



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
JOSIANE FERNANDA METLER TRESSELER

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE HORTALIÇAS
MINIMAMENTE PROCESSADAS COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DA
CIDADE DE FORTALEZA-CEARÁ

FORTALEZA-CE
2005

JOSIANE FERNANDA METLER TRESSELER

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE HORTALIÇAS
MINIMAMENTE PROCESSADAS COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DA
CIDADE DE FORTALEZA-CEARÁ**

Dissertação apresentada ao Mestrado de Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Evânia Altina
Teixeira de Figueiredo

FORTALEZA-CE

2005

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T734a Tresseler, Josiane Fernanda Metler.

Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas comercializadas em supermercados da cidade de Fortaleza-Ceará / Josiane Fernanda Metler Tresseler. – 2005.

77 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2005.
Orientação: Profa. Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo.

1. Vegetais minimamente processados. 2. Sanitização. 3. Vida de prateleira. I. Título.

CDD 664

JOSIANE FERNANDA METLER TRESSELER

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE HORTALIÇAS
MINIMAMENTE PROCESSADAS COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DE
FORTALEZA-CEARÁ**

Dissertação apresentada ao Mestrado de Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 02/08/2005.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^º. Dr^º. Raimundo Wilane de Figueiredo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Terezinha Feitosa Machado
Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical – EMBRAPA

A Deus.

**A meus pais, João Fernando e Maria
Zilda.**

À minha irmã, Luciana.

Ao meu amor, Isnack.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Robert Taylor pelo incentivo e acolhida de seus familiares na cidade de Fortaleza-CE, sem os quais a estadia inicial teria sido cercada de dificuldades.

À Prof^a. Dr^a. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo pela dedicação, paciência e orientação.

Ao Prof^o. Dr^o. Raimundo Wilane de Figueiredo pelos apontamentos efetuados para a melhoria do trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Terezinha Feitosa Machado pela correção desta dissertação.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) por conceder bolsa de Mestrado durante parte do curso.

Aos estagiários, bolsistas e amigos do Laboratório de Ciências Agrárias pela presteza e amizade.

A todo corpo docente do DTA/CCA/UFC, pelos ensinamentos durante o curso de pós-graduação.

Aos funcionários do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos.

RESUMO

A microbiota é um fator de grande importância na qualidade e conservação de vegetais minimamente processados. Muitos microrganismos podem afetar adversamente a qualidade e a segurança destes produtos, considerando que microrganismos patogênicos, que normalmente não estariam presentes, passam a compor a microbiota contaminante decorrente do manuseio a que são submetidos. Este trabalho objetivou determinar a qualidade microbiológica de hortaliças, anterior e posteriormente ao processo de sanitização, como também o período final da vida de prateleira dos produtos sanitizados, avaliando-se a presença de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp., o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais, contagem de microrganismos aeróbios psicotróficos e bolores e leveduras. Foram analisadas amostras de agrião, alface, cenoura ralada, espinafre, repolho verde ralado e rúcula minimamente processados. As amostras não sanitizadas foram analisadas no mesmo dia da coleta (dia 1), e as sanitizadas analisadas nos dias 1, 5 e 8 após o processamento, a fim de determinar a condição microbiológica dos produtos. As hortaliças foram armazenadas sob uma temperatura de 5°C. *Salmonella* sp foi detectada em 12,7% das amostras, enquanto *L. monocytogenes* não foi encontrada em nenhuma delas. A presença de *Salmonella* sp tornaram 16 amostras impróprias para o consumo humano, de acordo com a RDC nº 12. Observaram-se que 21,4% das amostras apresentaram contagens de coliformes totais superiores a 10^2 UFC g⁻¹. Foram detectadas 4,8% das amostras contaminadas com *Escherichia coli* apresentando contagens de até $1,6 \times 10^3$ UFC g⁻¹. Para psicotróficos, 31,7% das amostras apresentaram valores de 10^3 UFC g⁻¹ e 25,4% valores de 10^4 UFC g⁻¹ do produto. Para bolores e leveduras, foi observado que 32,5% das amostras apresentaram contagens superiores a 10^3 UFC g⁻¹, atingindo contagens de 10^6 UFC g⁻¹.

Palavras-chave: vegetais minimamente processados; sanitização; vida de prateleira.

ABSTRACT

The microbiota is a factor of great importance in the quality and conservation of minimally processed vegetables. Many microorganisms can adversely affect the quality and safety of these products, considering that pathogenic microorganisms, which would not normally be present, become part of the contaminating microbiota resulting from the handling to which they are subjected. This study aimed to determine the microbiological quality of vegetables, before and after the sanitization process, as well as the final shelf-life period of the sanitized products, evaluating the presence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* sp., the Most Probable Number (MPN) of total and fecal coliforms, counts of aerobic psychotropic microorganisms and molds and yeasts. Minimally processed samples of watercress, lettuce, grated carrot, spinach, grated green cabbage and arugula were analyzed. Non-sanitized samples were analyzed on the same day of collection (day 1), and sanitized samples were analyzed on days 1, 5 and 8 after processing, in order to determine the microbiological condition of the products. The vegetables were stored at a temperature of 5°C. *Salmonella* sp was detected in 12.7% of the samples, while *L. monocytogenes* was not found in any of them. The presence of *Salmonella* sp made 16 samples unfit for human consumption, according to RDC nº 12. It was observed that 21.4% of the samples had total coliform counts above 10^2 CFU g⁻¹. 4.8% of samples contaminated with *Escherichia coli* were detected with counts of up to 1.6×10^3 CFU g⁻¹. For psychrotrophs, 31.7% of the samples presented values of 10^3 CFU g⁻¹ and 25.4% values of 10^4 CFU g⁻¹ of the product. For molds and yeasts, it was observed that 32.5% of the samples presented counts higher than 10^3 CFU g⁻¹, reaching counts of 10^6 CFU g⁻¹.

Keywords: minimally processed vegetables; sanitization; shelf life.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do processamento de hortaliças minimamente processadas.	26
Figura 2 – Fluxograma do processamento de agrião, alface, espinafre e rúcula minimamente processados.	45
Figura 3 – Fluxograma do processamento de cenoura ralada minimamente processada.....	47
Figura 4 – Fluxograma do processamento de repolho verde minimamente processado.....	48
Figura 5 – Fluxograma geral do processamento de hortaliças minimamente processadas apresentando os pontos de coleta da água indicados por * (asterisco).....	50

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Porcentagem das amostras de hortaliças minimamente processadas em acordo com os padrões legais vigentes e impróprias para consumo..... 59
- Gráfico 2 – Redução da população de microrganismos psicrotróficos após a sanitização das hortaliças minimamente processadas..... 60
- Gráfico 3 – Aumento da população de microrganismos psicrotróficos nas hortaliças minimamente processadas sanitizadas, observado ao final do período de armazenamento..... 61
- Gráfico 4 – Redução da população de bolores e leveduras obtida após sanitização das hortaliças minimamente processadas..... 63
- Gráfico 5 – Aumento da carga microbiana de bolores e leveduras em agrião, repolho ralado e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento..... 64
- Gráfico 6 – Redução da população microbiana de Coliformes Totais após sanitização das hortaliças minimamente processadas..... 65
- Gráfico 7 – Aumento da carga microbiana de coliformes totais em espinafre e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento..... 66
- Gráfico 8 – Redução da população microbiana *E. coli* após sanitização das hortaliças minimamente processadas..... 67
- Gráfico 9 – Redução da carga microbiana de *E. coli* em espinafre e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento..... 68
- Gráfico 10 – Número de amostras de hortaliças contaminadas com *Salmonella* sp... 69

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados da contagem de microrganismos psicotróficos (UFC g⁻¹) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias..... 80
- Tabela 2 – Resultados da contagem de bolores e leveduras (UFC g⁻¹) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias..... 81
- Tabela 3 – Resultados da contagem de coliformes totais (UFC g⁻¹) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias..... 82
- Tabela 4 – Resultados da contagem de *Escherichia coli* (UFC g⁻¹) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias..... 83
- Tabela 5 – Resultados da detecção de *Salmonella* sp em hortaliças minimamente processadas, sendo estas “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias 84
- Tabela 6 – Resultados da detecção de *Listeria monocytogenes* em hortaliças minimamente processadas, sendo esta “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias.... 85

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	23
2.1	Geral	23
2.2	Específico	23
3	REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1	Processamento Mínimo de Vegetais	24
3.2	Processo de Sanitização	29
3.3	Contaminação Microbiana de Produtos Frescos	32
3.4	Microbiologia de Vegetais Minimamente Processados	35
3.5	Patógenos	37
3.6	Fatores que Afetam a Qualidade de Hortaliças Minimamente Processadas	39
3.7	Características Fisiológicas dos Produtos Minimamente Processados	41
4	MATERIAL	43
5	MÉTODOS	44
5.1	Delineamento Experimental	44
5.1.1	<i>Tratamento dos Dados</i>	44
5.2	Amostra	44
5.2.1	<i>Hortaliças</i>	44
5.2.2	<i>Água</i>	45
5.3	Descrição das Etapas dos Fluxogramas Apresentados nas Figuras 2,3, 4 e 5	45
5.4	Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes ...	50
5.4.1	<i>Teste Presuntivo</i>	50
5.4.2	<i>Confirmação de Coliformes Totais</i>	51
5.4.3	<i>Confirmação de Coliformes Fecais</i>	51
5.5	Procedimentos para Retirada da Unidade Analítica das Hortaliças	51
5.6	Preparo da Amostra e das Diluições	51
5.7	Contagem Total de Microrganismos Aeróbios Psicotróficos por Plaqueamento em Superfície (“Spread Plate”)	51

5.8 Contagem Total de Bolores e Leveduras por Plaqueamento em Superfície (“Spread Plate”)	52
5.9 Detecção de <i>Salmonella</i> sp	52
5.9.1 Pré-Enriquecimento	52
5.9.2 Isolamento	52
5.9.3 Identificação	53
5.9.3.1 Teste de Urease	53
5.9.3.2 Teste de Indol.....	53
5.9.3.3 Teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (VM-VP)	54
5.9.3.4 Teste de Citrato.....	54
5.9.3.5 Teste Sorológico Somático Polivalente.....	54
5.10 Detecção de <i>Listeria monocytogenes</i>	55
5.10.1 Enriquecimento	55
5.10.2 Enriquecimento Seletivo	55
5.10.3 Isolamento	55
5.10.4 Identificação	56
5.10.4.1 Teste de Motilidade	56
5.10.4.2 Teste de Hemólise.....	56
5.10.4.3 Teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (VM-VP)	56
5.10.4.4 Teste de Fermentação da Rhamnose, Xilose e Manitol.....	57
5.10.4.5 Coloração de Gram	57
5.10.4.6 Teste de Catalase	57
5.11 Contagem de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i>	57
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.1 Contagem Total de Microrganismos Aeróbios Psicotróficos	59
6.2 Contagem de Bolores e Leveduras	62
6.3 Contagem Coliformes Totais	64
6.4 Contagem de <i>Escherichia coli</i>	66
6.5 Detecção de <i>Salmonella</i> sp	68
6.6 Detecção de <i>Listeria monocytogenes</i>	70
6.7 Água	71
7 CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	79

1 INTRODUÇÃO

Os produtos minimamente processados são um segmento da indústria processadora de vegetais, que vem obtendo uma crescente participação no mercado de produtos frescos desde a sua introdução nos Estados Unidos há anos e no mercado francês no início da década de 80. No Brasil, a utilização desta forma de consumo começou no princípio da década de 90, e nos últimos anos tem apresentado uma evolução significativa no incremento de vendas, principalmente, pela expansão dos serviços de comida rápida e a nível doméstico, visto que as hortaliças e frutos minimamente processados oferecem inúmeros benefícios, tais como: redução do tempo de preparo da refeição, maior padronização e qualidade mais consistente, maior acesso a frutos e hortaliças mais saudáveis, menos espaço para armazenagem, embalagem de armazenamento facilitado e redução do desperdício (CENCI, 2000), além de fornecer uma grande variedade de vitaminas, minerais e outros fitoquímicos, os quais são importantes para a saúde humana (TOURNAS, 2005).

No Brasil, de acordo com algumas estimativas, esta indústria representou algo em torno de U\$ 300 milhões de dólares em negócios no ano de 1998 (TEIXEIRA, 2004).

A demanda de consumo por frutas e hortaliças, tanto frescas como parcialmente processadas, está associada à importância e influência na dieta para combate de várias doenças crônicas como as doenças coronarianas, obesidade e alguns tipos de câncer, associadas aos excessos alimentares ou dietas não balanceadas. Por outro lado, a conveniência da vida atual conduziu à produção de número amplo de produtos que são oferecidos para consumo imediato (DAREZZO, 2000). No entanto, um aumento no consumo de produtos minimamente processados tem resultado em um aumento frequente de casos de doenças associadas com hortaliças e frutas cruas (BRACKETT, 1999).

A microbiota é um fator de grande importância na qualidade e conservação de vegetais minimamente processados. Muitos microrganismos podem afetar adversamente a qualidade e a segurança destes produtos, considerando que microrganismos patogênicos que normalmente não estariam presentes podem passar a fazer parte da microbiota contaminante decorrente do manuseio a que são submetidos (ROSA *et al*, 2000).

Embora o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes em produtos minimamente processados possa ser inibido ou retardado pela combinação adequada de atmosfera modificada e temperatura, pesquisas devem ser conduzidas para avaliar o risco potencial desses produtos veicularem patógenos, principalmente aqueles psicrotróficos que são os mais relevantes para a segurança de vegetais frescos minimamente processados. A refrigeração não é uma barreira eficiente para impedir a sua multiplicação, e o aumento do tempo de vida útil permite que a bactéria alcance números suficientes para provocar infecção alimentar nos consumidores.

Assim, para prolongar a vida útil dos produtos, torna-se necessário estudar os efeitos fisiológicos e qualitativos causados pelo processamento mínimo, principalmente relacionados à atividade de microrganismos, à atividade enzimática, entre outros, que reduzem a vida útil e modificam os atributos sensoriais importantes para o mercado consumidor (CENCI, 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a segurança e qualidade microbiológica em hortaliças minimamente processadas comercializadas na cidade de Fortaleza-CE.

2.2 Específico

- Avaliar a presença de patógenos em hortaliças minimamente processadas;
- Avaliar e quantificar microrganismos deteriorantes em hortaliças minimamente processadas;
- Avaliar e quantificar microrganismos indicadores sanitários em hortaliças minimamente processadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Processamento Mínimo de Vegetais

Produtos frescos têm se tornado um dos alimentos mais desejados pelo consumidor, que os distingue como saudáveis, saborosos e convenientes. Todas estas características são fortes atrativos para um consumidor consciente e com pouca disponibilidade de tempo. A indústria de frutas e hortaliças tem experimentado um crescimento sólido, como ilustrado por dados que retratam o aumento de consumo, vendas e o espaço destinado a estes produtos nos supermercados e cardápios de restaurantes (FDA, 2001).

A INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION (2001), define produto minimamente processado 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.

Ainda, segundo WILEY (1997), frutas e hortaliças minimamente processadas são as preparadas mediante uma única ou várias operações unitárias apropriadas, tais como descascamento, fatiamento em rodela, picamento, obtenção de suco, entre outras, associadas a um tratamento de conservação não definitivo que pode incluir o uso de aquecimento mínimo, conservante ou irradiação.

De acordo com CHITARRA (1998), os produtos que passaram por processamento mínimo, também são conhecidos como produtos levemente processados, processados frescos, cortados frescos ou pré-preparados.

O conceito de comercialização de vegetais minimamente processados “fresh-cut”, ou seja, frescos, higienizados, descascados e fatiados, tem sido aplicado comercialmente para alface, agrião, rúcula, espinafre e outras hortaliças de folha, cenoura, couve-flor, brócolis, cebola, repolho e suas combinações em saladas mistas (ROSA e CARVALHO, 2000).

A contaminação de hortaliças minimamente processadas com patógenos pode ocorrer durante o processamento, através da manipulação (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994), porém, pode ser evitada pela implantação das boas práticas de fabricação (BENNIK *et al*, 1996).

O processamento mínimo de frutas e hortaliças tem dois propósitos: primeiro, conservar a característica de frescor do produto, e ainda fornecê-lo de uma forma

conveniente sem causar a perda de sua qualidade nutricional; segundo, o produto deve ter vida de prateleira suficiente para permitir sua distribuição adequada e atender aos anseios do consumidor (AHVENAINEN, 1996).

Frutas e hortaliças estão sujeitas ao contato com o solo, areia e lama, e devem ser cuidadosamente higienizadas antes do processamento (WILEY, 1997). O primeiro passo na redução da contaminação da hortaliça crua é remover os resíduos da camada externa. As hortaliças prontas para consumo são completamente lavadas e frequentemente mergulhadas em soluções antimicrobianas. Este procedimento reduz o nível microbiano inicial, deste modo reduzindo a taxa da subsequente deterioração microbiana e minimizando populações de patógenos potenciais. O agente de lavagem pode ser somente água, mas a eficácia da lavagem é melhorada por inclusão de antimicrobianos, tipicamente o cloro (100 ppm) ou ácido cítrico e ácido ascórbico (1%) na água de lavagem (FRANCIS *et al*, 1999).

Algumas hortaliças ou frutas, como as batatas, cenouras ou maçãs, requerem descascamento. Vários métodos de descascamento são oferecidos, entretanto em uma escala industrial, o descascamento é normalmente realizado mecanicamente, com uso de cilindros rotativos, ou através de produto químico ou vapor a alta pressão. Usualmente, recomenda-se uma segunda lavagem que ocorre após o descascamento ou corte, e que logo em seguida a água seja cuidadosamente removida do produto, o que se dá geralmente através da centrifugação (REYES, 1996; WILEY, 1997).

As hortaliças prontas para consumo são armazenadas sob temperaturas de refrigeração (2 a 5°C). O controle estrito da refrigeração e a conservação da vida de prateleira curta, limita a oportunidade de crescimento de patógenos e microrganismos deteriorantes (FRANCIS *et al*, 1999).

As considerações fundamentais no processamento mínimo de frutas e hortaliças resumem-se nas seguintes: boa qualidade dos materiais crus (correta variedade da cultivar, cultivo, colheita e armazenamento corretos), pois a qualidade do produto cru necessita ser excelente para assegurar a qualidade do produto minimamente processado (WATADA *et al*, 1996); higiene estrita e boas práticas de fabricação, aplicação dos princípios de análise e pontos críticos de controle; baixas temperaturas durante o processamento; limpeza cuidadosa e/ou lavagem antes e após o descascamento; boa qualidade da água (sensorial, microbiológica, físico-química) para lavagem; uso de aditivos suaves na água de lavagem para desinfecção ou a prevenção de escurecimento; leves rotações na secagem após lavagem; leve

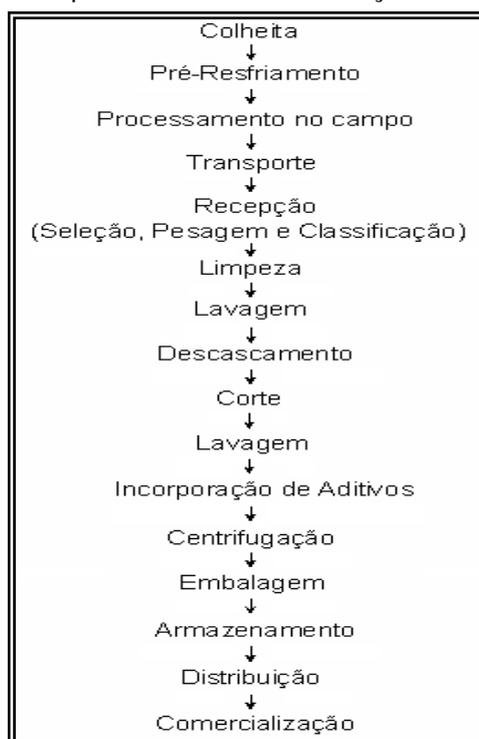
descascamento; leve corte, picamento ou fatiamento; material e métodos de armazenamento adequados, temperatura e umidade adequadas durante a distribuição e venda (AHVENAINEN, 1996).

Os produtos prontos para consumo, geralmente, são mais perecíveis que os intactos porque são sujeitos a severos estresses físicos, como o descascamento, corte, fatiamento, picamento, aparamento, e/ou descaroçamento, e remoção das células epidérmicas de proteção (SCHLIMME, 1995). A utilização de métodos de corte moderado resulta em taxas mais baixas de respiração sugerindo que os efeitos sobre o tecido são menos severos (GLEESON e O'BEIRNE, 2005).

Produtos minimamente processados apesar de não receberem tratamentos como processos térmicos ou de resfriamento, são submetidos a etapas que podem afetar a sua segurança microbiológica, como imersão em água e operações como corte e fatiamento, contato humano, que têm potencial para contaminar o produto com bactérias patogênicas (BRACKETT *et al*, 1994 apud BRACKETT, 1999).

Na Figura 1 encontra-se o fluxograma do processamento de hortaliças minimamente processadas.

Figura 1 – Fluxograma do processamento de hortaliças minimamente processadas.



Fonte: CHITARRA, 1998.

A seguir tem-se a descrição das etapas do fluxograma apresentado na Figura 1.

Colheita: a colheita das hortaliças é realizada no ponto de sua maturidade hortícola, específico para cada produto, o qual varia de acordo com as condições climáticas, solo, cultivar e estrutura botânica – folhas, frutos, inflorescência, raiz e caule subterrâneo.

Pré-resfriamento: as hortaliças devem ser resfriadas rapidamente com água gelada ou câmaras frias, armazenadas nessas últimas até serem transportadas.

Processamento no campo: quando a área de processamento é distante do campo de produção, algumas técnicas de manuseio pós-colheita são de extrema importância, como o pré-resfriamento, citado anteriormente. Além desse resfriamento realizado em câmaras frias, após a colheita, as hortaliças colocadas em caixas apropriadas, podem ser armazenadas à sombra ou em locais cobertos, preferencialmente equipados com sistema de pulverização com água limpa, evitando-se o murchamento e ressecamento do produto.

Transporte: as operações envolvidas no transporte do campo para a área de processamento são as responsáveis por grande parte das injúrias mecânicas, que depreciam a qualidade da matéria-prima, resultando numa maior perda e menor eficiência no processamento. Esse transporte deve ser feito o mais rápido possível e de forma cuidadosa, utilizando-se caixas apropriadas para cada produto e, preferencialmente, em caminhões refrigerados ou, em último caso, cobertos com lonas térmicas.

Recepção (seleção, pesagem e classificação): a recepção da matéria-prima deve ser realizada em local apropriado, externo à área de processamento, coberto e com plataforma de alvenaria para descarregamento das caixas. As etapas de pesagem para controle de produção e de qualidade são realizadas durante a recepção, subsequentemente ao descarregamento das caixas. A matéria-prima, quando necessário, deverá ser armazenada em câmara fria até o início do processamento. E, antes de ser processada, deve ser selecionada e classificada, a fim de não se contaminar a área de processamento e de se obter um produto final de boa qualidade. A seleção é a etapa de eliminação dos materiais impróprios para o consumo e das partes das hortaliças não processadas, como, por exemplo, folhas velhas, talos, raízes e inflorescências estragadas. A classificação consiste na separação da matéria-prima de acordo com as características de forma, tamanho e peso, para facilitar o manuseio durante o processamento.

Limpeza: se refere à eliminação da matéria estranha, ou seja, é uma forma de separação relacionada com a eliminação de galhos, sujidades, terra, ramos, areia, insetos, pesticidas e outros resíduos de fertilizantes nas hortaliças (CHITARRA, 1998).

Lavagem: é realizada, na maioria das vezes, por imersão em água clorada com concentração de até 200 ppm de cloro livre por um período de 10 a 15 minutos, com ou sem agitação, com posterior enxágue em água tratada para remoção de resíduos do produto.

Descascamento: pode ser realizado manualmente, ou utilizando-se outros métodos, como por exemplo, vapor à pressão elevada, água quente, álcalis, ácido, pelagem cáustica seca com aquecimento por infravermelho, entre outros. O descascamento por abrasão em máquinas especiais pode ser utilizado para batata e cenoura.

Corte: o tipo de corte ou fatiamento dependerá do mercado e do produto a ser processado. Todo processo de corte manual deve ser realizado com facas afiadas e sanitizadas com solução à base de cloro. Alguns produtos como cenoura e beterraba minimamente processadas geralmente são comercializados em diferentes tipos de corte, como por exemplo, em cubos, raladas, em rodela e em palito.

Lavagem: após o corte, a matéria-prima deve ser lavada em água fria (4°C), circulante, para o resfriamento do produto e a retirada de suco celular, resultante do corte. Em seguida, deve ser sanitizada por meio de imersão em água fria e clorada (150-200 ppm de cloro livre), por um período de 5 a 10 minutos, e posteriormente, imersa novamente em água fria tratada (3 ppm de cloro livre) por mais 5 minutos para retirada do excesso de cloro.

Incorporação de aditivos: o processamento mínimo, às vezes, é associado a um tratamento parcial de conservação não definitivo que pode incluir o uso de aquecimento mínimo, um conservante ou irradiação (WILEY, 1997).

Centrifugação: a centrifugação visa retirar o excesso de água presente no produto em decorrência das etapas de lavagem, sanitização e enxágues, além de resíduos do suco celular. É realizada em centrífugas industriais ou domésticas, por um período de 3 a 10 minutos, dependendo do produto, do equipamento e do grau de ressecamento que eles apresentam quando centrifugados. Hortaliças com cortes muito finos, como couve e repolho, podem ser centrifugadas em sacos de nylon, o que facilita o seu manuseio e a limpeza posterior da centrífuga.

Embalagem: as hortaliças, como estruturas vivas, continuam respirando mesmo após o processamento e, portanto, as embalagens plásticas utilizadas devem permitir que alterações desejáveis ocorram na composição gasosa da atmosfera interna (oxigênio, gás carbônico e etileno) após o seu acondicionamento nessas embalagens. Essas alterações desejáveis são as responsáveis, em grande parte, pela redução da taxa respiratória e pelo conseqüente aumento na conservação das hortaliças. Isso é alcançado com a utilização de embalagens próprias para cada produto e, em alguns casos, também com a aplicação, no seu interior, de misturas gasosas comercializadas pelas grandes empresas industriais.

Armazenamento: o armazenamento do produto final é feito em câmaras frias, com temperatura em torno de 5°C e umidade relativa alta, até a sua distribuição. Considera-se funcional o uso de câmaras frias simples, de fácil construção e instalação.

Distribuição: a distribuição do produto deverá ser refrigerada, em torno de 5°C, sendo os produtos acondicionados em embalagens primárias e secundárias.

Comercialização: os produtos minimamente processados devem ser comercializados a baixas temperaturas. Caso possível, devem ser mantidos sob temperaturas de 4°C. A exposição de um menor número de unidades de comercialização aliada a uma maior freqüência de reposição da mercadoria é preferível, em função da maior manipulação e oscilações de temperatura nas bancas de comercialização, o que pode comprometer a vida de prateleira do produto (BOAS, 2004).

3.2 Processo de Sanitização

Segundo o Guia para Minimização de Riscos Microbianos em Produtos Hortifrutícolas Frescos (FDA, 1998), sanitizar significa tratar os produtos hortifrutícolas através de um processo que é eficaz para destruir ou reduzir substancialmente o número de microrganismos preocupantes para a saúde pública, assim como outros microrganismos indesejáveis, sem afetar adversamente a qualidade do produto ou a segurança do consumidor, e, quando aplicada posteriormente à manipulação, pode ser um importante fator determinante para a segurança do produto (BENNIK, 1996).

O elevado nível microbiano dos produtos após a colheita, pode ser substancialmente reduzido por uma limpeza direta em água corrente clorada e a distribuição sob refrigeração controlada (AHVENAINEN, 1996).

A eficácia do método utilizado para reduzir populações microbianas é usualmente dependente do tipo do tratamento, tipo e fisiologia dos microrganismos atingidos, características da superfície do produto (fissuras, tendências hidrofóbicas, textura), tempo de exposição e concentração do líquido de limpeza/sanitizante, pH e temperatura (FDA, 2001).

Uma importante etapa do processamento de hortaliças minimamente processadas é a lavagem completa, que consiste na imersão das hortaliças em solução antimicrobiana, conseqüentemente reduzindo a população microbiana. A lavagem com cloro é amplamente usada para reduzir a carga microbiana inicial durante a preparação destes produtos, e contendo teor de cloro livre de 100 mg L^{-1} , tem sido indicada para reduzir em 100 vezes o número de bactérias sobre alface (ADAMS *et al*, 1989). Em alguns países do oeste da Europa, como a França, o uso de soluções cloradas (contendo acima de 120 ppm de cloro livre) é aprovado para lavagem comercial de hortaliças minimamente processadas (BENNIK, 1996).

A atividade antimicrobiana do cloro depende do teor de hipoclorito ácido presente na água. Isto, por conseguinte, depende do pH, da quantidade de material orgânico e, por extensão, da temperatura da água (IFPA, 2001). Os compostos clorados em solução aquosa, liberam ácido hipocloroso (HOCl) e o íon hipoclorito (ClO^-), sendo o ácido hipocloroso o agente bactericida, pois não tendo carga elétrica, é capaz de atravessar a membrana celular dos microrganismos e paralisar a produção de energia na glicólise, por meio da inibição da enzima responsável pela clivagem da frutose difosfato, oxidando proteínas celulares, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de componentes celulares, levando o microrganismo à morte (ANDRADE, 1985 apud VALLE, 2001).

Vários estudos *in vitro* têm sido efetuados para determinar os efeitos do hipoclorito de sódio sobre *Listeria monocytogenes*, apresentando resultados bastante efetivos na eliminação deste patógeno (FRANCIS *et al*, 1999). Entretanto, a eliminação de *L. monocytogenes* da superfície de hortaliças por desinfecção é limitada e imprevisível (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994). Esta ineficiência pode ser devido a vários fatores, dentre eles uma solução aquosa de hipoclorito pode não umedecer a

superfície hidrofóbica da película de cera ou não penetrar nas fendas, dobras e aberturas naturais das hortaliças (ADAMS *et al*, 1989).

ZHUANG *et al* (1995) examinaram a eficácia do tratamento de cloro na inativação de *Salmonella montevideo* na superfície e interior de tomates, onde observaram que populações desta bactéria foram reduzidas, substancialmente, por mergulho dos tomates em soluções contendo 60 ou 100 ppm de cloro, respectivamente; entretanto, tratamentos em soluções com 320 ppm de cloro não resultaram na inativação completa.

Em um estudo realizado por ALLENDE *et al* (2004) a lavagem com água clorada foi efetiva para reduzir até 2 log UFC g⁻¹ na contagem bacteriana em alface vermelha minimamente processada. Entretanto, somente é considerado eficiente, quando as contagens iniciais não são excessivamente elevadas, pois no caso de altas contagens iniciais uma redução de até 2 log UFC g⁻¹, não seria significativa.

A exemplo do hipoclorito de sódio, a susceptibilidade ao dióxido de cloro difere com a cepa e condições do ambiente de aplicação. A população de *Listeria monocytogenes* inoculada sobre alface em tiras foi reduzida em uma quantidade de 1,1 e 0,8 log a temperaturas de 4°C e 22°C, respectivamente, após o tratamento com 5 ppm de dióxido de cloro por 10 minutos quando comparado com a lavagem sem uso do dióxido de cloro (ZHANG e FARBER, 1996).

Cloreto de sódio acidificado tem sido aprovado para o uso sobre certas carnes, aves, frutas e hortaliças frescas por pulverização ou banho em concentrações de 500 a 1200 ppm (FDA, 2001).

A praticidade de tratamentos com peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que parece ser uma alternativa promissora para substituição do tratamento com uso de cloro para a lavagem de produtos minimamente processados, foi estudado por SAPERS e SIMMONS (1998). Em testes com pepinos, pimentão verde, e abobrinha, estes autores encontraram que a imersão de vegetais em uma solução de 5 ou 10% de H₂O₂, por não mais que 2 minutos, antes do fatiamento, foram altamente efetivos para retardar a putrefação.

A atividade dos ácidos orgânicos depende do pH e de sua estrutura (CHERRY, 1999). Alguns autores têm sugerido o uso de ácidos orgânicos como o peracético ou octanóico para sanificar superfícies de hortaliças (HILGREN e SALVERDA, 2000 apud ZHANG e FARBER, 1996). O uso de ácido acético para inativar bactérias patogênicas sobre salsa fresca tem sido estudado. Populações de *Yersinia enterocolitica* inoculadas

sobre folhas de salsa foram reduzidas em ciclos menores que 7 log após lavagem por 15 minutos em solução de 2% de ácido acético ou 40% de vinagre. Tratamento com 5% de ácido acético por 30 minutos não resultou em nenhuma recuperação de bactérias aeróbicas, enquanto o tratamento com vinagre resultou em um declínio das contagens de aeróbias, dependendo sobretudo da concentração do vinagre e do tempo de exposição (FDA, 2001).

Uma revisão realizada por NGUYEN-THE e CARLIN (1994) concluiu que, em geral, baixas contagens bacterianas alcançadas através da sanitização com produtos químicos, rapidamente voltam a atingir os níveis das contagens iniciais, enquanto baixas contagens adquiridas, aplicando-se o processo de irradiação, persistem durante o armazenamento.

A radiação ionizante de ^{60}Co e ^{137}Cs , ou máquina geradora de elétrons, é usada como um meio de estender a vida de prateleira de produtos, porém a dose utilizada para o tratamento de hortaliças deve ser respeitada, pois produtos tratados com doses acima de 1 kGy não podem ser chamados de “frescos” (FDA, 2001).

A irradiação a dosagens permitidas (até 1 kGy), pode reduzir microrganismos, mas não os eliminar completamente, devendo ser vista como um suplemento útil para boas práticas de sanitização e controle de temperatura, e não como um substituto para o manuseio cuidadoso (ZAGORY, 1999).

Ozônio é um tratamento efetivo para água potável e para inativação de bactérias, fungos, vírus e protozoários, entretanto pouco tem sido relatado sobre a inativação de patógenos no produto (FDA, 2001).

3.3 Contaminação Microbiana de Produtos Frescos

Frutas e hortaliças cultivadas, inevitavelmente, contêm microrganismos comuns ao solo (IFPA, 2001).

A escolha do local da plantação é, provavelmente, um fator inicial que contribui para afetar a segurança. A história da terra sobre a qual o produto irá crescer é um fator frequentemente ignorado. Campos onde gado ou animais selvagens pastam, provavelmente, são mais contaminados com patógenos entéricos (TAUXE, 1997 apud NACMCF, 1999). Algumas bactérias podem sobreviver no solo por meses ou anos. É muito difícil ou impossível controlar a contaminação de solos em áreas de produção. Consequentemente, isso somente significa que o produtor tenha um controle da

contaminação bacteriana de frutas e hortaliças durante a produção, se evitar aqueles campos que tenham uma recente história de pastagem animal ou animais com hemorragias. Isto é particularmente importante em produtos que tenham uma vida de prateleira curta e que serão consumidos relativamente logo após a colheita (BRACKETT, 1999).

Fatores intrínsecos bem como extrínsecos determinam a extensão da população de microrganismos associados com frutas e hortaliças em um dado ponto da produção e do manejo pós-colheita, assim influenciando a taxa e o tipo de deterioração que, eventualmente, torna o produto não comestível. Superfícies de frutas, talos, raízes, flores e folhas, por exemplo, são caracterizadas por um microambiente original, que influencia a colonização de bactérias, leveduras e mofos, como também a fixação destes microrganismos, parasitas e vírus. O ambiente no qual os vegetais crescem, impõem fatores extrínsecos que influenciam a sobrevivência e crescimento associado a microbiota da superfície, enquanto parâmetros intrínsecos como a natureza do epitélio e a cutícula protetora, pH do tecido, e a presença de antimicrobianos ditam qual grupo de microrganismos pode ser mais provável que outros para se hospedarem em certos tipos de tecidos danificados (BEUCHAT, 2002).

Há várias etapas na cadeia de produção de produtos frescos e alguns pontos potenciais para contaminação microbiana em cada uma destas etapas (BEUCHAT, 1996). Fatores que podem resultar na contaminação pré-colheita de produtos frescos incluem esterco como fertilizante, contaminação fecal de animais selvagens e funcionários, uso de água contaminada para irrigação, presença de animais domésticos e manipulação humana. A nível de pós-colheita, fatores críticos incluem o uso de água ou gelo contaminados, manipulação, presença de animais, uso de equipamentos ou veículos contaminados, processamento inadequado, contaminação cruzada, armazenagem imprópria, temperaturas inadequadas e embalagem (NGUYEN-THE e CARLIN 1994; NACMCF, 1999; TOURNAS, 2005). As caixas, bolsas, sacos e veículos utilizados para o transporte de vegetais frescos são fontes adicionais de microrganismos, principalmente por apresentarem, mesmo quando higienizados, materiais aderidos que são focos de contaminação (FRAZIER, 1993).

Casos de listeriose humana têm sido associados ao consumo de hortaliças cruas, provavelmente devido à contaminação por esterco de ruminantes (BEUCHAT, 1996). Como indicado pelas investigações epidemiológicas, doenças associadas com frutas e hortaliças frescas são primariamente aquelas transmitidas pela rota oral-fecal.

Isto implica que o controle da contaminação fecal é a primeira preocupação, e as discussões são bastante voltadas para esse aspecto. Entretanto, deve-se notar que não são todos patógenos que podem ser correlacionados como indicadores de contaminação fecal, e há outros patógenos dos quais a fonte primária não são as fezes (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994).

Enquanto os produtos frescos podem servir como fonte de todas as classes de patógenos de origem alimentar (bactérias, vírus, protozoários, fungos e helmintos) (NACMCF, 1999), a grande preocupação é relacionada a estes produtos serem uma fonte de contaminação potencial na indústria, pois uma vez presente, a bactéria patogênica pode se estabelecer e tornar-se uma fonte de contaminação cruzada para outros produtos que entram na linha de processamento (BRACKETT, 1999). O risco das doenças é ampliado por causa do potencial crescimento existente anteriormente ao consumo (NACMCF, 1999).

O crescimento, sobrevivência, e inativação dos microrganismos sobre frutas e hortaliças frescas são dependentes da interação de quatro fatores principais: (1) as características e potencialidades dos microrganismos presentes; (2) o estado fisiológico do tecido da planta e sua inerente resistência aos processos metabólicos microbianos; (3) as características do ambiente ao redor do tecido vegetal (por exemplo, pH, atividade de água e composição da atmosfera); (4) o efeito do metabolismo vegetal e do processamento utilizado sobre as populações microbianas (NACMCF, 1999).

As principais alterações microbianas encontradas em vegetais frescos estão relacionadas à ação fúngica caracterizada pelo amolecimento dos tecidos devido à degradação, principalmente, da pectina, além de outros componentes de sustentação dos tecidos vegetais (AWAD, 1993).

TOURNAS (2005) observou que o crescimento de *Penicillium* em brotos de feijão, alface e brócolis, aumentou durante a refrigeração. Alguns destes organismos encontrados em hortaliças frescas e brotos como os de feijão, alface, cebola, alho, lentilha, entre outros, são potencialmente toxigênicos e capazes de produzir micotoxinas, enquanto crescem nestes produtos, ao passo que outros são patogênicos para humanos, constituindo um perigo à saúde do consumidor.

3.4 Microbiologia de Vegetais Minimamente Processados

O perfil microbiológico de alimentos vegetais depende de diversos fatores que vão desde a etapa de produção primária até o seu preparo para consumo final. O solo parece ser o responsável pela maioria das contaminações, seguido da utilização de água não tratada para irrigação e condições impróprias de lavagem e armazenagem (PALÚ *et al*, 2002).

A qualidade e segurança microbiológica desses alimentos podem também ser comprometidas por manipulação incorreta e utilização de equipamentos não sanitizados, que contribuem para o aumento das populações microbianas e contaminação cruzada por patógenos. Procedimentos como corte e retirada de casca levam, geralmente, ao aumento do número de microrganismos e diminuição da vida de prateleira (PALÚ *et al*, 2002). Durante o descascamento, corte e fatiamento, a superfície do produto é exposta ao ar e a uma possível contaminação por bactérias, mofo e leveduras (AHVENAINEN, 1996).

Em particular, no caso das hortaliças minimamente processadas, em que a maioria delas encontra-se dentro da categoria de baixa acidez (pH 5,8 a 6,0), alta umidade e um grande número de superfícies que podem fornecer condições para o crescimento de microrganismos (WILLOCX *et al*, 1994 apud AHVENAINEN, 1996; WILEY, 1997). O fatiamento e o corte em pedaços, bem como a refrigeração imprópria durante a armazenagem, têm sido associados com o aumento do número de microrganismos aeróbios mesófilos (NGUYEN-THE e CARLIN 1994). Operações como corte e picamento destroem a superfície celular, ferindo as camadas adjacentes e permitindo que o suco celular escape do interior dos tecidos sobre o equipamento e sobre o produto minimamente processado (GLEESON e O'BEIRNE, 2005), o que fornece um excelente meio para o rápido crescimento de microrganismos. Cortadoras e fatiadoras podem ser fontes potentes de contaminação porque, geralmente, abrigam bactérias (GARG, CHUREY e SPLITTSTOESSER, 1990). A presença de superfícies cortadas permite a infiltração microbiana e fornece uma área de superfície maior para contaminação e crescimento (BRACKETT, 1994 apud FRANCIS *et al*, 1999). A possível penetração de patógenos no interior do tecido ferido, resulta em melhor sobrevivência e crescimento sobre as superfícies cortadas. O fornecimento de nutrientes e umidade é também importante no crescimento bacteriano sobre as superfícies injuriadas de frutas e hortaliças (GLEESON e O'BEIRNE, 2005).

Portanto, durante os processos de corte e picamento, pode ocorrer um aumento do número de bactérias presentes. GARG *et al* (1990) relataram que retalhadoras usadas para preparar alface e repolho foram as maiores fontes de contaminação em uma fábrica de produtos minimamente processados. GLEESON e O'BEIRNE (2005) concluíram que diferentes métodos de corte afetam o crescimento e sobrevivência de *Escherichia coli* e *Listeria innocua* e apresentam somente efeitos desprezíveis na contagem total de bactérias. Assim, parece que diferentes métodos de corte usados podem resultar em diferentes respostas de acordo com o tipo de microrganismo presente. Cortes usando um tratamento suave, como um rasgar com a mão ou um corte manual com uma lâmina de navalha afiada, reduzem a sobrevivência e o crescimento de *Escherichia coli* e *Listeria innocua* devido à baixa quantidade de nutrientes fornecidos e menor dano ao tecido. Como uma consequência, os procedimentos de descontaminação devem ser mais eficientes sobre a navalha de corte ou sobre as mãos durante o rasgamento dos vegetais, reduzindo populações de patógenos como *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7, que podem contaminar as hortaliças minimamente processadas (GLEESON e O'BEIRNE, 2005).

Em muitos tipos de alimentos crus ou minimamente processados, a microbiota é frequentemente composta de variadas espécies (SCHUENZEL e HARRISON, 2002). As bactérias geralmente encontradas sobre os produtos frescos-cortados são as mesmas encontradas normalmente sobre o produto no campo. A microbiota de hortaliças e frutas é amplamente constituída de *Pseudomonas* spp., *Erwinia herbicola*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, e *Enterobater agglomerans* bem como de vários mofo. *Pseudomonas* normalmente dominam e podem fazer parte de 50 a 90% da população microbiana de muitas hortaliças (GARG *et al*, 1990; ZAGORY e HURST, 1996 apud ZAGORY 1999).

O processamento mínimo pode favorecer o aumento da degradação microbiológica através da transferência da microbiota da casca do fruto para a polpa, onde os microrganismos podem crescer rapidamente. Os principais microrganismos deteriorantes diretamente envolvidos com a diminuição da vida útil destes produtos são as bactérias pectinolíticas, bactérias lácticas e leveduras (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994; WATADA *et al*, 1996). Leveduras que são comumente encontradas em saladas de hortaliças minimamente processadas incluem *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Candida* (BRACKETT, 1994 apud FRANCIS *et al*, 1999).

JACXSENS *et al* (2003) estudaram a relação entre qualidade microbiológica, produção de metabólitos e qualidade sensorial de alguns produtos minimamente processados. Constataram uma relação entre o crescimento de microrganismos contaminantes, as propriedades sensoriais e a produção de metabólitos, onde bactérias lácticas e leveduras formaram a microflora contaminante dominante.

Em um estudo realizado por GARG *et al* (1990) muitas das hortaliças apresentaram números significantes de bactérias psicotróficas em torno de $2,7 \times 10^5$ UFC g⁻¹. Em hortaliças como alface, espinafre e cenoura, a contagem de mesófilos e psicotróficos foi similar. Isto é algo preocupante, pois a população inicial de psicotróficos afeta a vida de prateleira de alimentos conservados sob refrigeração.

Hortaliças prontas para consumo retêm muito da sua microflora natural após o processamento mínimo. As bactérias pectinolíticas tais como *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, e *Pseudomonas viridiflava* têm sido identificadas tanto em hortaliças frescas como em hortaliças minimamente processadas (VAROQUAUX e WILEY, 1997). Patógenos podem fazer parte desta microbiota, causando um potencial problema de segurança (FRANCIS *et al*, 1999). Relatos têm indicado que as hortaliças minimamente processadas podem ser ocasionalmente contaminadas com patógenos como *Listeria monocytogenes* (BEUCHAT *et al*, 1987 apud BABIC *et al*, 1996), que poderá crescer nos produtos minimamente processados a níveis nocivos, sob um período extenso de tempo, em temperaturas de refrigeração (IFPA, 2001).

A produção de hortaliças minimamente processadas pode ser regulada pelas boas práticas de fabricação (BPF) para minimizar a contaminação (FDA, 2001).

3.5 Patógenos

A sobrevivência ou crescimento de um patógeno em um produto cru ou não pasteurizado são ditados pela sua potencialidade metabólica. Entretanto, manifestações destas potencialidades metabólicas podem ser influenciadas grandemente pelos fatores ecológicos intrínsecos e extrínsecos, naturalmente presentes no produto ou imposto por um ou mais pontos durante todo o sistema de produção, processamento, distribuição, preparação e local de consumo (BEUCHAT, 2002).

Bactérias patogênicas são aquelas capazes de causar doenças em humanos (IFPA, 2001). *Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva em forma de

bastão e que possui flagelo. É patogênica e causa várias doenças em humanos incluindo meningite, septicemia e abortos (ICMSF, 1996).

Uma consideração particular a *Listeria monocytogenes* é sua habilidade para se multiplicar sob temperaturas de refrigeração, em que a temperatura mínima para o seu crescimento é indicada como sendo $-0,4^{\circ}\text{C}$ (WALKER e STRINGER, 1987 apud FRANCIS *et al*, 1999). Temperaturas de refrigeração podem até inibir, porém não previnem a multiplicação de *Listeria monocytogenes* (ICMSF, 1996). Anaeróbia facultativa, é capaz de sobreviver/crescer em hortaliças minimamente processadas sob baixas concentrações de O_2 dentro de embalagens com atmosfera modificada (FRANCIS *et al*, 1999).

Uma vez que *L. monocytogenes* geralmente ocorre no solo e em ambiente agrícola, ela está naturalmente presente em muitas hortaliças. Contaminação de hortaliças por *L. monocytogenes* pode ocorrer através de práticas agrícolas, como a irrigação, utilizando água poluída, ou adubação com esterco contaminado (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994).

Clostridium botulinum é um membro do gênero *Clostridium*, caracterizado como Gram-positivo, em forma de bastonete, formador de esporo e anaeróbio obrigatório (ICMSF, 1996). Esporos de *C. botulinum*, que fornecem proteção a condições adversas às que estão presentes, estão distribuídos em solos, sedimentos aquáticos e trato digestivo dos animais e pássaros. Assim, hortaliças são potencialmente contaminadas durante o crescimento, colheita e processamento (RHODEHAMEL, 1992).

Aeromonas hydrophila é uma bactéria pertencente à família Vibrionaceae, Gram-negativa, em forma de bastonete. Esta bactéria causa um amplo espectro de infecções (septicemia, meningite e endocardite) em humanos, frequentemente em portadores imunocomprometidos. *Aeromonas* spp. tem sido associada epidemiologicamente com a diarreia dos viajantes. É psicrotrófica, cresce lentamente a 0°C , mas temperaturas de 4 a 5°C sustentam seu crescimento em hortaliças. É anaeróbia facultativa, capaz de crescer em atmosferas contendo baixas concentrações de oxigênio (ICMSF, 1996). É também associada com o solo (BRANDI *et al*, 1996) e uma grande extensão de alimentos, incluindo vegetais frescos (FRANCIS *et al*, 1999), e foi também recuperada de uma salada de hortaliças (GARCÍA-GIMENO *et al*, 1997).

Escherichia coli, espécie típica do gênero Enterobacteriaceae, é um habitante comum do trato gastrointestinal de animais. Apesar da posição comensal da maioria das cepas, cepas patogênicas, particularmente a enterohemorrágica *E. coli* O157:H7,

tem emergido como um patógeno altamente significativa (ICMSF, 1996). O principal reservatório de *E. coli* O157:H7 é o trato gastrointestinal bovino (DOYLE, 1997). Portanto, a contaminação de produtos alimentares associada com fezes é um fator de risco significativa (FRANCIS *et al*, 1999).

Salmonella, um gênero da família Enterobacteriaceae, é caracterizada como bactéria Gram-negativa, em forma de bastão. Algumas espécies patogênicas de *Salmonella* incluem *S. typhimurium*, *S. enteridis*, *S. heidelberg*, *S. saint-paul* e *S. montevideo*. *Salmonella* é mesófila, com temperaturas ótimas de crescimento entre 35 a 43°C. É abundante em material fecal, água de esgoto poluída, conseqüentemente pode contaminar o solo e plantas com os quais entra em contato (ICMSF, 1996).

Salmonella é uma das causas mais frequentes relatadas em casos de gastroenterites de origem alimentar. Casos de salmonelose na Inglaterra e Varsóvia, entre 1992 e 1996, foram atribuídos à salada de repolho cru e outras, que se apresentaram contaminadas com *S. enteritidis* (ICMSF, 1996). Há relatos de casos ligados a *Salmonella stanley* em brotos de alfafa e *Salmonella hartford* em suco de laranja (NACMCF, 1999).

3.6 Fatores que Afetam a Qualidade de Hortaliças Minimamente Processadas

Ao contrário de outros produtos alimentícios, frutas e hortaliças são produtos vegetais vivos que sofrem um processo evolutivo contínuo após sua colheita, que pode ser benéfico (maturação) ou prejudicial (alteração por microrganismos e suas atividades enzimáticas) (BOURGEOIS *et al*, 1994).

A sobrevivência e o crescimento de microrganismos são afetados por O₂ e CO₂ em produtos armazenados sob atmosfera modificada. Microrganismos respondem de forma diferente, dependendo de sua tolerância a estes gases. O CO₂ pode afetar microrganismos por causar uma redução do pH intracelular. Um aumento na temperatura de armazenagem e na concentração de dióxido de carbono na embalagem mudará a composição da microbiota que fará com que as bactérias ácido-lácticas tendam a predominar (GARG *et al*, 1990; BENNIK *et al*, 1998).

Em geral, bactérias aeróbicas Gram-negativas são mais sensíveis ao CO₂, ao passo que microrganismos que requerem ou crescem melhor sob condições de pouco O₂ são mais resistentes. Mofos são mais sensíveis ao CO₂ do que as leveduras fermentativas. Entretanto, fatores como o número e o tipo de outros microrganismos

presentes, a disponibilidade de nutrientes, e a temperatura também influenciam na habilidade de certos microrganismos sobreviverem e crescerem sobre produtos minimamente processados armazenados sob atmosfera modificada (IFPA, 2001).

Entre os efeitos favoráveis do acondicionamento sob atmosfera modificada estão a diminuição da atividade respiratória, perda de peso reduzida, principalmente, pelo aumento da retenção de umidade, proteção contra danos mecânicos, minimização da incidência de deterioração e desordens fisiológicas (GOMÉS e ARTÉS, 2005).

A vida de prateleira dos vegetais minimamente processados pode ser prolongada em armazenagem sob atmosfera modificada (AM) e uso de temperaturas de refrigeração (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994; FRANCIS *et al*, 1999).

A natureza fresca destes produtos, juntamente com as técnicas de processamento suave e subseqüentes condições de armazenagem, tem apresentado microrganismos selvagens e patogênicos com novos ecossistemas e veículos potenciais de infecção. (FRANCIS *et al*, 1999).

A temperatura de armazenamento é provavelmente o mais importante fator que afeta o crescimento de microrganismos em hortaliças frescas cortadas (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994). Armazenamento de hortaliças frescas cortadas a temperaturas adequadas de refrigeração, limitarão o crescimento daqueles patógenos que são psicrotróficos. Embora capazes de crescer a baixas temperaturas, a redução da temperatura de armazenamento estende a fase lag e reduz a taxa de crescimento. Inversamente, temperaturas abusivas durante o armazenamento marcarão uma redução da fase lag e no tempo de geração, permitindo assim o crescimento mais rápido de microrganismos como *L. monocytogenes* (FRANCIS *et al.*, 1999). GARCÍA-GIMENO *et al.*, (1996) acompanharam a sobrevivência de *Aeromonas hydrophila* sobre saladas de hortaliças armazenadas sob atmosferas modificadas a 4 e 15°C. Este microrganismo sobreviveu, porém não se multiplicou, em amostras armazenadas a 4°C. Em contraste, cresceu em saladas armazenadas a 15°C, de aproximadamente 10^3 a 10^8 UFC g⁻¹ nas primeiras 24 horas, com o subseqüente declínio da população.

Sobre várias hortaliças, *Salmonella* consistentemente sobreviveu por mais de 28 dias a temperaturas de 2 a 4°C (ICMSF, 1996). Populações de *S. hadar* sobre repolho, não foram diferentes de níveis iniciais após 10 dias de armazenagem a 4°C (PIAGENTINI *et al*, 1997).

Embora a temperatura de 0°C geralmente seja a mais desejável para a maioria dos produtos minimamente processados, alguns são preparados, transportados e

armazenados a 5°C e algumas vezes a temperaturas de 10°C (SCHLIMME, 1995). GIMENEZ *et al.*, (2003) concluíram que a atividade respiratória mostrada por alcachofra, armazenada à temperatura de 4°C, acondicionada sob diferentes permeabilidades de filmes usados, causou diferenças na composição da atmosfera no interior de embalagens após um equilíbrio. O impacto deste fator sobre o desenvolvimento de microrganismos foi a causa das diferenças na vida de prateleira de lotes, sobre aplicação dos limites microbianos legais estabelecidos. As diferentes atmosferas obtidas, junto com as diferenças na permeabilidade do vapor de água, também tiveram uma significativa influência na qualidade visual.

O tecido cortado e danificado durante o processamento perde sua resistência intrínseca pela invasão de microrganismos. O vazamento celular também fornece uma fonte de nutrientes que pode sustentar um crescimento extensivo durante a subsequente armazenagem. A natureza da microbiota é influenciada pela temperatura, e em menor extensão, pela composição da atmosfera de armazenagem (GARG *et al.*, 1990).

3.7 Características Fisiológicas dos Produtos Minimamente Processados

A fisiologia dos produtos minimamente processados é essencialmente aquela dos tecidos injuriados. A intensidade da resposta ao dano é afetada por um grande número de fatores. Espécie e variedade, concentração de O₂ e CO₂, pressão do vapor de água e a presença de inibidores são considerados como os mais significativos (BRECHT, 1995).

O processamento mínimo afeta fatores de qualidade como a aparência, sabor, e cor, e a deterioração do produto pode prosseguir rapidamente (SCHLIMME e ROONEY, 1994). A injúria dos tecidos causada pelo processamento mínimo, induz a perdas na integridade da membrana celular, que pode comandar a perda de componentes celulares e a modificação do comportamento de enzimas e/ou substratos (BRECHT, 1995).

A preparação dos produtos frescos cortados causa danos no tecido vegetal, resultando em um produto mais perecível com vida de prateleira mais curta, comparada com as frutas e hortaliças intactas (GUERZONI *et al.*, 1996; WATADA *et al.*, 1996). Este problema é devido à alta taxa de respiração e um significativo dano resultante do corte (PIROVANI *et al.*, 2000).

As condições gerais relacionadas à qualidade, que incluem aparência, firmeza/textura e teor de vitaminas, são afetadas por vários fatores, sendo a temperatura o mais importante deles. Quando a temperatura sofre um aumento de 0°C a 10°C, a taxa respiratória aumenta substancialmente, entre as mais variadas hortaliças minimamente processadas. Com o aumento da taxa respiratória, a deterioração aumenta de forma equivalente, assim, a baixa temperatura é essencial para a manutenção da boa qualidade (WATADA e QI, 1999).

O controle das reações de escurecimento associadas com a resposta ao processamento é crucial, uma vez que a aceitação do consumidor é influenciada pela aparência do produto (DELAQUIS *et al.*, 1999). KIM *et al.*, (2004) observaram escurecimento na superfície cortada de uma salada de couve-de-milão, cuja intensidade do mesmo foi afetada pelas concentrações de O₂ e CO₂ no interior das embalagens.

Produtos frescos cortados são vulneráveis à descoloração por causa dos danos nas células e tecidos, e ausência da casca de proteção. Os tecidos podem se tornar desidratados e/ou descoloridos. Cenoura fatiada, quando manipulada inadequadamente, torna-se esbranquiçada, com aparência envelhecida e, portanto, indesejável (TATSUMI *et al.*, 1991). Este fenômeno é provavelmente atribuído à desidratação externa da superfície do corte e poderá ser acompanhado por síntese de lignina. Ambos podem estar diretamente relacionados com a extensão da superfície exposta ao dano (BARRY-RYAN e O'BEIRNE, 1998).

A vida de prateleira das saladas prontas para consumo é estabelecida pelos fabricantes como sendo um período de 7 a 14 dias dependendo do tipo da hortaliça, e é determinada pela perda das qualidades sensoriais (GARCÍA-GIMENO e ZURERA-COSANO, 1996).

4 MATERIAL

As amostras de hortaliças minimamente processadas foram obtidas em indústria de processamento mínimo localizada no Estado do Ceará, sendo imediatamente transportadas em caixas térmicas com blocos de gelo até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

Foram realizadas análises microbiológicas referentes a Contagem Padrão em Placa de Microrganismos Psicotróficos, Contagem de Bolores e Leveduras, Detecção de *Salmonella* sp, Detecção de *Listeria monocytogenes*, Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli* nas seguintes hortaliças:

- Agrião (prazo de validade: 8 dias);
- Alface (prazo de validade: 8 dias);
- Cenoura ralada (prazo de validade: 5 dias);
- Espinafre (prazo de validade: 8 dias);
- Repolho Verde ralado (prazo de validade: 5 dias);
- Rúcula (prazo de validade: 5 dias).

5 MÉTODOS

5.1 Delineamento Experimental

Foram destinadas ao processamento bateladas de 4 a 5 Kg de cada uma das hortaliças citadas, de onde foram retiradas, ao acaso, cinco frações de 50 gramas, compondo uma unidade amostral de 250 gramas.

Analisaram-se 126 amostras de hortaliças minimamente processadas, com peso igual a 250 gramas cada uma, sendo que de cada um dos seis tipos de hortaliças selecionadas para a pesquisa, foram avaliadas sete amostras do produto “in natura”, sete do produto logo após a sanitização e sete do produto sanitizado ao final do período de armazenamento indicado pelo fornecedor.

Foram avaliadas, paralelamente, 34 amostras da água utilizada no processamento para lavagem das hortaliças.

5.1.1 Tratamento dos Dados

Os resultados das contagens de Microrganismos Psicotróficos, Bolores e Leveduras, Coliformes Totais e *Escherichia coli*, expressos em UFC g⁻¹, são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 1, 2, 3 e 4, em Anexo.

Para confecção dos gráficos, os resultados das contagens foram transformados em escala logarítmica.

5.2 Amostra

5.2.1 Hortaliças

As amostras “in natura” foram coletadas ao final das etapas de pré-lavagem (agrião, alface, espinafre e rúcula) e ralagem (cenoura e repolho). As amostras sanitizadas, foram coletadas após o procedimento de centrifugação, conforme fluxograma apresentado nas Figuras 2, 3 e 4.

As hortaliças folhosas agrião, alface, espinafre e rúcula foram embaladas em sacos de polietileno e as hortaliças cenoura ralada e repolho verde ralado, foram acondicionadas em bandejas de isopor envolvidas com filme de polietileno, e em

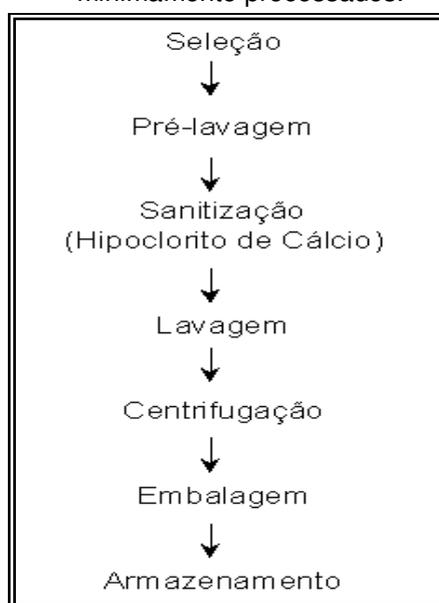
seguida colocadas em caixas térmicas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará. As amostras dos produtos “in natura”, bem como as sanitizadas em seu tempo inicial de vida de prateleira foram analisadas no mesmo dia da coleta. As amostras que foram analisadas em seu respectivo prazo final de validade indicado pela indústria, permaneceram armazenadas sob refrigeração a uma temperatura de 5°C.

5.2.2 Água

As amostras foram coletadas nas etapas de pré-lavagem (antes da imersão das hortaliças em água tratada, contendo 3 ppm de cloro livre) e sanitização (após a imersão das hortaliças em solução sanitizante), conforme fluxograma apresentado na Figura 5. Foram transportadas em caixas térmicas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, armazenadas sob refrigeração a 5°C, até o momento das análises para determinação do número mais provável (NMP) de coliformes, sendo estas realizadas no mesmo dia da coleta.

5.3 Descrição das Etapas dos Fluxogramas Apresentados nas Figuras 2, 3, 4 e 5

Figura 2 – Fluxograma do processamento de agrião, alface, espinafre e rúcula minimamente processados.



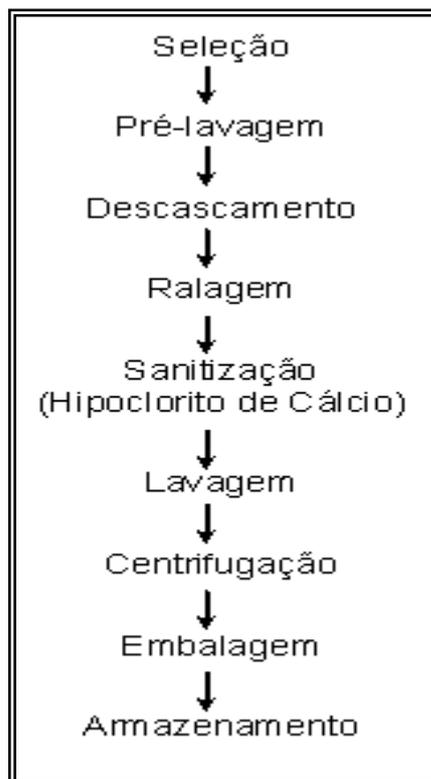
Fonte: etapas realizadas pela indústria.

A descrição de cada etapa do fluxograma apresentado na Figura 2 é apresentada a seguir:

- **Seleção:** as hortaliças foram selecionadas quanto à ausência de folhas deformadas, descoloridas, queimadas e defeitos provenientes do ataque de pragas e microrganismos.
- **Pré-lavagem:** foi realizada pela imersão das hortaliças em água tratada (3 ppm de cloro livre) para remoção de raízes, areia, insetos. Ao final desta etapa foram recolhidas as amostras das hortaliças “in natura”.
- **Sanitização:** imersão das hortaliças em água contendo uma concentração de 1000 ppm de Hipoclorito de Cálcio por um período de 10 a 15 minutos, sem agitação.
- **Lavagem:** foi efetuado um enxágue, por imersão, para remoção de resíduos da solução sanitizante presentes nas hortaliças.
- **Centrifugação:** as hortaliças foram acondicionadas em sacos de nylon, realizando-se, em seguida, a centrifugação a uma velocidade angular máxima equivalente a 2400 rpm (800 *g*), utilizando-se uma centrífuga doméstica de pequeno porte. Ao final desta etapa foram recolhidas as amostras das hortaliças sanitizadas, tanto para análise em seu tempo inicial de vida de prateleira, como em seu respectivo prazo final de validade.
- **Embalagem:** as hortaliças foram embaladas em sacos plásticos de polietileno, em porções de 250 gramas.
- **Armazenamento:** as hortaliças minimamente processadas foram armazenadas sob refrigeração a uma temperatura de 7°C por 30 minutos, até serem transportadas ao laboratório.

Na Figura 3 é apresentado o fluxograma para cenoura ralada minimamente processada.

Figura 3 – Fluxograma do processamento de cenoura ralada minimamente processada.



Fonte: etapas realizadas pela indústria.

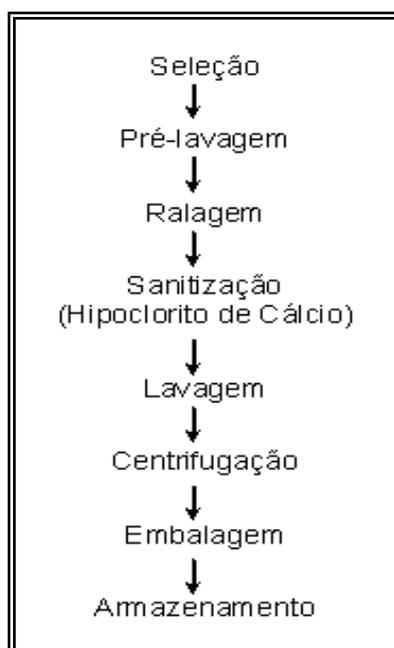
A descrição de cada etapa do Fluxograma apresentado na Figura 3 é apresentada a seguir:

- **Seleção:** retiraram-se as pontas e regiões que, eventualmente, apresentaram-se danificadas.
- **Pré-lavagem:** foi realizada pela imersão da cenoura em água tratada (3 ppm de cloro livre) para remoção de raízes, areia, insetos.
- **Descascamento:** foi retirada a película externa através de raspagem realizada através de um raspador manual.
- **Ralagem:** a cenoura descascada foi ralada utilizando-se processador doméstico. Ao final desta etapa foram recolhidas as amostras referentes à cenoura ralada “in natura”.
- **Sanitização:** imersão da cenoura ralada em água contendo uma concentração de 1000 ppm de Hipoclorito de Cálcio, por um período de 10 a 15 minutos, sem agitação.

- **Lavagem:** foi efetuado um enxágue, por imersão, para remoção de resíduos da solução sanitizante presentes na cenoura.
- **Centrifugação:** as hortaliças foram acondicionadas em sacos de nylon, realizando-se, em seguida, a centrifugação a uma velocidade angular máxima equivalente a 2400 rpm (800 g), utilizando-se uma centrífuga doméstica de pequeno porte. Ao final desta etapa, foram recolhidas as amostras da cenoura ralada minimamente processada, tanto para análise em seu tempo inicial de vida de prateleira, como em seu respectivo prazo final de validade.
- **Embalagem:** a cenoura ralada minimamente processada foi acondicionada em bandejas de isopor envolvidas por filme de polietileno, em porções de 250 gramas.
- **Armazenamento:** a cenoura ralada minimamente processada foi armazenada sob refrigeração a uma temperatura de 7°C por 30 minutos, até serem transportadas ao laboratório.

Na Figura 4 é apresentado o fluxograma para repolho verde ralado minimamente processado.

Figura 4 – Fluxograma do processamento de repolho verde minimamente processado.



Fonte: etapas realizadas pela indústria.

A descrição de cada etapa do fluxograma apresentado na Figura 4 é apresentada a seguir:

- **Seleção:** retiraram-se as extremidades escurecidas, folhas velhas e partes danificadas.
- **Pré-lavagem:** foi realizada pela imersão das folhas em água tratada (3 ppm de cloro livre) para remoção de raízes, areia, insetos.
- **Ralagem:** após a lavagem, o repolho verde foi ralado utilizando-se um processador doméstico, e em seguida foram recolhidas as amostras “in natura” para análise.
- **Sanitização:** imersão do repolho ralado em água contendo uma concentração de 1000 ppm de Hipoclorito de Cálcio por um período de 10 a 15 minutos, sem agitação.
- **Lavagem:** foi efetuado um enxágue, por imersão, para remoção de resíduos da solução sanitizante presentes no repolho.
- **Centrifugação:** as hortaliças foram acondicionadas em sacos de nylon, realizando-se, em seguida, a centrifugação a uma velocidade angular máxima equivalente a 2400 rpm (800 g), utilizando-se uma centrífuga doméstica de pequeno porte. Ao final desta etapa, foram recolhidas as amostras de repolho verde ralado sanitizado, tanto para análise em seu tempo inicial de vida de prateleira, como em seu respectivo prazo final de validade.
- **Embalagem:** o repolho verde foi acondicionado em bandejas de isopor envolvidas por filme de polietileno.
- **Armazenamento:** o repolho minimamente processado foi armazenado sob refrigeração a uma temperatura de 7°C por 30 minutos, até serem transportadas ao laboratório.

Na Figura 5 é apresentado o fluxograma geral do processamento das hortaliças minimamente processadas, indicando os pontos onde foi coletada a água.

Figura 5 – Fluxograma geral do processamento de hortaliças minimamente processadas apresentando os pontos de coleta da água indicados por *.



Fonte: etapas realizadas pela indústria.

5.4 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes

5.4.1 Teste Presuntivo

Homogeneizou-se a amostra e transferiram-se 10 porções de 10 mL para uma série de 10 tubos contendo tubo de Durham e Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração dupla. Os tubos foram incubados sob temperatura de 35°C por 24 horas.

Após 24 horas, avaliou-se a produção de gás. Em caso positivo, procedeu-se como descrito no item 5.4.2. Quando negativo, os tubos foram reincubados até completar um período de 48 horas, repetindo-se a leitura e realizando-se os itens subsequentes em face de crescimento com produção de gás.

5.4.2 Confirmação de Coliformes Totais

A partir de cada tubo positivo de LST, transferiu-se uma alçada bem carregada da cultura para tubos com Caldo Verde Brilhante Bile (VB). Os tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas. Os mesmos foram observados quanto a produção de gás.

5.4.3 Confirmação de Coliformes Fecais

A partir de cada tubo positivo de LST, transferiu-se uma alçada da cultura para tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos foram incubados em banho-maria a uma temperatura de 44,5°C por 24 horas. Os mesmos foram observados quanto a produção de gás.

5.5 Procedimentos para Retirada da Unidade Analítica das Hortaliças

A área externa da embalagem foi sanificada aplicando-se etanol 70%. Procedeu-se a abertura da embalagem assepticamente, no interior da câmara de fluxo laminar, onde homogeneizou-se a amostra, retirando-se uma unidade analítica de 25 gramas.

5.6 Preparo da Amostra e das Diluições

Foram pesadas 25 gramas da amostra e adicionadas a 225 mL do diluente (água salina peptonada), obtendo-se assim, a diluição inicial 1:10 (10^{-1}).

Para a preparação da diluição seguinte, 1:100 (10^{-2}), foi transferido assepticamente 1 mL da diluição 10^{-1} para 9 mL do diluente estéril. Antes de se retirar o volume a ser transferido, o tubo foi agitado vigorosamente em um agitador vortex para tubos. Foram preparadas diluições seriadas até 1:1000 (10^{-3}).

5.7 Contagem Total de Microrganismos Aeróbios Psicotróficos por Plaqueamento em Superfície (“Spread Plate”)

As análises foram realizadas de acordo com VANDERZANT e SPLITSTTOESSER (1992).

Preparadas as diluições como descrito no item 5.6, foi inoculado 0,1 mL de cada diluição em placas previamente preparadas com Agar Padrão para Contagem (PCA). Foram inoculadas placas em duplicata, para cada diluição. Em seguida, utilizando-se uma Alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo até que fosse absorvido pelo ágar. As placas foram incubadas sob refrigeração à temperatura de 7°C por um período de 7 dias.

5.8 Contagem Total de Bolores e Leveduras por Plaqueamento em Superfície (“Spread Plate”)

As análises foram realizadas de acordo com VANDERZANT e SPLITSTTOESSER (1992).

Preparadas as diluições como descrito no item 5.6, foi inoculado 0,1 mL de cada diluição em placas previamente preparadas com Agar Batata Dextrose, acidificado com ácido tartárico 10%. Foram inoculadas placas em duplicata, para cada diluição. Em seguida, utilizando-se uma Alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo até que fosse absorvido pelo meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa à temperatura de 25°C por um período de 3 a 5 dias.

5.9 Detecção de *Salmonella* sp

As análises foram realizadas de acordo com ANDREWS e HAMMACK (2003).

5.9.1 Pré-Enriquecimento

Realizada a retirada da unidade analítica como descrito no item 5.5, adicionaram-se à mesma 225 mL de Caldo Lactosado, consistindo esta na etapa de pré-enriquecimento. Em seguida, a mistura foi homogeneizada e incubada à temperatura de 35°C por um período de 24 horas.

5.9.2 Isolamento

Após o período de incubação, transferiu-se 0,1 mL do caldo de pré-enriquecimento para 10 mL do meio Rappaport-Vassiliadis (RV) e 1 mL para o Caldo

Tetrionato (TT), iniciando-se assim a fase de enriquecimento seletivo. Em seguida, agitou-se em agitador para tubos, procedendo-se a incubação do meio Rappaport-Vassiliadis em banho-maria à temperatura de 42°C e o Caldo Tetrionato à temperatura de 35°C, ambos por um período de 24 horas.

Completadas 24 horas, foi realizada a etapa do plaqueamento seletivo diferencial, agitando-se os tubos e estriando uma alçada do Caldo TT e do Caldo RV em placas contendo Ágar Bismuto Sulfito (BS), Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Entérico de Hecktoen.

Para confirmação preliminar, foi removida uma porção da massa celular do centro de colônias típicas, obtidas através do plaqueamento seletivo diferencial, e inoculada em tubos contendo Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). Procedeu-se a incubação sob uma temperatura de 35°C por um período de 24 horas.

5.9.3 Identificação

5.9.3.1 Teste de Urease

Foi transferida uma alçada da cultura em TSI, para um tubo com Caldo de Uréia de Christensen e incubado a uma temperatura de 35°C por um período de 24 horas. Foi incubado paralelamente um tubo não inoculado como controle.

Tubos contendo o Caldo de Uréia de Christensen foram avaliados quanto à viragem alcalina do indicador. A alteração da cor do meio de pêssego para cor de rosa escuro indicou teste positivo. A permanência do meio na cor original (pêssego) indicou teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* são ureases-negativas.

5.9.3.2 Teste de Indol

Foi transferida uma alçada da cultura em TSI, para tubos com Caldo Triptona 1% e incubou-se à temperatura de 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se o teste de indol, adicionando-se 0,2 mL do Reagente de Kovacs para 4 mL da cultura e agitou-se levemente.

Tubos contendo Caldo Triptona são observados quanto ao desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura, indicando teste positivo.

Caso o anel permaneça amarelado, da cor referente ao Reagente de Kovacs, o teste é negativo. As cepas de *Salmonella* são indol-negativas.

5.9.3.3 Teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (VM-VP)

Foi transferida uma alçada da cultura em TSI, para tubos com Caldo VM-VP e incubou-se a uma temperatura de 35°C por 48 horas.

Para o teste de VP, transferiu-se assepticamente 1 mL da cultura para um tubo de ensaio, adicionando-se 0,6 mL de solução de α -naftol 5% e agitou-se. Em seguida, foram acrescentados 0,2 mL de solução de KOH 40%. Deixou-se em repouso. A cultura foi observada a cada 5 minutos, por um período de uma hora, quanto ao desenvolvimento de uma cor vermelho ou rósea no meio de cultura, indicando teste positivo. A permanência do meio na cor do reagente (amarelada ou ligeiramente esverdeada) indica teste negativo.

Para a realização do teste de VM, a cultura remanescente foi incubada por 48 horas adicionais, sendo este teste efetuado, então, com 96 horas de incubação. Atingido o tempo indicado, adicionaram-se seis gotas da solução de vermelho de metila. Avaliaram-se os tubos quanto à formação imediata de uma coloração vermelha, assinalando teste positivo. O teste é negativo quando o meio se mantém na cor amarela. A maioria das cepas de *Salmonella* são VM positivas e VP negativas.

5.9.3.4 Teste de Citrato

Transferiu-se uma alçada da cultura em Agar Nutriente para um tubo de Ágar Citrato de Simmons inclinado. Incubou-se por um período de 96 horas sob temperatura de 35°C. Os tubos contendo Ágar Citrato de Simmons foram observados quanto à viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul, assinalando teste positivo. A não ocorrência de crescimento, mantendo a cor do meio inalterada, indicou teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* são citrato-positivas.

5.9.3.5 Teste Sorológico Somático Polivalente

A partir da cultura de 24 horas em TSI, realizou-se o teste sorológico através da técnica de aglutinação em lâmina, emulsionando-se uma alçada do inóculo em uma

gota de solução salina 0,85% estéril. Foi adicionada, então, uma gota do antissoro somático polivalente anti-*Salmonella*, emulsionando-se com delicados movimentos de inclinação e rotação da lâmina. Este teste foi avaliado quanto à ocorrência de aglutinação.

5.10 Detecção de *Listeria monocytogenes*

As análises foram realizadas de acordo com PAGOTTO *et al* (2001).

5.10.1 Enriquecimento

Realizada a retirada da unidade analítica como descrito no item 4.4, foram adicionados à mesma 225 mL de Caldo Enriquecimento de *Listeria* (LEB), incubando-se em seguida sob temperatura de 30°C por um período total de 48 horas.

5.10.2 Enriquecimento Seletivo

Após períodos de incubação de 24 e 48 horas, agitou-se delicadamente a cultura em LEB e retirou-se uma alíquota de 0,1 mL, que foi adicionada em um tubo contendo 10 mL de Caldo Fraser Modificado. O mesmo foi incubado sob temperatura de 35°C por 24 horas. Atingidas 20 horas de incubação, o tubo foi agitado e reincubado para completar o período de 24 horas.

Os tubos contendo Caldo Fraser Modificado foram avaliados quanto à mudança de cor do meio para preta, marrom escuro ou verde escuro. Se negativo, o meio permaneceu na cor original.

5.10.3 Isolamento

Foram utilizados para isolamento placas contendo Ágar Oxford (OXA) e Ágar Palcam (PAL). A partir de tubos positivos de Caldo Fraser, foi adicionado 0,1 mL em cada meio de isolamento, utilizando-se uma Alça de Drigalski para espalhar o inóculo. As placas foram incubadas à temperatura de 35°C por 24 horas.

Após o período de incubação, as placas de OXA e PAL foram verificadas. Colônias típicas de *Listeria monocytogenes* em OXA são esféricas, negras circundadas

por um halo também negro. Em PAL, as colônias típicas são esféricas, verde-acinzentadas também circundadas por um halo negro.

5.10.4 Identificação

Depois de selecionadas as colônias típicas dos meios OXA e PAL, utilizou-se Ágar Trypticase de Soja suplementado com 0,6% de extrato de levedura (TSA-YE) para purificação. As placas foram incubadas sob temperatura de 30°C por um período de 24 a 48 horas.

5.10.4.1 Teste de Motilidade

A partir das placas de TSA-YE, inoculou-se cada cultura em um tubo de Ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM). O procedimento foi realizado por picada no centro do meio de cultura, até uma distância de 1 cm do fundo. Os tubos foram incubados à temperatura ambiente por um período de sete dias, sendo observados diariamente.

Os tubos foram avaliados quanto ao desenvolvimento de uma zona típica, espalhando-se na parte superior do meio e mantendo-se restritas à picada no fundo do tubo. Esse tipo de migração produz uma massa de crescimento característica, lembrando um guarda-chuva, característico apenas das espécies de *Listeria*.

5.10.4.2 Teste de Hemólise

A partir das culturas de TSA-YE, inoculou-se por picada placas contendo Ágar Sangue nº2 suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado. Incubaram-se as placas por 24 horas sob temperatura de 35°C.

As placas foram avaliadas quanto à formação de um halo transparente ao redor das colônias, sendo considerado teste positivo.

5.10.4.3 Teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (VM-VP)

A partir das culturas de TSA-YE, inoculou-se tubos contendo Caldo VM-VP e incubou-se a uma temperatura de 35°C por 48 horas.

Em seguida, procedeu-se como citado no item 5.9.3.3.

As espécies de *Listeria* são VM-VP positivas.

5.10.4.4 Teste de Fermentação da Rhamnose, Xilose e Manitol

A partir das culturas de TSA-YE, inoculou-se uma alçada em tubos contendo Caldo Púrpura Base suplementado com 0,5% dos carboidratos rhamnose, xilose e manitol. Os tubos foram incubados a 35°C por um período de 7 dias, sendo observados diariamente.

Os tubos foram analisados quanto à produção de ácido, com alteração da cor do meio de púrpura para amarelo, indicativo de teste positivo. A permanência do Caldo Púrpura em sua cor original indicou teste negativo.

5.10.4.5 Coloração de Gram

A partir das culturas de TSA-YE, foram preparados esfregaços para coloração de Gram. As espécies de *Listeria* são Gram-positivas.

5.10.4.6 Teste de Catalase

Adicionou-se sobre as culturas a serem testadas uma gota da solução de peróxido de hidrogênio 3,0%. O teste foi avaliado quanto ao desenvolvimento de borbulhamento imediato ou não borbulhamento, indicando teste positivo e negativo, respectivamente.

5.11 Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

As análises foram realizadas de acordo com WARBURTON (2001).

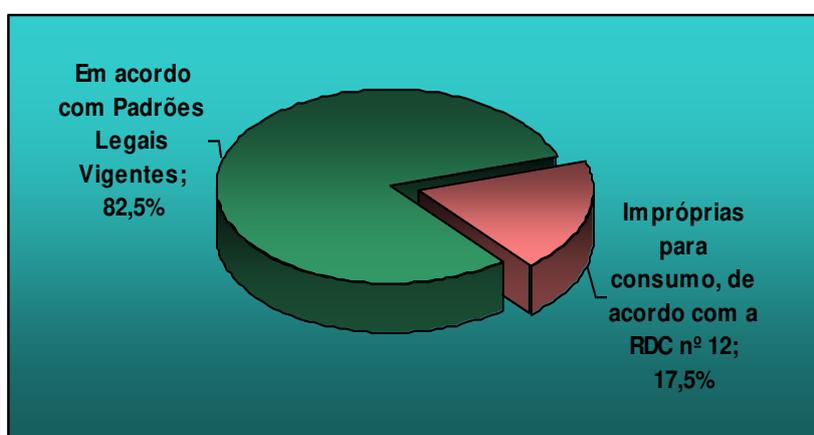
Foram preparadas diluições seriadas até 1:100 (10^{-2}), como descrito no item 5.6. Adicionou-se assepticamente 1 mL de cada diluição em placas Petrifilm. Em seguida, espalhou-se o inóculo utilizando-se um dispersor próprio. Esperou-se a solidificação do meio e incubaram-se as placas em posição horizontal, sob temperatura de 35°C por um período de 24 horas.

As placas foram avaliadas quanto ao crescimento de colônias vermelhas e azuis, circundadas por bolhas de gás, indicando presença de coliformes totais e *Escherichia coli*, respectivamente.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da totalidade de amostras analisadas, 12,7% apresentaram contaminação com *Salmonella* sp, enquanto *L. monocytogenes* não foi detectada em nenhuma delas. Para psicotróficos, 31,7% das amostras apresentaram valores de 10^3 UFC g^{-1} e 25,4% valores de 10^4 UFC g^{-1} do produto. Para bolores e leveduras, foi observado que 32,5% das amostras apresentaram contagens superiores a 10^3 UFC g^{-1} , atingindo contagens de 10^6 UFC g^{-1} . Observaram-se que 21,4% das amostras apresentaram contagens de coliformes totais superiores a 10^2 UFC g^{-1} . Foram detectadas 4,8% das amostras contaminadas com *Escherichia coli* apresentando contagens de até $1,6 \times 10^3$ UFC g^{-1} .

Gráfico 1 – Porcentagem das amostras de hortaliças minimamente processadas em acordo com os padrões legais vigentes e impróprias para consumo.



Fonte: dados obtidos das análises.

6.1 Contagem Total de Microrganismos Aeróbios Psicotróficos

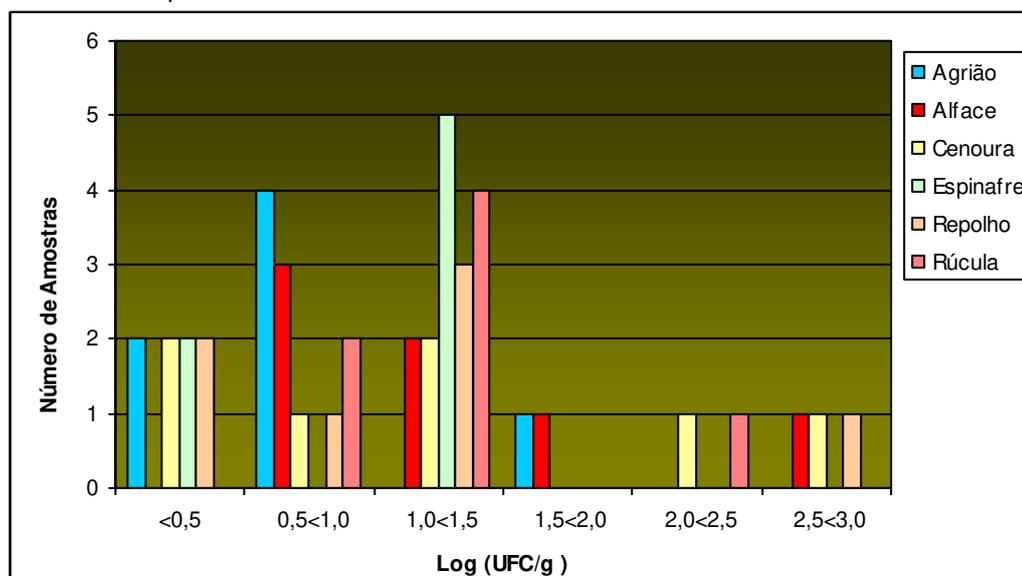
A rúcula “in natura” apresentou menor contagem de microrganismos psicotróficos, sendo esta de $3,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} , enquanto que a maior contagem detectada nas hortaliças “in natura” foi a apresentada pelo repolho, em torno de $2,3 \times 10^5$ UFC g^{-1} .

A menor contagem de microrganismos psicotróficos encontrada para as hortaliças minimamente processadas sanitizadas foi detectada no agrião, alface, repolho e rúcula, todas apresentando contagens menores que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} . A cenoura ralada minimamente processada, foi a hortaliça sanitizada que apresentou contagem mais elevada para microrganismos psicotróficos, atingindo $2,1 \times 10^4$ UFC g^{-1} .

Para agrião, alface, cenoura e rúcula minimamente processadas sanitizadas e analisadas ao final do período de armazenamento, a menor contagem detectada foi de $1,0 \times 10$ UFC g^{-1} , a contagem mais elevada de microrganismos psicrotróficos foi encontrada na cenoura ralada, em torno de $6,3 \times 10^4$ UFC g^{-1} .

Através do Gráfico 2, pode-se observar o nível de redução de microrganismos psicrotróficos após o processo de sanitização, para cada hortaliça minimamente processada, avaliada em seu tempo inicial de vida de prateleira, no mesmo dia da coleta.

Gráfico 2 – Redução da população de microrganismos psicrotróficos após a sanitização das hortaliças minimamente processadas.



Fonte: dados obtidos das análises.

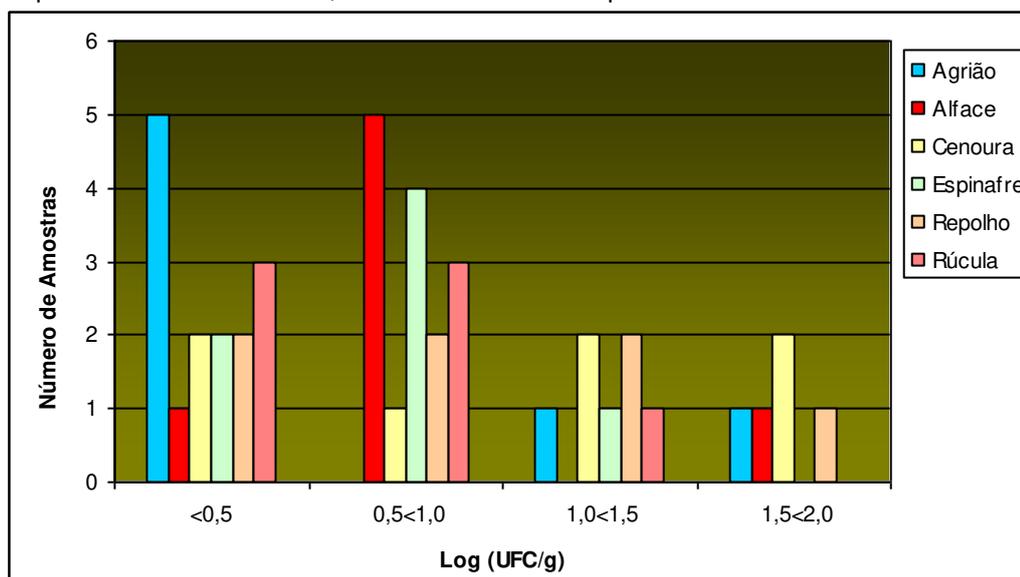
A resposta das hortaliças minimamente processadas ao processo de sanitização foi bastante variada no que se refere à redução da carga microbiana inicial, o que pode indicar ausência de padronização no processo. Entretanto, a maioria das amostras de agrião, espinafre e rúcula apresentaram uma redução mais constante da carga inicial de microrganismos psicrotróficos, ou seja, a maioria das amostras destas hortaliças minimamente processadas obtiveram uma redução representada pelo intervalo entre 0,5 e 1,0 log para o agrião e para espinafre e rúcula entre 1,0 log e 1,5 log.

Como se observa pelo Gráfico 2, alface, cenoura e repolho minimamente processados apresentaram redução da carga microbiana distribuída em vários intervalos, o que indica que a eficiência da sanitização variou entre as amostras de uma mesma hortaliça. Em algumas poucas amostras de hortaliças minimamente

processadas, exceto espinafre, houve redução significativa acima de 1,5 log, que representa aproximadamente uma redução acima de 97% da carga microbiana inicial.

Através do Gráfico 3, pode-se observar o aumento da população de microrganismos psicrotróficos, ao final do respectivo período de armazenamento para cada hortaliça minimamente processada sanitizada.

Gráfico 3 – Aumento da população de microrganismos psicrotróficos nas hortaliças minimamente processadas sanitizadas, observado ao final do período de armazenamento.



Fonte: dados obtidos das análises.

Segundo WILEY (1997) existem evidências suficientes de que as baixas temperaturas ou as temperaturas de refrigeração para o tratamento ou armazenamento de alimentos minimamente processados refrigerados não são suficientes para controlar microrganismos psicrotróficos. No presente estudo, nas análises de microrganismos psicrotróficos realizadas nas hortaliças minimamente processadas sanitizadas, este fato foi observado ao final do período de armazenamento (cinco e oito dias, dependendo da hortaliça) sob uma temperatura de 5°C.

A alface minimamente processada sanitizada, analisada ao final do período de armazenamento, apresentou cinco amostras com aumento da população microbiana de microrganismos psicrotróficos entre os intervalos de 0,5 e 1,0 log, correspondendo a um intervalo entre 65% a 88%, aproximadamente. Fato semelhante ocorreu com o agrião minimamente processado sanitizado, porém o aumento da carga microbiana de microrganismos psicrotróficos foi inferior a 0,5 log.

GUERZONI *et al* (1996) afirmam que o valor de 10^6 UFC g^{-1} para microrganismos psicrotróficos é sugerido por vários autores como parâmetro microbiológico para a determinação do fim da vida de prateleira de produtos minimamente processados. Diante deste fato, encontram-se dentro deste limite todas as amostras analisadas, o que evidencia que as amostras ao final do período de armazenamento encontravam-se com qualidade assegurada quanto à presença de microrganismos psicrotróficos.

Embora as contagens de microrganismos psicrotróficos não tenham alcançado o número de unidades formadoras de colônia proposto como limite ao final do período de armazenamento, observou-se aumento nas contagens obtidas para todas as hortaliças minimamente processadas analisadas. Mediante esta constatação, a maior contagem verificada foi para uma amostra de cenoura ralada minimamente processada armazenada durante 5 dias, cujo aumento da carga microbiana de microrganismos psicrotróficos foi de aproximadamente 1,8 log, ou seja, aproximadamente 98%.

6.2 Contagem de Bolores e Leveduras

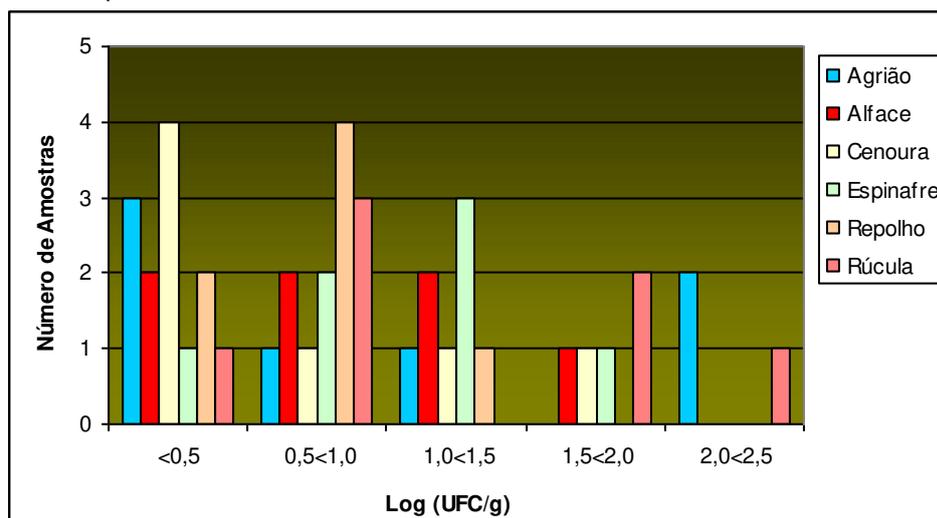
Das hortaliças “in natura” analisadas, o repolho apresentou a menor contagem de bolores e leveduras, enquanto que a contagem mais elevada foi de $3,4 \times 10^6$ UFC g^{-1} , detectada na rúcula.

Para as hortaliças minimamente processadas sanitizadas, a alface apresentou a menor e a maior contagem de bolores e leveduras, sendo estas de $1,0 \times 10^2$ e $3,6 \times 10^5$ UFC g^{-1} , respectivamente.

O mesmo fato ocorreu ao final do período de armazenamento, onde a alface também foi a hortaliça que apresentou a menor e maior contagem, sendo estas menores que $1,0 \times 10^2$ UFC g^{-1} e $1,6 \times 10^5$ UFC g^{-1} , respectivamente.

Pelo Gráfico 4, podem-se observar os níveis de redução obtidos referente à população de bolores e leveduras para cada hortaliça minimamente processada, avaliada em seu tempo inicial de vida de prateleira, no mesmo dia da coleta.

Gráfico 4 – Redução da população de bolores e leveduras obtida após sanitização das hortaliças minimamente processadas.

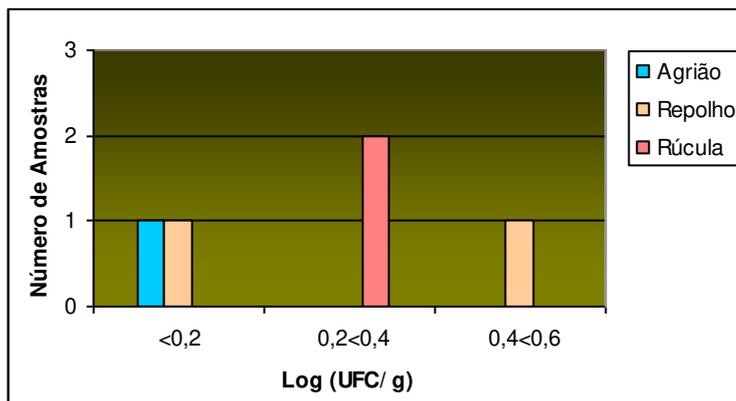


Fonte: dados obtidos das análises.

A maioria das amostras obteve redução no intervalo inferior a 1,0 log. A cenoura e repolho minimamente processados responderam de forma semelhante a um determinado intervalo de redução da carga microbiana, sendo que a redução de bolores e leveduras para a maioria das amostras de cenoura foi inferior a 0,5 log, significando que a população microbiana foi reduzida a um teor inferior a 65%. Já a maior parte das amostras de repolho alcançou uma redução mais expressiva, atingindo reduções entre 65% a 88%, correspondendo a um intervalo entre 0,5 a 1,0 log.

As amostras de agrião, alface, espinafre e rúcula minimamente processados sofreram reduções na carga microbiana de bolores e leveduras, que variaram em quatro intervalos distintos, sendo que duas amostras de agrião e uma de rúcula atingiram reduções superiores a 99%, ou seja, acima de 2,0 log.

Gráfico 5 – Aumento da carga microbiana de bolores e leveduras em agrião, repolho ralado e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento.



Fonte: dados obtidos das análises.

Conforme se observa pelo Gráfico 5, para as análises realizadas ao final do período de armazenamento, verificou-se que cinco amostras, sendo duas de repolho, duas de rúcula e uma de agrião, apresentaram um pequeno aumento na população de bolores e leveduras, que pode ser devido ao fato de algumas espécies de fungos como *Botrytis cinerea*, *Geotrichium candidum*, *Pullaria pullulans* entre outras, serem psicrotróficas (LIMA, 2000).

As amostras restantes apresentaram uma redução nas contagens de bolores e leveduras. Este fato pode ser explicado pela condição de armazenamento a uma temperatura desfavorável para o desenvolvimento e crescimento da maioria dessas espécies.

6.3 Contagem Coliformes Totais

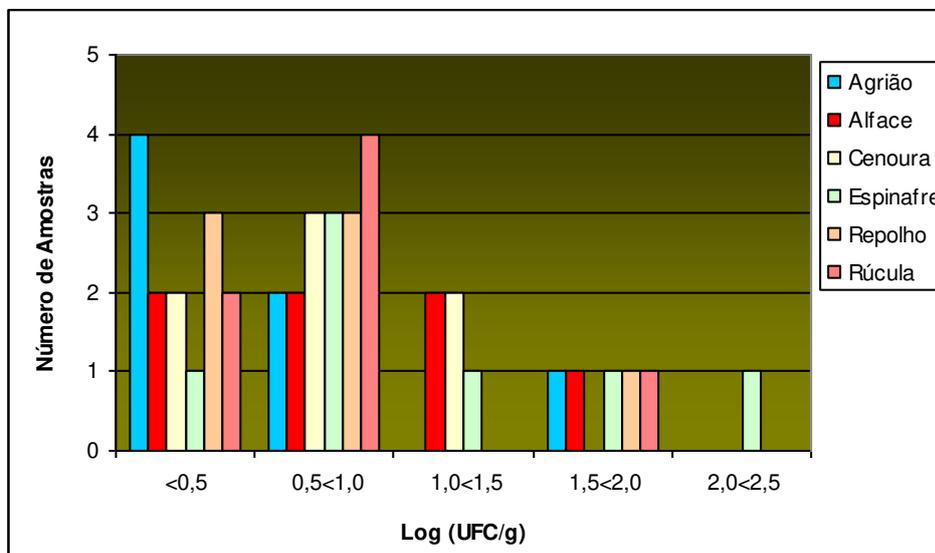
A menor contagem de coliformes totais, nas hortaliças “in natura”, foi detectada na alface, sendo esta menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} . A maior contagem foi detectada na cenoura ralada, sendo esta de $3,0 \times 10^4$ UFC g^{-1} .

Para as hortaliças minimamente processadas sanitizadas, a menor contagem detectada foi menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} , no agrião. A maior contagem encontrada foi na cenoura ralada, sendo de $1,2 \times 10^4$ UFC g^{-1} .

A menor contagem encontrada para as hortaliças minimamente processadas, analisadas ao final do período de armazenamento, foi menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} , no agrião. A maior contagem encontrada, pertenceu ao repolho verde ralado, sendo esta de $8,5 \times 10^3$ UFC g^{-1} .

Através do Gráfico 6, verifica-se a redução da população microbiana de coliformes totais nas hortaliças minimamente processadas sanitizadas, analisadas no mesmo dia da coleta.

Gráfico 6 – Redução da população microbiana de Coliformes Totais após sanitização das hortaliças minimamente processadas.



Fonte: dados obtidos das análises.

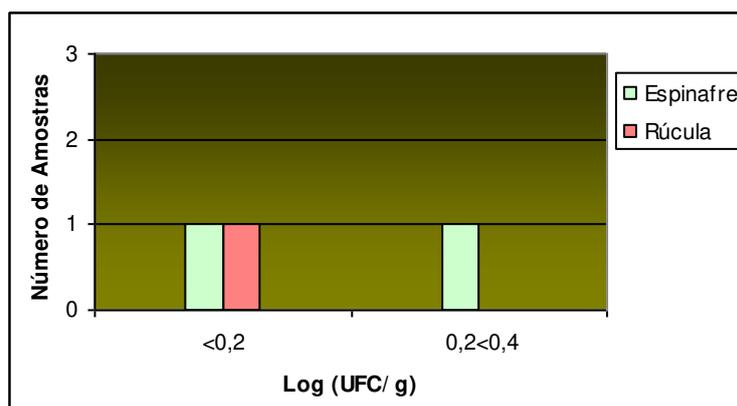
O processo de sanitização foi homogêneo tanto para a maioria das amostras de agrião como para rúcula minimamente processada, entretanto, foram alcançadas reduções distintas entre as hortaliças, atingindo a rúcula intervalos de redução maiores que o agrião, sendo estes entre 0,5 log e 1,0 log.

Para o espinafre, as reduções da carga microbiana inicial variaram amplamente, sendo que a maioria das amostras alcançaram uma redução entre o intervalo de 0,5 e 1,0 log, ou seja, entre 65% a 89%.

As amostras de alface minimamente processadas não apresentaram intervalo específico de redução da carga microbiana de coliformes totais, sendo que apenas três amostras obtiveram uma redução relativamente satisfatória, atingindo intervalos entre 1,0 e 2,0 log.

Como pode ser observado pelo Gráfico 6, as reduções mais frequentes de coliformes totais para cenoura e o repolho minimamente processados, ocorreram em níveis abaixo de 1,0 log, significando diminuições inferiores a 89%.

Gráfico 7 – Aumento da carga microbiana de coliformes totais em espinafre e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento.



Fonte: dados obtidos das análises.

No período final do armazenamento detectou-se diminuição da carga microbiana de coliformes totais em quase todas as amostras de hortaliças sanitizadas. Como se observa pelo Gráfico 7, apenas três amostras, duas de espinafre e uma de rúcula, apresentaram aumento de coliformes totais, sendo que o maior aumento ocorrido foi de aproximadamente 0,2 log, ou seja, cerca de 35%.

A máxima contagem obtida para coliformes totais nas amostras analisadas ao final do período de armazenamento, foi de $8,5 \times 10^3$ UFC g^{-1} . Embora a RDC nº 12 não especifique um limite para coliformes totais, GUERZONI *et al* (1996) adotam como limite o valor de 5×10^6 UFC g^{-1} . Considerando este valor como parâmetro de qualidade, as amostras analisadas encontraram-se adequadas quanto à presença de coliformes totais.

6.4 Contagem de *Escherichia coli*

A menor contagem de *Escherichia coli* para as hortaliças “in natura” agrião, alface, cenoura ralada, espinafre, repolho verde ralado e rúcula, foi menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} . A maior contagem obtida foi detectada no espinafre, sendo esta de $1,6 \times 10^3$ UFC g^{-1} .

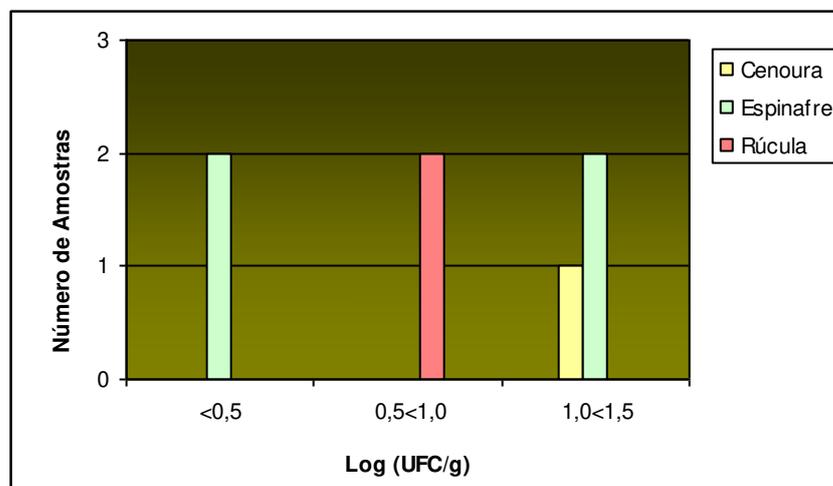
Para as hortaliças minimamente processadas sanitizadas, a menor contagem obtida foi menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} . A maior contagem obtida foi detectada também no espinafre, sendo esta de $1,5 \times 10^2$ UFC g^{-1} .

Para as hortaliças minimamente processadas sanitizadas, analisadas ao final do período de armazenamento, a menor contagem obtida foi menor que $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} ,

em todas as hortaliças. A contagem mais elevada alcançou $1,3 \times 10^1$ UFC g^{-1} , detectada também no espinafre.

O Gráfico 8 apresenta a redução da população microbiana de *Escherichia coli* nas hortaliças minimamente processadas, após a sanitização.

Gráfico 8 – Redução da população microbiana *E. coli* após sanitização das hortaliças minimamente processadas.



Fonte: dados obtidos das análises.

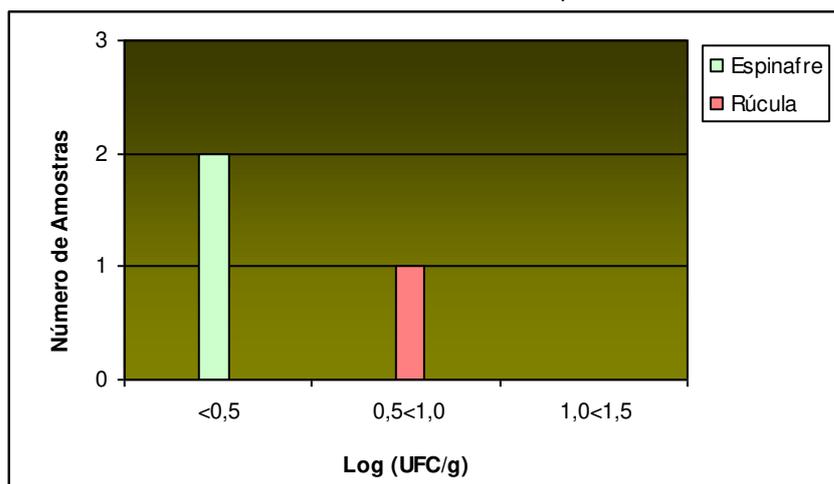
Dentre as hortaliças analisadas, cenoura ralada, espinafre e rúcula, foram aquelas que apresentaram algumas amostras com contagens de *Escherichia coli* acima de $1,0 \times 10^1$ UFC g^{-1} .

Após a sanitização, a cenoura ralada apresentou redução da carga microbiana de *Escherichia coli* em torno de 1,2 log, quatro amostras de espinafre minimamente processado sanitizado apresentaram redução da população de *Escherichia coli* em diferentes graus. Duas amostras sofreram uma redução da carga microbiana menor que 0,5 log, enquanto outras duas apresentaram uma redução entre 1,0 e 1,5 log.

Duas amostras de rúcula minimamente processada sanitizada, apresentaram redução da carga microbiana de *Escherichia coli* entre o intervalo de 0,5 e 1,0 log, ou seja, entre 65% e 89%.

Abaixo se encontra o Gráfico 9 que apresenta os níveis de contagem obtidos para *Escherichia coli* nas hortaliças minimamente processadas após a sanitização, avaliados em sua fase inicial de vida de prateleira, no mesmo dia da coleta.

Gráfico 9 – Redução da carga microbiana de *E. coli* em espinafre e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento.



Fonte: dados obtidos das análises.

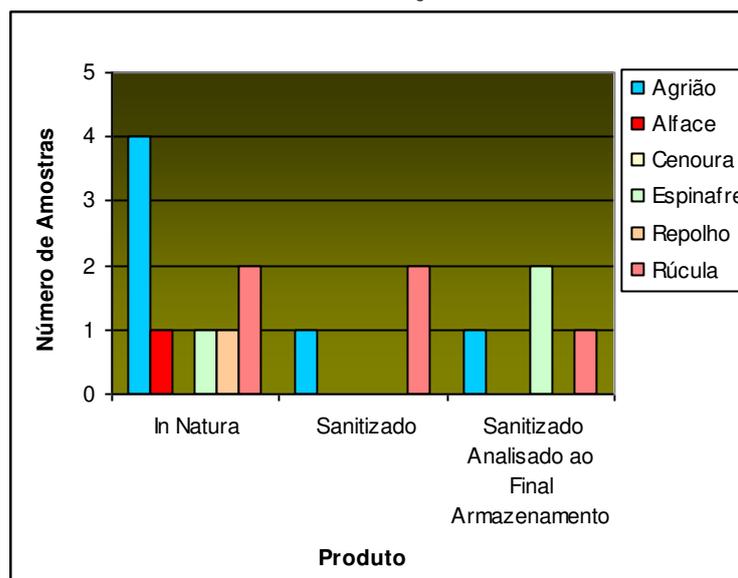
Como pode ser observado pelo Gráfico 9, duas amostras de espinafre sofreram redução menor que 0,5 log, na carga microbiana de *Escherichia coli*.

Uma amostra de rúcula apresentou redução da população microbiana representado pelo intervalo entre 0,5 e 1,0 log.

As outras amostras de agrião, alface, cenoura ralada, espinafre, repolho ralado e rúcula minimamente processados sanitizados, analisados ao final do período de armazenamento, apresentaram a mesma carga microbiana ($<1,0 \times 10$ UFC g^{-1}) de *Escherichia coli* detectada após a sanitização, na análise realizada no mesmo dia da coleta.

6.5 Detecção de *Salmonella* sp

O Gráfico 10 apresenta o número de amostras de hortaliças que se encontraram contaminadas pelo patógeno *Salmonella* sp.

Gráfico 10 – Número de amostras de hortaliças contaminadas com *Salmonella* sp.

Fonte: dados obtidos das análises.

Através do Gráfico 10 se observa que quatro amostras “in natura” de agrião apresentaram-se contaminadas com *Salmonella* sp. Uma dessas amostras, mesmo após o processo de sanitização, ainda permaneceu contaminada pelo patógeno, porém a presença do mesmo só foi detectada após o período de armazenamento por 8 dias à temperatura de 5°C. Percebeu-se que *Salmonella* sp não foi detectada na análise desta amostra logo após o processo de sanitização, e sim somente ao final do período de armazenamento. Este fato ocorreu, provavelmente, por injúria causada às células pela ação do produto sanitizante, permitindo que o patógeno fosse detectado somente alguns dias depois do processo de sanitização.

Ainda examinando o Gráfico 10, observa-se que uma amostra de agrião minimamente processado sanitizado, apresentou-se contaminada com *Salmonella* sp. Porém, em seu estado “in natura”, anteriormente à sanitização, não apresentou contaminação. Portanto, a contaminação encontrada no agrião minimamente processado sanitizado, pode ser atribuída à manipulação inadequada durante o processamento, sendo fontes de contaminação potencial equipamentos, utensílios, embalagens e manipuladores.

Para alface e repolho minimamente processados foi observada contaminação em apenas uma amostra “in natura”, para ambas hortaliças. Na amostra sanitizada analisada no primeiro dia de vida de prateleira e ao final do período de armazenamento

não foi encontrada contaminação, sendo neste caso, a sanitização adequada na remoção do patógeno.

Apenas uma amostra de espinafre “in natura” apresentou contaminação por *Salmonella* sp, sendo que a mesma amostra sanitizada analisada ao final do armazenamento encontrou-se contaminada com a bactéria. Em um estudo realizado por PIROVANI *et al* (2000), foi detectado que a máxima redução alcançada para *Salmonella hadar* foi em torno de 96%, ou seja, a solução aquosa clorada reduziu o nível desta espécie sobre espinafre minimamente processado, mas a completa eliminação não foi alcançada. Outra amostra de espinafre sanitizado apresentou contaminação por *Salmonella* sp apenas no período final de armazenamento, fato que permite presumir a ocorrência de falhas durante a manipulação.

Salmonella sp foi observada em duas amostras de rúcula minimamente processada “in natura”. A sanitização não proporcionou a eliminação do microrganismo, sendo que as duas amostras, analisadas logo após este procedimento, permaneceram contaminadas pelo patógeno, mas apenas uma delas apresentou-se contaminada ao final do período de armazenamento de 5 dias à temperatura de 5°C.

6.6 Detecção de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes não foi detectada nas amostras de agrião, alface, cenoura, espinafre, repolho verde e rúcula minimamente processados, porém segundo AGUADO *et al* (2004), o isolamento de espécies não patogênicas de *Listeria* pode ser considerado como um indicador de advertência, que reforça a necessidade de medidas corretivas para evitar contaminação na planta de processamento, utensílios e equipamentos.

Listeria seeligeri e *Listeria ivanovii* não-patogênicas foram detectadas em uma amostra de cenoura ralada ao final do armazenamento de 5 dias a 5°C, em três amostras de alface, sendo duas amostras “in natura” e uma sanitizada analisada ao final do período de armazenamento e em uma amostra de repolho verde ralado “in natura”.

6.7 Água

Doze amostras de água coletadas antes do processo de sanitização não apresentaram contaminação por coliformes totais, estando de acordo com a Portaria nº 518 de 25 de março de 2004, que exige ausência de coliformes totais em 100 mL de água. As outras cinco amostras apresentaram-se contaminadas com coliformes, sendo detectados valores de 1,1NMP/ 100 mL a maior que 23 NMP/ 100 mL.

Todas as amostras coletadas antes do processo de sanitização e analisadas quanto à presença de coliformes fecais apresentaram-se em acordo com a Portaria nº 518, a qual exige ausência de coliformes fecais em 100 mL de água analisada.

Para água coletada após o processo de sanitização, quatro amostras apresentaram contaminação por coliformes totais e apenas uma amostra apresentou contaminação por coliformes fecais.

7 CONCLUSÃO

A contagem de microrganismos psicrotróficos não foi elevada para os produtos “in natura”, ocorrendo ainda diminuições ocasionadas pelo processo de sanitização. Fatos que garantem a manutenção do número de microrganismos em acordo com um padrão adotado para garantir as características sensoriais, ainda que tenha ocorrido um aumento do número de psicrotróficos durante o armazenamento a 5°C.

Embora a maioria das hortaliças analisadas encontrarem-se em acordo com os padrões legais vigentes, para que a segurança alimentar seja garantida, constatou-se a grande necessidade de implementar as Boas Práticas de Fabricação (BPF) seguida do programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), visando controlar os perigos que possam ocorrer em todas as etapas da cadeia produtiva.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. R.; HARTLEY, A. D.; COX, L. J. Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. **Food Microbiology**, v. 6, p. 69-77, 1989.
- AGUADO, V. VITAS, A. I.; GARCÍA-JALÓN, I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. **International Journal of Food Microbiology**, v. 90, p. 341-347, 2004.
- AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf-life of minimally processed fruit and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 179-187, 1996.
- ALLENDE, A. AGUAYO, E.; ARTÉS, F. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 91, p. 109-117, 2004.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Livraria Nobel, 1993, 113p.
- BABIC, I.; ROY, S.; WATADA, A. E.; WERGIN, W. P. Changes in microbial populations on fresh-cut spinach. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 107-119, 1996.
- ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. *Salmonella*. **Bacteriological Analytical Manual Online**, 5, p. 1-19, 2003.
- BARRY-RYAN, C.; O'BEIRNE, D. Quality and shelf-life of fresh-cut carrot slices as affected by slicing method. **Journal of Food Science**, v. 63, p.851-856, 1998.
- BENNIK, M. H. J.; VORSTMAN, W.; SMID, E. J.; GORRIS, L. G. M. The influence of oxygen and carbon dioxide on the growth of prevalent Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* species isolated from fresh ad controlled-atmosphere-stored vegetables. **Food Microbiology**, v. 15, p. 459-469, 1998.
- BENNIK, M. H. J.; PEPPELENBOS, H. W.; NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F.; SMID, E. J.; GORRIS, L. G. M. Microbiology of minimally processed, modified-atmosphere packaged chicory endive. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 209-221, 1996.
- BEUCHAT, L. R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v. 4, p. 413-423, 2002.
- BEUCHAT, L. R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal Food Protection**, v. 59, p. 204-216, 1996.
- BOURGEOIS, C. M.; ZUCCA, J.; MESCLE, J. F. **Microbiología alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria**. Zaragoza: Acribia. v.1.1994. 435p.

BRACKETT, R. E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 305-311, 1999.

BRANDI, G.; SISTI, M.; SCHIAVANO, G.F.; SALVAGGIO, L.; ALBANO, A. Survival of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria* in soil. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, p. 439-444, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n.º 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/home.php>>. Acesso em: 10 Agosto de 2004.

BRECHT, J. K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **Hortscience**, v. 30, p. 15-22, 1995.

CENCI, S. A. Pesquisa em processamento mínimo de hortaliças no Brasil. In: **II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa. 2000. p.110.

CHERRY, J. P. Improving the safety of fresh produce with antimicrobial. **Food Technology**, v. 53, n. 11, p. 54-59, 1999.

CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998, 87p.

DAREZZO, H. M. Processamento mínimo de alface (*Lactuca sativa* L.). In: **II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa. 2000. p.117.

DELAQUIS, P. J.; STEWART, S.; TOIVONEN, P. M. A.; MOYLS, A. L. Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce. **Food Research International**, v. 32, p.7-14, 1999.

DOYLE, M. P. Fruit and vegetable safety– microbiological considerations. **Hortscience**, v. 25, p. 1478-1481, 1997.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce**. 2001. Disponível em: <www.fda.gov>. Acessado em: 15 Novembro de 2004.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Orientação para o Setor Hortifrutícola. 1998. Disponível em: <www.fda.gov>. Acessado em: 15 Novembro de 2004.

FRANCIS, G. A.; THOMAS, C.; O'BEIRNE, D. The microbiological safety of minimally processed vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 34, p. 1-22, 1999.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia. 1993. 681 p.

GARCÍA-GIMENO, R. M.; ZURERA-COSANO, G. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, p. 31-38, 1997.

GARCÍA-GIMENO, R. M.; SANCHEZ-POZO, M. D.; AMARO-LÓPEZ, M. A.; ZURERA-COSANO, G. Behaviour of *Aeromonas hydrophila* in vegetables salads stored under modified atmosphere at 4° and 15°C. **Food Microbiology**, v. 13, p. 369-374, 1996.

GARG, N.; CHUREY, J. J.; SPLITTSTOESSER, D. F. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 8, p. 701-703, 1990.

GIMÉNEZ, M.; OLARTE, C.; SANZ, S.; LOMAS, C.; ECHÁVARRI, J. F.; AYALA, F. Relation between spoilage and microbiological quality in minimally processed artichoke packaged with different films. **Food Microbiology**, v. 20, p. 231-242, 2003.

GLEESON, E.; O'BEIRNE, D. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. **Food Control**, v. 16, p. 677-685, 2005.

GOMÉZ, P. A.; ARTÉS, F. Improved keeping quality of minimally fresh processed celery sticks by modified atmosphere packaging. **LWT**, v. 38, p. 323-329, 2005.

GUERZONI, M. E.; GIANOTTI, A.; CORBO, M. R.; SINIGAGLIA, M. Shelf-life modeling for fresh-cut vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 195-207, 1996.

PAGOTTO, F.; DALEY, E.; FARBER, J.; WABURTON, D. Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and Environmental Samples. **Health Products and Food Branch**, p. 1-15, 2001.

WABURTON, D. Enumeration of *E. coli* and coliforms in food products and food ingredients using 3M™ Petrifilm™ *E. coli* plates. **Health Products and Food Branch**, p. 1-5, 2001.

HEARD, G. M. Microbiology of fresh-cut produce. In: **Fresh-Cut Fruits and Vegetables**. London: CRC PRESS, 2002, 236p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in Foods 5 – Microbiological Specifications of foods pathogens**. v.5. London: Blackie Academic & Professional, 1996. p.299-303. 513p.

INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION (IFPA). **Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry**. 215 p. 2001.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHIERE, F.; RAGAERT, P.; VANNESTE, E.; DEBEVERE, J. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of

equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p. 263-280, 2003.

KIM, J. G.; LUO, Y.; GROSS, K. C. Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, p. 99-107, 2004.

KING, A. D. Jr.; MAGNUSON, J. A.; TOROK, T.; GOODMAN, N. Microflora and storage quality of partially processed lettuce. **Journal of Food Science**, v. 56, p. 459-461, 1991.

LIMA, L. C. D. DE. Processamento mínimo de kiwi e mamão. In: **II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa. p. 95. 2000.

NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. **Food Control**, v.9, p. 117-143, 1999.

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

PALÚ, A. P.; TIBANA, A.; TEIXEIRA, L. M.; MIGUEL, M. A. L. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas e restaurantes self-service privados da Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, 2002.

PIAGENTINI, A. M.; PIROVANI, M. E.; GÜEMES, D. R.; DI PENTIMA, J. H.; TESSI, M. A. Survival and growth of *Salmonella hadar* on minimally processed cabbage as influenced by storage abuse conditions. **Journal of Food Science**, v. 62, p. 616-620, 1997.

PIROVANI, D. R. *et al.* Survival of *Salmonella hadar* after washing disinfection of minimally /processed spinach. **Letters in Applied Microbiology**, v. 31, p. 143-148, 2000.

REYES, V. G. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. **Food Australia**, v. 48, p. 87-90, 1996.

RHODEHAMEL, E. J. FDA's concerns with sous vide processing. **Food Technology**, v. 46, p. 73-76, 1992.

ROSA, O. O. **Microbiota Associada a Produtos Hortícolas Minimamente Processados Comercializados em Supermercados**. Minas Gerais. Universidade Federal de Lavras. Tese. 2002. 202 p.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. DE. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Boletim SBCTA**, v. 34, n. 2, p. 84-92, 2000.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P.; RIBEIRO, A. C. Presença de *Staphylococcus aureus* em vegetais minimamente processados. In: **II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa. p. 50. 2000.

SAPERS, G. M.; SIMMONS, G. F. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 52, n. 2, p. 48-53, 1998.

SCHLIMME, D. V.; ROONEY, M. Envasado de frutas y hortalizas mínimamente procesadas. In: **Frutas y Hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 362 p. 1997.

SCHLIMME, D. V. Marketing lightly fruits and vegetables. **Hortscience**, v. 30, n. 1, p.15-17, 1995.

SCHUENZEL, K. M.; HARRISON, M. A. Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh, minimally processed vegetables. Resúmo. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 15, 2002.

TATSUMI, Y.; WATADA, A. E.; WERGIN, W. P. Scanning electron microscopy of carrot stick surface to determine cause of white translucent appearance. **Journal of Food Science**, v. 56, p. 1357-1359, 1991.

TOURNAS, V. H. Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. **International of Food Microbiology**, v. 99, n. 1, p. 71-77, 2005.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4^a ed. Washington, DC.: American Public Health Association, 2001, 659 p.

VANETTI, M. C. D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: **II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa. p. 44. 2000.

VAROQUAUX, P.; WILEY, R. C. Cambios biológicos y bioquímicos em frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. In: **Frutas y Hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 362 p. 1997.

WATADA, A. E.; QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 201-205, 1999.

WATADA, W. A.; KO, N. P.; MINOTT, D. A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 115-125, 1996.

WILEY, R. C. Introducción a las frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. In: **Frutas y Hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. 362 p.

ZAGORY, D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 313-321, 1999.

ZHANG, S.; FARBER, J. M. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. **Food Microbiology**, v. 13, p. 311-321, 1996.

ZHUANG, R. Y.; BEUCHAT, L. R.; ANGULO, F. J. Fate of *Salmonella Montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 2127-2131, 1995.

ANEXOS

Tabela 1 – Resultados da contagem de microrganismos psicotróficos (UFC g-1) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias.

Amostras	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Agrião							
IN	6,0x10 ²	1,8x10 ³	9,8x10 ²	4,0x10 ¹	4,0x10 ²	2,3x10 ³	1,5x10 ³
S	<10	4,5x10 ²	7,2x10 ²	<10	1,0x10 ²	2,8x10 ²	8,3x10 ²
SFA	<10	1,2x10 ⁴	1,8x10 ³	<10	4,0x10 ³	6,0x10 ²	1,1x10 ³
Alface							
IN	1,2x10 ⁴	4,7x10 ²	3,7x10 ³	6,1x10 ³	4,3x10 ²	1,3x10 ³	1,0x10 ⁴
S	4,0x10 ¹	9,0x10 ¹	4,9x10 ²	3,9x10 ²	<10	1,9x10 ²	3,6x10 ²
SAF	2,8x10 ²	2,8x10 ²	2,4x10 ³	2,3x10 ³	<10	7,0x10 ³	1,6x10 ³
Cenoura							
IN	4,6x10 ⁴	1,4x10 ³	5,1x10 ³	1,3x10 ⁴	8,2x10 ⁴	1,7x10 ⁴	9,5x10 ⁴
S	3,1x10 ²	9,0x10 ²	2,0x10 ³	1,2x10 ³	2,1x10 ⁴	6,2x10 ²	2,7x10 ²
SAF	3,9x10 ²	1,1x10 ⁴	6,3x10 ⁴	9,9x10 ³	5,4x10 ⁴	1,5x10 ⁴	1,6x10 ⁴
Espinafre							
IN	9,3x10 ²	6,9x10 ³	1,0x10 ³	1,3x10 ³	1,5x10 ⁴	1,6x10 ⁴	1,9x10 ⁴
S	5,4x10 ²	6,1x10 ²	1,0x10 ²	5,7x10 ²	1,1x10 ³	1,4x10 ³	1,0x10 ³
SAF	3,2x10 ³	1,6x10 ³	7,0x10 ²	7,5x10 ²	3,3x10 ³	4,2x10 ³	1,3x10 ⁴
Repolho							
IN	1,2x10 ³	2,2x10 ²	2,3x10 ⁵	1,4x10 ⁴	7,1x10 ³	1,9x10 ⁴	2,0x10 ⁴
S	1,0x10 ³	<10	5,1x10 ²	7,7x10 ³	6,9x10 ²	8,0x10 ²	5,0x10 ³
SAF	1,1x10 ⁴	<10	2,0x10 ⁴	4,4x10 ⁴	8,2x10 ³	5,1x10 ³	9,5x10 ³
Rúcula							
IN	9,6x10 ³	1,0x10 ⁴	1,1x10 ²	3,0x10 ¹	1,9x10 ⁴	1,2x10 ⁴	6,0x10 ⁴
S	6,0x10 ¹	5,7x10 ²	<10	<10	1,8x10 ³	1,3x10 ³	1,2x10 ⁴
SAF	4,7x10 ²	3,9x10 ³	<10	<10	1,4x10 ⁴	1,7x10 ⁴	2,2x10 ⁴

Tabela 2 – Resultados da contagem de bolores e leveduras (UFC g⁻¹) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias.

Amostras	1^a	2^a	3^a	4^a	5^a	6^a	7^a
Agrião							
IN	5,0x10 ³	1,0x10 ⁴	1,3x10 ⁵	1,2x10 ⁴	3,9x10 ⁴	2,3x10 ⁶	1,4x10 ⁴
S	2,8x10 ³	7,0x10 ²	8,0x10 ²	4,7x10 ³	7,5x10 ³	1,3x10 ⁴	6,8x10 ³
SAF	1,1x10 ³	7,0x10 ²	9,0x10 ²	7,0x10 ²	4,6x10 ³	1,8x10 ³	1,9x10 ³
Alface							
IN	6,8x10 ⁵	2,4x10 ³	6,9x10 ³	9,1x10 ³	8,9x10 ⁴	5,1x10 ⁴	5,0x10 ³
S	3,6x10 ⁵	1,3x10 ³	1,0x10 ²	4,0x10 ²	7,3x10 ³	7,5x10 ³	8,0x10 ²
SAF	1,6x10 ⁵	4,0x10 ²	<10	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ³	6,0x10 ²
Cenoura							
IN	1,2x10 ⁶	8,3x10 ³	2,3x10 ⁴	1,4x10 ⁴	1,8x10 ⁵	1,2x10 ⁴	1,4x10 ⁴
S	1,5x10 ⁴	1,8x10 ³	1,5x10 ⁴	8,0x10 ³	7,4x10 ³	6,0x10 ³	5,0x10 ³
SAF	1,1x10 ⁴	1,5x10 ³	8,4x10 ³	1,3x10 ³	1,0x10 ⁴	5,7x10 ³	5,5x10 ³
Espinafre							
IN	1,5x10 ⁴	1,3x10 ⁵	3,2x10 ⁴	1,4x10 ⁴	2,0x10 ⁴	1,4x10 ⁵	5,6x10 ⁴
S	9,2x10 ³	1,1x10 ⁴	1,0x10 ³	3,9x10 ³	5,9x10 ³	6,1x10 ³	4,8x10 ³
SAF	1,1x10 ³	6,3x10 ³	4,0x10 ²	1,5x10 ³	2,6x10 ³	3,2x10 ³	1,2x10 ³
Repolho							
IN	3,5x10 ³	1,0x10 ³	3,6x10 ³	1,8x10 ⁵	8,7x10 ³	3,8x10 ³	5,9x10 ³
S	9,0x10 ²	5,0x10 ²	2,7x10 ³	1,6x10 ⁴	1,5x10 ³	2,0x10 ²	1,0x10 ³
SAF	4,0x10 ²	3,0x10 ²	1,8x10 ³	6,1x10 ³	1,2x10 ³	1,9x10 ³	1,3x10 ³
Rúcula							
IN	3,4x10 ⁶	6,9x10 ³	1,5x10 ⁵	2,9x10 ⁴	9,8x10 ⁴	1,0x10 ⁴	2,3x10 ⁵
S	5,6x10 ⁴	2,4x10 ³	1,4x10 ³	7,1x10 ³	1,1x10 ⁴	5,9x10 ³	2,8x10 ³
SAF	3,6x10 ⁴	4,0x10 ²	2,8x10 ³	1,7x10 ³	5,8x10 ³	5,5x10 ³	4,0x10 ³

Tabela 3 – Resultados da contagem de coliformes totais (UFC g-1) de hortaliças “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias.

Amostras	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Agrião							
IN	6,0x10 ²	2,9x10 ²	5,0x10 ¹	3,8x10 ²	1,6x10 ³	7,9x10 ²	5,6x10 ³
S	5,0x10 ²	1,2x10 ²	<10	1,3x10 ²	7,2x10 ²	3,4x10 ²	7,0x10 ²
SAF	7,0x10 ¹	<10	<10	<10	4,4x10 ²	8,0x10 ¹	<10
Alface							
IN	1,6x10 ³	<10	7,0x10 ³	5,9x10 ²	7,7x10 ²	4,2x10 ²	2,0x10 ²
S	1,3x10 ²	<10	1,1x10 ²	3,8x10 ²	2,4x10 ²	7,0x10 ¹	<10
SAF	1,0x10 ¹	2,1x10 ²	<10	6,0x10 ¹	<10	<10	<10
Cenoura							
IN	3,0x10 ⁴	1,5x10 ³	9,3x10 ²	9,2x10 ³	6,3x10 ³	1,3x10 ⁴	3,6x10 ³
S	1,6x10 ³	4,6x10 ²	5,1x10 ²	7,8x10 ²	7,1x10 ²	1,2x10 ⁴	7,8x10 ²
SAF	5,4x10 ²	3,4x10 ²	2,4x10 ²	1,6x10 ²	2,1x10 ²	6,3x10 ²	1,2x10 ²
Espinafre							
IN	7,2x10 ²	5,4x10 ²	2,3x10 ²	5,3x10 ²	1,2x10 ⁴	1,9x10 ³	7,8x10 ²
S	6,1x10 ²	6,0x10 ¹	<10	1,2x10 ²	1,1x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²
SAF	2,0x10 ²	1,0x10 ¹	<10	1,0x10 ¹	1,7x10 ²	6,4x10 ¹	3,0x10 ¹
Repolho							
IN	1,8x10 ³	2,0x10 ⁴	1,2x10 ³	1,4x10 ⁴	8,3x10 ²	1,3x10 ⁴	1,4x10 ³
S	3,6x10 ²	4,8x10 ²	3,4x10 ²	1,9x10 ³	4,5x10 ²	1,1x10 ⁴	7,1x10 ²
SAF	2,4x10 ²	4,0x10 ¹	3,1x10 ²	1,0x10 ³	1,8x10 ²	8,5x10 ³	3,3x10 ²
Rúcula							
IN	1,8x10 ²	5,4x10 ³	1,3x10 ³	1,0x10 ³	4,6x10 ²	3,5x10 ²	4,2x10 ²
S	4,0x10 ¹	9,0x10 ¹	3,0x10 ²	5,6x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,7x10 ²
SAF	3,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10	5,0x10 ¹	1,0x10 ¹	1,3x10 ²	1,5x10 ²

Tabela 5 – Resultados da detecção de *Salmonella* sp em hortaliças minimamente processadas, sendo estas “in natura” (IN), sanitizadas (S) e sanitizadas analisadas ao final do armazenamento (SAF) de 5 e 8 dias.

Amostras	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Agrião							
IN	Presença	Presença	Presença	Ausência	Ausência	Presença	Ausência
S	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença
SAF	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença	Ausência
Alface							
IN	Ausência	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
S	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
SAF	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Cenoura							
IN	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
S	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
SAF	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Espinafre							
IN	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
S	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
SAF	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença
Repolho							
IN	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
S	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
SAF	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Rúcula							
IN	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença
S	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença
SAF	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença

