



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

SELEÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO EM NUTRIÇÃO – 2017.2

CAPA DO CADERNO DA PROVA ESCRITA

INSTRUÇÕES	
1	Para proceder o mascaramento da prova escrita, sortear o CÓDIGO, preencher o nome completo e assinar o formulário. Esse formulário será depositado em envelope lacrado e assinado pelos Fiscais. A identificação do candidato em qualquer outro local da prova resultará na eliminação do Processo Seletivo.
2	Preencher os campos CÓDIGO nos seguintes locais: capa do Caderno de Prova, páginas destinadas para responder a questão dissertativa e Folha de Respostas. A falta deste procedimento impedirá a correção da prova culminando com a eliminação do candidato.
3	Esse Caderno contém 20 questões objetivas e 01 questão dissertativa
4	Quando o Fiscal autorizar, verifique se o Caderno está completo e sem imperfeições gráficas que impeçam a leitura. Detectado algum problema, comunique-o imediatamente ao Fiscal. Não destaque nenhuma folha da prova.
5	Cada questão objetiva apresenta 04 opções de resposta, das quais apenas uma é correta. Marcar, exclusivamente, a opção que julgar correta para cada questão, usando a caneta esferográfica na cor azul ou preta. As questões sem marcação ou com mais de uma marcação serão anuladas. A Folha de Respostas é o único documento que será utilizado para a correção da prova objetiva.
6	O preenchimento e manuseio da Folha de Respostas são de inteira responsabilidade dos candidatos, portanto, não será substituída por estarem amassadas, dobradas ou rasuradas.
7	Os rascunhos e as marcações feitas no Caderno de Prova, em qualquer espaço, não serão considerados para efeito de correção.
8	A questão dissertativa será avaliada considerando apenas o que estiver escrito nas páginas pautadas, utilizando caneta esferográfica azul ou preta. Se necessário, solicite folhas adicionais ao fiscal. Escreva de modo legível.
9	Os candidatos dispõem de, no máximo, 4 (quatro) horas para responder toda prova escrita (questões objetivas e dissertativa) e preencher a Folha de Respostas.
10	Antes de retirar-se definitivamente da sala, devolva ao Fiscal o Caderno de prova e a Folha de Respostas.

I. QUESTÕES OBJETIVAS

1. No controle microbiológico dos alimentos é fundamental a aplicação de condutas adequadas nas práticas de produção ao longo do processamento. Sobre os micro-organismos importantes para esse controle é correto afirmar que:

- A)** a presença de *Staphylococcus coagulase* positiva nos alimentos é um indicador higiênico de contaminação ambiental.
- B)** o *Bacillus cereus* é um micro-organismo não formador de esporos indicador higiênico das condições gerais de processamento do alimento.
- C)** bolores e leveduras são indicadores sanitários que estando presentes no alimento sugerem a ocorrência de bactérias enteropatogênicas.
- D)** a contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos é considerada um indicador higiênico, sugerindo falhas no processamento.

2. As fórmulas desidratadas infantis foram implicadas em surtos e casos de infecção por *Cronobacter spp*, por isso esse produto tem sido motivo de considerável atenção em relação a sua segurança microbiológica. Sobre essa bactéria é correto afirmar que

- A)** é conhecida também como *Enterobacter sakazakii* e pode sobreviver no estado desidratado por até dois anos.
- B)** para a redução do número de bactérias em níveis aceitáveis, as fórmulas infantis devem ser reconstituídas a no mínimo 50°C.
- C)** a temperatura mínima para sua multiplicação é de 10°C, por isso as fórmulas reconstituídas devem ser armazenadas a essa temperatura.
- D)** tem sido relacionada a uma forma grave de meningite acometendo principalmente crianças de 12 a 18 meses.

3. O Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) é uma ferramenta de garantia da segurança dos alimentos. A implantação desse sistema é complexa e exige um comprometimento de todos os envolvidos no processo de produção. Assinale a alternativa correta sobre o sistema APPCC:

- A)** a mensuração de temperaturas durante o processo constitui uma medida corretiva imprescindível.
- B)** a identificação do ponto de controle permite eliminar riscos à saúde dos consumidores.
- C)** as análises microbiológicas são as ferramentas mais indicadas para a monitoração.
- D)** a análise de perigos serve de base para identificar os pontos críticos de controle.

4. Considerando os requisitos higiênico-sanitários gerais para os serviços de alimentação, analise as afirmativas a seguir:

I.	Óleos utilizados em frituras devem ser aquecidos à temperatura não superior a 180°C e substituídos quando ocorrerem alterações sensoriais ou físico-químicas.
II.	Para a conservação à quente durante a distribuição, os alimentos devem ser submetidos à temperatura superior a 60°C por um período máximo de 12 horas.
III.	Para o resfriamento de um alimento preparado, a temperatura do mesmo deve ser reduzida de 60°C a 10°C por um período máximo de 6 horas.
IV.	Na cocção, temperaturas inferiores a 70°C podem ser utilizadas, desde que as combinações de tempo e temperatura sejam suficientes para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos.

Estão corretas as afirmativas:

- A) II e III
- B) I e III
- C) I e IV
- D) II e IV

5. O ciclo de multiplicação microbiana engloba seis fases. A fase exponencial representa:

- A) multiplicação lenta, porém, constante
- B) adaptação ao meio de cultura
- C) multiplicação acelerada
- D) diminuição da concentração de nutrientes e do número de microrganismos

6. Coliforme é um termo geral para as bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas que fermentam a lactose com produção de ácido e gás. Pertencem ao grupo dos coliformes os seguintes gêneros de enterobactérias:

- A) *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*
- B) *Citrobacter*, *Morganella*, *Proteus* e *Escherichia*
- C) *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* e *Proteus*
- D) *Enterobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella* e *Serratia*

7. Dentre as alterações químicas dos lipídeos que afetam a qualidade do alimento, destacam-se as reações hidrolíticas. A respeito desse processo, pode-se afirmar que:

- A) o aumento de ácido graxos livres no óleo de fritura, reduz o ponto de fumaça e a estabilidade oxidativa, podendo aumentar da formação de espuma.
- B) a rancidez hidrolítica é uma alteração química resultante da interação dos lipídeos com o oxigênio.
- C) a hidrólise de triacilgliceróis ocorre nos óleos de fritura em razão das temperaturas baixas de processamento e da introdução de água do alimento frito.
- D) os ácidos graxos livres reduzem a estabilidade oxidativa, causam formação de espuma e aumentam o ponto de fumaça do óleo.

8. Fatores de natureza fisiológica e psicológica podem induzir a erros e interferir nos resultados da análise sensorial de um alimento. Sobre esse tema, analise as afirmativas abaixo.

I.	Para diminuir a ocorrência do erro de expectativa durante a análise sensorial, é necessário que a aparência das amostras avaliadas seja a mais uniforme possível.
II.	O erro de tendência central ocorre quando o provador analisa uma amostra de excelente qualidade, seguida de uma de qualidade intermediária, levando a uma avaliação numa escala bem inferior da última.
III.	A adaptação, para a análise sensorial de um alimento, é uma causa importante e não desejável da variabilidade na avaliação de intensidade.
IV.	O efeito halo pode ocorrer quando o provador é solicitado a avaliar duas ou mais características do produto, simultaneamente, criando uma impressão global levando a classificação do produto conforme esta impressão.

Estão corretas as afirmativas

- A) I e III
- B) III e IV
- C) I e II
- D) II e IV

9. A definição da equipe para a realização de testes de análise sensorial leva em conta o objetivo da análise e o tipo do teste escolhido. Sobre o painel sensorial, marque a alternativa correta:

A) para a determinação do grau ou nível de qualidade de um alimento, visando uma avaliação comparativa, há necessidade de julgadores selecionados e utilização de métodos afetivos.

B) para se obter a medida da reação de preferência do consumidor sobre determinada amostra em relação a outra, há necessidade de um grande número de julgadores não treinados e a realização de métodos discriminativos.

C) para a caracterização das propriedades sensoriais de um produto alimentício, há necessidade de um pequeno número de julgadores bem selecionados e treinados, e utilização de métodos descritivos.

D) para avaliar o grau de intensidade com que cada atributo está presente no alimento, há necessidade de poucos julgadores bem selecionados e treinados, e utilização de métodos discriminativos.

10. O procedimento mais comum para a quantificação de proteína é a determinação de um elemento, ou de um grupo pertencente a essa molécula. No método de Kjeldahl o elemento analisado é o nitrogênio. A respeito desse método, marque a alternativa correta.

A) o excesso de ácido bórico é titulado com a utilização do hidróxido de sódio.

B) a digestão é feita em meio alcalino para evitar a perda de nitrogênio na forma de amônia.

C) o ácido bórico utilizado na destilação favorece a liberação da amônia.

D) o sal de amônia é tratado com hidróxido de sódio concentrado para liberar a amônia.

11. A essencialidade do zinco encontra-se intimamente relacionada às suas funções catalíticas, estruturais e regulatórias. Sobre esse tema é correto afirmar que:

A) o zinco está envolvido na estabilidade estrutural das membranas de organelas encapsuladas e na proteção celular, estimulando os processos de peroxidação lipídica.

B) a função estrutural do zinco está relacionada à determinação da forma e disposição espacial de moléculas orgânicas, como a glicose e ácidos carboxílicos.

C) o zinco reduz espécies reativas de oxigênio pelo fato de ser cofator da superóxido dismutase, inibir a atividade da NADPH oxidase e induzir a síntese de metalotioneína.

D) o papel antioxidante do zinco é evidenciado pela proteção de grupos carboxílicos contra oxidação e por ser componente estrutural da glutational peroxidase.

12. A deficiência de vitamina A é um dos maiores problemas de nutrição e saúde pública, podendo ocorrer de maneira clínica ou subclínica. Uma das medidas para a sua prevenção é o aumento no consumo de alimentos-fonte e fortificados. Sobre a deficiência de vitamina A, analise as afirmativas abaixo:

I.	Na desnutrição energético-proteica o desenvolvimento de sinais clínicos de xerofthalmia pode ocorrer, apesar das reservas hepáticas de retinol estarem adequadas.
II.	A deficiência funcional de vitamina A ocorre por dificuldades na liberação do retinol da mucosa intestinal, implicando em menor captação do retinol pelas células do organismo.
III.	A deficiência moderada de vitamina A resulta em dificuldade de adaptação ao escuro, que pode evoluir para xerose conjuntival, com a presença de manchas de Bitot.
IV.	O último estágio da deficiência de vitamina A é a queratinização da córnea, processo reversível, embora possa haver cicatrizes residuais da córnea.

Estão corretas as afirmativas

- A)** I e II
- B)** I e III
- C)** II e IV
- D)** III e IV

13. A insuficiência e deficiência de vitamina D são discutidas como problemas de saúde pública em nível mundial. Sobre esse tema é correto afirmar que:

- A)** O biomarcador mais utilizado para estimar o estado nutricional de vitamina D é o $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.
- B)** A recomendação de Ingestão dietética para adultos de 19 – 50 anos difere entre os sexos masculino e feminino, considerando o EAR (necessidade média estimada).
- C)** Algumas características individuais tem relação com a deficiência de vitamina D, independente da cor da pele e idade.
- D)** A deficiência de vitamina D é considerada fator de risco para doenças tais como diabetes, câncer e obesidade.

14. A deficiência de vitamina A pode ser avaliada por diversos métodos, dentre os quais, os bioquímicos. Sobre o retinol sérico na avaliação da deficiência de vitamina A, é correto afirmar que esse biomarcador possui

A) boa sensibilidade nos casos de depleção moderada das reservas hepáticas e pouca sensibilidade em baixas concentrações de vitamina A, especialmente na presença de infecção.

B) alta sensibilidade nos casos de depleção moderada das reservas hepáticas, e baixa sensibilidade em muito baixas concentrações de vitamina A, especialmente na presença de infecção.

C) baixa sensibilidade nos casos de depleção moderada das reservas hepáticas e boa sensibilidade em muito baixas concentrações de vitamina A, especialmente sem a presença de infecção.

D) boa sensibilidade nos casos de depleção moderada das reservas hepáticas e baixa sensibilidade em altas concentrações de vitamina A, especialmente sem a presença de infecção.

15. Considerando o posicionamento da I Diretriz sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular (2013) em relação ao consumo de ovos e colesterol alimentar, julgue as alternativas a seguir:

I.	O consumo de colesterol alimentar deve ser < 300 mg/dia para auxiliar no controle da colesterolemia com grau de recomendação I e nível de evidência A.
II.	O consumo de ovo deve ser moderado (até 1 por dia) para população em geral e restrito para pessoas com diabetes com grau de recomendação IIa e nível de evidência B.
III.	O consumo de colesterol alimentar deve ser < 200 mg/dia para auxiliar no controle da colesterolemia com grau de recomendação I e nível de evidência A.
IV.	O consumo de ovo deve ser restrito (até 1 por refeição) para população em geral e sem restrição para pessoas com diabetes com grau de recomendação IIa e nível de evidência B.

Estão corretas as afirmativas

A) II e IV

B) I e III

C) I e II

D) III e IV

16. A terapia nutricional no tratamento do diabetes *mellitus* tem sido enfatizada, tanto no tratamento da doença, quanto na prevenção das complicações decorrentes. Sobre as recomendações nutricionais para pacientes com diabetes, analise as sentenças abaixo, conforme posicionamento da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016).

I.	O consumo de carboidratos provenientes de hortaliças, leguminosas, grãos integrais, frutas e leite desnatado deve ser incentivado dentro do contexto de uma dieta saudável.
II.	Recomenda-se que o total de sacarose pode ultrapassar 10% do valor calórico total, considerando que os açúcares simples estão amplamente distribuídos nos alimentos.
III.	As proteínas devem contribuir com 15 a 20% da energia da dieta das pessoas com diabetes que apresentam função renal normal, ou o correspondente a 0,8 a 1,0 g/kg/peso.
IV.	O consumo de fibra alimentar deve ser maior do que 14 g/1.000 kcal, uma vez que a fibra alimentar pode modular positivamente a resposta glicêmica e lipídica.

Estão corretas as afirmativas

- A)** I e III
- B)** I e II
- C)** II e IV
- D)** III e IV

17. De acordo com o Consenso Nacional de Nutrição Oncológica – Instituto Nacional do Câncer (2015), que descreve as condutas consensuadas sobre as necessidades nutricionais e a terapia nutricional para o paciente oncológico adulto em tratamento clínico, assinale a alternativa correta.

- A)** a terapia nutricional parenteral é indicada quando a ingestão alimentar por via oral for < 60% das necessidades nutricionais nos últimos 3 dias.
- B)** indica-se o uso de suplementos nutricionais por via oral quando a ingestão for < 70% das necessidades nutricionais nos últimos 3 dias.
- C)** no tratamento de pacientes oncológicos adultos em tratamento clínico com estresse moderado, a dieta deve contemplar 0,8 a 1,0g de proteína/kg/dia.
- D)** as necessidades calóricas podem ser estimadas por quilograma de peso corporal desejável, considerando-se 35 kcal/kg para pacientes com obesidade.

18. A tabela abaixo demonstra a prevalência do consumo de dieta rica em gordura em adultos de Pelotas (RS) e fatores associados.

Tabela 1. Associação das variáveis sociodemográficas, econômica, comportamentais e de saúde com o Consumo de Dieta Rica em Gordura em Pelotas, RS, 2006 (n=317).

Variáveis	Consumo de dieta rica em gorduras		RP bruta (IC95%)	RP ajustadas** (IC95%)	Valor p
	Sim	%			
Sexo					0,1**
Feminino	147	35,3	0,9 (0,7-1,1)	1,0 (0,9-1,2)	
Masculino	170	30,7	1,0	1,0	
Idade (anos)					< 0,001*
20-29	113	44,5	2,9 (1,8-4,6)	2,9 (1,8-4,6)	
30-39	72	37,1	2,4 (1,5-3,9)	2,4 (1,5-3,9)	
40-49	78	38,6	2,0 (1,2-3,3)	2,0 (1,3-3,3)	
50-59	38	22,0	1,4 (0,8-2,4)	1,4 (0,8-2,4)	
60 ou mais	16	15,5	1,0	1,0	
Nível econômico (ABEP)*					0,003*
Classes A e B	137	35,9	1,5 (1,1-2,0)	1,5 (1,1-2,0)	
Classe C	126	31,9	1,3 (1,0-1,8)	1,3 (1,0-1,8)	
Classes D e E	42	24,1	1,0	1,0	
Cor da pele					0,3**
Branca	266	33,4	0,9 (0,7-1,1)	1,2 (0,9-1,5)	
Não branca	51	29,1	1,0	1,0	
Tabagismo					0,9*
Ex-fumante	99	36,0	0,7 (0,6-1,0)	0,7 (0,6-1,0)	
Fumante atual	54	25,0	1,1 (0,9-1,3)	1,1 (0,9-1,3)	
Nunca fumou	164	34,2	1,0	1,0	
Sedentarismo no lazer					0,7**
Sim	223	33,0	1,0 (0,8-1,3)	1,0 (0,9-1,3)	
Não	93	31,8	1,0	1,0	
Estado nutricional					0,06*
Obesidade	35	26,3	0,7 (0,5-1,0)	0,7 (0,5-1,0)	
Sobrepeso	96	29,9	0,8 (0,6-1,0)	0,8 (0,7-1,0)	
Eutrófico	159	37,0	1,0	1,0	
Consumo regular de refrigerante não dietético					< 0,001**
Sim	102	52,3	1,9 (1,6-2,3)	1,9 (1,6-2,3)	
Não	93	47,7	1,0	1,0	

*Teste de Wald para tendência. ** Teste de Wald para heterogeneidade. *Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. ** Todas as variáveis foram ajustadas entre si. IC_{95%} = Intervalo de 95% de confiança. RP = Razão de prevalência.

Fonte: ROMBALDI, Ailton José et al. Fatores associados ao consumo de dietas ricas em gordura em adultos de uma cidade no sul do Brasil. *Ciênc. saúde coletiva*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1513-1521, May 2014

Com base na interpretação da tabela 1, analise as alternativas a seguir:

I	Não houve associação entre o estado nutricional, sexo, tabagismo, cor da pele e o consumo de dieta rica em gordura.
II	As pessoas que apresentaram melhor nível econômico (classes A e B) tem 50% mais probabilidade de consumir dieta rica em gordura em relação a quem tem pior nível econômico (Classes D e E).
III	A dieta rica em gordura foi associada ao tabagismo, uma vez que ser fumante atual diminuiu em 10% a probabilidade de ter dieta rica em gordura em relação a quem nunca fumou.
IV	Entre as pessoas que consumiam regularmente refrigerante não dietético, a probabilidade de ter dieta rica em gordura foi 2,9 maior em relação a que não apresentava essa prática alimentar.

Estão corretas as afirmativas:

- A) II e IV
- B) I e III
- C) III e IV
- D) I e II

19. O aumento do consumo de alimentos ultraprocessados é um dos determinantes da elevação da prevalência de obesidade no Brasil. A tabela 1 mostra a distribuição (%) da ingestão total de energia segundo grupos de alimentos e itens de consumo em estratos da população brasileira com 10 ou mais anos de idade, correspondentes a quintis do consumo de alimentos ultraprocessados (2008-2009).

Tabela 1 - Distribuição (%) da ingestão total de energia segundo grupos de alimentos e itens de consumo em estratos da população brasileira com 10 ou mais anos de idade correspondentes a quintis do consumo de alimentos ultraprocessados (2008-2009).

Grupo de alimentos e itens de consumo	Quintil de consumo de alimentos ultraprocessados (% do total de energia)				
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5
Alimentos ultraprocessados	1,8	9,6	17,9	28,7	49,2 ^h
Bolos, tortas e biscoitos doces	0,2	1,2	2,1	3,9	7,5 ^h
Lanches do tipo <i>fast food</i> ^d	0,1	0,7	1,9	3,8	8,0 ^h
Refrigerantes e sucos de frutas industrializados	0,4	1,5	2,7	3,7	5,0 ^h
Pães de forma, de hambúrguer, <i>hot dog</i> e outros pães industrializados	0,1	1,2	2,6	3,7	4,3 ^h
Guloseimas ^e	0,1	0,6	1,3	2,9	6,0 ^h
Bolachas salgadas e salgadinhos tipo <i>chips</i>	0,3	1,4	2,1	2,4	4,0 ^h
Embutidos	0,2	0,9	1,6	2,1	2,5 ^h
Pratos prontos e semi-prontos ^f	0,0	0,1	0,6	1,9	6,1 ^h
Bebidas lácteas adoçadas	0,1	0,4	1,2	2,3	4,2 ^h
Outros produtos ^g	0,4	1,6	2,0	2,0	1,7 ^h

Fonte: LOUZADA, Maria Laura da Costa et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, 38, 2015.

Considerando que cada quintil representa 20% da distribuição do consumo de alimentos ultraprocessados, analise as afirmativas a seguir:

I	A distribuição (%) da ingestão total de energia dos alimentos ultraprocessados foi elevada em todos os quintis de consumo de alimentos ultra processados.
II	Os itens alimentares que mais contribuíram para a maior distribuição calórica dos alimentos ultraprocessados foram lanches do tipo <i>fast food</i> , bolos, tortas e biscoitos doces, e pratos prontos e semi-prontos, respectivamente.
III	28,7% do percentual de ingestão total de energia é proveniente do consumo de alimentos ultraprocessados.
IV	Os embutidos, as bebidas lácteas adoçadas e outros produtos, foram os itens alimentares que menos contribuíram para a distribuição calórica dos alimentos ultraprocessados.

Estão corretas as afirmativas:

- A) I e II
- B) II e IV
- C) III e IV
- D) I e III

20. A etiologia dos tumores de boca e orofaringe apresenta-se associada a fatores endógenos e outros relacionados ao estilo de vida. Em um estudo caso controle em hospitais da cidade de São Paulo (SP), Brasil, avaliou-se a relação entre alimentos de origem animal e câncer de boca e orofaringe. A tabela 4 apresenta os resultados desta análise.

TABELA 4. Associação entre alimentos de origem animal e câncer de boca e orofaringe. São Paulo, 2006–2008, $n = 592$

Alimentos de origem animal ^a (consumo vezes/semana)	OR (IC95%)
<i>Bacon</i> , $P < 0,001$	
< 1	1,00
1–2	3,70 (1,75–7,82)
3–4	13,50 (4,68–38,97)
> 4	26,38 (8,37–83,16)
<i>Salsicha ou linguiça</i> , $P < 0,001$	
< 1	1,00
1	2,48 (1,30–4,74)
2	4,92 (2,12–11,42)
> 2	3,63 (1,66–7,93)
<i>Carne bovina</i> , $P = 0,004$	
< 2	1,00
2–6	2,73 (1,27–5,87)
≥ 7	3,77 (1,62–8,78)
<i>Ovos</i> , $P < 0,001$	
< 1	1,00
1–2	3,04 (1,51–6,15)
2–4	4,47 (2,06–9,71)
≥ 5	22,23 (8,51–60,17)
<i>Leite</i> , $P = 0,017$	
< 1	1,00
1–6	0,62 (0,27–1,40)
7	0,41 (0,21–0,82)
≥ 7	0,41 (0,19–0,92)

^a OR e IC95% ajustados por sexo, idade, renda, tabagismo, etilismo e ingestão de vegetais crus e frutas. Os valores p correspondem ao χ^2 para tendência linear.

Fonte: TOPORCOV, Tatiana Natasha et al. Consumo de alimentos de origem animal e câncer de boca e orofaringe. Rev Panam Salud Publica, v. 32, n. 3, p. 185-191, set. 2012.

A partir dos resultados apresentados na tabela, analise as afirmativas a seguir:

- A)** a frequência de 7 ou mais vezes/semana do consumo de leite reduziu em 59% a chance de ocorrer câncer de boca e orofaringe.
- B)** quanto menor a frequência de consumo de embutidos, carne bovina e ovos, maior chance de ocorrência de câncer de boca e orofaringe.
- C)** a maior frequência do consumo de leite foi um fator de risco para a ocorrência de câncer de boca e orofaringe.
- D)** consumir *bacon* mais que 4 vezes por semana aumenta cerca de 13 vezes a chance de ocorrência de câncer de boca e orofaringe.

II. QUESTÃO DISSERTATIVA

Leia atentamente o artigo: Remya, S., Mohan, C.O., Venkateshwarlu, G., Sivaraman, G.K., Ravishankar, C.N. Combined effect of O₂ scavenger and antimicrobial film on shelf life of fresh cobia (*Rachycentron canadum*) fish steaks stored at 2°C. Food Control, 71: 71-78, 2017.

Descrever os resultados apresentados nas **Tabelas 2 e 3**; e nas **Figuras 2 e 3**.
Elaborar a(s) conclusão(ões) do estudo.



Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont

Combined effect of O₂ scavenger and antimicrobial film on shelf life of fresh cobia (*Rachycentron canadum*) fish steaks stored at 2 °C



Sasikala Remya ^{a,*}, Chitradurga Obayya Mohan ^b, Gudipati Venkateshwarlu ^c,
Gopal Krishna Sivaraman ^a, Chandragiri Nagarajarao Ravishankar ^b

1. Introduction

Since last decade, active packaging, the new generation of food packaging, has started to get a great deal of attention from the consumers, due to its ability to prolong shelf life or enhance safety or sensory properties of the food product (Suppakul, Miltz, Sonneveld, & Bigger, 2003). Unlike conventional passive packaging, the active packaging system is designed to interact with the contents and/or the surrounding environment (Ozdemir & Floros, 2004). This kind of interactive packaging, which includes active materials or freshness enhancers as additives, can be broadly classified into absorbing and releasing systems (Mohan, Ravishankar, Srinivasa Gopal, & Ashok Kumar, 2009). Important examples of active packaging components are oxygen scavengers, carbon dioxide emitters/absorbers, ethylene scavengers/emitters, liquid and moisture absorbers, antimicrobials containing films and

flavour and odour absorbers or releasers (Pereira De Abreu, Cruz, & Paseiro Losada, 2012).

Oxygen is a major concern in food packaging in relation to shelf life. Oxygen present inside the package causes changes in flavour, colour, and odour of food, rancidity of fat, degradation of vitamins, destruction of nutrients, encourages microbial growth and thereby reduces the shelf life of the food significantly (Ozogul, Polata, & Ozogul, 2004). Therefore, it is important to limit the amount of oxygen available in the headspace of packages to control deteriorative and spoilage reactions. The quality degradation of oxygen sensitive products can be minimized by using an active packaging component called as oxygen scavenger. O₂ scavenger, sometimes referred to as O₂ absorber, is the most popular and widely used active packaging technique, which can reduce the residual levels of oxygen inside the package to values lower than 0.01%, which is impossible with other packaging systems (Alvarez, 2000; Cruz, Soares, & Andrade, 2007). The majority of currently commercially available oxygen scavengers are based on the principle of iron oxidation (Smith, Ramaswamy, & Simpson, 1990). Structurally, the oxygen scavenging component of a package can take the form of a sachet, label, film, card, closure liner, or concentrate (Suppakul

* Corresponding author. Fish Processing Division, Veraval Research Centre, Indian Council of Agricultural Research-Central Institute of Fisheries Technology, Bhidia, Veraval, Gujarat 362 269, India.

E-mail address: remya03cof@gmail.com (S. Remya).

et al., 2003). Thereby, O₂ scavengers have revolutionarily simplified the process of gas reduction inside the package and also eliminated the costly equipments. But, the oxygen depleted environment produced by the O₂ scavengers may favour the growth of anaerobic pathogens inside the package, in the case of foods with water activity greater than 0.92 and thus can lead to health issues if the storage temperature is not kept below 3 °C (Mexis, Chouliara, & Kontominas, 2009).

Antimicrobial packaging is a promising version of active packaging, which is able to kill or inhibit spoilage and pathogenic microorganisms that are contaminating foods. The antimicrobial efficiency can be achieved by incorporation of antimicrobial agents in the packaging system and/or using polymers which are inherently antimicrobial. Recently, chitosan is gaining attention as a packaging material due to its biodegradability, antimicrobial ability, antioxidant property, non-toxicity, biocompatibility and good film forming ability (Wang, 1992). Chitosan is the deacetylated derivative of chitin, which is extracted mainly from shrimp processing waste. The antimicrobial action of chitosan is related to interaction of positively charged polycationic chitosan with the negatively charged microbial cell membrane leading to leakage of intracellular electrolytes and proteinaceous constituents (Shahidi, Arachchi, & Jeon, 1999). The antimicrobial ability of chitosan packaging films can be enhanced by incorporating an antimicrobial additive into the films. Essential oil extracted from the plant parts can be a good choice as a natural antimicrobial agent for incorporating into chitosan films, due to the increased consumer demand for safer and preservative free products. Essential oils are aromatic volatile liquids containing phenolic compounds (Burt, 2004), which are responsible for its antimicrobial property. Antimicrobial efficacy of essential oil extracted from ginger (*Zingiber officinale*), a common spice using in food and as a medicine worldwide, is already well proved and documented and therefore can be used as an antimicrobial component in chitosan packaging films.

Fish is a rich and cheap source of dietary protein and unsaturated fatty acids. At the same time, it loses its freshness more quickly than any other muscle foods, because of spoilage by both microbial contamination and lipid oxidation. Hence, preventing the growth of microorganisms and delaying lipid oxidation assumes greater importance to maintain the freshness and to extend the shelf life of fish. In this regard, dual functional active packaging systems containing an oxygen scavenging and antimicrobial releasing component offer new opportunities to maintain food quality and improve food safety and product shelf life. It can be presumed that active packaging system that contains both oxygen scavengers and an antimicrobial releasing film can inhibit microbial growth and delay lipid oxidation more effectively than using them alone. Cobia fish (*Rachycentron canadum*) is a migratory pelagic species that is found worldwide in tropical, subtropical, and warm-temperate waters and is a noteworthy candidate for commercial aquaculture, because of its fast growth rate, hardiness, efficient feed conversion, excellent flesh quality, low production cost and high commercial prices. Its culture in open sea cage farms is gaining momentum in many Asian countries, as it has greatest potential among all candidate species for offshore cage culture (Wang, Liu, Tian, & Maib, 2005). But, published work on the quality and shelf life of either captured or cultured cobia fish under chilled storage is limited. And, there are no reports available on the use of dual functional active packaging system combining both oxygen scavenger and antimicrobial film for extending the shelf life of chilled stored fish. Considering the above facts, the present work was carried out to evaluate the efficiency of active packaging systems alone or in combination to extend the shelf life of cobia fish steaks stored under refrigeration.

2. Material and methods

2.1. Extraction of essential oil from ginger

Fresh rhizome of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) was collected from the local market in Veraval, India and washed thoroughly to remove the sand and dirt adhering onto them. The skin of ginger rhizome was scrubbed away and blended in a mixer grinder with a ginger to water ratio of 1:3. Essential oil was extracted from ginger by hydro distillation for 3 h using a Clevenger apparatus. The extracted oil was dried over anhydrous Na₂SO₄ and stored in sealed glass vials at 4 °C until use.

2.2. Preparation of antimicrobial (AM) film

Commercial shrimp shell Chitosan with a low molecular weight of 186 kDa and 90% degree of deacetylation was procured from Mahatani Chitosan Pvt. Ltd. (Veraval, Gujarat, India). To start with the film preparation, 1 g chitosan was dissolved in 100 ml of 1% acetic acid solution with constant stirring. The resultant chitosan solution was filtered using a Whatman No. 3 filter paper and ginger essential oil (GEO) was added to the film forming solution at a concentration of 0.3% (v/v). Tween 80 (0.05% v/v) was used as an emulsifying agent and glycerol was added at 0.1% (v/v) as plasticizer. The solution (250 ml) was then homogenized using T18 digital ULTRA TURRAX® homogenizer (IKA®, Karnataka, India) before casting on a square shaped poly acrylic plates (30 × 22 cm) and kept for drying at 40 °C for 24 h in a vacuum dryer. The dried films were peeled off and stored at 50% RH and 25 °C atmosphere prior to testing.

2.3. Characterization of the film

2.3.1. Physical properties

Thickness of the AM film was measured using a dial gauge (Ubique enterprises, Pune). Film thickness was measured at six different locations of the sample and average value was calculated. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of the film were determined according to the ASTM standard method using a texture analyzer (Lloyd Instrument, Ltd., Fareham, UK). Water vapour transmission rate (WVTR) of the film was determined gravimetrically using the ASTM E398-03 method. WVTR tests were carried out using an automatic water vapour permeability testing machine L80-5000 (PBI Dansensor, Denmark).

2.3.2. Antimicrobial property of the film

Common pathogenic foodborne bacteria, Gram positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and Gram negative *Escherichia coli* (ATCC 25922) were used for the study. The cultures of bacteria were maintained in appropriate agar slants at 4 °C and used as stock cultures. Bacterial strains were sub cultured in Trypticase Soy Broth (TSB) and incubated at 37 °C for 18–24 h. The cultures were adjusted to approximately 1.5×10^8 CFU/ml with sterile saline solution using 0.5 McFarland standards.

Under aseptic conditions, sterilized AM film discs of 5 mm diameter were placed on the agar surface inoculated with 200 µl of microbial suspension (10^8 cfu/ml) and the antibacterial activity of CH film with and without GEO was evaluated by disc diffusion method using Mueller-Hinton agar (MHA) plates. Plastic film disc of multilayer ethylene vinyl alcohol (EVOH) (nylon, EVOH and polyethylene) was used as control. The plates were incubated at 37 °C for 18 h and the inhibition zones (mm) were measured with a scale calliper. Experiments were performed in triplicate and mean value was calculated.

2.4. Preparation, packaging and storage of cobia fish steak

Freshly harvested cobia (*Rachycentron canadum*) from the open sea cage farms of Veraval Regional Centre of Central Marine Fisheries Research Institute (CMFRI, Veraval, Gujarat) was collected and brought to the laboratory in iced condition in thermocol boxes. The average length and weight of fish were 52.8 ± 3.5 cm and 1.62 ± 0.25 kg, respectively. The beheaded and gutted fish was washed in potable chilled water. Further, the fishes were cut into steaks of 2.5 cm length weighing 50 ± 5 g and the steaks were divided into 4 batches.

The batches were: Control (Fish steaks packed inside plastic pouch without antimicrobial film and oxygen scavenger), AM (Fish steaks wrapped with antimicrobial film and packed inside plastic pouch), OS (Fish steaks packed with O₂ scavenger sachet inside plastic pouch), and OSAM (Fish steaks wrapped with antimicrobial film and packed with O₂ scavenger sachet inside plastic pouch).

The plastic pouch used was a multilayer film of ethylene–vinyl alcohol (EVOH) (nylon, EVOH and polyethylene). The 15×20 cm sized pouches had an oxygen transmission rate of $3.86 \text{ cc m}^{-2} 24 \text{ h}^{-1}$ at 1 atmospheric pressure.

The O₂ scavenger, used in the study was the commercial ZPT 200 EC O₂ absorber (Ageless[®], Mitsubishi Gas Chemical Company, Japan) with O₂ absorption capacity of 200 ml purchased from Sealed Air (India) Pvt. Ltd. (Bangalore, India). The self activating scavenger sachet, which is a small paper pouch coated with perforated polypropylene, contains iron based reactive compounds and the scavenging action is based on iron oxidation. One O₂ scavenger sachet is placed inside EVOH pouch containing one fish steak of 50 ± 5 g weight.

Pouches of all the four batches of fish steaks were heat sealed and stored in chilled condition (2 °C). Sample pouches from each batch were drawn at regular intervals for biochemical, microbiological and sensory analysis of the fish steaks.

2.5. Physicochemical analysis

The headspace gas composition within the pouch was determined on every sampling day, using a Gas analyzer (PBI Dansensor CheckMate 9900, Denmark). Gas analysis was performed by drawing the headspace gas sample through a syringe needle piercing a rubber septum glued on the EVOH pouch.

The pH was measured by homogenizing the fish sample in distilled water (1:5 w/v) using a digital pH meter (Cyberscan 510, Eutech Instruments, Singapore). Total volatile base nitrogen (TVB-N) analysis was carried out according to micro diffusion method proposed by Conway (1962). The thiobarbituric acid (TBA) value was measured by the method described by Tarladgis, Watts, Yonathan, and Dugan (1960).

2.6. Microbiological analysis

10 g of cobia fish steak sample was transferred aseptically to a stomacher bag (Seward Stomacher circulator bag, Model No. 400, England) to which 90 ml of sterile normal saline (0.85%) was added and homogenized for 60 s at 230 rpm using a lab stomacher blender (Seward Stomacher 400 Circulator, England). For each sample, appropriate serial decimal dilutions were prepared with normal saline (0.85%) and used for the microbiological analysis. 0.5 ml samples of appropriate dilution was spread evenly on the pre set sterile plates using a sterile bent glass rod. The total mesophilic and psychrotrophic counts were determined by spread plate method using plate count agar (PCA, HiMedia, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India). For mesophilic counts, plates were incubated at 37 °C for 48 h (Townley & Lanier, 1981) while plates

were kept at 7 °C for 7 days for total psychrotrophic count (Hitching, Feng, Matkins, Rippey, & Chandler, 1995). Lactic acid bacteria were enumerated on a MRS Agar (de Man, Rogosa and Sharpe, HiMedia code M641) supplemented with potassium sorbate (Mosser, 1987). Samples (0.5 ml) of appropriate serial dilutions were spread on the pre-set sterile MRS agar plates followed by overlaying with the same medium and incubated at ambient temperature in an anaerobic jar for 72 h. Pure white colonies were counted as *Lactobacillus* spp. *Pseudomonas* spp. were enumerated on cetrimide fusidin cephaloridine agar (CFC, Oxoid, code CM 559 supplemented with SR 103) after incubation at 20 °C for 5 days (Mead & Adams, 1977). The colonies which retain the blue colour after reacting with cytochrome oxidase were counted as *Pseudomonas* spp. Streptomycin thallos acetate-actidione (STAA) agar supplemented with a selective supplement (SR 151) was used for *Brochothrix thermosphacta* and incubated at 25 °C for 5 days (Mead & Adams, 1977). The white colonies after reacting with cytochrome oxidase were counted as *B. thermosphacta*. H₂S-producing bacteria typical of *Shewanella putrefaciens* were enumerated on peptone iron agar (PIA) (code 289100, BBL Difco) after incubating at 20 °C for 5 days. Black colonies formed by production of H₂S were counted as H₂S-producing bacteria (Gennari & Campanini, 1991).

2.7. Sensory analysis

Sensory analysis of all the four batches of fish steak samples (Control, AM, OS, OSAM) was done by a panel of 6 regular members (laboratory trained researchers) on every sampling day using a 9 point hedonic scale with 9 corresponding to the most liked sample and 1 corresponding to the least liked sample as described by Meilgaard, Civille, and Carr (1999). The fish steak was cooked in a microwave oven (700 W) for 10 min before serving to the panellists. Water was provided to the panel members for restoration of taste. Score of 1–9 was assigned for overall acceptability of the fish sample, which was determined by assessing appearance, colour, odour, taste, texture and flavour. The sensory score of 5 was considered as the lower limit of acceptability.

2.8. Statistical analysis

The experimental data were analysed by SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, USA) software version 17. One-way ANOVA was applied to compare the means and results are expressed as mean $\pm$ standard deviation. The significant difference between the treatments was determined by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The level of significance was set up at $p < 0.01$ for microbiological quality and $p < 0.05$ for all other attributes.

Table 2
Antimicrobial property of the AM film in disc-diffusion method.

Sample	^a Inhibition zone (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
Nylon-EVOH-PE	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
CH film	4.60 ± 0.10	0.00 ± 0.00
AM Film (CH-GEO)	14.50 ± 0.71	4.50 ± 0.83

^a Values are expressed as Mean ± SD.

Table 3
Changes in the pH, total volatile base nitrogen (TVB-N), thiobarbituric acid (TBA) value and sensory score for overall acceptability of fresh cobia fish steaks during chilled storage.

Attributes	Treatments	Storage days						
		0	5	10	15	20	25	30
pH	Control	5.55 ± 0.01 ^{Aa}	5.65 ± 0.02 ^{Cb}	5.85 ± 0.03 ^{Cc}	6.10 ± 0.05 ^{Dd}	NA	NA	NA
	AM	5.55 ± 0.01 ^{Aa}	5.60 ± 0.01 ^{ABa}	5.70 ± 0.05 ^{Bb}	5.84 ± 0.02 ^{Cc}	5.95 ± 0.03 ^{Cd}	NA	NA
	OS	5.55 ± 0.01 ^{Aa}	5.58 ± 0.02 ^{ABa}	5.64 ± 0.02 ^{ABb}	5.71 ± 0.01 ^{Bc}	5.82 ± 0.02 ^{Bd}	5.89 ± 0.01 ^e	NA
	OSAM	5.55 ± 0.01 ^{Aa}	5.57 ± 0.01 ^{Aab}	5.60 ± 0.02 ^{Ab}	5.66 ± 0.02 ^{Ac}	5.72 ± 0.03 ^{Ad}	5.81 ± 0.02 ^e	5.85 ± 0.03 ^e
TVB-N (mg N ₂ 100 g ⁻¹)	Control	10.40 ± 1.50 ^{Aa}	17.50 ± 2.20 ^{Cb}	25.60 ± 2.40 ^{Cc}	35.30 ± 2.30 ^{Cd}	NA	NA	NA
	AM	10.40 ± 1.50 ^{Aa}	16.40 ± 1.10 ^{Bb}	20.40 ± 1.70 ^{Bc}	28.50 ± 1.50 ^{Bd}	34.40 ± 4.40 ^{Ce}	NA	NA
	OS	10.40 ± 1.50 ^{Aa}	15.40 ± 2.50 ^{ABb}	18.30 ± 3.40 ^{ABb}	22.40 ± 1.10 ^{Ac}	26.90 ± 2.70 ^{Bd}	36.20 ± 3.40 ^e	NA
	OSAM	10.40 ± 1.50 ^{Aa}	13.40 ± 1.50 ^{Aa}	16.50 ± 1.80 ^{Ab}	19.40 ± 2.40 ^{Ab}	23.10 ± 3.20 ^{Ac}	27.50 ± 1.80 ^d	35.50 ± 2.20 ^e
TBA (mg Malonaldehyde kg ⁻¹)	Control	0.14 ± 0.04 ^{Aa}	0.70 ± 0.05 ^{Db}	0.99 ± 0.05 ^{Cc}	1.60 ± 0.07 ^{Cd}	NA	NA	NA
	AM	0.14 ± 0.04 ^{Aa}	0.55 ± 0.04 ^{Cb}	0.62 ± 0.02 ^{Bc}	0.85 ± 0.06 ^{Bd}	1.10 ± 0.06 ^{Be}	NA	NA
	OS	0.14 ± 0.04 ^{Aa}	0.26 ± 0.01 ^{Bb}	0.50 ± 0.04 ^{Ac}	0.65 ± 0.03 ^{Ad}	0.70 ± 0.04 ^{Ad}	0.85 ± 0.01 ^e	NA
	OSAM	0.14 ± 0.04 ^{Aa}	0.25 ± 0.03 ^{Ab}	0.45 ± 0.03 ^{Ac}	0.62 ± 0.05 ^{Ad}	0.66 ± 0.09 ^{Ad}	0.79 ± 0.04 ^e	0.87 ± 0.03 ^f
Overall acceptability	Control	9.00 ± 0.50 ^{Aa}	7.00 ± 0.32 ^{Ab}	6.00 ± 0.14 ^{Ac}	5.00 ± 0.11 ^{Ad}	NA	NA	NA
	AM	9.00 ± 0.50 ^{Aa}	8.00 ± 0.46 ^{Bb}	7.00 ± 0.22 ^{Bc}	6.00 ± 0.51 ^{Bd}	5.00 ± 0.34 ^{Ae}	NA	NA
	OS	9.00 ± 0.50 ^{Aa}	8.50 ± 0.34 ^{Cb}	7.50 ± 0.45 ^{Cc}	6.50 ± 0.43 ^{Cd}	5.50 ± 0.22 ^{Be}	5.00 ± 0.16 ^f	NA
	OSAM	9.00 ± 0.50 ^{Aa}	8.50 ± 0.25 ^{Cb}	8.00 ± 0.53 ^{Cb}	7.50 ± 0.25 ^{Dc}	6.00 ± 0.52 ^{Cd}	5.50 ± 0.41 ^d	5.00 ± 0.55 ^e

^{A-D} Mean ± SD in the column with different superscripts are significantly different between treatments ($p < 0.05$).

^{a-f} Mean ± SD in the row with different superscripts are significantly different between storage period ($p < 0.05$).

Control: Sample without antimicrobial film and oxygen scavenger, AM: Sample with antimicrobial film, OS: Sample with oxygen scavenger, OSAM: Sample with antimicrobial film and oxygen scavenger. NA: not analysed.

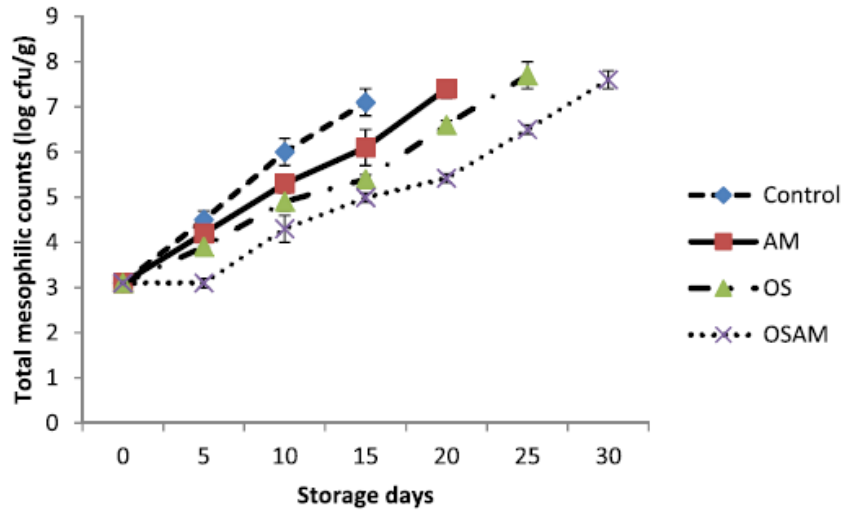


Fig. 2. Changes in the total mesophilic count* of cobia fish steak during chilled storage (Control: Sample without antimicrobial film and oxygen scavenger, AM: Sample with antimicrobial film, OS: Sample with oxygen scavenger, OSAM: Sample with antimicrobial film and oxygen scavenger) *mean $\pm$ SD, $n = 3$, $p < 0.01$.

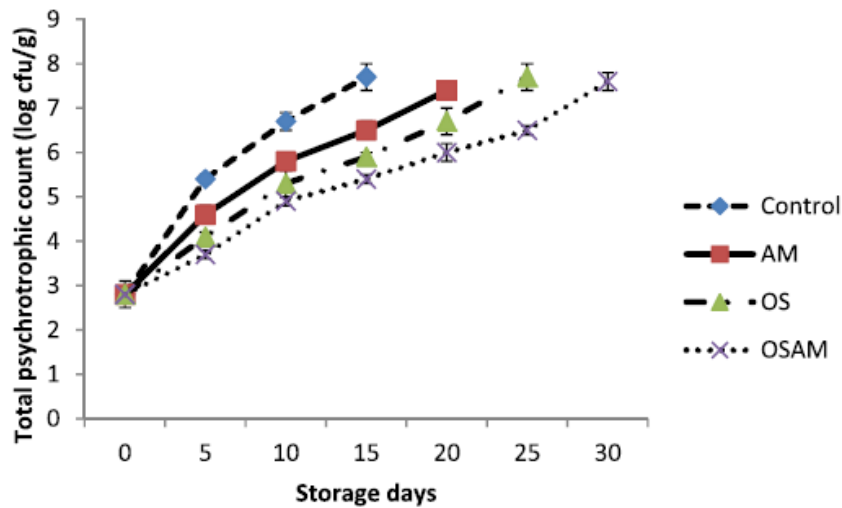


Fig. 3. Changes in the total psychrotrophic count* of cobia fish steak during chilled storage (Control: Sample without antimicrobial film and oxygen scavenger, AM: Sample with antimicrobial film, OS: Sample with oxygen scavenger, OSAM: Sample with antimicrobial film and oxygen scavenger) *mean $\pm$ SD, $n = 3$, $p < 0.01$.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]