

## 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 microbiológica (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<sup>-1</sup> 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 microrganismo 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 <sup>-1</sup> )	
Cultivo orgânico (n=5)	Cultivo convencional (n=5)
2,4x10 <sup>2</sup>	<0,3x10 <sup>1</sup>
4,6x10 <sup>2</sup>	<0,3x10 <sup>1</sup>
4,6x10 <sup>2</sup>	2,3x10 <sup>1</sup>
1,1x10 <sup>3</sup>	>1,1x10 <sup>3</sup>
>1,1x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>1</sup>

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.