	$2,2 \times 10^{4a}$	$2,1 \times 10^{4a}$
Feno com Proteção	$1,9 \times 10^{4a}$	$8,9 \times 10^{2b}$	$1,9 \times 10^{4a}$
CV(%)	21,72	23,05	16,52

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

Não houve diferença significativa ($P>0,05$), nas contagens de coliformes a 35°C no feno com proteção apresentou $1,9 \times 10^4$ e sem proteção de $2,2 \times 10^4$, isso implica que a presença de coliformes a 35°C se deve a contaminação do feno no período de fenação onde o mesmo é produzido no campo exposto a diversidades do ambiente. Pesquisa realizada por Bonilha, (1986); Barros et al. (1999) cujos resultados assemelham-se aos obtidos nesta pesquisa, chamam atenção para os possíveis riscos à saúde pública, uma vez que este grupo de bactérias, apesar de não causar doenças, também habita o intestino de animais mamíferos, inclusive o homem. Embora o uso de coliformes fecais como indicador de poluição sanitária seja mais significativo que o uso de coliformes totais, por ser restrito ao trato intestinal de animais de sangue quente, a utilização das bactérias desse último grupo é muito importante como indicadores de condições higiênicas, pois uma alta contagem desses microrganismos no alimento significa, principalmente, contaminação durante a produção, ou até mesmo multiplicação durante o processamento ou estocagem (CARDOSO et al., 2000).

Foram observadas diferenças ($P<0,05$) entre os tratamentos, sendo que o feno com proteção apresentou média de coliforme a 45 °C de $8,9 \times 10^2$ menor que a do feno exposto ao ambiente de $2,2 \times 10^4$ no armazenamento, o que evidencia a importância de evitar a exposição do feno ao ambiente, já que animais de pequeno porte podem vir a contaminar o feno de forma indireta, ou seja, a proteção do feno evita o risco de contaminação deste, e, por conseguinte do animal e do manipulador durante a distribuição deste para os animais. A redução do número de patógenos no produto final, que será retornado ao solo, é um fator importante, pois a ocorrência de altos níveis de bactérias do grupo coliforme pode sujeitar as propriedades a maiores taxas de incidência de doenças nos animais, com conseqüente aumento da mortalidade e diminuição da produtividade (ENNIX, 1996).

Não foi constatada diferença significativa ($P>0,05$) no crescimento dos fungos e leveduras em relação ao armazenamento com e sem proteção por

SANTANA, Y.A.G., SILVA, M.C.M. e PEREIRA, M.M.G. Avaliação microbiológica do feno armazenado no galpão de metabolismo da Universidade Federal do Piauí. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 2, Ed. 189, Art. 1273, 2012.

lona com valores médios de $1,9 \times 10^4$ e $2,1 \times 10^4$ respectivamente. Os valores obtidos para fungos e leveduras foram considerados baixos e está relacionado com a qualidade do feno, principalmente, como este foi processado, ou seja, em condições satisfatórias, uma vez que o feno avaliado apresentava umidade inferior a 15%, e tais condições não favorecem o crescimento dos fungos. Segundo Nascimento et al. (2000), à influência do tempo de armazenamento sobre o desenvolvimento de fungos, aumenta por causa da alta umidade no feno, declinando com 15 dias de armazenamento.

Conclusões

O feno analisado apresentou condições de processamento satisfatório e armazenamento adequado, o que favoreceu a qualidade microbiológica final do produto de acordo com as análises realizadas. O armazenamento do feno com proteção evidenciou uma melhor qualidade em comparação com o feno sem proteção em termos de contagem de coliformes a 45°C, não havendo influência do processo de obtenção do mesmo.

Referências Bibliográficas

BARROS, A. J. M. et al. Avaliação sanitária e físico – química das águas para irrigação de hortaliças no Agreste e Brejo paraibanos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.3, n.3, p.335–360, 1999.

BONILHA, P. R. M. **Microrganismos indicadores de contaminação fecal e enteropatogênicos em hortaliças e suas águas de irrigação**. 1986. 81p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1986.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de *Salmonella* sp, coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos e derivados de frango. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, n.1, p. 22-28, 2000.

CORAUCCI FILHO. et al. Avaliação da patogenicidade do feno produzido em um sistema de pós-tratamento de efluente anaeróbio por disposição controlada no solo, **Coletânea de Trabalhos Técnicos**, v.2, n.2, p.21-28, 1999.

COSTA, J. L. Produza feno com mais qualidade e eficiência. **A Lavoura Sociedade Nacional de Agricultura**, Ano 100, jun. 1997, 7p.

DINIZ, S.S.S. **Micotoxinas**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2002. 181p.

ENNIX INC. **Product Guide**. Arizona, Manual da Empresa, 1996. 327 p.

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração de alimentos**. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>> Acesso em: 05 maio 2000.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002, p. 216-211.

GIOMBELLI, A.; RECH, H.; TORRES, V. S. Qualidade microbiológica da água proveniente de poços e fontes de dois municípios da Região do Alto Uruguai Catarinense. **Revista Higiene Alimentar**, v.2, n.3, p.22-30, São Paulo, 1998.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganismos de los alimentos**: Características de los patógenos microbiano. Zaragoza: Acríbia, p. 403-428, 1996.

MARTINS, H. M.; MARTINS, M. L. Qualidade micológica de rações para bovinos (Portugal: 1996-1999). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 96, n. 538, p. 85-88, 2001.

NASCIMENTO, et al. Influência do Método de Fenação e Tempo de Armazenamento sobre a Composição Bromatológica e Ocorrência de Fungos no Feno de Alfafa (*Medicago sativa*, L. cv. Flórida 77). **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 669-677, 2000.

PACHECO, M. S. R. et al. Condições higiênicas-sanitárias de verduras e legumes comercializadas no Ceagesp de Sorocaba-SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n.101, p.50-51, 2002.

PRADO, G. et al. Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.11, n. 2, p. 264-273, 1991.

SILVA, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 397p.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise microbiológica de alimentos**. 3ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Valéria Christina Amstalden - São Paulo: Livraria Varela, 1997. p.31.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. **Métodos de análises microbiológicas de alimentos**. Campinas: Ital, 1991. (UNICEF, 1991).

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS user's guide**: statistics. 5.ed. Cary: SAS Institute, 2002. (CD-ROM).

VILELA, D.; ALVIM, M. J. Produção de leite em pastagem de *Cynodon dactylon* (L.) Pers., cv. "coast-cross". In: Workshop sobre o Potencial Forrageiro do Gênero *Cynodon* 1., 1996, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p.77-91.