

Análise de coliformes totais e termotolerantes em vegetais minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros, Minas Gerais

Analysis of total and thermotolerant coliforms in minimally processed vegetables sold in a supermarket of Montes Claros, Minas Gerais

1. Waldirene Fernandes da **Silva**
2. Tatiane Barbosa do **Nascimento**
3. Leonardo Ferreira **Oliveira**
4. Núbia da Silva Ferreira **Fernandes**
5. Priscilla Maria Carvalho **Oliveira**

1. Graduanda em Nutrição pelas Faculdades Unidas do Norte de Minas.
2. Graduada em Nutrição pelas Faculdades Unidas do Norte de Minas.
3. Graduado em Biomedicina pelas Faculdades Integradas do Norte de Minas.
4. Graduanda em Farmácia pelas Faculdades Unidas do Norte de Minas.
5. Mestre em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Lavras. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Montes Claros.

Correspondência para:

 wal.fenix@yahoo.com.br

 R. Brasília de Minas, 4593, Brasília de Minas/MG.

RESUMO

Para hortaliças e frutos serem considerados produtos minimamente processados, estes devem ser submetidos a um ou mais métodos físico-químicos, como lavagem, descascamento, fatiamento e corte e sanitização, tornando-os prontos para o consumo ou preparo. A presença de coliformes nesse tipo de produto é um indicativo de condições sanitárias inadequadas durante o processamento, armazenamento, transporte ou comercialização; podendo assim reduzir a vida útil do alimento e também causar toxinfecção alimentar. Diante deste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar a quantificação de coliformes totais e coliformes termotolerantes em produtos minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros/MG. Um total de 5 amostras de produtos hortícolas minimamente processados foram adquiridas. Cada amostra era constituída por um kit para sopa onde continha abóbora, batata-inglesa, cenoura e chuchu. Com base na legislação brasileira os produtos minimamente processados analisados estavam inadequados para o consumo uma vez que 100% das amostras apresentaram resultados para coliformes termotolerantes maior que 10^2 NMP/g. O nível elevado de coliformes totais e termotolerantes detectados indicou má qualidade higiênico-sanitária dos produtos analisados.

Palavras-chave: vegetais minimamente processados, coliformes, termotolerantes.

ABSTRACT

To be considered minimally processed food, vegetables and fruits must be subjected to one or more physical or chemical changes, such as washing, peeling, slicing, cutting and sanitation, making them ready for consumption or preparation. The presence of coliforms in this type of product is indicative of inadequate sanitary conditions during processing, storage, transport or commercialization; which can reduce the lifespan of the food and also cause food poisoning. In this context, the aim of this study was the quantification of total and thermotolerant coliforms in minimally processed foods sold in a supermarket of Montes Claros/MG. A total of 5 samples of minimally processed vegetables were acquired. Each sample was composed of a soupkit which contained pumpkin, potatoes, carrots and chayote. Based on the Brazilian legislation, the minimally processed foods analyzed were unsuitable for consumption as 100% of the samples presented results for thermotolerant coliforms greater than 10^2 MPN/g. The high level of total and thermotolerant coliforms detected indicated poor sanitary quality of the products analyzed.

Keywords: minimally processed vegetables, coliforms, thermotolerants.

INTRODUÇÃO

Com a globalização, introdução da mulher no mercado de trabalho, as atividades do dia a dia, o aumento de pequenas famílias e de indivíduos que residem sozinhos, as pessoas procuram gastar menos tempo no preparo das refeições, assim surgem os alimentos minimamente processados (AMP), como uma tendência de mercado.

De acordo com Melo *et al.* (s.d), para hortaliças e frutos serem considerados produtos minimamente processados, estes devem ser submetidos a um ou mais métodos físicos, como lavagem, descascamento, fatiamento e corte, e em alguns casos a tratamentos químicos, tornando-os prontos para o consumo ou preparo. Após as etapas de processamento, os produtos devem apresentar atributos de qualidade, mantendo o máximo de suas características nutritivas e sensoriais, como o frescor, aroma, cor e sabor. Assim, é cada vez mais comum encontrarmos frutas e verduras já lavadas, higienizadas e embaladas, prontas para o consumo em supermercados, quitandas, sacolões e feiras livres.

Entre as várias etapas do processamento mínimo tem-se a limpeza e desinfecção dos alimentos. Segundo Maistro (2001), a quantidade de solo aderido à superfície do alimento determina o início da contaminação e a lavagem deverá ser o primeiro passo a que deverão ser submetidos os alimentos. Este procedimento consiste na limpeza por meio de ação mecânica, como, por exemplo, jatos d'água aplicados aos vegetais. A etapa de limpeza ajuda na redução da microbiota do produto, no entanto, quando não executada corretamente, pode agir de forma inversa, difundindo e aumentando a contaminação microbiana, como ocorre quando se reutiliza a água de lavagem. Já a desinfecção é o processo onde há a utilização de desinfetantes apropriados, que agem de forma a complementar a sanitização, mas pode não eliminar organismos patogênicos de um alimento pré-contaminado.

Romanichen *et al.* (2010) ressaltaram que, considerada a importância crescente de produtos frescos prontos para consumo no cenário mundial, nos últimos anos houve um aumento no número de surtos de infecção alimentar documentados, associados ao consumo de produtos frescos de origem vegetal, assim como os alimentos minimamente processados. Estes, durante o processamento, por permanecerem na forma *in natura* e sofrerem injúria, são susceptíveis à contaminação, tanto por agentes microbiológicos, físicos e químicos, fazendo com que o alimento se torne inseguro, podendo comprometer a saúde dos consumidores. Assim, o que seria uma rápida forma de consumo, pode tornar-se alvo de preocupações, pois a contaminação, principalmente microbiológica, pode promover surtos alimentares, colocando em risco a saúde da população. Santos *et al.* (2010) enfatizaram que a possibilidade de contaminação microbiológica ocorre devido a elevada manipulação e ao incremento do consumo de alimentos minimamente processados, tanto a nível doméstico quanto institucional.

Ainda de acordo com Romanichen *et al.* (2010), os produtos minimamente processados necessitam de cuidados quanto à contaminação microbiológica, sendo considerada essencial que as Boas Práticas de Fabricação sejam consultadas ou que as mesmas sejam instituídas pelas empresas que desejam obter uma inocuidade microbiológica para microrganismos patogênicos e que visa competitividade, assim como a adoção de um Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), tendo como foco as etapas sujeitas a contaminação, não somente microbiológicas, mas também de perigos (físicos e químicos) que podem comprometer a qualidade dos produtos, uma vez que a procura por produtos minimamente processados tem aumentado.

Está explícito que os produtos prontos para o consumo podem transportar patógenos, podendo causar doenças bacterianas e parasitárias. Desta forma torna-se necessário verificar as condições higiênico-sanitárias dos diversos produtos prontos para consumo principalmente as hortaliças que são consumidas cruas. Nas hortaliças minimamente processadas é esperado que nenhuma contaminação ocorra. Para avaliar esta situação é usada a quantificação de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, como indicador de contaminação. Assim quando comprovado o perigo à saúde, os produtos devem ser considerados impróprios para consumo (SILVA, 2006).

Os alimentos minimamente processados constituem um nicho de mercado em expansão tanto em nível nacional como mundial e a presença de coliformes nesse tipo de produto é um indicativo de condições sanitárias inadequadas durante o processamento, armazenamento, transporte ou comercialização; podendo assim reduzir a vida útil do alimento e também causar toxinfecção alimentar. Diante deste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar a quantificação de coliformes totais e termotolerantes em produtos minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros/MG.

METODOLOGIA

Amostras

Foram coletas 5 amostras representativas, de produtos hortícolas minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros/MG. Cada amostra era constituída por um kit para sopa contendo abóbora, batata-inglesa, cenoura e chuchu. Ressalta-se que, de acordo com o rótulo do fabricante, as amostras eram de um mesmo lote, a data de embalagem era 24/10/2013 e a data de validade 06/11/2013. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório Multidisciplinar I das Faculdades Integradas do Norte de Minas (FUNORTE).

Preparo das Amostras

Para identificação das amostras foram utilizadas letras (A, B, C, D e E) para reconhecer cada kit. Foram retiradas alíquotas de 25 g de cada amostra, sendo estas pesadas em um vidro relógio lapidado estéril, próximo ao bico de Bunsen. Posteriormente cada alíquota foi adicionada em frasco estéril contendo 225 ml de água peptonada a 0,1% (Himedia Laboratories Put. Ltda.). Após este procedimento, as amostras foram assepticamente liquidificadas. Diluições decimais a partir da diluição 10^{-1} foram preparadas em tubos contendo 9 ml de água peptonada a 0,1% (diluições 10^{-2} e 10^{-3}).

Determinação do Número Mais Provável (NMP)

Considerando as metodologias citadas por Silva *et al.* (2007) para a determinação do NMP/g, que indica o número aproximado de contaminantes encontrados, utilizou-se a técnica dos tubos múltiplos. Desta forma, como teste presuntivo para coliformes, foram inoculadas três séries de três tubos contendo 9 ml de Caldo Lauril Sulfato de Triptose (LST, Himedia Laboratories Put. Ltda.) com tubos de Durham invertidos, com um 1 ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} de cada amostra (A, B, C, D e E). Após inoculação, a incubação foi realizada em estufa bacteriológica a 37°C de 24 a 48 horas. Os tubos que apresentaram presença de gás no tubo de Durham e turvamento foram considerados positivos. Como teste confirmativo para coliformes totais com auxílio de uma alça de platina alíquotas dos tubos considerados positivos foram inoculadas em tubos contendo 10 ml de Caldo Verde Brilhante Bile (CVBB, Himedia Laboratories Put. Ltda.) com tubos de Durham invertidos e incubados a 37°C por 48 horas. Os tubos com produção de gás no tubo de Durham e turvamento foram considerados positivos. Da mesma forma para confirmação de coliformes termotolerantes alíquotas dos tubos positivos do LST, foram inoculadas com auxílio da alça de platina, em tubos contendo 10 ml de Caldo E. coli (Himedia Laboratories Put. Ltda.) com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas. Os tubos que apresentaram presença de gás no tubo de Durham e turvamento foram considerados positivos para a confirmação de coliformes termotolerantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que os 5 kits para sopa analisados apresentaram resultados positivos para coliformes totais e coliformes termotolerantes (Tabela 1). Desta forma todas as amostras apresentaram coliformes totais $> 1,1 \times 10^3$ NMP/g e coliformes termotolerantes $> 1,1 \times 10^3$ NMP/g. Os produtos analisados estavam em desacordo com a legislação vigente. No Brasil, a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é a resolução que estabelece os padrões microbiológicos sanitários dos alimentos destinados ao

consumo humano. Assim para hortaliças frescas, “in natura”, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas para consumo direto; o NMP/g de coliformes a 45 °C aceito é de 10^2 NMP/g. A legislação brasileira não preconiza limites de tolerância para coliformes totais, sendo assim a presença de coliformes é um indicativo da possibilidade da presença de espécies patogênicas servindo também como um parâmetro de avaliação das condições higiênicas do processo.

Amostras	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
A	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g
B	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g
C	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g
D	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g
E	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g	$> 1,1 \times 10^3$ NMP/g

Tabela 1: Análise de coliformes totais e coliformes termotolerantes em vegetais minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros, MG, 2013.

Alves *et al.*, (2010), ressaltaram em pesquisa sobre a vida útil de produtos minimamente processados compostos por um “mix” de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa que a baixa contaminação microbiana encontrada (coliformes a 45°C, inferior a 0,3 NMP/g), devia-se principalmente, aos cuidados higiênico-sanitários tomados durante o processamento e armazenamento, à manipulação adequada dos produtos, ao uso de refrigeração e embalagem com atmosfera modificada passiva. Ressaltaram também que a qualidade da matéria-prima e a sanitização realizada foram fundamentais para a conservação do “mix” de hortaliças minimamente processadas e prolongamento da sua vida útil.

Ainda de acordo com Alves *et al.* (2010), as hortaliças têm importante papel na alimentação humana, principalmente por serem excelentes fontes de vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos. E o “mix” de hortaliças se destaca no mercado, pelo fato desse produto apresentar características benéficas para o consumidor, já que reduz o tempo de preparo das refeições, requer menor espaço para o armazenamento e transporte e garante o acesso a produtos com diferentes valores nutricionais.

Oliveira *et al.* (2010), constataram em estudo com 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) a presença de coliformes totais e a confirmação de coliformes termotolerantes em 100% das análises, estando, portanto em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação (RDC 12 de 2001). No contexto deste resultado, salientaram ainda que os processos de limpeza e sanitização 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.

Paula *et al.* (2009) detectaram também que nos hortifrutícolas minimamente processados coletados em Brasília (espinafre, vagem, abóbora e alface crespa) e São Paulo (abacaxi, couve, moranga e salada de alface), apresentavam falhas no padrão de qualidade quanto aos índices de contaminação por coliformes a 45 °C, assim os produtos não atenderam aos padrões microbiológicos recomendados pela Legislação Federal. Da mesma forma em uma pesquisa realizada com frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE), realizada por Bruno *et al.* (2005), constatou-se que 53% das amostras de hortaliças analisadas apresentavam contagem de coliformes totais, superiores a 10³ NMP/g. Verificou-se também que 13,3% das amostras apresentaram contagem de coliformes fecais acima do padrão recomendado pela legislação vigente. Em relação aos coliformes termotolerantes, o mesmo ocorreu na pesquisa de Silva *et al.* (2006), onde sete amostras de hortaliças minimamente processadas apresentaram contagens de coliformes termotolerantes acima do exigido pela legislação brasileira (10² NMP/g).

Tendo em vista que a contaminação por microrganismos pode ocorrer fora do ambiente de processamento do alimento; Santos e Junqueira (2012), concluíram em uma pesquisa com couve minimamente processada, que a contaminação microbiológica por coliformes a 45°C ocorreu nas etapas que aconteceram fora da agroindústria; o ponto crítico da contaminação segundo os autores estava localizado na cadeia de frio, pois os resultados encontrados ao longo do processo produtivo até esse ponto estavam de acordo com a legislação específica e o mesmo lote do produto apresentava níveis de coliformes a 45°C diferentes, variando de acordo com o supermercado.

Práticas de manipulação inadequadas durante o processamento como na limpeza e sanitização dos alimentos minimamente processados estão relacionadas com a contaminação destes produtos. Por outro lado o alto índice de contaminação muitas vezes está associado a hábitos higiênicos inadequados do manipulador, Almeida *et al.* (1995), em seu trabalho sobre avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos, detectaram que os manipuladores do estudo raramente lavavam as mãos. Outro fator que pode estar correlacionado com contaminação dos alimentos é a mal higienização dos utensílios utilizados. Oliveira *et al.* (2011) constataram em pesquisa sobre superfície de manipulação de alimentos alta contaminação microbiológica; entre os utensílios analisados a tábua de poliestireno utilizada no corte de alimentos, apresentou 100% de contaminação em todas amostras pesquisadas.

Com todas estas indagações a respeito dos produtos minimamente processados, está explícito a necessidade da implantação de Boas Práticas de Fabricação e a adoção de um Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle desde a produção até a entrega no consumidor final, bem como a necessidade de fiscalização pelos órgãos competentes, visto que em outras pesquisas realizadas no Brasil a maioria dos produtos minimamente processados encontravam-se em condições inadequadas para o consumo.

CONCLUSÃO

Com base na legislação brasileira os produtos minimamente processados analisados encontravam-se inadequados para o consumo uma vez que 100% das amostras apresentaram resultados para coliformes termotolerantes maior que 10² NMP/g. O nível elevado de coliformes totais e termotolerantes detectados indicou má qualidade higiênico-sanitária dos produtos analisados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. C. C.; KUAYE, A. Y.; SERRANO, A. M.; ALMEIDA, P. F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde Pública**, Salvador, v. 29, n. 4, p. 290-294, 1995. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/rsp/v29n4/06.pdf>>. Acesso em: 05/11/2013.
- ALVES, J. A.; BOAS, E. V. B. V.; SOUZA, E. C.; BOAS, B. M. V.; PICCOLI, R. H. Vida útil de produto minimamente processado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 182-189, jan./fev., 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v34n1/23.pdf>>. Acesso em: 02/11/2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 12 de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 02/11/2013.
- BRUNO, L. M.; QUEIROZ, A. A. M.; ANDRADE, A. P. C.; VASCONCELOS, M. N.; BORGES, M. F. Avaliação Microbiológica de Hortaliças e Frutas Minimamente Processadas Comercializadas em Fortaleza (CE). **B. CEPPA**, Curitiba, v.23, n. 1, p.75-84, jan./jun., 2005. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/alimentos/article/viewFile/1272/1066>>. Acesso em: 02/11/2013.
- MAISTRO, L. C. Alface Minimamente Processada: Uma Revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, V. 14, n. 3, p. 219-224, set./dez., 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v14n3/7788>>. Acesso em: 25/02/2013.
- MELO, B. SILVA, C. A.; ALVES, P.R.B. **Processamento Mínimo de Hortaliças e Frutas**. S.d. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/pminimo.htm>>. Acesso em: 25/02/2013.
- OLIVEIRA, G. C.; LIMA, W. C.; RAUECKER, U. N. Contaminação Microbiana de Superfície de Manipulação de Alimentos em Cozinhas de Escolas Estaduais do Município de Trindade-GO. **II**

Seminário de pesquisas e TCC da FVG. 2011. Disponível em: <http://fug.edu.br/2010/pdf/tcc/f_contaminacao_microbiana.pdf>. Acesso em: 05/11/2013.

OLIVEIRA, A. R. C.; SILVEIRA, I. A.; OLIVEIRA, R. M. E.; MEDONÇA, D. P.; COSTA, L. M. A. S.; NOGUEIRA, I. E. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Hortaliças Convencionais, Orgânicas Minimamente Processadas e Orgânicas "In natura". **XIX Congresso de Pós-Graduação da UFLA.** 2010. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/lavras/resumos/1298.pdf>>. Acesso em: 02/11/2013

PAULA, N. R. F.; BOAS, E. V. B.; RODRIGUES, L. J.; CARVALHO, R. A.; PICCOLI, R. H. Qualidade de Produtos Minimamente Processados e Comercializados em Gôndolas de Supermercados nas Cidades de Lavras – MG, Brasília – DF e São Paulo – SP. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 219-227, jan./fev., 2009. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v33n1/v33n1a31.pdf>>. Acesso em: 02/10/2013.

ROMANICHEN, C.; ZIROLDO, D. F.; SANTOS, R. A. M.; SOUZA, L. B. G. **Avaliação Higiénico Sanitária de Alimentos Minimamente Processados.** Maringá, 2010. Disponível em: <http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/mostras/quin_mostra/cristiane_romanichen.pdf>. Acesso em: 25/02/2013.

SANTOS, A. P. R.; JUNQUEIRA, A. M. R. Gestão da Qualidade na Couve Minimamente Processada no Distrito Federal: O Caso da Agroindústria Machadinho. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.4, p.337-352, 2012. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev144/Art1445.pdf>>. Acesso em: 03/11/2013.

SANTOS, T. B. A., JUNQUEIRA, N. S. 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. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/html/busca/PDF/v13n2416a.pdf>>. Acesso em: 15/10/2013.

SILVA, S. R. P. **Avaliação Bacteriológica e Parasitológica em Hortaliças Minimamente Processadas comercializadas em Porto Alegre – RS.** 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7568/000548623.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 15/10/2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SILVA, M. P. CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do Padrão Coliformes a 45 °C e Comparação da Eficiência das Técnicas dos Tubos Múltiplos e Petrifilm EC na Detecção de Coliformes Totais e Escherichia Coli em Alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.26, n.2, p.352-359, abr.-jun. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000200018>. Acesso em: 03/11/2013.

Recebido em 19-JUN-2014
Aceito em 4-SET-2014