

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE HORTALIÇAS
CONVENCIONAIS, ORGÂNICAS MINIMAMENTE PROCESSADAS E ORGÂNICAS “IN
NATURA”**

ANDRÉA RESENDE COSTA DE OLIVEIRA¹; IVANA APARECIDA SILVEIRA²; ROSEANE
MARIA EVANGELISTA OLIVEIRA³; DALILA PEREIRA DE MENDONÇA⁴; LÍVIA
MARTINEZ ABREU SOARES COSTA⁵; ISABELA EMILIOREOLLI NOGUEIRA⁶

RESUMO

Este estudo teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica de hortaliças convencionais, orgânicas minimamente processadas e orgânicas “in natura” prontas para o consumo, pela determinação de indicadores de contaminação ambiental e de condições higiênicas de processamento. As análises realizadas foram determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae* com ênfase em *Escherichia coli* e *Salmonella sp.* Na amostra de hortaliça convencional higienizada e nas amostras de hortaliças orgânicas higienizadas minimamente processadas e prontas para o consumo, foram isolados coliformes totais confirmando a presença de coliformes termotolerantes em 100% das análises, estando, portanto, em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente. Com relação às amostras de hortaliças orgânicas “in natura” não higienizadas 28,5% apresentaram contagem acima do padrão recomendado para coliformes fecais (termotolerantes), sendo então classificadas como “produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias”, particularmente as amostras de agrião e capuchinha. *Salmonella sp.* não foi detectada em nenhuma amostra analisada, enquadrando-se nos padrões da legislação. Vale ressaltar que nas amostras de hortaliças orgânicas higienizadas minimamente processadas e prontas para o consumo verificou-se a presença de sujidades, o que pode ocasionar prejuízos às propriedades dos alimentos dando origem a um produto com qualidade insatisfatória, podendo causar riscos à saúde dos consumidores.

Palavras chave: hortaliças orgânicas; minimamente processadas; *Escherichia coli*; *Salmonella sp*

INTRODUÇÃO

Os meios de comunicação têm divulgado as vantagens da alimentação baseada em produtos orgânicos, o que vem contribuindo para aumentar o consumo destes alimentos. Entretanto o crescimento do consumo não está diretamente relacionado com o valor nutricional dos alimentos, mas aos diversos significados que lhes são atribuídos pelos consumidores. Estes significados variam desde a busca por uma alimentação mais saudável, de melhor sabor e qualidade, até a preocupação ecológica com a preservação do meio ambiente (ARCHANJO et al., 2001).

De acordo com a Instrução Normativa nº 007, de 17 de maio de 1999, e a Lei 659-A de 2000, “considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e socioeconômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados-OGM/transgênicos ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos privilegiando a preservação da saúde ambiental e

¹ Nutricionista, UNILAVRAS - arc-oliveira@bol.com.br

² Professora, UNILAVRAS - ivana@unilavras.edu.br

³ Mestre em Ciência dos Alimentos – UFLA – rmeevangelista@hotmail.com

⁴ Nutricionista, UNILAVRAS - dalilanutri@hotmail.com

⁵ Doutoranda em Ciência dos Alimentos-UFLA - livinhamartinez@yahoo.com.br

⁶ Graduanda em Educação Física – UFLA – isa_nogueira@hotmail.com

humana, assegurando a transparência em todos os estágios de produção e da transformação (BRASIL, 2000).

As consequências da contaminação de alimentos, presença de resíduos tóxicos e patogênicos, causa mortes de consumidores em diversas partes do mundo, o que vêm alertando quanto à necessidade da instituição de normas, regulamentos e garantias de qualidade na aquisição de produtos alimentícios (PENTEADO, 2000).

Bactérias patogênicas, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*; vírus como os da hepatite A; e parasitas, como *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis* e *Cryptosporidium parvum*, são de grande importância para a saúde pública e estão relacionados com surtos de infecção alimentar em razão do consumo em frutas e hortaliças frescas contaminadas (BEUCHAT, 2002).

A microbiota das hortaliças cruas está influenciada por numerosos fatores. O manuseio durante a colheita, desbaste, classificação e padronização, assim como utensílios e equipamentos usados nessas operações, contribui com o tipo e distribuição da microbiota nesses produtos. Por outro lado, a lavagem e a higienização podem ser prejudiciais, considerando que a água residual possibilitará uma rápida multiplicação dos microrganismos presentes (ICMSF, 2002).

Desta forma, este estudo teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica de hortaliças convencionais, orgânicas minimamente processadas e orgânicas “in natura” prontas para o consumo, pela determinação de indicadores de contaminação ambiental e de condições higiênicas de processamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de amostras

Um total de dez amostras de produtos hortícolas, sendo duas amostras de produtos minimamente processados prontos para o consumo (alface e agrião; cenoura e tomate); uma amostra de salada convencional (alface e agrião) e sete amostras de hortaliças orgânicas “in natura” (espinafre, agrião, capuchinha, cerefólio, manjerição, cebolinha e o Kit saladinha contendo aipo, beldroega, rúcula, azedinha e capuchinha) foram coletadas aleatoriamente, em supermercados da cidade de Belo Horizonte-MG, na data de fabricação sendo mantidas sob refrigeração ($7\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante o prazo de validade do produto expresso na embalagem (5 a 8 dias) e encaminhadas ao Laboratório de Higiene de Alimentos do Centro Universitário de Lavras para análise microbiológica. Para tanto, elaborou-se um método específico de avaliação qualitativa.

Preparo das amostras

No laboratório cada amostra foi identificada de acordo com a data de produção e a categoria a qual pertencia (orgânica pré-higienizada, convencional pré-higienizada ou orgânica não higienizada), sendo então preparadas para análise microbiológica.

Análises

Todas as análises seguiram técnicas citadas por Silva, Junqueira e Silveira (1997).

Diluição

As análises foram realizadas em triplicata. A unidade analítica para análise das hortaliças foi de 25g retiradas assepticamente da amostra e transferidas para um agitador estéril com 225ml de água peptonada 0,1%, utilizada para fazer diluições decimais seriadas subsequentes. Foram preparadas em tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, utilizando-se a técnica de transferência de 1 mL da amostra, como recomendado pela metodologia citada.

Determinação do Número Mais Provável de coliformes totais

Foram inoculadas 3 séries de 3 tubos contendo 9mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com 1 ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} respectivamente. Após a inoculação, a incubação foi realizada em estufa bacteriológica a 35°C - 37°C / 24-48h. Foram considerados positivos os tubos que

apresentaram turvação e gás; sendo então utilizadas na determinação de coliformes fecais, em caldo EC, seguindo-se de incubação a 45°/24-48h.

O número mais provável por grama (NMP. g) foi obtido em tabela preconizada de NMP apropriada às diluições inoculadas – (Número mais provável (NMP) de bactérias por g).

Para estabelecer as condições higiênico-sanitárias de fabricação dos produtos, os resultados foram comparados aos padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos na Resolução RDC nº12 (Brasil, 2001).

Pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae* com ênfase em *Escherichia coli*

Foram semeadas em duplicata, sobre a superfície do Ágar Eosin Methylene Blue (EMB), 0,1 mL de cada diluição selecionada, as placas de Petri foram incubadas 37°C/24 horas. As unidades formadoras de colônias foram calculadas de acordo com as diluições e logo após submetidas a testes bioquímicos tradicionais, tais como coloração de Gram, catalase, oxidase, indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer, citrato, uréia, malonato, cianeto de potássio (KCN), motilidade, lactose, sacarose, nitrato, ágar tríplice açúcar ferro (TSI), ágar ferro lisina (LIA).

Contagem e identificação de bactérias da família *Enterobacteriaceae* com ênfase em *Salmonella* sp

Porções de 10 g foram adicionadas a 90 mL de água peptonada tamponada e incubadas a 37° C por 24 horas (pré-enriquecimento). Em seguida, foi transferido 1 mL da água peptonada tamponada para 9 mL de caldo tetrato e para 9 mL de caldo Rappaport, os quais foram incubados a 37° C por 24 horas. Os caldos de enriquecimento foram estriados em placas contendo meio Rambach, XLD e Hecktoen e incubados a 37° C por 24 horas. As cepas isoladas foram submetidas a testes bioquímicos para identificação presumida: Ágar tríplice açúcar ferro (TSI), Ágar ferro lisina (LIA), indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer, citrato, uréia, malonato, motilidade, lactose, sacarose, rafinose, maltose, arabinose, ornitina, arginina, nitrato, oxidase e coloração de Gram. Para identificação procedeu-se de acordo com Bergey's manual (1994).

RESULTADO E DISCUSSÃO

No quadro 1 estão representados os resultados da determinação do NMP de coliformes totais e fecais das amostras de hortaliças: orgânicas higienizadas minimamente processadas, prontas para o consumo (alface e agrião; cenoura e tomate); convencional higienizada (alface e agrião) e das hortaliças orgânicas não higienizadas, “in natura” (espinafre, agrião, capuchinha, cerefólio, manjeriço, cebolinha) e do Kit saladinha (aipó, beldroega, rúcula, azedinha e capuchinha). Nas duas amostras de hortaliças orgânicas minimamente processadas, prontas para o consumo (alface e agrião; cenoura e tomate), e na amostra de salada convencional higienizada (alface e agrião) foram isolados coliformes totais e confirmado a presença de coliformes termotolerantes em 100% das análises, portanto, em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente (ANVISA, 2001), que estabelece limite de 10² NMP. g⁻¹ para hortaliças pertencentes à categoria frescos, “in natura”, preparados, sanitizados, refrigerados ou congelados para consumo direto.

As contagens microbianas podem se encontrar afetadas por fatores extrínsecos. Isto ocorre porque os vegetais podem estar contaminados com terra, além do quê, as condições ambientais, imediatamente antes ou durante a coleta, podem influir no número e tipo de microrganismos presentes (ICMSF, 2002). A implicação do solo na zona de produção, a água de irrigação e os adubos orgânicos usados nas técnicas de melhoramento agrícola são apontados como prováveis fontes de *Salmonella* sp e *Escherichia coli*. Igualmente, pesquisas preliminares mostram que o esterco animal utilizado para aumentar a fertilidade do solo e a resistência da planta pode muitas vezes ser uma fonte potencial de uma microbiota patogênica, incluindo representantes fecais (Gagliardi e Karns, 2000).

É importante ressaltar que neste estudo as hortaliças orgânicas higienizadas minimamente processadas apresentaram sujidades no interior das embalagens que continham informações indicando produto higienizado e sanitizado após processamento e pronto para o consumo, identificadas com o selo certificador de produção orgânica. Esses resultados assemelham com os de Siqueira et al. (1997), que em seus estudos observaram 44,0% das saladas cruas de restaurantes de Belo Horizonte

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFPA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

apresentavam condições higiênicas sanitárias insatisfatórias devido à presença de coliformes fecais sendo que, 15% ofereciam produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares.

Com relação aos coliformes fecais (termotolerantes) 28,5% das amostras de hortaliças orgânicas não higienizadas “in natura” (espinafre, agrião, capuchinha, cerefólio, manjeriço, cebolinha e o Kit saladinha contendo aipo, beldroega, rúcula, azedinha e capuchinha apresentaram contagem acima do padrão recomendado, sendo então classificadas como “produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias”, particularmente as amostras de agrião e capuchinha. As contagens de coliformes fecais obtidas nas análises refletem a necessidade de um maior controle na higienização desses vegetais que estão sendo oferecidos para o consumo cru. Resultado semelhante, Bruno et al. (2005), encontram 53,3% das amostras de hortaliças com contaminação superior a 10^3 NMP. g⁻¹, e destas, 13,3% das amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do padrão recomendado pela legislação vigente.

As análises de hortaliças frescas e saladas minimamente processadas comercializadas no varejo são citadas com frequência como passivas de contaminação por *Escherichia coli* e *Salmonella sp* (Beuchat, 2002). Porém, a presença de *E.coli O157: H7* nas análises laboratoriais de rotina é considerada rara por Bell e Kyriakides (2000), devido às técnicas e temperaturas utilizadas.

Quanto a *Salmonella sp.* não foi detectada em nenhuma amostra analisada, enquadrando-se nos padrões da legislação (Quadro1). Resultados que diferem dos encontrados por Bruno et al. (2005) que em seus estudos 66,6% das amostras de hortaliças minimamente processadas com presença de *Salmonella sp.*, sendo consideradas impróprias para o consumo. Enquanto Pinheiro et al. (2005) encontraram 25% das amostras de saladas cruas contaminadas com *Salmonella sp.*

Os processos de limpeza e sanificação em hortaliças orgânicas comercializadas no município de Belo Horizonte, MG possivelmente foram conduzidos de forma inadequada sugerindo a possibilidade de outros patógenos entéricos nos produtos e, conseqüentemente o risco de surtos de toxinfecção alimentar.

Urge, portanto, que técnicas de processamento mais aprimoradas e uma fiscalização mais eficiente sejam praticadas na avaliação do produto final, a fim de reduzir ao mínimo a oportunidade de que produtos contaminados cheguem à mesa do consumidor.

Quadro 1: Resultado final da avaliação de qualidade microbiológica

CLASSE	PRODUTO	C. TOTAIS NMP/G	C. FECAIS NMP/G	SALMONELLA sp.
Convencional Higienizado	Alface e Agrião	$> 1,4 \times 10^{-3}$	$> 1,4 \times 10^{-3}$	Ausente
Orgânico Higienizado	Alface e Agrião	$> 1,4 \times 10^{-3}$	$> 1,4 \times 10^{-3}$	Ausente
	Cenoura e Tomate	$> 1,4 \times 10^{-3}$	$> 1,4 \times 10^{-3}$	Ausente
Orgânico Não Higienizado	Espinafre	$2,0 \times 10^{-2}$	$0,4 \times 10^{-1}$	Ausente
	Agrião	$1,4 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-3}$	Ausente
	Capuchinha	$1,4 \times 10^{-4}$	$4,5 \times 10^{-3}$	Ausente
	Cerefólio	$1,4 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-1}$	Ausente
	Manjeriço	$9,5 \times 10^{-1}$	$1,5 \times 10^{-1}$	Ausente
	Cebolinha	$1,4 \times 10^{-4}$	$0,9 \times 10^{-1}$	Ausente
	Kit Saladinha: Aipo, beldroega, rúcula, azedinha e capuchinha.	$1,4 \times 10^{-4}$	$9,5 \times 10^{-1}$	Ausente

CONCLUSÃO

Foi verificado que uma grande parte das hortaliças estudadas estava imprópria para o consumo humano por apresentar microrganismos indicadores higiênico-sanitários, bem como microrganismos potencialmente patogênicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Resolução RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001. Estabelece padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de jan. 2001. n.7, p.45-53, 2001. Seção I.

ARCHANJO, L.R.; BRITO, K.F.W.; SAUERBECK, S. OS alimentos Orgânicos em Curitiba: consumo e significado. **Cadernos de Debate**. 2001; 8:1-6.

BELL, C.; KYRIAKIDES, A. E. **Coli**: una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza-Espanha: Acribia, 2000.234p.

BERGEY'S MANUAL® OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. **Bacteriological analytical manual**. 9. ed. Baltimore: Willians and Wilkins, 1994. 1687p.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001. Estabelece padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de jan. 2001. n.7, p.45-53, 2001. Seção I.

_____. Congresso. Senado. **Projeto de Lei 659-a de 06 de dezembro de 2000**. Dispõe sobre agricultura orgânica, altera dispositivos da Lei n° 7802, de 11 de julho de 1989 e dá outras providências. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.ibd.com.br/legislação>>. Acesso em: 22 set. 2007.

BRUNO, L.M.; Queiroz, A.A.M. de; ANDRADE, A.P.C. de; VASCONCELOS, N.M. de; BORGES, M. de F. Avaliação Microbiológica de Hortaliças e Frutas Minimamente Processadas Comercializadas em Fortaleza (CE). **B. CEPPA**, Curitiba, v.23, n.1, jan. /jun. 2005.

GAGLIARDI, J.V.; KARNS, J.S. Leaching of Escherichia coli O157:H7 in diverse soils under various agricultural management practices. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n3, p.877-883, Mar.2000.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Micro-organisms in Foods**. New York, NY., USA, 361 p, p.45-70,2002.

PENTEADO, S. R. **Introdução à agricultura orgânica**. Campinas: Editora Grafimagem, 2000.110p.

PINHEIRO, N.M. de S.; FIGUEIREDO, E.A.T. de; FIGUEIREDO, R.W. de; MAIA, G.A.; SOUZA, P.H.M. de. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Frutos Minimamente Processados Comercializados em Supermercados de Fortaleza. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.27, n.1, p.153-156, abril 2005.

SIQUEIRA, I. M. C. et al., Avaliação microbiológica de saladas cruas e cozidas servidas em restaurantes industriais da grande Belo Horizonte. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.11,n.49,p.36-39,1997.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C. A; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.