

## AVALIAÇÃO HIGIÊNICO SANITÁRIA DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

**Cristiane Romanichen<sup>1</sup>, Débora Fernanda Zirolto<sup>1</sup>; Rogério Aparecido Minini dos Santos<sup>2</sup>; Louremi Bianchi Gualda de Souza<sup>2</sup>**

**RESUMO:** Os alimentos minimamente processados (AMP) são frutas e hortaliças, ou suas combinações, alteradas fisicamente devido ao processamento, mas que permanecem ainda em estado *in natura* prontas para o consumo. Estes alimentos por sua vez, apresentam uma maior taxa de deterioração se comparados ao produto inteiro, tornando-se mais susceptíveis a contaminação microbiológica. O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise microbiológica dos AMP disponíveis nos supermercados da cidade de Maringá - Paraná. Pesquisou-se em amostras de repolho, couve, cenoura, beterraba e preparado para Yakissoba: Coliformes Totais (CT) e Coliformes Fecais (CF) pela técnica dos tubos múltiplos (Número Mais Provável – NMP), Mesófilos e *Salmonella* sp.. Das 22 amostras analisadas, 5 (23%) apresentaram contaminação por *Escherichia coli*, microorganismo proveniente de contaminação fecal e 7 (32%) amostras mostraram-se contaminadas por *Salmonella* sp, uma das principais bactérias causadoras de enterocolites. A contagem de mesófilos foi superior a  $3,48 \times 10^{15}$ , não podendo ser avaliado quanto a este aspecto, devido a falta de parâmetros legais que estabeleçam valores mínimos para os mesmos. Já com relação ao NMP, este foi superior a 240/g de alimento. Todos estes aspectos microbiológicos avaliados levaram ao conhecimento da baixa condição higiênico sanitária desses alimentos, indicando a necessidade de criação de normas regulamentadoras que venham a atender as exigências mínimas para produção destes, visto que podem eventualmente, trazer riscos de saúde e insegurança ao consumidor.

**Palavras-chave:** Coliformes; Mesófilos; Processamento Mínimo; *Salmonella* sp.

### 1 INTRODUÇÃO

Segundo a International Fresh Cut Produce Association (IFPA) produtos minimamente processados podem ser definidos como frutas e hortaliças, ou suas combinações, que tenham sido fisicamente alteradas, mas que permaneçam em estado fresco. O processamento mínimo compreende as operações de seleção, classificação, pré-lavagem, fatiamento, sanitização, enxágue, centrifugação, embalagem e refrigeração, visando a manutenção do produto fresco, saudável e na maioria das vezes, pronto para o consumo (PINELI & ARAÚJO, 2006 apud CASTELLI; BLUME; RIBEIRO, 2007).

Os alimentos minimamente processados (AMP), tais como frutas e hortaliças intactas, deterioram-se após a colheita devido a alterações fisiológicas. Entretanto, as lesões provocadas durante o processamento promovem a descompartimentalização celular e possibilitam o contato de enzimas e substratos, que originam modificações bioquímicas, como escurecimento, formação de odores desagradáveis e perda da textura original. Além disso, o descascamento e o corte de frutas e vegetais favorecem a

<sup>1</sup> Acadêmicas do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – Pr. Programa de Iniciação Científica Cesumar (PICC). [cristianerdra@hotmail.com](mailto:cristianerdra@hotmail.com); [debby\\_zirolto@hotmail.com](mailto:debby_zirolto@hotmail.com)

<sup>2</sup> Orientadores e Docentes do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. [louremi@cesumar.br](mailto:louremi@cesumar.br); [rogeriominini@yahoo.com.br](mailto:rogeriominini@yahoo.com.br)

colonização dos tecidos vegetais por microrganismos deteriorantes e patogênicos (VAROQUAUX; WILEY, 1997 apud PINHEIRO et.al., 2005).

Por omitir a etapa de processamento que visa à eliminação da carga microbiana, tais alimentos podem veicular patógenos. Microrganismos patogênicos, juntamente com os deteriorantes, podem contaminar os produtos de origem vegetal por fontes diversas, principalmente quando a etapa de processamento que visa a eliminação da carga microbiana é omitida. A contaminação pode ser iniciada na fase de plantio, nos campos, quando há o contato com solo, água, fezes de animais, insetos e manipuladores; continua durante as etapas de colheita, manuseio, transporte da matéria-prima até a indústria e durante processamento, finalizando-se no preparo do produto pelo consumidor. Tais alimentos podem veicular patógenos de importância para a saúde pública, contribuindo para a ocorrência de surtos (BEAN et. al., 1997 apud VANETTI, 2002; PINELI; COELHO, 2006).

Considerada a importância crescente de produtos frescos prontos para consumo no cenário nacional e internacional, nos últimos anos houve um aumento no número de surtos de infecção alimentar documentados, associados ao consumo de produtos frescos de origem vegetal, tais como os alimentos minimamente processados. Estes, durante o processamento, por permanecerem na forma *in natura* e sofrerem injúria, são passíveis de contaminação, tanto por agente microbiológicos, físicos e químicos, fazendo com que o alimento se torne inseguro, podendo comprometer a saúde dos consumidores. Assim, o que seria uma forma rápida de consumo, pode tornar-se alvo de preocupações, pois a contaminação, principalmente microbiológica, pode promover surtos alimentares, colocando em risco a saúde da população

Mediante o exposto, foi de extrema importância avaliar microbiologicamente os AMP que estão sendo disponibilizados nos supermercados da cidade de Maringá-PR, atentando-se para as Boas Práticas de Fabricação e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle, visando o consumo, uma vez que a população adquire estes produtos pensando na praticidade e total segurança, não se preocupando com a procedência dos mesmos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com amostras de vegetais e hortaliças minimamente processadas disponibilizadas nos supermercados da cidade de Maringá – PR, bem como nas feiras livres da cidade, totalizando 22 amostras (7 amostras de couve, 4 de cenoura, 4 de beterraba, 3 de repolho e 4 de preparado para Yakissoba).

As análises microbiológicas desses alimentos foram realizadas para pesquisa de Coliformes Totais (CT) e Fecais (CF), Mesófilos e determinação de *Salmonella* sp..

Para as análises microbiológicas foram utilizadas 25 gramas de cada amostra, trituradas individualmente com 225ml de água peptonada, assepticamente e acondicionadas em Erlenmeyer, correspondendo à diluição  $10^{-1}$ , ocorrendo posteriormente, sucessivas diluições em tubo de ensaio, a partir desta, até a diluição  $10^{-7}$ .

Tais tubos foram submetidos à incubação em estufa bacteriológica à  $36^{\circ}\text{C}$  por um período de 24 horas. O tubo cuja última diluição apresentou turvação, foi levado à bancada e em placas de petri, assepticamente, foi transferida uma alíquota de 1 ml para ágar PCA (Agar Padrão para Contagem). Tal técnica foi empregada para a Contagem de Mesófilos e as placas foram incubadas por 48 horas em estufa bacteriológica à  $35^{\circ}\text{C}$ , com posterior leitura e obtenção dos resultados em (UFC) Unidades Formadoras de Colônias por grama de alimento.

Para a determinação de Coliformes Totais e Fecais pela Técnica do NMP (Número Mais Provável), partiu-se da diluição  $10^{-1}$ , transferindo-se 1 ml para tubos de Caldo Lauril Sulfato de Sódio, sendo os mesmos incubados à  $35^{\circ}\text{C}$  em estufa bacteriológica por 24 horas. A partir do crescimento transferiu-se uma alíquota para meios seletivos: Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante, incubando-os à  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e Caldo EC (*Escherichia coli*), incubados a  $45,5^{\circ}\text{C}$  em estufa por 24 horas. Posteriormente, inocularam-se as amostras em placas de Petri contendo Ágar EMB (Eosina Azul de Metileno), incubadas a  $35^{\circ}\text{C}$  em estufa por 24 horas. A partir das colônias isoladas obtidas, identificou-se os microrganismos presentes por meio das provas bioquímicas.

Para a determinação de *Salmonella* spp, transferiram-se alíquotas em Caldo Selenito Cistina e Caldo Rappaport. Os tubos de Selenito partiram para incubação a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e os tubos Rappaport foram submetidos à temperatura de  $42^{\circ}\text{C}$  de 24 a 48 horas. Posteriormente, inocularam-se em placas com meio de cultura Hektoen à temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$ , obtendo-se culturas isoladas que foram identificadas por meio das provas bioquímicas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se a presença de Coliformes Totais e Fecais (CT e CF), 21 amostras (95%) apresentaram contagem  $>2400$  NMP/g e 1 amostra (5%) 23NMP/g de alimento para CT. O grupo dos CT é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, dentre ela os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, estando os três últimos presentes em vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. A presença de CT nos alimentos não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Com relação aos CF, 19 amostras (86%) apresentaram contagem  $>2400$  NMP/g, 2 amostras (9%) 240 NMP/g e 1 amostra (5%) 93 NMP/g de alimento e 5 amostras (23%) estavam contaminadas com *Escherichia coli*. Segundo Pinheiro e cols. (2005) a presença de CF indica contato direto e/ou indireto com fezes, uma vez que a *E. coli* não faz parte da microflora normal de produtos frescos, por apresentar habitat exclusivo no intestino de homens e animais de sangue quente. Além de indicar a possível presença de enteropatógenos, várias cepas de *E. coli* são patogênicas ao homem.

Das 22 amostras analisadas, 7 amostras (32%) apresentaram *Salmonella* sp, estando em desacordo com a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, que preconiza ausência deste microrganismo em 25 gramas de hortaliças frescas *in natura* preparados. O trabalho de Pinheiro e cols. (2005) com 100 amostras de frutos minimamente processados, mostrou 25% de contaminação por *Salmonella* sp. como também Tresseler e cols. (2009) que de acordo com a análise de 126 amostras, 12,7% apresentaram contaminação por *Salmonella* sp.

Em detrimento, um estudo realizado por Prado; Ribeiro; Capuano; Aquino; Rocha; Bergamini (2008) em 70 amostras de hortaliças (alface, couve, repolho, acelga, chicória, espinafre, almeirão, rúcula, agrião) embora tenham obtido 14 amostras (20%) em desacordo com a Legislação, não detectou *Salmonella* sp., assim como Vitti; Kluge; Gallo; Schiavinato; Moretti; Jacomino (2004) que também registraram a ausência deste microrganismo em experimentos com beterrabas minimamente processadas.

Com relação a determinação de Mesófilos, os resultados obtidos foram superiores a  $3,48 \times 10^{15}$  UFC/g, havendo uma exceção apresentando  $3,41 \times 10^7$  UFC/g. Estes resultados mostraram-se superiores aos encontrados por Vanetti e cols. (2004) através do estudo pesquisando-se mesófilos em repolhos minimamente processados, no qual

encontrou-se um valor de  $10^4$  UFC/g de alimento, e também por Nguyen-The e Carlin (1994) que relataram uma variação na contagem de bactérias mesófilas de  $10^3$  a  $10^9$  UFC/g em frutas e hortaliças minimamente processadas.

Portanto, o elevado grau de contaminação por mesófilos evidenciado, embora não possa ser associado como risco à saúde do consumidor, por não haver identificação das espécies, indica que tais alimentos não suportariam um tempo de armazenamento longo, acarretando prejuízos econômicos.

Em uma amostra analisada (4%), caracterizou-se a presença de *Escherichia fergusonii*, uma bactéria da Família *Enterobacteriaceae* que tem sido associada com uma grande variedade de infecções extra-intestinais e intestinais em humanos e animais. Contudo, apesar de indícios fortes, o grau em que o microrganismo é responsável pela identificação de patologias permanece incerto (WRAGG; RAGIONE; BEST; REICHEL; ANJUM; MAFURA; WOODWARD, 2009).

Além de microrganismos patogênicos, foram encontradas bactérias do gênero *Enterobacter* (36%), *Serratia* (18%) e *Klebsiella* (14%), as quais são responsáveis por causar deterioração de alimentos, sendo que não há provas conclusivas quanto a patogenicidade vinculada a alimentos. Todavia, é questionável a importância desses microorganismos como agente de doença de origem alimentar.

#### 4 CONCLUSÃO

Mediante aos resultados obtidos, a amostragem apresentou-se heterogênea com relação ao isolamento de microrganismos quanto à pesquisa de Coliformes Totais e Fecais, no entanto homogênea para a quantidade do NMP/g de alimento, demonstrando grande contaminação e ultrapassando a contagem permitida pela legislação.

A presença de *Salmonella* sp. em AMP é intrigante, demonstrando um meio propício para seu crescimento e multiplicação, embora considerado atípico. O principal reservatório deste microrganismo é o trato gastrointestinal do homem e dos animais principalmente aves e suínos, indicando que a contaminação pode ser oriunda dos manipuladores.

Os vegetais minimamente processados necessitam de grande cuidados quanto à contaminação microbiológica, sendo considerado essencial que se revejam as Boas Práticas de Fabricação ou que as mesmas sejam instituídas pelas empresas que desejam obter uma inocuidade microbiológica para microrganismos patogênicos e que visam competitividade, assim como a adoção de um Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), almejando atentar-se para etapas passíveis de contaminação, não somente microbiológicas, mas também de perigos (físicos e químicos) que possam estar prejudicando a qualidade de seus produtos, uma vez que tal opção de produto é cada vez mais procurada pelos consumidores.

O consumidor deve estar atento à procedência do produto e, no momento do uso estar avaliando as condições sensoriais e a durabilidade dos produtos, fortemente caracterizada pela presença dos microrganismos deteriorantes, que pode ser minimizada pelas etapas corretas de processamento, bem como pelo controle de temperatura e condições de armazenamento. Tal fato é comprovado com a obtenção de apenas uma amostra analisada dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação vigente.

#### REFERÊNCIAS

CASTELLI, R. M.; BLUME, S. I.; RIBEIRO, G. A. **Bactérias patogênicas em alimentos minimamente processados, comercializados na cidade de Pelotas, RS.** XVI Congresso de Iniciação Científica, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2006.

NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** Boca Raton, v. 34, n.4, p.371-401, 1994.

PINHEIRO, N. M. S.; FIGUEIREDO, E. A. T.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de fortaleza. **Revista Brasileira Fruticultura.** Jaboticabal. São Paulo, 27, n. 1, p. 153-156. 2005.

PRADO, S. de P. T; RIBEIRO, E. G. A.; CAPUANO, D. M.; AQUINO, A. L de; ROCHA, G. de M.; BERGAMINI, A. M.M. Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz.** São Paulo v.67.n.3, p. 221-227, 2008.

TRESSELER, J. F.; FIGUEIREDO, E.A. T.; FIGUEIREDO, R.W.; MACHADO, T. F.; DELFINO, C. M.; SOUSA, P.H.M. Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas. **Ciências Agrotecnológicas,** Lavras, Rio Grande do Sul, v.33, ed. especial, p.1722-1727, 2009.

VANETTI, M. C. D. **Aspectos microbiológicos de produtos minimamente processados.** In: Seminário Internacional de Pós-colheita e processamento mínimo de frutas e hortaliças. Anais. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2002. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br>>. Acesso em: 26 de março de 2010.

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

VITTI, M. C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C. R.; SCHIAVINATO, M. A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A. P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira.** Brasília, v.39, n.10, p.1027-1032, out., 2004.

WRAGG, P.; RAGIONE, R.M; BEST, A.; REICHEL, R.; ANJUM, M.F.; MAFURA, M.; WOODWARD, M.J. Caracterização da *Fergusonii coli* isoladas de animais usando uma *Escherichia coli* matriz gene de virulência e da cultura ensaios de adesão tecidual. **Investigação em Ciências Veterinárias.** v.86. fev., 2009.