

Espectroscopia no infravermelho próximo e técnicas multivariadas na identificação não-destrutiva de bactérias em polpa de fruta.

Aline S. Marques^{1*} (PG), Maria C. N. Melo² (PQ), Thiago A. Cidral² (PG), Kássio M. G. Lima¹ (PQ).

¹UFRN, Instituto de Química, Química Biológica e Quimiometria, CEP 59072-970 Natal, RN, Brasil.

²Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFRN, Natal 59072-970, Brasil.

*aline_marques10@live.com

Palavras Chave: NIRS, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, SIMCA, PLS-DA.

Introdução

A combinação de diferentes barreiras para regular a atividade de microorganismos em polpas de frutas pode aumentar a eficácia de um processo de conservação e reduzir seu impacto sobre a qualidade do alimento¹. *Escherichia coli* e *Salmonella* Enteritidis são um dos mais importantes patógenos causadores de doenças relacionadas a alimentos, que apresentam como principais sintomas febre, dor abdominal e diarreia². O padrão ouro de identificação da presença desses patógenos em polpa de fruta consiste em métodos sofisticados, que envolvem etapas indispensáveis de preparo que levam em média de 3 a 5 dias. Neste contexto, a Espectroscopia do Infravermelho Próxima (NIR) associado aos métodos de classificação SIMCA e PLS-DA³ foram propostos como método rápido e não destrutivo de identificação de *E. coli* e *S. Enteritidis* diretamente da polpa da fruta de abacaxi.

Resultados e Discussão

Inicialmente, foram adquiridos polpas de frutas de abacaxi em supermercados de Natal-RN. As cepas de *E. coli* – INCQS00171 e *S. Enteritidis* – INCQS00258 foram obtidas da coleção de culturas do laboratório de Microbiologia Médica, da UFRN, no qual foram confirmadas por testes bioquímicos antes da preparação do inóculo nas polpas de frutas. As cepas foram inoculadas a 35°C por 24h e em seguida foram suspensas em 1 mL de polpa de fruta antes da aquisição dos espectros NIR. Os espectros NIR foram medidos usando um FT-NIR espectrômetro (Antaris, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) equipado com uma sonda de transfectância, no qual foi diretamente posicionada através das bactérias suportadas numa superfície de alumínio. Foram registrados 50 espectros NIR (25 para cada tipo de bactéria) de forma aleatória, usando 1000-2500 nm e 32 cm⁻¹ de resolução.

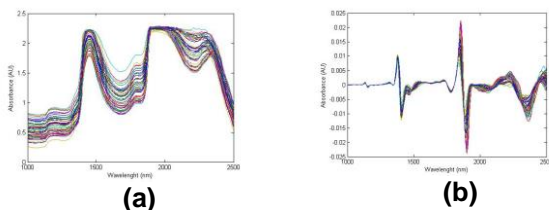


Figura 1: (a) Espectros NIR originais; (b) Espectros pré-processados (MSC e 2ª derivada) de ambas bactérias.

Inicialmente uma análise de PCA, Figura 2, foi realizada para detectar a presença de possíveis padrões entre as duas classes de bactérias. Como pode ser detectado nesta figura, existem sobreposições entre as duas classes utilizando apenas informações espectrais. Desta forma, outros modelos, tais como, PLS-DA foram aplicados.

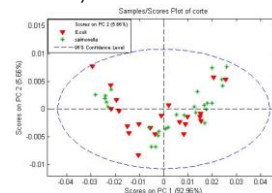


Figura 2: Plot dos escores de PCA dos espectros de *E. coli* e *S. Enteritidis*

O método PLS-DA aplicados aos espectros derivativo, como apresentado na Tabela 1 apresentou-se uma melhor separação entre as duas espécies, com sensibilidade e especificidade de 0,87 e 0,83, respectivamente.

Tabela 1. Classificação e previsão do método PLS-DA (Segunda derivada, 2000 – 1111 nm)

Bactéria	% de acertos (Cal)	Falsos negativos	% de acertos (Prev)	Falsos negativos
<i>E.Coli_P</i>	86.6	2	87.5	1
<i>S. enteritidis_P</i>	90.4	2	83.3	1

Conclusões

Este trabalho demonstra a potencialidade da técnica NIRS juntamente com análise multivariada na diferenciação de espécies de bactérias de forma intacta e não-destrutiva.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, FAPERN (PPP-005/2012), CNPq (070/2012) pela bolsa e auxílio financeiro a realização deste trabalho.

¹Dubois, J.; Lewis, E.N.; Fry, F.S. e Calvey, E.M, Food Microbiol. **2005**, 22, 577.

²Wu, V.C.H.; Chen, S.; Lin, C.S. 2007. Biosens. **2007**, 22, 2967.

³Rodriguez-Saona, L.E.; Khambaty, F.M. ; Fry, F.S.; Calvey, E.M. J. Agric. Food Chem.**2001**, 49, 574.