

# AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE MARINGÁ, PR.

Érika Simão Couto

Sara Macente Boni

Departamento de Biomedicina do Centro Universitário Cesumar. Maringá, PR.

saramacente@gmail.com

## RESUMO

Os alimentos minimamente processados (AMP) são cada vez mais procurados pela população, porém, desde a fase de plantio até o preparo do produto a ser comercializado, este alimento pode sofrer contaminações por micro-organismos patogênicos que podem levar a surtos de toxinfecção alimentar. A demanda de vegetais minimamente processados tem crescido devido às suas características de frescor e conveniência, entretanto a produção, a distribuição, a qualidade e a segurança de tais frutos e hortaliças são limitadas pelos conhecimentos que se têm acerca desse tipo de produto. O objetivo deste trabalho foi verificar se os AMP oferecidos pelo comércio de Maringá-PR estão aptos para o consumo e seguros para saúde dos consumidores. Pesquisou-se em amostras de couve, repolho, cenoura, beterraba e almeirão, os seguintes grupos de micro-organismos: Coliformes totais, Coliformes termotolerantes pela técnica dos tubos

múltiplos (Número Mais Provável), *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus*. Das 25 amostras de hortaliças e/ou raízes/tubérculos minimamente processados analisadas, uma (4%), estava contaminada com *Salmonella* sp. e sete (25%), apresentavam coliformes termotolerantes em valores superiores a  $10^2$  NMP.g<sup>-1</sup> e  $10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>, para hortaliças e raízes/tubérculos, respectivamente, estando em desacordo com a legislação vigente. As amostras de hortaliças e raízes/tubérculos (almeirão, couve, repolho, beterraba e cenoura) minimamente processadas apresentaram a incidência de coliformes totais de  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>. Foi observada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 10 amostras analisadas. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram uma alta taxa de coliformes totais e termotolerantes em hortaliças, raízes e tubérculos minimamente processados comercializados em supermercados de Maringá-PR, mostrando que boa parte desses alimentos encontra-se

em desacordo com a legislação brasileira, o que os torna impróprios para consumo. Mostra-se necessário melhor controle e vigilância do manuseio e comercialização destes alimentos.

**Palavras-chave:** Hortaliças.

*Enterobacteriaceae.*

*Staphylococcus. Salmonella.*

*Doenças transmitidas por alimentos.*

## ABSTRACT

*The minimally processed foods (MPF) are marketed chopped foods ready for consumption and are being increasingly demanded by the population. However, from initial planting to the preparation of the product to be marketed, this food may suffer contamination by pathogenic micro-organisms that can lead to outbreaks of food poisoning. The demand for fresh cut vegetables has grown due to its characteristics of freshness and convenience, however the production, distribution, quality*

and security of such fruits and vegetables are limited by the knowledge that they have about this type of product. The aim of this study was to determine whether the MPF offered by the Maringá/PR market are in good conditions for consumption, bringing reliability and health to the consumers. We searched in samples of kale, cabbage, carrot, beet and chicory, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, Total Coliform and Thermotolerant Coliforms, the last two bacteria were detected by the multiple tubes (Most Probable Number) technique. From the 25 samples of vegetables and / or root / tuber minimally processed analyzed, one (4%) were infected with *Salmonella* sp. and 7 (25%) had coliform organisms in amounts exceeding  $10^2$  NMP.g<sup>-1</sup> and  $10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>, for vegetables and roots / tubers, respectively, being in disagreement with current legislation. Samples of vegetables and roots / tubers (chicory, kale, cabbage, beets and carrots) minimally processed analyzed showed the incidence of total coliform  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>. The presence of *Staphylococcus coagulase-positive* was observed in 10 samples. The results obtained in this work show a high taxa of totais and thermotolerant coliforms in vegetables, roots and tubers minimally processed marketed in supermarkets in Maringá - PR, showing that some of the foodstuffs are in compliance with the Brazilian legislation, or that it makes printing for consumption. It shows the need for control and vigilance of manning and marketing of food.

**Keywords:** Vegetables. Enterobacteriaceae. *Staphylococcus*. *Salmonella*. Foodborne Diseases.

## INTRODUÇÃO

Os alimentos minimamente processados (AMP) são alimentos comercializados prontos para o consumo, ou seja, são alimentos

previamente selecionados, lavados, picados e embalados (MORETTI, 2007). Segundo a International Fresh-Cut Produce Association (1999), os AMP podem ser definidos como frutas ou hortaliças que passam por transformações físicas sem sofrerem alterações químicas ou biológicas, permanecendo em seu estado fresco.

A procura por AMP vêm sendo cada vez maior pela população pelo fato dos consumidores estarem interessados em produtos naturais e de fácil consumo (DURIGAN & SARGENT, 1999). Outros fatores que contribuem para o aumento do consumo destes alimentos são o estilo de vida e a valorização econômica do trabalho da mulher, o que leva ao excesso de compromissos profissionais e o pouco tempo para os afazeres domésticos. Além disso, existe uma preferência por este produto pelas famílias pequenas e por pessoas que moram sozinhas e que buscam uma alimentação saudável (HANASHIRO, 2003; AMORIM & NASCIMENTO, 2011).

Desta forma, os alimentos minimamente processados surgiram como solução e alternativa para as pessoas que não tem tempo ou não gostam de preparar sua refeição, visando à comodidade e melhor alimentação do consumidor (TRESSELER et al., 2009; MORETTI, 2007). Tendo em vista que estes produtos são cada vez mais procurados, faz-se necessário verificar a qualidade microbiológica destes alimentos, pois a aplicação de práticas de higiene é um fator importante na diminuição da contaminação nos produtos agrícolas, sendo fundamental para o controle de contaminações (SANTOS & OLIVEIRA, 2012).

A segurança dos alimentos minimamente processados está relacionada à qualidade da matéria-prima, métodos de processamento, uso de embalagens adequadas e condições

de armazenamento (SOARES, 2013; CANTWELL & SUSLOW, 2002). Diante disto, os AMPs são susceptíveis à contaminação podendo se tornar um alimento inseguro para o consumo humano (ASSIS & UCHIDA, 2013).

A contaminação dos AMPs pode ocorrer durante o cultivo, no processo de irrigação do solo ou durante o processamento do alimento por meio de equipamentos mal higienizados e dos manipuladores (BRUNO et al., 2005). Algumas espécies que causam preocupações em produtores de hortaliças e frutas são *Escherichia coli O157:H7*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus* spp., entre outros, por serem responsáveis pelo aparecimento de doenças de origem alimentar (CHUA et al., 2008).

Nos últimos anos, houve um aumento no número de surtos de infecção alimentar associados ao consumo de alimentos frescos como os alimentos minimamente processados, pois estes, por permanecerem em seu estado *in natura* e sofrerem injúria, são passíveis de contaminação não só microbiológica, mas também física e química. Assim, o que seria uma alimentação prática, fácil e rápida, torna-se alvo de preocupação (ROMANICHEN et al., 2010).

Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar a qualidade sanitária de alimentos minimamente processados comercializados na cidade de Maringá-PR e verificar se esses alimentos estão aptos para o consumo, trazendo segurança e saúde aos consumidores, por meio da identificação da presença de coliformes totais e termotolerantes, determinação de *Salmonella* spp. e verificação da presença de *Staphylococcus coagulase positiva* em alimentos minimamente processados, avaliando, assim, a qualidade microbiológica desses alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com alimentos minimamente processados, adquiridos em supermercados de Maringá - PR. Foram analisadas 25 amostras de AMP, sendo cinco amostras de cada um dos seguintes alimentos: cenoura, repolho, couve, almeirão e beterraba.

Os alimentos coletados nos supermercados, em bandejas envoltas com papel filme e armazenadas em balcões refrigerados, foram levados em caixas térmicas contendo gelo para o laboratório de Microbiologia da Unicesumar, onde foram imediatamente analisados.

No laboratório, as amostras foram homogeneizadas asepticamente e uma unidade analítica de 25g da amostra transferida para 225 mL de água peptonada esterilizada (0,1%) e a partir desta, foram preparadas diluições até 10<sup>-4</sup> e posteriormente incubadas por 24 horas para enriquecimento (PINHEIRO et al., 2005).

As análises microbiológicas foram realizadas segundo metodologias descritas em American Public Health Association (APHA, 2001).

Para a pesquisa de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), usando Caldo Lauril Sulfato de Tryptose (LST), Caldo Lactosado Verde Brilhante (VB) e Caldo *Escherichia coli* (EC). A prova presumtiva para análise de coliformes totais e termotolerantes baseou-se na

inoculação das amostras em LST. Os tubos foram incubados a 35-37°C por 24 a 48 horas para verificar o crescimento e produção de gás. Para a confirmação de coliformes totais, as amostras nos tubos com caldo lauril positivos foram transferidas para tubos com Caldo VB sendo incubado a 35-37°C por 24 horas para verificação do crescimento e produção de gás. Para a detecção de coliformes termotolerantes, uma alíquota de cada tubo de LST positivo foi transferida para os tubos de Caldo EC e incubadas a 45-45,5°C por 24 horas para análise de crescimento microbiano e produção de gás.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo (UFC. g<sup>-1</sup>) foi realizada por espalhamento em superfície em meio de ágar Baird-Parker e incubado a 35°C, por 48h. A confirmação das colônias foi efetuada pelos seguintes ensaios: coloração de Gram, teste de catalase e teste de coagulase.

A pesquisa de *Salmonella* spp. em 25 g de amostras foi realizada com pré-enriquecimento, em Água Peptonada Tamponada (APT), com incubação a 35°C, por 24h, seguida de enriquecimento seletivo, em caldo Selenito Cistina e caldo Rappaport incubados, respectivamente, a 35°C e 42°C, por 24h. O isolamento de *Salmonella* sp. foi realizado em ágar Xilose Lisina Desoxicolato e ágar Hektoen incubados a 35°C, por 24-48h. A identificação de *Salmonella* spp. foi realizada pelas seguintes

determinações: testes de desaminação do L-triptofano, fermentação da glicose, produção de gás a partir da glicose, produção de gás sulfídrico, hidrólise da uréia, descarboxilação da lisina e da ornitina, motilidade, indol, rhamnose, citrato e coloração de Gram (BRASIL, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fisiologia de frutas e vegetais minimamente processados é basicamente a de um tecido que sofreu injúria ou foi exposto ao estresse. Essa situação reflete no aumento da taxa de respiração e na produção de etileno, além de reações de oxidação de lipídeos e perda de água (BRECHT, 1995). Além disso, o exsudato resultante do corte favorece o crescimento fúngico e bacteriano. Estas alterações fisiológicas indesejáveis são algumas das dificuldades mais críticas no processamento mínimo (BURNS, 1995) e, em conjunto com a manipulação do produto durante o processamento, aumentam a possibilidade de contaminação por organismos patogênicos (AGUILA et al., 2006).

Das 25 amostras de hortaliças e raízes/tubérculos minimamente processados analisadas (almeirão, couve, repolho, beterraba e cenoura), uma (4%) estava contaminada com *Salmonella* sp e sete (25%) apresentavam coliformes termotolerantes em valores superiores a 10<sup>2</sup> NMP.g<sup>-1</sup> e 10<sup>3</sup> NMP.g<sup>-1</sup>, para hortaliças e raízes/

**Tabela 1** – Resultados das análises microbiológicas de hortaliças minimamente processadas coletadas em supermercados de Maringá – PR.

Amostras hortaliças	Coliformes totais	Coliformes 45°C	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>
ALMEIRÃO	≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	<3NMP.g <sup>-1</sup> a≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	Ausente	Presente em 40%
COUVE	≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	<3NMP.g <sup>-1</sup> a≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	Presente	Presente em 40%
REPOLHO	≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	<3NMP.g <sup>-1</sup> a≥2,4x10 <sup>3</sup> NMP.g <sup>-1</sup>	Ausente	Presente em 40%

**Resultados referentes** a média da análise de 5 repetições de cada alimento.

**Tabela 2** – Resultados das análises microbiológicas de raízes/tubérculos minimamente processadas coletadas em supermercados de Maringá – PR.

Amostras raízes/tubérculos	Coliformes Totais	Coliformes 45°C	Salmonella spp.	Staphylococcus aureus
BETERRABA	$\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$	$< 4 \text{NMP.g}^{-1}$ a $\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$	Ausente	Presente em 40%
CENOURA	$\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$	$< 3 \text{NMP.g}^{-1}$	Ausente	Presente em 40%

Resultados referentes a média da análise de 5 repetições de cada alimento

tubérculos, respectivamente. Estas contaminações indicam que oito amostras estavam impróprias para o consumo humano, segundo a RDC nº12 de 02 janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Foi observada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em dez amostras analisadas. Embora não exista legislação específica para esta bactéria nos alimentos analisados, demonstra-se uma contaminação bacteriana que pode ser justificada pela intensa manipulação no processamento mínimo destes alimentos.

As amostras de hortaliças (almeirão, couve e repolho) minimamente processadas analisadas apresentaram a incidência de coliformes totais de  $\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$ . Para estes produtos, a ocorrência de coliformes termotolerantes foi, em todos os alimentos, de  $< 3 \text{NMP.g}^{-1}$  a  $\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$  (Tabela 1).

Enquanto as amostras de raízes/tubérculos (beterraba e cenoura) minimamente processadas analisadas apresentaram a incidência de coliformes totais de  $\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$ , para estes produtos, a ocorrência de coliformes termotolerantes foi respectivamente:  $< 4 \text{NMP.g}^{-1}$  a  $\geq 2,4 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$  e  $< 3 \text{NMP.g}^{-1}$  (tabela 2).

Dos alimentos minimamente processados analisados, o que apresentou menor contagem de coliformes totais e termotolerantes foi a cenoura. Entretanto, a maior incidência destes micro-organismos foi encontrada em beterrabas. A presença de coliformes totais e termotolerantes em níveis inaceitáveis indica condições higienicossanitárias

precárias no momento de preparo ou armazenamento desses alimentos (JUNQUEIRA et al., 2012). Segundo a RDC nº12 da ANVISA, o valor aceitável para coliformes termotolerantes em hortaliças é de  $10^2 \text{NMP/g}$  e para raízes/tubérculos é de  $10^3 \text{NMP/g}$ . Já *Salmonella* spp. deve ser ausente em qualquer tipo de alimento (BRASIL 2001). Desta forma, 20% dos alimentos minimamente processados estavam em desacordo com a legislação para a presença de coliformes termotolerantes e 1% em desacordo para a presença de *Salmonella* spp.

Outros estudos demonstraram contagens elevadas para coliformes em hortaliças e raízes/tubérculos (BRUNO et al., 2005; ROMANICHEN et al., 2010; CASTELLI, MR et al., 2007; SILVA, SRP et al., 2007). Bruno et al. (2005) verificaram que, de 30 amostras de hortaliças/tubérculos, 13,3% apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do padrão recomendado pela legislação vigente e dessas, 66,6% foram positivas para *Salmonella* spp. sendo consideradas impróprias para consumo.

Romanichen et al. (2010) pesquisaram 22 amostras de vegetais e hortaliças minimamente processadas e verificaram que 86% das amostras apresentaram contagem  $> 2400 \text{NMP/g}$ , 9% apresentaram  $240 \text{NMP/g}$  e 5% apresentaram  $93 \text{NMP/g}$  para coliformes termotolerantes, sendo que 23% das amostras estavam contaminadas com *Escherichia coli*. Neste mesmo estudo, das 22 amostras analisadas, 32% apresentaram *Salmonella* sp,

estando em desacordo com a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, que preconiza ausência deste micro-organismo em 25 gramas de hortaliças frescas *in natura* preparadas.

Castelli et al. (2007) pesquisaram coliformes totais em 8 amostras de alimentos *in natura* e todas resultaram em contagem máxima de  $3 \times 10^3 \text{NMP.g}^{-1}$ , nenhuma, porém, foi confirmada com coliformes termotolerantes.

Silva et al. (2007) estudaram 28 amostras de hortaliças minimamente processadas e apenas uma apresentou contagem de coliformes totais inferior a  $3 \text{NMP/g}$ , todas as outras apresentaram valores elevados de, até  $2,4 \times 10^4 \text{NMP/g}$ , enquanto a contagem de coliformes termotolerantes foi de  $< 3$  a  $1,1 \times 10^4 \text{NMP/g}$ .

Apesar de não haver legislação específica sobre a quantidade de *Staphylococcus* spp. tolerada em hortaliças e raízes/tubérculos minimamente processados no Brasil, sua detecção em alimentos está relacionada com o processamento e manipulação inadequados (BRUNO et al., 2005). Em estudo realizado por Bruno et al. (2005) verificou-se que, de um total de 30 amostras, apenas 2 amostras de hortaliças/tubérculos apresentavam *Staphylococcus* coagulase positiva. Ferreira et al. (2003) pesquisaram *Staphylococcus* spp em legumes e verduras minimamente processadas comercializadas em São Luis-MA e encontraram contagens de ordem de  $10^2 \text{UFC/g}$  em 15% das amostras.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram uma alta taxa de coliformes totais e termotolerantes em hortaliças, raízes e tubérculos minimamente processados comercializados em supermercados de Maringá-PR, mostrando que boa parte desses alimentos encontra-se em desacordo com a legislação brasileira, o que os torna impróprios para consumo. Além disso, foram encontradas, em algumas amostras, a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Essa contaminação pode ser justificada pela falta de higiene e intensa manipulação desses alimentos. Esse patógeno pode causar intoxicação alimentar devido algumas cepas de *S.* coagulase positiva produzir uma toxina altamente termoestável capaz de causar doença. Desta forma, conclui-se que devem ser revistos e averiguados com maior rigor o preparo, armazenamento e comercialização dos alimentos minimamente processados.

## REFERÊNCIAS

- AGUILA, JS del et al. Determinação da microflora em rabanetes minimamente processados. **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, p.75-78, 2006.
- AMORIM, AM; NASCIMENTO, KO. Caracterização do perfil de consumidores de alimentos minimamente processados. **Nutrição Brasil**, v.10, n.6, p.347-353, 2011.
- APHA. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, 2001. p.515-516.
- ASSIS, LLR; UCHIDA, NS. Análise da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas comercializadas em Campo Mourão, PR. **Brazilian Journal Of Surgery And Clinical Research**, v.5, n.3, p.17-22, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp.** Brasília, 2011.
- BRECHT, JK. Physiology of Lightly Processed Fruits and Vegetables. **HortScience**, v.30, n.1, p.18-22, 1995.
- BRUNO, LM et al. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em fortaleza (CE). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.23, n.1, p.75-84, 2005.
- BURNS, JK. Lightly Processed Fruits and Vegetables: Introduction to the Colloquium. **HortScience**, v.30, n.1, p.14, 1995.
- CANTWELL, MI; SUSLOW, TV. **Postharvest handling systems: fresh cut fruits and vegetables**. In: KADER, AA. (Ed.). Postharvest technology of horticultural crops. 3. ed. Davis: Califórnia, cap.36, p.445-463, 2002.
- CASTELLI, RM; BLUME, SI; RIBEIRO, GA. **Bactérias patogênicas em alimentos minimamente processados, comercializados na cidade de Pelotas, RS**. In: XVI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Pelotas. Anais, Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, p. 1-2, 2007.
- CHUA, D et al. Fresh-cut lettuce in modified atmosphere packages stored at improper temperatures supports enterohemorrhagic *E. coli* isolates to survive gastric acid challenge. **Journal of Food Science**, v.73, n.3, M148- M153, 2008.
- DURIGAN, JF; SARGENT, SA. Uso de melão Cantaloupe na produção de produtos minimamente processados. **Alimentos e Nutrição**, v.10, p.69-77, 1999.
- FERREIRA, MGAB et al. Aspectos higiênico-sanitários de legumes e verduras minimamente processados e congelados. **Rev Higiene Alimentar**, v.17, n.106, p.49-55, 2003.
- HANASHIRO, MM. **Relações de coordenação entre agricultura, indústrias e distribuição na cadeia produtiva dos produtos minimamente processados**. 2003. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico, espaço e Meio Ambiente) – Instituto de Economia da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), 2003.
- INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION. **Fresh-cut produce handling guidelines**. 3. ed. Newark, 39 p, 1999.
- MORETTI, CL. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. EMBRAPA / SEBRAE, 2007. Disponível em: < <http://www.sisbin.ufop.br/novoportal/wp-content/uploads/2015/03/Manual-de-Processamento-Minimo-de-Frutas-e-Hortaliças.pdf>> Acessado em 10 de junho de 2017.
- PINHEIRO, NMS et al. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente Processados comercializados em supermercados de Fortaleza. **Rev Brasileira Fruticultura**, v.27, n.1, p.153-156, 2005.
- ROMANICHEN, C et al. **Avaliação higiênico sanitária de alimentos minimamente processados**. V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica, Maringá – PR. 2010.
- SANTOS, JS; OLIVEIRA, MBPP. Fresh, minimally processed foods packaged under modified atmosphere. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.15, n.1, p.1-14, 2012.
- SILVA, SRP et al. Qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas comercializadas em Porto Alegre, Brasil. **Brazilian Journal Of Microbiology**. v.38, p.594-598, 2007.
- SOARES, NFF. Efeito da embalagem na conservação de produtos minimamente processados. **Anais**. Viçosa-MG, 2013. Disponível em: <<<http://www.cnph.embrapa.br/novidade/eventos/semipos/texto10.pdf>>>. Acesso em 24 de Abril de 2014.
- TRESSELER, JFM et al. Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas. **Ciência e Agrotecnologia**. v.33, p.1722-1727, 2009.