

CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *Salmonella* spp EM HORTALIÇAS MINIMAMENTE PROCESSADAS, CULTIVADAS EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENCIONAL, COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DE PELOTAS-RS

Fernanda Demoliner*, Denise Oliveira Pacheco, Larissa Sá Britto Castro, Fatiele Bonow, Lenon Medeiros Bauer, Karen Damasceno de Souza, Danielle Leal Delabary, Eliezer Ávila Gandra

Mestranda em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS

**E-mail: fernandademoliner@yahoo.com.br*

RESUMO

Hortaliças minimamente processadas são definidas como produtos que foram alterados fisicamente a partir de sua forma original, mantendo o seu estado fresco. Muitas dessas operações são executadas manualmente, algumas vezes com procedimentos inadequados do ponto de vista higiênico-sanitário, aumentando a possibilidade de contaminação desses alimentos por micro-organismos deteriorantes e patogênicos, reduzindo a vida útil do produto e ferendo riscos à saúde do consumidor respectivamente.. Dessa forma, objetivou-se avaliar a qualidade higiênico sanitária de hortaliças minimamente processadas, oriundas do cultivo orgânico e convencional comercializadas como “Kit Sopa”, no município de Pelotas, RS. Foram adquiridas 5 amostras de uma feira de produtos orgânicos e 5 amostras de uma feira de produtos convencionais da cidade de Pelotas. Para avaliar a qualidade higiênico-sanitária foram realizadas contagens de coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C) e pesquisa de *Salmonella* spp., de acordo com o *Bacteriological Analytical Manual*. Foi verificada a presença de *Salmonella* spp em uma amostra orgânica e em uma amostra convencional. Os “Kit sopa” orgânicos apresentaram maior número de amostras contaminadas por coliformes a 45°C, com valores acima do permitido pela legislação brasileira em vigor.

Palavras-chave: Hortaliças, qualidade microbiológica, minimamente processado.

1 INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos processados aumentou consideravelmente nas últimas décadas e está

associado à busca pela praticidade e conveniência (JUNQUEIRA & LUENGO, 2000; BEUCHAT, 2002). Os produtos minimamente processados são definidos como qualquer fruta ou hortaliça, ou ainda qualquer combinação delas, que foi alterada fisicamente a partir de sua forma original, embora mantenha o seu estado fresco (IFPA, 2005). O processamento mínimo inclui as etapas de seleção/classificação da matéria-prima, pré-lavagem, processamento (corte, fatiamento), sanificação, enxágue, centrifugação e embalagem (SANTOS et al., 2010).

Existe uma grande preocupação relacionada com a segurança higiênico sanitária deste tipo de produto, pois a elevada manipulação durante o processamento, algumas vezes com procedimentos higiênicos inadequados, pode levar a contaminação microbológica (CANTWELL & SUSLOW, 2002; FANTUSI et al., 2004; VANETTI, 2004). Produtos minimamente processados são altamente perecíveis devido à exposição de seus tecidos internos, causando aceleração no seu metabolismo em decorrência da referida alteração física (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Todos estes fatores contribuem para a perda de qualidade do produto, afetando, conseqüentemente, sua vida de prateleira (DELIZA, 2000).

A agricultura orgânica vem surgindo e se consolidando, desde o início da década de 60, e já é um fenômeno reconhecido e consolidado nos países desenvolvidos (JUNQUEIRA & LUENGO, 2000). O cultivo orgânico pode ser definido como sistema de produção que evita ou exclui o uso de pesticidas ou agrotóxicos, fertilizantes de composição sintética, reguladores de crescimento ou outros agentes contaminantes. A sua viabilização ocorre por meio de um conjunto de sistemas de produção, buscando a maximização dos benefícios sociais, a auto-sustentação, a redução e/ou eliminação da dependência de insumos, energia não renovável e a preservação do meio ambiente devido à otimização do uso de recursos naturais e sócio-econômicos disponíveis (HAMERSCHMIDT et al., 1998).

Com base nestes aspectos e considerando, sobretudo, a carência de informações comparativas sobre os níveis de contaminação de hortaliças minimamente processadas oriundas do cultivo orgânico e convencional, este trabalho teve o objetivo de avaliar a presença de *Salmonella* spp e quantificar coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C) em hortaliças minimamente processadas, comercializadas como “Kit Sopa”, em feiras livres no município de Pelotas, RS oriundas do cultivo orgânico e convencional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 COLETA E AMOSTRAGEM

Foram adquiridas um total de 10 amostras de hortaliças minimamente processadas comercializadas como “Kit Sopa”, sendo 5 amostras de uma feira livre de produtos orgânicos e 5 amostras de um feira de produtos convencionais, localizados na cidade de Pelotas, RS.

O “Kit sopa” de hortaliças orgânicas e convencionais era comercializado fechado e em embalagem de plástico, sem nenhum sistema de conservação. As hortaliças minimamente processadas contidas no “Kit

Sopa” eram: couve, cenoura, moranga e brócolis previamente cortados.

As hortaliças foram adquiridas simulando uma compra comum, realizada por frequentadores das feiras. As coletas ocorreram no período de julho de 2013.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICA

Foram realizadas enumerações de coliformes a 45 °C e pesquisa de *Salmonella* spp., de acordo com a exigência da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 (BRASIL, 2001). As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com o *Bacteriological Analytical Manual* (FDA, 1998) no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas.

2.2.2 ENUMERAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Inicialmente, 25 g das amostras foram pesadas e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (Merck). A partir desta diluição inicial, foram preparadas diluições decimais para realizar a quantificação pelo técnica do Número Mais Provável (NMP) - série de 3 tubos. Foi transferido 1 mL de cada diluição para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST, Merck) contendo tubos de duhran invertidos. Os tubos foram incubados a 37 °C por 48 horas e após observada a formação (positivo) ou não formação (negativo) de gás. De cada tubo considerado positivo foi passada uma alçada para tubos contendo 10 mL de Caldo *Escherichia coli* (EC, Merck), incubados a 45,5 °C por 48 horas. Os resultados do crescimento nos tubos foram utilizados para estimar a concentração de coliformes a 45 °C com auxílio da tabela do NMP - série de 3 tubos.

2.2.3 PESQUISA DE *SALMONELLA* SPP

O isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado inicialmente, com pré enriquecimento da amostra, adicionando-se 225 mL de água peptonada tamponada 0,1% (Merck) à 25 g da amostra com incubação a 37 °C por 24 horas. Após, foi realizado o enriquecimento seletivo, transferindo-se 0,1 mL da água água peptonada tamponada para 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV, Merck) e 1 mL para 10 mL de caldo Tetracionato (TT) (Merck) a 42°C por 24 horas. Foi realizado o plaqueamento seletivo em Agar Verde Brilhante Vermelho de Fenol (BPLS) e Agar Entérico Hecktoen (HE, Merck), incubados a 37°C por 24 horas. As colônias que apresentaram morfologia característica do microrganismo foram submetidas a testes bioquímicos e sorológicos confirmatórios.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do programa Assistat 7.7 (SILVA, 2009) ao nível de significância de 5%, seguido de Test t ($p < 0,005$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A RDC nº 12 (BRASIL, 2001), estabelece, para hortaliças, legumes e similares, frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto, limite de tolerância de até 10^2 NMP.g⁻¹ para coliformes a 45°C e ausência em 25g para *Salmonella* spp.. No presente trabalho foram utilizados estes padrões como parâmetros aceitáveis de adequação higiênica sanitária das hortaliças minimamente processadas comercializadas como “Kit sopa”.

Entre as 5 amostras de hortaliças do cultivo orgânico, uma (20%) apresentou presença de *Salmonella* spp em 25g. O mesmo resultado foi encontrado nas amostras do cultivo convencional, em que novamente uma (20%) apresentou presença de *Salmonella* spp em 25g. Estas contaminações indicam que as amostras estavam impróprias para o consumo humano, segundo a RDC N°12 de 02 janeiro de 2001 (Brasil, 2001). Considerando o grau de patogenicidade deste micrororganismo este resultado denota um situação preocupante, além de demonstrar a existência de possíveis falhas do ponto de vista higiênico-sanitário no processamento e/ou comercialização destes produtos que provavelmente propiciaram a contaminação destes produtos..

A presença deste patógeno em vegetais minimamente processados também foi verificada por Martins et al. (2003) que encontraram *Salmonella* em quatro de 133 amostras de hortaliças folhosas minimamente processadas comercializadas em São Paulo. Porém, Santos et al. (2010) não detectaram presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras de frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas na cidade de Campinas, SP.

Todas as amostras de hortaliças do cultivo orgânico apresentaram de concentração de coliformes a 45 °C a cima do limite máximo permitido pela legislação brasileira, já em relação as amostras analisadas do cultivo convencional, 20% estavam acima do preconizado pela legislação (Tabela 1). Não foram verificadas diferenças significativas entre as amostras do cultivo orgânico e convencional ($p > 0.005$) em relação a enumeração de coliformes termotolerantes.

Tabela 1: Enumeração de coliformes termotolerantes em amostras de hortaliças minimamente processadas do cultivo orgânico e convencional, Pelotas, 2013.

Coliformes Termotolerantes (NMP. g⁻¹)	
Cultivo orgânico (n=5)	Cultivo convencional (n=5)
2,4x10 ²	<0,3x10 ¹
4,6x10 ²	<0,3x10 ¹
4,6x10 ²	2,3x10 ¹
1,1x10 ³	>1,1x10 ³
>1,1x10 ³	1,5x10 ¹

Uma das possíveis explicações para estes resultados pode ser a utilização de água poluída, esterco animal ou sedimentos de dejetos, estes são citados como uma das principais fontes desses patógenos nesses produtos por (GAGLIARDI & KARNS, 2000).

Cabe destacar ainda que micro-organismos indicadores, como os coliformes termotolerantes, quando presentes nos alimentos, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Por fim, a partir dos resultados encontrados pode-se inferir que existe a necessidade de maiores cuidados tanto na produção primária (adubos compostados, água de irrigação de boa qualidade), como na comercialização destes produtos, dando-se ênfase as boas práticas de fabricação para que seja possível garantir um produto seguro ao consumidor. Além disso, esses cuidados são também essenciais para elevar a vida de prateleira dos produtos.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que, das 10 amostras de hortaliças minimamente processadas, em 2 verificou-se a presença de *salmonella* spp. em 25 g, sendo uma das amostras orgânica e a outra convencional. Os “Kit sopa” orgânicos apresentaram todas as amostras contaminadas por coliformes a 45°C, em concentrações acima do limite permitido pela legislação brasileira em vigor.

5 REFERÊNCIAS

BEUCHAT, L. R. Ecological factor influencing survival and growth of humans pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infections**, v. 4, p. 413-423, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. In: _____. **Resolução nº12 de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/> HYPERLINK "<http://www.anvisa.gov.br/>" HYPERLINK "<http://www.anvisa.gov.br/>" HYPERLINK "<http://www.anvisa.gov.br/>">. Acesso em: 8 jun. 2013.

CANTWELL, M. I.; SUSLOW, T. V. Postharvest handling systems: fresh cut fruits and vegetables. In: KADER, A. A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 3. ed. Davis: Califórnia, cap. 36, p. 445-463, 2002.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 785 p. 2005.

DELIZA, R. Importância da qualidade sensorial em produtos minimamente processados. In: **Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**, 2., 2000, Viçosa. Palestras. Viçosa: UFV, 2000.

FANTUSI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 207-211, abr./jun. 2004.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**, Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 1998.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182p. 2008.

GANGLIARDI, J. V.; KARNS, J. S. Leaching of Escherichia coli 0157: H7 in diverse soils under various agricultural management practices. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 3, p. 877-883, Mar. 2000.

HAMERSCHMIDT, I. Agricultura orgânica: conceituações e princípios. In: **Anais do 38º Congresso Brasileiro de Olericultura**. Petrolina (PE): ART & MÍDIA, 1998. *cd-rom*.

IFPA. **International fresh-cut produce association**. Disponível em: <http://www.fresh-cuts.org>. 2005.

JUNQUEIRA, A. H.; LUENGO, R. F. A. Mercados diferenciados de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 95-99, julho 2000.

MARTINS, C.; FRÖDER, H.; SOUZA, K. L. O.; FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. Ecologia Microbiana de vegetais folhosos minimamente processados. In: **Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 22., 2003, Florianópolis. Anais. Florianópolis: CBM, p. 154, 2003.

SANTOS, T. B. A.; SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 141-146, abr./jun. 2010.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

VANETTI, M. C. D. Segurança microbiológica em produtos minimamente processados. In: **Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**, 2004, Viçosa, MG. Anais. Viçosa: UFV, p. 30-31, 2004.