

Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e Nutrição  
Mestrado em Alimentos e Nutrição

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE HORTALIÇAS  
PRODUZIDAS PELOS SISTEMAS DE CULTIVO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE  
ARARAQUARA-SP**

**Daniele Fernanda Maffei**

Araraquara - SP

2012

DANIELE FERNANDA MAFFEI

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE HORTALIÇAS  
PRODUZIDAS PELOS SISTEMAS DE CULTIVO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE  
ARARAQUARA-SP**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

**Orientadora:** Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi

Araraquara - SP

2012

### **Ficha Catalográfica**

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

M187q Maffei, Daniele Fernanda  
Qualidade higiênico-sanitária de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas na cidade de Araraquara - SP / Daniele Fernanda Maffei. – Araraquara, 2012  
50 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi

1. Hortaliças. 2. Segurança alimentar. 3. Cultivo orgânico e convencional. 4. Microrganismos indicadores. 5. Salmonella spp. I. Catanozi, Maria da Penha Longo Mortatti, orient. II. Título.

## COMISSÃO EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi  
Orientadora

---

Dra. Neliane Ferraz de Arruda Silveira

---

Prof. Dr. Adalberto Farache Filho

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus queridos pais José Carlos e Sandra, por terem sido meus primeiros educadores,  
minha irmã Debora, pela amizade e apoio e Cristiano, mais que namorado, um grande amigo,  
companheiro em todos os momentos.

Fundamentais na minha vida, amo vocês!

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

A DEUS

“Te adorarei meu Deus enquanto eu existir; proclamarei as maravilhas que fizeste em mim...”

(Deus imenso - Vida Reluz)

## **AGRADECIMENTOS**

À toda minha família, pelo apoio incondicional e incentivo constante nos meus estudos.

À professora Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi, pelo voto de confiança em me orientar, por sua amizade, generosidade e contribuição profissional e pessoal.

À pesquisadora Dra. Neliane Ferraz de Arruda Silveira, do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela amizade e contribuições muito valiosas para realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pelas produtivas observações durante o exame geral de qualificação e banca da dissertação.

A todos os colegas da pós-graduação, pela amizade e incentivo ao longo desse período em que estivemos juntos. Em especial, meus agradecimentos a Crislaine Perez, Renata Bonni e Grace Dourado, pela ajuda mais que especial ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores e funcionários da pós-graduação e serviço de biblioteca, pelo apoio profissional e atitude sempre colaborativa em diversos momentos.

Aos produtores e comerciantes de hortaliças da cidade de Araraquara-SP, pelo fornecimento das amostras para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico (PADC/UNESP) pelo auxílio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado concedida.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
INTRODUÇÃO.....	10
OBJETIVOS.....	11
CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
1.1 Segurança alimentar.....	12
1.2 Agricultura convencional <i>versus</i> agricultura orgânica.....	14
1.3 Produtos orgânicos.....	15
1.4 Certificação de produtos orgânicos.....	16
1.5 Hortaliças.....	18
1.6 Análise microbiológica de hortaliças.....	19
1.7 Fatores de influência na microbiota das hortaliças.....	21
Referências Bibliográficas.....	24
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO.....	30
Qualidade microbiológica de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas no Brasil.....	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
AGRADECIMENTOS.....	39
REFERÊNCIAS.....	40



## RESUMO

A busca por uma alimentação mais saudável tem atraído a atenção da população para o consumo de alimentos orgânicos. No entanto, alimentos orgânicos podem ser mais susceptíveis à contaminação microbiológica durante o processo de produção devido ao uso de fertilizantes orgânicos, possíveis fontes de contaminação por bactérias patogênicas. Neste trabalho, um total de 130 amostras de diferentes variedades de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas na cidade de Araraquara, São Paulo, localizada na região sudeste do Brasil, foram analisadas para quantificação de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli* e determinação de *Salmonella* spp. A maior prevalência das contagens microbianas registradas para hortaliças orgânicas e convencionais variaram de 6 a 7 log<sub>10</sub> UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas, 5 a 6 log<sub>10</sub> UFC/g para bolores e leveduras e 4 a 5 log<sub>10</sub> UFC/g para coliformes totais. *Escherichia coli* foi identificada em 41,5% das hortaliças orgânicas e 40,0% das hortaliças convencionais, com maior prevalência de contagem entre 1 a 2 log<sub>10</sub> UFC/g. Nenhuma das amostras foi positiva para *Salmonella* spp. A análise comparativa entre as contagens microbianas de ambos os sistemas de cultivo (orgânico e convencional) revelou maior nível de contaminação no cultivo orgânico. Estes resultados revelam a necessidade de boas práticas durante a produção e comercialização das hortaliças, bem como a adequada higienização antes do consumo, para garantir a qualidade dos alimentos e segurança alimentar da população.

Palavras-chave: hortaliças, segurança alimentar, cultivo orgânico e convencional, microrganismos indicadores, *Salmonella* spp.

## ABSTRACT

While searching for healthier diets, people became more attentive to organic produce. Yet, organic foods may be more susceptible to microbiological contamination because of the use of organic fertilizers, a possible source of pathogenic bacteria. In this study, 130 samples of different organic and conventional vegetable varieties sold in the city of Araraquara, São Paulo state, located in the southeast of Brazil, were analyzed for contamination-indicator microorganisms and *Salmonella* spp. Most of the mesophilic aerobic bacteria counts in organic and conventional vegetables ranged from 6 to 7 log<sub>10</sub> CFU/g; most of the yeasts and molds counts ranged from 5 to 6 log<sub>10</sub> CFU/g and most of the total coliforms counts ranged from 4 to 5 log<sub>10</sub> CFU/g. *Escherichia coli* was found in 41.5% of the organic and 40.0% of the conventional vegetables, and most samples had counts ranging from 1 to 2 log<sub>10</sub> CFU/g. *Salmonella* spp was not found in any sample. Comparative analysis of the microbial counts of both cropping systems (organic and conventional) showed that organic vegetables are more contaminated. These results indicate the need of good farming practices, and proper sanitization before consumption, to ensure food quality and safety.

*Keywords:* vegetables, food safety, organic and conventional farming, indicator microorganisms, *Salmonella* spp.

## INTRODUÇÃO

A busca por alimentos mais saudáveis constitui uma realidade em todo o mundo, que tem causado mudanças nos hábitos alimentares da população. Sistemas alternativos de produção foram desenvolvidos em resposta ao questionamento da sociedade sobre a sustentabilidade, segurança e qualidade dos alimentos produzidos pela agricultura convencional. Entre estes, a agricultura orgânica tem atraído a atenção do setor produtivo mundial, uma vez que visa produzir alimentos livres de contaminantes químicos, como os agrotóxicos e dessa forma, garantir maior segurança alimentar aos consumidores e preservação do meio ambiente.

Por outro lado, alimentos orgânicos podem ser mais susceptíveis à contaminação microbiológica durante o processo produtivo, devido ao emprego de fertilizantes de origem animal como o esterco, fonte de patógenos como *Salmonella* e *Escherichia coli*, podendo oferecer riscos à saúde dos consumidores. Dentre os alimentos produzidos por esse tipo de cultivo destacam-se as hortaliças, cujo consumo é altamente estimulado devido aos benefícios que trazem à saúde. No entanto, por serem consumidas “in natura”, aumenta o risco de transmissão de doenças.

Considerando que os consumidores brasileiros e o mercado internacional vem se tornando cada vez mais exigentes quanto à qualidade dos produtos de consumo diário, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas para identificar a presença de microrganismos deteriorantes e patogênicos nesses produtos, a fim de se estabelecer um controle adequado ao longo da cadeia produtiva, garantindo segurança alimentar à população.

Este trabalho buscou investigar o efeito dos sistemas de cultivo orgânico e convencional sobre a microbiota de diferentes variedades de hortaliças comercializadas na cidade de Araraquara-SP, permitindo alertar a população sobre o risco de transmissão de enfermidades devido a possíveis contaminações desses alimentos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas na cidade de Araraquara, SP.

### **Objetivos Específicos**

- Identificar e quantificar a presença dos grupos microbianos: bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.;
- Comparar os resultados obtidos com os padrões microbiológicos para alimentos da legislação brasileira em vigor, RDC nº. 12 de 02 de janeiro de 2001;
- Comparar a influência do sistema de cultivo (orgânico e convencional) sobre a microbiota das hortaliças analisadas.

## **CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1.1 Segurança alimentar**

A produção de alimentos sempre foi uma preocupação do homem em razão de sua sobrevivência. As tentativas para aumentar a produção, em decorrência do aumento populacional, ocasionaram rápidas mudanças nas técnicas agrícolas. O desenvolvimento econômico, social e científico foi um fator que possibilitou a criação de novos recursos e/ou tecnologias para o uso na agricultura, objetivando o aumento da produção e da qualidade dos alimentos (Souza, 2006).

No entanto, a crescente demanda por alimentos tem motivado o uso de maiores quantidades de defensivos agrícolas, como por exemplo, os agrotóxicos e/ou pesticidas, com o objetivo de prevenir ou combater pragas, visando assegurar maior produtividade. Como consequência do aumento do uso desses insumos, surgiu o problema dos resíduos de pesticidas, que podem ser encontrados nos alimentos e no ambiente e que, devido sua toxicidade, acarretam problemas de saúde pública e ambiental (Caldas e Souza, 2000).

A cada dia aumentam as exigências dos consumidores em adquirir produtos isentos de risco. A questão da contaminação dos alimentos não se restringe apenas aos resíduos de produtos químicos. Há também o risco de contaminação biológica, por microrganismos como bactérias, fungos, vírus etc., muitos dos quais com características patogênicas, podendo ser oriundos da água, solo e adubo utilizado na produção agrícola, causando riscos à saúde da população (Souto, 2005).

Os problemas relacionados com a segurança dos alimentos são cada dia mais frequentes e decorrentes da urbanização intensa, da globalização do mercado de alimentos, de mudanças nos hábitos de consumo e das técnicas de produção primária mais intensificadas, entre outros fatores. Em decorrência disso, a segurança dos alimentos tem se tornado uma

preocupação para a sociedade e um desafio, tanto para os países desenvolvidos como para os países em desenvolvimento (Neves, 2006).

A segurança alimentar, com ênfase em aspectos qualitativos, pode ser entendida como a aquisição, pelo consumidor, de alimentos com boa qualidade, livres de contaminantes de natureza química, biológica, física ou qualquer substância que possa acarretar problemas à saúde (Spers e Kassouf, 1996; Tamiso, 2005).

No Brasil, o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA) é um instrumento de articulação entre governo e sociedade civil, na proposição de diretrizes para as ações na área de alimentação e nutrição. Instalado em 30 de janeiro de 2003, o conselho tem caráter consultivo e assessoria na formulação de políticas e orientações para que o país garanta o direito humano à alimentação adequada. A definição do termo segurança alimentar e nutricional adotada pelo CONSEA, é a de que “segurança alimentar e nutricional é a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis” (CONSEA, 2011).

O binômio saúde/alimentação tem despertado a atenção do consumidor na busca por alimentos mais saudáveis. Portanto, não é surpreendente que a agricultura orgânica apresente-se em ampla expansão em nível mundial por suas características de sustentabilidade e produtos de qualidade com certificação que atendam à crescente demanda por parte de consumidores mais exigentes (Almeida et al., 2000; Carmo e Magalhães, 1999).

## 1.2 Agricultura convencional *versus* agricultura orgânica

A agricultura convencional é um sistema que visa acima de tudo a produção, deixando em segundo plano a preocupação com a conservação do meio ambiente. É baseada no uso intensivo de produtos da indústria química e mecânica e mais modernamente químico-mecânica-biotecnológica (Teles, 2007). Além disso, estão associados a esse tipo de prática agrícola problemas como danos à saúde humana através da contaminação na cadeia alimentar e do manuseio inadequado dos agrotóxicos, desmatamento crescente e conseqüente diminuição da fauna e da flora existente, além do êxodo rural, haja vista que o modelo demanda inexpressiva mão-de-obra, agravando os problemas sociais (Carvalho, 1999).

Diversos sistemas alternativos de produção foram desenvolvidos em resposta ao questionamento da sociedade sobre a sustentabilidade e qualidade dos alimentos oriundos da agricultura convencional. Entre esses, a agricultura orgânica tem atraído a atenção do setor produtivo mundial, por resgatar os princípios e os mecanismos que operam na natureza em substituição aos insumos tradicionais (Bettiol et al., 2004).

Os primeiros movimentos em oposição à agricultura convencional começaram na década de 1920. Nesse período, na Inglaterra, o agrônomo Albert Howard percebeu que a adubação química produzia ótimos resultados nos primeiros anos, mas depois os rendimentos caíam drasticamente, enquanto que os métodos de adubação tradicional dos camponeses, baseados em uso de excrementos animais com restos de cultura, cinzas e ervas daninhas resultavam em colheitas menores, porém constantes. Albert difundiu seus conhecimentos, iniciando-se assim uma nova vertente denominada agricultura orgânica (Paulus, 1999; Teles, 2007).

A agricultura orgânica vem sendo definida de diferentes maneiras pelos especialistas, devido à diversidade de sistemas de produção incluídos no conceito orgânico.

Para Caporal e Costabeber (2002), agricultura orgânica é o resultado das aplicações de técnicas e métodos diferenciados dos pacotes convencionais, normalmente estabelecidos de acordo com regulamentos e regras que orientam a produção, impondo limites ao uso de agroquímicos e liberdade para o uso de produtos naturais. Carvalho (1999), por sua vez, definiu agricultura orgânica como um conjunto variado de tecnologias e práticas agrícolas voltadas para enaltecer as condições particulares de cada ecossistema, na produção agropecuária. Para Martins (2000), a agricultura orgânica visa também o bem estar do agricultor, a preservação da sociedade rural e a auto-suficiência do pequeno agricultor.

No Brasil, o sistema orgânico é definido pela Lei nº. 10.831 de 23 de dezembro de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e estabelece a seguinte conceituação e definição oficial (Brasil, 2003):

“Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso de recursos naturais e sócio-econômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo como objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, empregando sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos genéticos modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização e a proteção ao meio ambiente”.

### **1.3 Produtos orgânicos**

Têm sido observados sinais que evidenciam uma mudança de hábito alimentar entre os brasileiros, na direção de uma maior demanda por produtos orgânicos. A julgar pela presença dos orgânicos nas gôndolas de supermercados, estima-se que exista um potencial de mercado de expressiva magnitude para estes produtos. Tais observações, por si mesmas, chamam a



atenção para o potencial deste novo nicho de consumo e para a necessidade da implementação de análises sobre o tema (Borguini e Mattos, 2002).

Pesquisa realizada por Barker (1998) com consumidores cujas escolhas refletiam preço, nível de defeitos dos produtos, diferentes níveis de pesticidas utilizados e programas de certificação, encontrou resultados indicando que os consumidores têm um forte desejo de consumir alimentos seguros e estão dispostos a pagar um diferencial de preço por isso.

Para ser considerado orgânico, o produto tem que ser produzido em um ambiente de produção orgânica, onde se utiliza como base do processo produtivo os princípios agroecológicos que contemplam o uso responsável do solo, da água, do ar e dos demais recursos naturais, respeitando as relações sociais e culturais. Esses produtos são cultivados sem o uso de agrotóxicos, adubos químicos e outras substâncias tóxicas e sintéticas, com o intuito de evitar a contaminação dos alimentos ou do meio ambiente (Anônimo, 2010).

Segundo Rezende e Farina (2001), as principais características da agricultura orgânica são: a) proteção da fertilidade do solo a longo prazo, devido à manutenção dos níveis de matéria orgânica e promoção da atividade biológica; b) fornecimento de nutrientes para a cultura de modo indireto, que serão disponibilizados às plantas após a ação dos microrganismos; c) controle de ervas, pragas e doenças com base na rotação de culturas, adubação orgânica, diversidade, predadores naturais e uso de variedades resistentes, sendo que a intervenção química ou biológica é mínima ou nula.

#### **1.4 Certificação de produtos orgânicos**

A certificação é importante no sentido de dar ao consumidor uma garantia de que os produtos que eles estão levando para as suas casas realmente são orgânicos. Ela visa conquistar maior credibilidade dos consumidores e conferir maior transparência às práticas e aos princípios utilizados na produção orgânica (Teles, 2007).

Para se tornar um produtor orgânico, é necessário que o agricultor seja submetido a um rigoroso processo de investigação das condições ambientais do estabelecimento agrícola e de potencialidade para a produção. O produtor deve respeitar as normas durante todas as etapas de produção, desde a preparação do solo à embalagem do alimento, sempre preservando os recursos naturais. Além disso, o agricultor assina um contrato com uma certificadora que prevê a fiscalização da sua produção, de modo a garantir a rastreabilidade e a qualidade do produto a ser disponibilizado para o consumidor (Dulley, 2002).

Cada país possui suas próprias normas para o processo de produção e certificação de alimentos orgânicos, mesmo que essas estejam fundamentadas em conceitos internacionalizados. A IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) é uma entidade internacional fundada em 1972, que estabelece regras e normas para definir o que é um produto orgânico e credencia, em todo o mundo, órgãos responsáveis para a inspeção e certificação. As regras do IFOAM são publicadas para todos os sistemas produtivos ou categorias de produtos. Segundo elas, após o processo de reconhecimento, o certificador torna-se responsável por definir regras específicas para a concessão do uso do selo, além de medidas disciplinares (sanções) e corretivas, incluindo suspensão temporária ou permanente (IFOAM, 2010).

No mercado brasileiro, há algumas certificadoras em operação, dentre as quais se pode citar: Associação dos Agricultores Biológicos do estado do Rio de Janeiro (ABIO), Associação de Agricultura Natural de Campinas e Região (ANC), Associação Ecovida de Certificação Participativa (ECOVIDA), Ecocert Brasil (ECOCERT), Instituto Biodinâmico (IBD Certificações Ltda.), Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) e IMO Control do Brasil. Os certificados emitidos por organizações credenciadas nacional ou internacionalmente podem garantir que os produtos adquiridos são genuinamente orgânicos, ou seja, foram produzidas sob condições orgânicas de processamento. No entanto, tais

certificados não garantem que os mesmos produtos estão livres de qualquer contaminação ao longo da cadeia produtiva de acordo com as expectativas do consumidor (Rezende e Farina, 2001).

### **1.5 Hortaliças**

Hortaliça é a denominação genérica para verduras e legumes. Estas por sua vez são plantas ou partes de plantas que servem para o consumo humano. Utiliza-se a denominação verdura quando as partes comestíveis do vegetal são as folhas, flores, botões ou as hastes, como acelga, alface, agrião, espinafre, brócolis e a denominação legume quando as partes comestíveis são os frutos, as sementes ou as partes que se desenvolvem na terra, como abobrinha, batata, berinjela, cenoura, tomate, mandioca (Philippi, 2003).

A grande importância da inclusão de hortaliças variadas na dieta se deve ao fato de serem importantes fontes de vitaminas, minerais e fibras, auxiliando para uma nutrição adequada e para o bom funcionamento do organismo.

As hortaliças verdes e amarelo-alaranjadas são esplêndida fonte de pró-vitamina A (caroteno), podendo cobrir de 60 a 70% das exigências dessa vitamina quando são servidas em duas refeições diárias. Quando consumidas cruas são também ótima fonte de vitamina C, completando as quotas fornecidas pelas frutas, principalmente as cítricas. As hortaliças contêm também vitaminas do complexo B, são ricas em minerais como ferro, cálcio, potássio, magnésio e outros indispensáveis ao organismo (Ornellas, 2001).

Os benefícios à saúde relacionados ao consumo diário de hortaliças são claramente estabelecidos. No entanto, é necessário garantir também que as mesmas apresentem uma qualidade higiênico-sanitária adequada, visando garantir o fornecimento de um alimento saudável e seguro à população.

## 1.6 Análise microbiológica de hortaliças

A busca por alimentos mais saudáveis constitui uma realidade em todo o mundo, trazendo mudanças nos hábitos alimentares da população. O consumo de frutas e hortaliças tem sido estimulado por campanhas, em vários países, pelos grandes benefícios que trazem à saúde. Por outro lado, as autoridades sanitárias relacionam o consumo de frutas e hortaliças contaminados como um dos principais veículos na ocorrência crescente de surtos de doenças de origem alimentar (Leitão, 2006).

No processo de produção, os alimentos oriundos da agricultura orgânica são mais suscetíveis à contaminação microbiológica do que os convencionais, por usar em grande escala a adubação orgânica, de origem animal. O ambiente úmido associado à utilização de adubos orgânicos, constituídos de fezes provenientes de vários animais, favorece as contaminações destes alimentos, ao contrário do que ocorre com a adubação química. Frequentemente estão presentes em fezes de animais, bactérias do grupo coliformes termotolerantes, como *Escherichia coli* e outras enterobactérias, além de *Salmonella* spp., que podem provocar surtos de toxinfecção alimentar quando presentes em quantidades significativas nos alimentos. A contaminação fecal de hortaliças, principalmente daquelas que são ingeridas “in natura”, constitui o fator de maior relevância na epidemiologia das enteroparasitoses (Silva Junior, 2008).

As bactérias do grupo coliforme são bastante comuns, uma vez que se originam do próprio solo de cultivo, porém, as linhagens de *Escherichia coli* não devem fazer parte da microbiota normal, se os produtos forem cultivados em solo livre de contaminação fecal, irrigados com água de boa qualidade e manipulados sob condições de boas práticas. Já os fungos, particularmente leveduras, também fazem parte da microbiota natural de frutas e têm sido detectados com frequência em vegetais processados; não são patogênicos, mas muitas espécies, se presentes em grande número, podem provocar alterações nos produtos,

modificando características como sabor e aroma, diminuindo a vida útil do mesmo (Nascimento et al., 2003).

Ao longo dos últimos anos, vêm sendo desenvolvidos alguns estudos, buscando identificar a presença de microrganismos e o risco de transmissão de doenças pela ingestão de hortaliças frescas, uma vez que estas estão frequentemente presentes no cardápio da população.

Takayanagui et al. (2000) analisaram as condições higiênico-sanitárias de 129 hortas produtoras de verduras no município de Ribeirão Preto, SP. A análise laboratorial revelou irregularidades em 20,1% delas, destacando-se elevada concentração de coliformes termotolerantes em 17%, presença de *Salmonella* em 3,1% e de vários enteroparasitas em 13,1% das hortas. Durante o período de julho/1998 a novembro/1999, Takayanagui et al. (2006) também analisaram amostras de 45 cadeias produtivas de hortaliças de Ribeirão Preto, incluindo hortas (água de irrigação, verduras no canteiro, água do tanque de lavagem e verduras após a lavagem) e os respectivos pontos de venda final ao consumidor (supermercados, quitandas, mercearias e feiras-livres). Os resultados revelaram presença de bactérias (coliformes ou *Salmonella*) e/ou parasitas em 31 (69%) das 45 cadeias de produção, sendo nas verduras do comércio em 16%, no canteiro em 31% e após a lavagem nos tanques em 22%.

Lotto e Valarini (2007) analisaram amostras de alfaces provenientes de quatro municípios do estado de São Paulo e constataram contaminação por coliformes fecais em amostras de alface sob cultivo convencional (CC) e cultivo orgânico (CO), sendo as maiores concentrações encontradas nas alfaces de CC. Ao contrário, Santana et al. (2006) verificaram índices superiores de contaminação por coliformes fecais em CO em relação ao CC, ao analisar 60 amostras de alfaces cultivadas no estado da Bahia.

Mukherjee et al. (2004), analisaram a presença de coliformes totais, *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Escherichia coli* O157:H7 em frutas e vegetais frescos produzidos pelos sistemas orgânicos e convencionais. As amostras foram coletadas de 32 produtores orgânicos e 8 convencionais, sendo que apenas 8 dos produtores orgânicos eram certificados. Os demais relataram uso de práticas orgânicas. As porcentagens de *E.coli* obtidas nas amostras em produção convencional e orgânica foram de 1,6 e 9,7%, respectivamente. No entanto, a prevalência de *E.coli* em produtos orgânicos certificados foi de 4,3%, nível não estatisticamente diferente daquele encontrado em amostras convencionais. Já a presença de *E.coli* O157:H7 não foi detectada em nenhuma das amostras, sendo constatada apenas presença de *Salmonella* em duas amostras isoladas de produtos orgânicos.

Nascimento et al. (2005) analisaram 42 amostras de alface comercializada no município de São Luiz, MA, durante os meses de agosto a outubro de 2002. Os resultados revelaram ausência de *Salmonella* e presença de *Escherichia coli* em 29 amostras. Também no município de São Luiz, MA, Ribeiro et al. (2005) analisaram 60 amostras de alfaces provenientes de hortas convencionais, sendo que do total das amostras, 96,6% apresentavam-se contaminadas por enteroparasitas.

Percebe-se, portanto, que as hortaliças constituem um importante veículo de transmissão de microrganismos causadores de doenças e, tendo em vista que o número de trabalhos publicados no Brasil, analisando comparativamente hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional ainda é restrito, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que possibilitem essas informações.

### **1.7 Fatores de influência na microbiota das hortaliças**

A microbiota das hortaliças é muito diversificada e sua qualidade e segurança dependem de vários fatores, incluindo solo de cultivo, adubo utilizado, água de irrigação,

presença de animais no campo e boas práticas durante a manipulação e comercialização dos produtos (Beuchat, 2002). Os riscos de contaminação, devido ao cultivo em contato com o solo e fertilizantes orgânicos, tornam difícil o controle na prevenção de patógenos e microrganismos deteriorantes (Oliveira et al., 2011).

Para Smith (1993), a contaminação microbiológica depende principalmente das condições ambientais e práticas de produção adotadas pelos produtores, sendo que tanto alimentos orgânicos como convencionais estão sujeitos aos mesmos riscos de contaminação. O esterco, fertilizante animal mais empregado na produção agrícola, tem seu efeito benéfico para adubação, porém é fonte de microrganismos entéricos (Pell, 1997) e pode levar à entrada de patógenos na cadeia alimentar (Islam et al., 2004). Portanto, técnicas para reduzir o risco de contaminação devem ser efetivamente colocadas em prática em ambos os sistemas de cultivo.

O produtor deve atentar para os diversos fatores que podem oferecer risco de contaminação às hortaliças produzidas, tomando medidas para evitar ou minimizar tais riscos. Dentre esses, o monitoramento da qualidade da água utilizada na irrigação das hortas é fundamental, uma vez que essa pode ser veículo de transmissão de microrganismos deteriorantes e patogênicos, além de diversos parasitas (Marouelli, 2004; Souto, 2005).

Um processo de compostagem bem feito também é imprescindível para diminuir o risco de contaminação. A compostagem é uma técnica na qual restos de vegetais, esterco e outros tipos de resíduos orgânicos são amontoados em pilhas em local conveniente e deixados decompondo-se, até estarem prontos para serem devolvidos ao solo para melhorar sua fertilidade. Pode ser definida como processo biológico aeróbico e controlado de tratamento e estabilização de resíduos orgânicos para a produção de adubo (Santos et al., 2006).

Um dos fatores de grande relevância no processo de transformação da matéria orgânica é a temperatura do ambiente onde se realiza o processo. De maneira geral, quando a

matéria orgânica, em grandes quantidades e condições controladas é decomposta, o calor criado pelo metabolismo dos microrganismos se acumula e dissipa, sendo que a temperatura do meio pode alcançar valores elevados, podendo chegar a cerca de 80°C (Cerri et al., 2008). No início do processo há um forte crescimento dos microrganismos mesófilos. Com a elevação gradativa da temperatura, resultante do processo de biodegradação, a população de mesófilos diminui e os microrganismos termófilos proliferam com mais intensidade. A fase termofílica é requisito básico para degradação ativa, tendo em vista que, atingindo essa faixa, se eliminam microrganismos patogênicos e se acelera o tempo de compostagem da massa de resíduos (Pereira Neto, 1996).

Uma compostagem bem feita, de acordo com técnicas de segurança e qualidade, pode evitar o risco de surtos causados por alimentos contaminados pela adubação contendo microrganismos patogênicos, como por exemplo, o surto ocorrido em países europeus em meados de 2011, no qual brotos de feijão produzidos por uma fazenda orgânica no norte da Alemanha apresentavam-se contaminados pela bactéria *Escherichia coli* O104:H4, causando cerca de 50 mortes e 4.075 casos de enfermidades, incluindo enterohemorrágicas e Síndrome Hemolítica-Urêmica, dados disponíveis até julho/2011 (WHO, 2011).



## Referências Bibliográficas

Almeida, D.L.; Azevedo, M.S.F.R.; Cardoso, M.O.; De-polli, H.; Guerra, J.G.M.; Medeiros, C.A.B.; Neves, M.C.P.; Nunes, M.U.C.; Rodrigues, H.R.; Saminez, T.C.O; Vieira, R.C.M. Agricultura Orgânica: Instrumento para a Sustentabilidade dos Sistemas de Produção e Valoração de Produtos Agropecuários. Embrapa Agrobiologia. Seropédica, **Documentos**, n. 122, 22p, 2000.

Anônimo. **O que são alimentos orgânicos.** Disponível em: <<http://www.prefiraorganicos.com.br>> . Acesso em: 22 jun. 2010.

Barker, G. Strategic implications of consumer food safety preferences. **International Food and Agribusiness Management Reviews**, v.01, n.04, p.451-463, 1998.

Bettiol, W.; Ghini, R.; Galvão, J.H.A.; Siloto, R.C. Organic and Conventional tomato cropping systems. **Scientia Agrícola**, v.61 n.03, p.253-259, Piracicaba,SP, 2004.

Beuchat, L. R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection** v.04, n.04, p.413-423, 2002.

Borguini, R.G.; Mattos, F.L. **Análise do consumo de alimentos orgânicos no Brasil.** In: Anais do XL Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural. Passo Fundo; Brasília: SOBER, 2002. p.38.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 abr. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Lei nº. 10.831 de 23 de dezembro de 2003**. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 27 jun. 2011.

Caldas, E.C.; Souza, L.C.K.R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.05, p.529- 537, 2000.

Caporal, F.R.; Costabeber, J.A. Agroecologia: Enfoque científico e estratégico. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. Porto Alegre, v.03, n.03, 2002.

Carmo, M.S.; Magalhães, M.M. Agricultura sustentável: avaliação da eficiência técnica e econômica de atividades agropecuárias selecionadas no sistema não convencional de produção. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.29, n.07, 1999.

Carvalho, Y.M.C. **O Movimento de Tecnologia Agrícola Alternativa em São Paulo**. In: Agricultura Ecológica, Editora Agropecuária, Guaíba, RS, 1999.

Cerri, C.E.P.; Oliveira, E.C.A.; Sartori, R.H.; Garcez, T.B. **Compostagem**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Programa de Pós-graduação em solos e nutrição de plantas. Piracicaba, 2008.

CONSEA. **Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional**.

Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br/consea/index.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2011.

Dulley, R.D. **As diversas faces da agricultura orgânica**. 2002. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br>>. Acesso em: 09 mai. 2010.

IFOAM. **International Federation of Organic Agriculture Movements**. Disponível em: <<http://www.ifoam.org/>>. Acesso em: 10 mai. 2010.

Islam, M.; Doyle, M.P.; Phatak, S.C.; Millner, P.; Jiang, X.P. Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. **Journal of Food Protection**. v.67, n.07, p. 1365-1370, 2004.

Leitão, M.F.F. **Perigos em Produtos agrícolas frescos**. *In*: Elementos de apoio para as boas práticas agrícolas e sistemas APPCC. Brasília, DF: CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2006. p.35-88.

Lotto, M.C.; Valarini, P.J. Avaliação da contaminação de coliformes fecais em alface (*Lactuca sativa*), água de irrigação e lavagem em sistemas de produção orgânica e convencional. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.02, n.02, p.1625-1628, 2007.

Marouelli, W.A. Controle da irrigação como estratégia na prevenção de doenças em hortaliças. **A Lavoura**, 2004. Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/artigos/651/horticultura.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2011.

Martins, M.C. **Produtos Orgânicos. Economia e gestão dos negócios agroalimentares**. São Paulo: Pioneira, p.385-401, 2000.

Mukherjee, A.; Speh, D.; Dyck, E.; Diez-Gonzales, F. Preharvest Evaluation of Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Organic and Conventional Produce Grown by Minnesota Farmers. **Journal of Food Protection**, v.67, n.05, p.894-900, 2004.

Nascimento, A.R.; Mouchrek Filho, J.E.; Mouchrek Filho, V. E.; Martins, A.G.A.L.; Bayma, A.B.; Gomes, A. B.; Gomes, S.V.; Marinho, S.C.; Carvalho, P.A.B.; Garcias Junior, A.V. Incidência de *Escherichia Coli* e *Salmonella* em Alface (*Lactuca Sativa*). **Higiene Alimentar**, v.19, n.128, 2005.

Nascimento, M.S.; Silva, N.; Catanozi, M.P.L.M.; Silva, K.C. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.06, n.01, p.63-68, 2003.

Neves, M.C.P. **Boas práticas agrícolas: Segurança na produção agrícola de alimentos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. 23p.

Oliveira, M.A.; Souza, V.M.; Bergamini, A.M.M.; Martinis, E.C.P. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. **Food Control**, v.22, n.08, p. 1400-1403, 2011.

Ornellas, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p.183-211, 2001.

Paulus, G. **Do Padrão Moderno à Agricultura Alternativa: Possibilidades de Transição**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.

Pell, A.N. Manure and microbes: Public and animal health problem? **Journal of Dairy Science**, v.80, n.10, p.2673-2681, 1997.

Pereira Neto, J.T. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. Unicef, Belo Horizonte, 1996. 56p.

Philippi, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética**. Barueri, SP: Manole, p.57-71, 2003.

Rezende, C.L.; Farina, E.M.M.Q. **Assimetria informacional no mercado de alimentos orgânicos**. In: II Seminário Brasileiro da Nova Economia Institucional, Campinas, 2001.

Ribeiro, A.S.; Guerra, R.M.S.N.C.; Teixeira, W.C.; Feitosa, M.L.T. Contaminação por Enteroparasitas em Amostra em Alfaces (*Lactuca Sativa*) de Hortas Produtoras de Verduras da Ilha de São Luiz, MA. **Higiene Alimentar**, v.19, n.135, 2005.

Santana, L.R.R.; Carvalho, R.D.S.; Leite, C.C.; Rodrigues, B.M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.26, n.02, p.264-269, 2006.

Santos, R.C.; Campos, J.F.; Pinheiro, C.D.; Tolon, Y.B.; Souza, S.R.L.; Baracho, M.; Carmo, E.L. Usinas de compostagem de lixo como alternativa viável à problemática dos lixões no meio urbano. **Enciclopédia Biosfera**, n.02, 2006.

Silva Junior, E.A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2008. 625p.

Smith, B.L. Organic foods vs. supermarket foods: element levels. **Journal of Applied Nutrition**, v.45, n.01, p.35-39, 1993.

Souto, R.A. **Avaliação sanitária de água de irrigação e de alfaces (*Lactuca sativa*) produzidas no município de lagoa seca, Paraíba**. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal da Paraíba, 2005.

Souza, M.V. **Resíduos de agrotóxicos ditiocarbamatos e organofosforados em alimentos consumidos no restaurante universitário-UNB: avaliação da exposição humana.**

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, 2006.

Spers, E.E.; Kassouf, A.L. A abertura do mercado e a preocupação com a segurança dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v.10, n.46, p.16-26, 1996.

Takayanagui, O.M.; Capuano, D.M.; Oliveira, C.A.D.; Bergamini, A.M.M.; Okino, M.H.T.; Silva, A.A.M.C.C.; Oliveira, M.A.; Ribeiro, E.G.A.; Takayanagui, A.M.M. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.39, n.02, p. 224-226, 2006.

Takayanagui, O.M.; Febrônio, L.H.P.; Bergamini, A.; Okino, M.H.T.; Silva, A.A.M.C.C.; Santiago, R.; Capuano, D.M.; Oliveira, M.A.; Takayanagui, A.M.M. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.33, n.02, p.169-174, 2000.

Tamiso, L.G. **Desempenho de cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob sistemas orgânicos em cultivo protegido.** Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.

Teles, V.L.L.C. **ADAO: Um estudo de caso sobre a agricultura orgânica em Goiás.** 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2007.

WHO. World Health Organization/Europe. **International health regulations: Outbreaks of E. coli O104:H4 infection.** Disponível em: <<http://www.euro.who.int/en/home>>. Acesso em: 22 ago. 2011.

## **CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO**

### **Qualidade microbiológica de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas no Brasil**

Daniele Fernanda Maffei<sup>1\*</sup>; Neliane Ferraz de Arruda Silveira<sup>2</sup>; Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Alimentos e Nutrição – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – Araraquara-SP - Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Tecnologia de Alimento – ITAL, Campinas-SP - Brasil.

## RESUMO

A busca por uma alimentação mais saudável tem atraído a atenção da população para o consumo de alimentos orgânicos. No entanto, alimentos orgânicos podem ser mais susceptíveis à contaminação microbiológica durante o processo de produção devido ao uso de fertilizantes orgânicos, possíveis fontes de contaminação por bactérias patogênicas. Neste trabalho, um total de 130 amostras de diferentes variedades de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas no Brasil, foram analisadas para quantificação de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli* e determinação de *Salmonella* spp. A maior prevalência das contagens microbianas registradas para hortaliças orgânicas e convencionais variaram de 6 a 7 log<sub>10</sub> UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas, 5 a 6 log<sub>10</sub> UFC/g para bolores e leveduras e 4 a 5 log<sub>10</sub> UFC/g para coliformes totais. *Escherichia coli* foi identificada em 41,5% das hortaliças orgânicas e 40,0% das hortaliças convencionais, com maior prevalência de contagem entre 1 a 2 log<sub>10</sub> UFC/g. Nenhuma das amostras foi positiva para *Salmonella* spp. A análise comparativa entre as contagens microbianas de ambos os sistemas de cultivo (orgânico e convencional) revelou maior nível de contaminação no cultivo orgânico. Estes resultados revelam a necessidade de boas práticas durante a produção e comercialização das hortaliças, bem como a adequada higienização antes do consumo, para garantir a qualidade dos alimentos e segurança alimentar da população.

Palavras-chave: hortaliças, segurança alimentar, cultivo orgânico e convencional, microrganismos indicadores, *Salmonella* spp.



## ABSTRACT

While searching for healthier diets, people became more attentive to organic produce. Yet, organic foods may be more susceptible to microbiological contamination because of the use of organic fertilizers, a possible source of pathogenic bacteria. In this study, 130 samples of different organic and conventional vegetable varieties sold in Brazil were analyzed for contamination-indicator microorganisms and *Salmonella* spp. Most of the mesophilic aerobic bacteria counts in organic and conventional vegetables ranged from 6 to 7 log<sub>10</sub> CFU/g; most of the yeasts and molds counts ranged from 5 to 6 log<sub>10</sub> CFU/g and most of the total coliforms counts ranged from 4 to 5 log<sub>10</sub> CFU/g. *Escherichia coli* was found in 41.5% of the organic and 40.0% of the conventional vegetables, and most samples had counts ranging from 1 to 2 log<sub>10</sub> CFU/g. *Salmonella* spp was not found in any sample. Comparative analysis of the microbial counts of both cropping systems showed that organic vegetables are more contaminated. These results indicate the need of good farming practices, and proper sanitization before consumption, to ensure food quality and safety.

*Keywords:* vegetables, food safety, organic and conventional farming, indicator microorganisms, *Salmonella* spp.

## INTRODUÇÃO

As hortaliças constituem um importante componente na dieta, pois fornecem nutrientes essenciais como vitaminas, minerais e fibras, proporcionando vários benefícios à saúde. O consumo regular de hortaliças é altamente recomendável, pois está associado à redução do risco de desenvolver doenças, como obesidade, câncer, doenças cardiovasculares entre outras (Liu, 2003; Ignarro, Balestrieri e Napoli, 2007).

Apesar dos benefícios à saúde, os vegetais folhosos são considerados alimentos preocupantes em relação aos riscos microbiológicos, pois diversos surtos de doenças transmitidas por alimentos, em vários países, tem sido associadas ao consumo de vegetais frescos contaminados (Beuchat, 2002; FAO/WHO, 2008), deixando muitos consumidores preocupados quanto à qualidade e segurança destes alimentos.

Ao longo das últimas décadas, sistemas alternativos de produção de alimentos foram desenvolvidos em resposta ao questionamento da sociedade sobre a sustentabilidade, segurança e qualidade dos alimentos oriundos da agricultura convencional, que emprega consideráveis quantidades de fertilizantes químicos. A agricultura orgânica tem atraído a atenção do setor produtivo mundial, por resgatar os princípios agroecológicos que contemplam a qualidade do solo, da água, do ar e da horticultura, respeitando o meio ambiente, bem como as relações sociais, econômicas e culturais (Bettiol et al., 2004; Gomiero, Pimentel e Paoletti, 2011).

Entretanto, os alimentos oriundos da agricultura orgânica podem ser mais susceptíveis à contaminação microbiológica do que os convencionais, devido à utilização de fertilizantes orgânicos, constituídos por fezes de animais, possíveis fontes de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7 (McMahon e Wilson, 2001; Johannessen et al., 2004). Dentre os alimentos produzidos por este tipo de

cultivo destacam-se as hortaliças, cuja contaminação constitui uma importante causa de doenças transmitidas por alimentos.

Embora haja na literatura vários trabalhos avaliando a qualidade microbiológica de hortaliças comercializadas no Brasil (Simoes et al., 2001; Nascimento et al., 2005; Takayanagui et al., 2006; Oliveira et al., 2011) e em outros países (Aycicek, Oguz e Karci, 2006; Oliveira et al., 2010; Quiroz-Santiago et al., 2009; Rincon et al., 2010), ainda há poucos estudos comparando o efeito do sistema de cultivo orgânico e convencional sobre a qualidade higiênico-sanitária das mesmas.

Este trabalho teve por objetivo comparar a qualidade microbiológica de diferentes variedades de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, comercializadas no Brasil, permitindo alertar a população sobre a microbiológica e o risco de transmissão de doenças devido à contaminação destes alimentos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### *Amostragem*

Um total de 130 amostras de hortaliças (65 orgânicas certificadas por autoridade nacional e 65 convencionais) foram adquiridas em feira-livre na cidade de Araraquara, São Paulo, localizada na região sudeste do Brasil e incluíram: alface (*Lactuca sativa* L) variedades crespa, lisa, americana e roxa; almeirão e catalônia (*Chicorium intybus* L); couve (*Brassica oleracea* L) e rúcula (*Eruca sativa* L) (Tabela 1), que representam as principais variedades comercializadas na região. Todas as amostras foram transportadas para o laboratório em sacos plásticos estéreis e mantidas sob refrigeração até o momento da análise.

### *Análises microbiológicas*

Cinquenta gramas de cada amostra de hortaliça foram homogeneizadas em 450 mL de água peptonada tamponada 0,1% (BPW) (Difco, France) por meio de lavagem superficial das folhas por massagem manual durante 1 minuto. Foram quantificados os grupos microbianos bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras utilizando metodologias clássicas (Morton, 2001; Beuchat e Cousin, 2001) e coliformes totais e *Escherichia coli*, utilizando o método rápido Petrifilm<sup>TM</sup> (Kornacki & Johnson, 2001), com os resultados expressos em unidades formadoras de colônias (UFC/g).

Para determinação de *Salmonella* spp., o homogeneizado obtido a partir da lavagem superficial das hortaliças foi utilizado como meio de pré-enriquecimento. Os procedimentos seguintes foram realizados segundo metodologia descrita pela ISO 6579:2002 (2007) e os resultados expressos como presença ou ausência de *Salmonella* spp.

### *Análise estatística*

Resultados expressos em UFC/g foram convertidos para logs decimais e submetidos aos testes T de Student e Mann-Whitney, de acordo com a distribuição das variáveis, para determinar diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre o nível de contaminação das hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional, utilizando software Sigma Stat versão 3.11 (Systat Software Inc., USA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade microbiológica das hortaliças orgânicas e convencionais foi determinada por meio da análise de *Salmonella* spp. e quantificação dos seguintes microrganismos indicadores de contaminação: bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e *Escherichia coli*.

Neste trabalho não foi identificada a presença de *Salmonella* spp., o que está de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2001), considerando que a presença deste patógeno em alimentos é inaceitável, pois pode representar riscos à saúde dos consumidores. A ausência de *Salmonella* neste trabalho é similar ao encontrado por Nascimento et al. (2005) e Machado et al (2006) em amostras de hortaliças frescas analisadas no Brasil. No entanto, este patógeno tem sido identificado em hortaliças comercializadas em diversos países, como México (Quiroz-Santiago et al., 2009), Turquia (Aytac et al., 2010), Canadá (Arthur et al., 2007) e também no Brasil (Simoes et al., 2001; Takayanagui et al., 2006).

A Tabela 2 apresenta a distribuição da prevalência das contagens dos grupos microbianos bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e *Escherichia coli* nas hortaliças orgânicas e convencionais.

Para bactérias aeróbias mesófilas, os resultados variaram de 5 a  $>7 \log_{10}$  UFC/g para hortaliças orgânicas e de 3 a  $>7 \log_{10}$  UFC/g para hortaliças convencionais, com a maior porcentagem das amostras entre 6 a  $7 \log_{10}$  UFC/g. Por serem cultivadas em contato direto com o solo e demais condições ambientais, as hortaliças refletem as condições de cultivo e processamento, podendo apresentar contagens superiores a  $7 \log_{10}$  UFC/g. Segundo Franco e Landgraf (2008), alimentos com contagens totais de mesófilos  $>10^6$  UFC/g indicam que o produto apresenta alterações organolépticas e pode estar impróprio para consumo, além do risco à saúde, pois muitas bactérias patogênicas são mesófilas. No entanto, a presença desse

grupo microbiano em hortaliças é esperada, upois são alimentos que mantêm contato direto com o solo e refletem as condições de processamento, podendo apresentar contagens  $>10^7$  UFC/g ( Brackett e Splittstoesser, 1992).

Bolores e leveduras estiveram presentes em contagens inferiores às bactérias aeróbias mesófilas, variando de 4 a  $>7 \log_{10}$  UFC/g para hortaliças orgânicas e convencionais, com a maior porcentagem das amostras presentes entre 5 a 6  $\log_{10}$  UFC/g. Oliveira et al.(2010) obtiveram resultados similares em amostras de hortaliças frescas comercializadas na Espanha, com bolores e leveduras presentes em contagens inferiores às bactérias. Embora seja um grupo microbiano caracterizado pela deterioração de alimentos, contagens elevadas nos alimentos pode representar riscos à saúde pública devido às micotoxinas produzidas pelos bolores. As doenças causadas por essas micotoxinas são muito variadas, como diversos tipos de câncer, e envolvem ampla variedade de espécies de animais susceptíveis (Kovács, 2004).

Coliformes totais estiveram presentes em contagens de 2 a 7  $\log_{10}$  UFC/g para hortaliças orgânicas e de 1 a 7  $\log_{10}$  UFC/g para hortaliças convencionais, com a maior porcentagem das amostras entre 4 a 5  $\log_{10}$  UFC/g. Estes microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, sendo comum sua presença em vegetais crus, por isso não são associados com contaminação fecal (Brackett e Splittsesser, 1992; Doyle & Erickson, 2006).

*Escherichia coli* é o melhor indicador de contaminação de origem fecal, por ser exclusivamente originária do trato gastrintestinal de homens e animais, sendo freqüentemente utilizada para monitoramento das condições higiênico-sanitárias dos alimentos (Jay, Loessner e Golden, 2005; Doyle & Erickson, 2006). Além disso, há algumas espécies patogênicas para o homem, como a *Escherichia coli* O157:H7, associada a diversos surtos de doenças transmitidas por alimentos (Delaquis, Bach e Dinu, 2007; Cieslik & Bartoszcze, 2011).

Neste trabalho, *Escherichia coli* foi identificada em 41,5% das hortaliças orgânicas e 40,0% das hortaliças convencionais, com a maior porcentagem das amostras apresentando

contagens entre 1 a 2 log<sub>10</sub> UFC/g (Tabela 2). A variedade de hortaliça que apresentou maior incidência de *Escherichia coli* foi a alface crespa orgânica, sendo que das 10 amostras analisadas, 9 foram positivas; por outro lado, couve foi a hortaliça que apresentou menor incidência de contaminação, sendo detectada em apenas 1 amostra convencional (Figura 1). Mukherjee et al. (2004) e Oliveira et al. (2010) também encontraram resultados indicando maior incidência de *Escherichia coli* em amostras de alface orgânica em relação à convencional. A elevada incidência de *Escherichia coli* em amostras de alface crespa é um dado preocupante, pois esta é uma das hortaliças de maior consumo (Agrianual, 2010), expondo a população ao risco de contaminação.

Os valores médios das contagens microbianas nas variedades de hortaliças orgânicas e convencionais foram comparados, a fim de verificar diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos níveis de contaminação entre ambos os sistemas de cultivo (Tabela 3). Foi possível observar que as amostras de alface crespa e almeirão orgânicos apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas superiores às convencionais ( $p = 0,01$  e  $0,02$ , respectivamente); rúcula orgânica apresentou contagem de bolores e leveduras superior à convencional ( $p = 0,01$ ) e couve orgânica apresentou contagem de coliformes totais superior à convencional ( $p = 0,005$ ).

Os valores médios das contagens de cada grupo microbiano também foram comparados independente da variedade de hortaliça, considerando apenas o sistema de cultivo, ou seja, orgânico *versus* convencional (Figura 2). Foi possível observar que as variáveis analisadas comportam-se de maneira semelhante, exceto para bactérias aeróbias mesófilas, indicando maior contaminação no sistema de cultivo orgânico em relação ao convencional ( $p = 0,04$ ). *Outliers* não foram excluídos da análise, pois fazem parte da amostragem e podem estar relacionados às variações que ocorrem na microbiota das hortaliças, em função do período de coleta, condições ambientais e de manipulação.

A microbiota das hortaliças é diversificada e sua qualidade e segurança dependem de vários fatores, incluindo solo de cultivo, adubo, água de irrigação, presença de animais no campo, boas práticas durante a manipulação e comercialização dos produtos. Além disso, a estrutura física das folhas pode contribuir para a ocorrência de diferenças nos níveis de contaminação entre as variedades de hortaliças (Beuchat, 2002; Oliveira et al., 2011).

O processo de compostagem, característico da agricultura orgânica, é uma excelente alternativa para reaproveitar resíduos orgânicos e oferece vários benefícios às plantas quando aplicado ao solo. No entanto, também pode afetar a proliferação microbiana quando realizado de maneira inadequada (tempo e temperatura insuficiente de compostagem) (Suárez-Estrella et al., 2003). Este é um dos fatores que pode justificar as contagens microbianas mais elevadas nas hortaliças orgânicas em relação às convencionais, encontradas neste trabalho.

Concluindo, os resultados obtidos demonstram que as hortaliças orgânicas e convencionais comercializadas na cidade de Araraquara, SP, Brasil apresentaram ausência de *Salmonella* spp. e consideráveis níveis de microrganismos indicadores de contaminação, o que indica a necessidade de práticas de higiene ao longo da cadeia produtiva das hortaliças, bem como a conscientização da população sobre a importância da adequada higienização das folhas antes do consumo, a fim de minimizar o risco de contaminação e transmissão de doenças de origem alimentar.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem o Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico (PADC/UNESP) pelo auxílio financeiro e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida à primeira autora.



## REFERÊNCIAS

Agrianual Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2010. 520p.

Arthur, L.; Jones, S.; Fabri, M.; Odumeruz, J. Microbial survey of selected Ontario-Grown fresh fruits and vegetables. **Journal of Food Protection**, v.70, n.12, p.2864-2867, 2007.

Aycicek, H.; Oguz, U.; Karci, K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.209, n.02, p.197-201, 2006.

Aytac, S.A.; Ben, U.; Cengiz, C.; Taban, B.M. Evaluation of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* contamination on leafy green vegetables. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v.08, n.02, p.275-279, 2010.

Bettiol, W.; Ghini, R.; Galvão, J.A.H.; Siloto, R.C. Organic and conventional tomato cropping systems. **Scientia Agricola**, v.61, n.0, p.253-259, 2004.

Beuchat, L.R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v.04, n.04, p.413-423, 2002.

Beuchat, L.R.; Cousin, M.A. Yeasts and molds. In: Downes, F.P.; Ito, K (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C, 2001. Chapter 20, p.209-215.

Brackett, R. E.; Splittstoesser, D.F. Fruits and vegetables. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C, 1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 abr. 2011.

Cieslik, P.; Bartoszcze, M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections: A threat to public health. **Medycyna Weterynaryjna**, v.67, n.09, p.571-578, 2011.

Delaquis, P.; Bach, S.; Dinu, L.D. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in leafy vegetables. **Journal of Food Protection**, v.70, n.08, p.1966-1974, 2007.

Doyle, M.P.; Erickson, M.C. Closing the door on the fecal coliform assay. **Microbe**, v.01, n.04, p.162-163, 2006.

Food and Agriculture Organization (FAO) / World Health Organization (WHO). (2008). **Microbiological Risk Assessment Series: Microbiological hazards in fresh fruit and vegetables**. Disponível em: <[http://www.fao.org/ag/agn/agns/jemra\\_riskassessment\\_freshproduce\\_en.asp/](http://www.fao.org/ag/agn/agns/jemra_riskassessment_freshproduce_en.asp/)>. Acesso em: 01 nov. 2011.

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo,SP: 2008.

Gomiero, T.; Pimentel, D.; Paoletti, M.G. Environmental impact of different agricultural management practices: conventional vs. organic agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.30, n.01-02, p.95-124, 2011.

Ignarro, L.J.; Balestrieri, M.L.; Napoli, C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: An update. **Cardiovascular Research**, v.73, n.02, p.326-340, 2007.

ISO 6579 (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – **Horizontal method for the detection of Salmonella spp.**, 4<sup>th</sup> ed. The International Organization for Standardization, amendment 1: 15/07/2007.

Jay, J.M.; Loessner, M.J.; Golden, D.A. **Modern food microbiology**, 7<sup>th</sup> ed (790p.). New York: Springer Science + Business Media, Inc., 2005.

Johannessen, G.S.; Froseth, R.B.; Solemdal, L.; Jarp, J.; Wasteson, Y.; Rorvik, L.M. Influence of bovine manure as fertilizer on the bacteriological quality of organic Iceberg lettuce. **Journal of Applied Microbiology**, v.96, n.04, p.787-794, 2004.

Kornacki, J.L.; Johnson, J.L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Downes, F.P.; Ito, K. (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C, 2001. Chapter 08, p.69-82.

Kovács, M. Nutritional health aspects of mycotoxins. **Orvosi hetilap**, v.145, n.34, p.1739-1746, 2004.

Liu, R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v,78, n.03, p.517-520, 2003.

Machado, D.C.; Maia, C.M.; Carvalho, I.D.; Silva, N.F.; André, M.C.D.P.B.; Serafini, A.B. Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n.04, p.538-544, 2006.

McMahon, M.A.S.; Wilson, I.G. The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v.70, n.01-02, p.155-162, 2001.

Morton, R.D. Aerobic plate count. In: Downes, F.P.; Ito, K (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C, 2001. Chapter 7, p.63-67.

Mukherjee, A.; Speh, D.; Dyck, E.; Diez-Gonzales, F. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. **Journal of Food Protection**, v.67, n.05, p.894-900, 2004.

Nascimento, A.R.; Mouchrek Filho, J.E.; Mouchrek Filho, V.E.; Martins, A.G.A.L.; Bayma, A.B.; Gomes, S.V.; Marinho, S.C.; Carvalho, P.A.B.; Garcias Junior, A.V. Incidence of

*Escherichia coli* and *Salmonella* in lettuce (*Lactuca sativa*). **Higiene Alimentar**, v.19, n.128, p.121-124, 2005.

Oliveira, M.; Usall, J.; Viñas, I.; Anguera, M.; Gatiús, F.; Abadías, M. Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. **Food Microbiology**, v.27, n.05, p.679-684, 2010.

Oliveira, M.A.; Souza, V.M.; Bergamini, A.M.M.; Martinis, E.C.P. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. **Food Control**, v.22, n.08, p.1400-1403, 2011.

Quiroz-Santiago, C.; Rodas-Suárez, O.R.; Vázquez, C.R.; Fernández, F.J.; Quiñones-Ramírez, E.I.; Vázquez-Salinas, C. Prevalence of *Salmonella* in vegetables from México. **Journal of Food Protection**, v.72, n.06, p.1279-1282, 2009.

Rincon, G.; Ginestre, M.; Romero, S.; Castellano, M.; Avila, Y. Microbiological quality and enteropathogenic bacteria in leaf vegetables. **Kasmera**, v.38, n.02, p.97-105, 2010.

Simoës, M.; Pisani, B.; Marques, E.G.L.; Prandi, M.A.G.; Martini, M.H.; Chiarini, P.F.T.; Antunes, J.L.F.; Nogueira, A.P. Hygienic-sanitary conditions of vegetables and irrigation water from kitchen gardens in the municipality of Campinas, SP. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, n.04, p.331-333, 2001.

Suárez-Estrella, F.; Vargas-García, M.C.; Elorrieta, M.A.; López, M.J.; Moreno, J. Temperature effect on *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* survival during horticultural waste composting. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, n.03, p.475–482, 2003.

Takayanagui, O.M.; Capuano, D.M.; Oliveira, C.A.D.; Bergamini, A.M.M.; Okino, M.H.T.; Silva, A.A.M.C.C.; Oliveira, M.A.; Ribeiro, E.G.A.; Takayanagui, A.M.M. Analysis of the vegetable productive chain in Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.02, p.224-226, 2006.

.

Tabela 1. Variedade e número de amostras de hortaliças orgânicas e convencionais analisadas neste trabalho.

Hortaliças	Cultivo convencional (n)	Cultivo orgânico (n)
Alface crespa	10	10
Alface lisa	10	10
Alface americana	10	10
Alface roxa	10	10
Almeirão	7	7
Catalônia	6	6
Couve	6	6
Rúcula	6	6
Total	65	65

(n) Número de amostras analisadas

Tabela 2. Prevalência das contagens microbianas nas hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional.

Intervalo de contagem <sup>a</sup>	Bactérias aeróbias mesófilas (%)		Bolores e Leveduras (%)		Coliformes Totais (%)		<i>Escherichia coli</i> (%)	
	CC	CO	CC	CO	CC	CO	CC	CO
10 <sup>1</sup> – 10 <sup>2</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0	6,2	0,0	35,4	33,8
10 <sup>2</sup> – 10 <sup>3</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0	26,1	24,6	4,6	3,1
10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	1,5	0,0	0,0	0,0	26,1	29,3	0,0	4,6
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	1,5	0,0	15,3	20,0	30,8	40,0	0,0	0,0
10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	23,1	7,7	50,8	41,5	7,7	4,6	0,0	0,0
10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup>	41,5	55,4	27,7	37,0	3,1	1,5	0,0	0,0
> 10 <sup>7</sup>	32,4	36,9	6,2	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0

<sup>a</sup>Intervalo em UFC/g

CC: Cultivo convencional / CO: Cultivo orgânico



Tabela 3. Contagem microbiana de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes variedades de hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional.

Hortaliça	Bactérias aeróbias mesófilas		Bolores e Leveduras		Coliformes Totais		<i>Escherichia coli</i>	
	CC	CO	CC	CO	CC	CO	CC	CO
Alface crespa	6,50 ± 0,59 <sup>a*</sup>	7,14 ± 0,26*	5,88 ± 0,32	5,55 ± 0,60	4,69 ± 0,89	4,62 ± 0,92	1,38 ± 0,61	1,93 ± 0,98
Alface lisa	6,07 ± 0,93	6,73 ± 0,59	5,33 ± 0,38	5,22 ± 0,69	3,11 ± 1,48	3,37 ± 0,79	1,30 ± 0,00	1,59 ± 0,93
Alface americana	6,50 ± 0,73	6,81 ± 0,34	5,24 ± 0,47	5,41 ± 0,50	3,23 ± 1,06	3,50 ± 1,00	1,58 ± 0,44	1,48 ± 0,00
Alface roxa	6,66 ± 0,75	6,69 ± 0,65	6,61 ± 0,73	6,31 ± 0,61	4,04 ± 0,78	3,18 ± 0,73	1,23 ± 0,29	1,16 ± 0,28
Almeirão	6,57 ± 0,59*	7,19 ± 0,22*	6,03 ± 0,41	6,10 ± 0,79	4,28 ± 0,50	4,64 ± 0,32	1,49 ± 0,32	1,45 ± 0,21
Catalônia	7,48 ± 0,46	6,67 ± 0,90	6,01 ± 0,78	6,02 ± 0,46	5,05 ± 0,97	4,69 ± 0,56	1,50 ± 0,71	1,49 ± 0,85
Couve	6,24 ± 0,35	6,33 ± 0,57	5,48 ± 0,22	5,43 ± 0,61	2,94 ± 0,51*	4,22 ± 0,35*	1,48 ± 0,00	<1,00 ± 0,00
Rúcula	6,25 ± 1,27	6,85 ± 0,88	5,09 ± 2,02*	6,36 ± 0,17*	2,93 ± 0,73	2,99 ± 0,98	1,30 ± 0,43	2,09 ± 0,55

<sup>a</sup> Resultados expressos em média ± DP (log10UFC/g)

\* Significativamente diferentes

Diferenças estatísticas entre os grupos foram analisadas pelo teste Mann-Whitney ( $p \leq 0,05$ )

CC: Cultivo convencional / CO: Cultivo orgânico

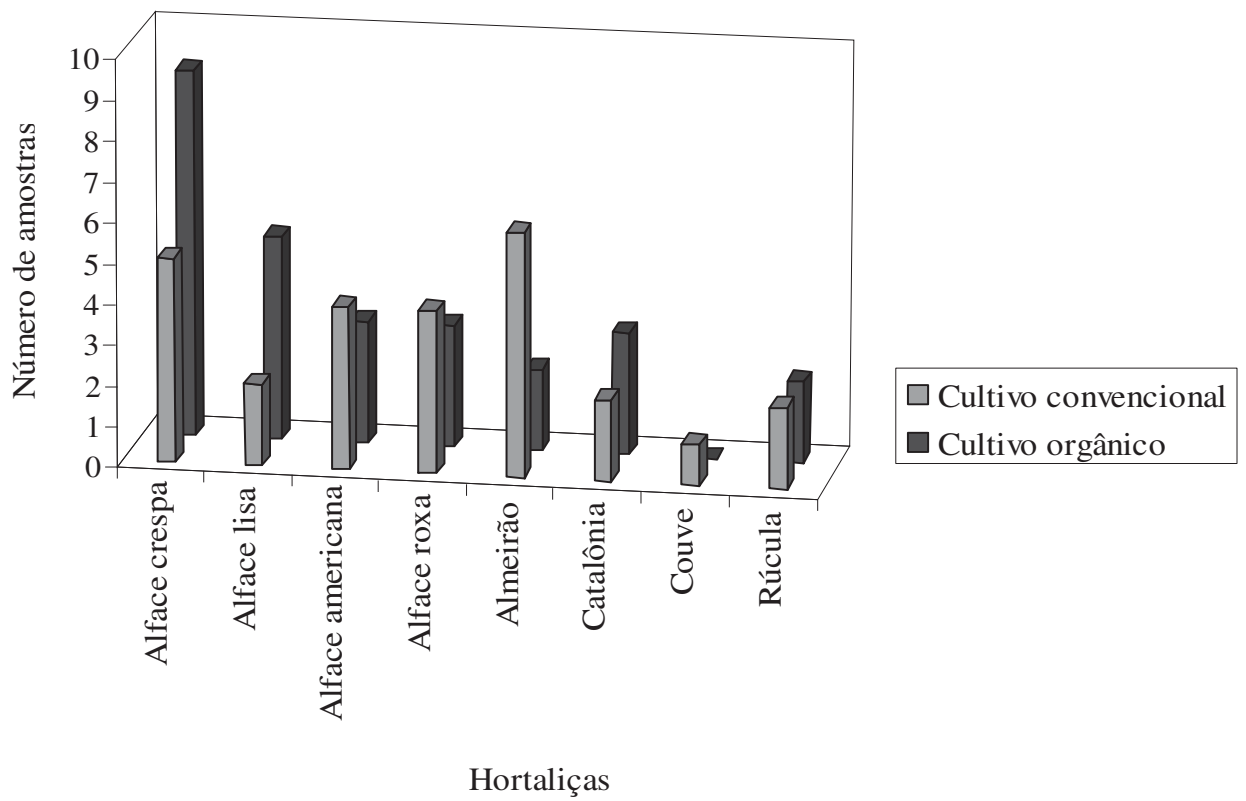
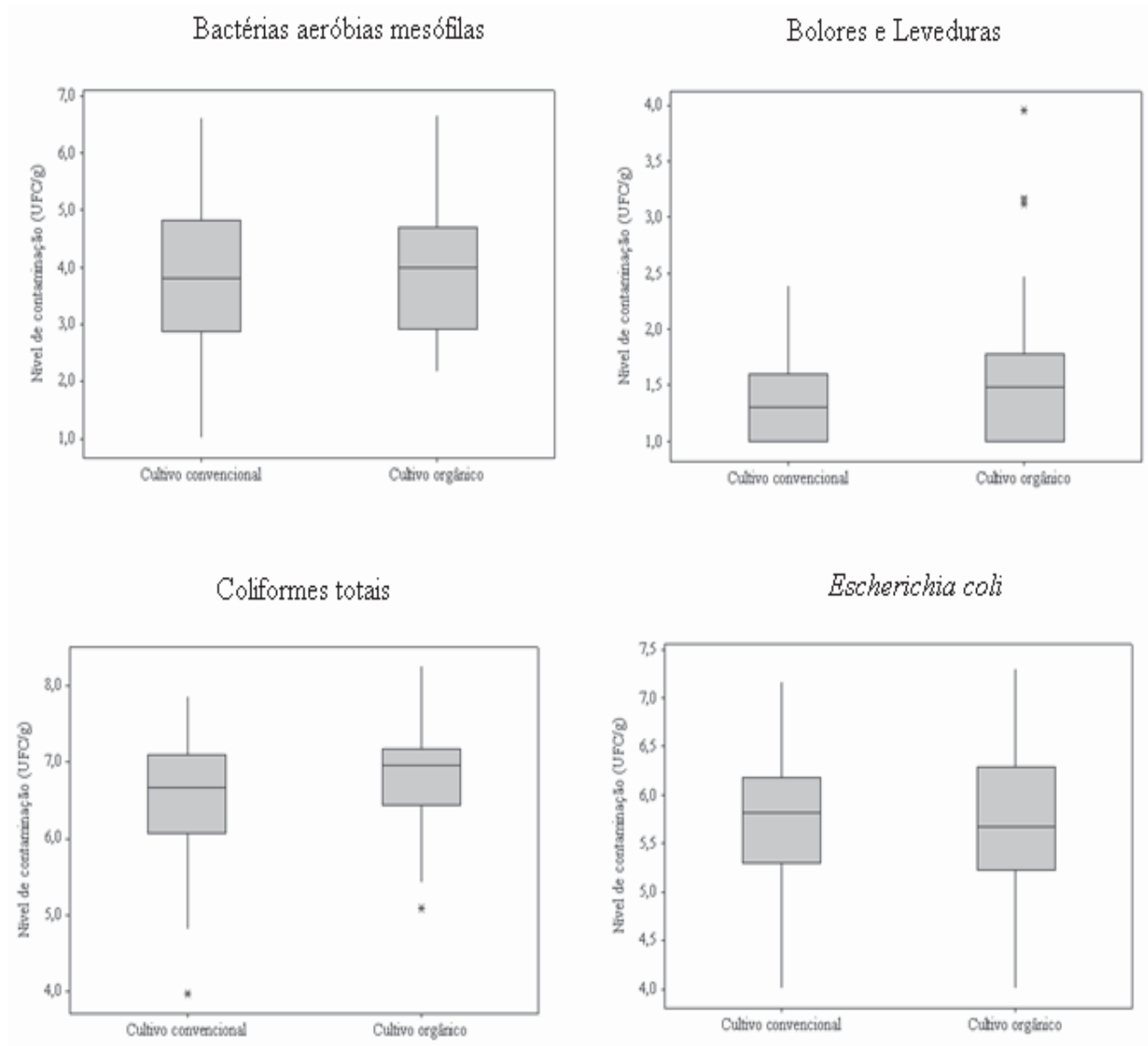


Figura 1. Prevalência de *Escherichia coli* de acordo com a variedade de hortaliça produzida pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional.



\* outliers

Diferenças estatísticas entre os grupos foram analisadas pelo teste T de *Student* para bolores e leveduras e Mann-Whitney para os demais grupos microbianos ( $p \leq 0,05$ ).

Figura 2. *Boxplots* da distribuição dos dados por grupos microbianos entre as hortaliças produzidas pelos sistemas de cultivo orgânico e convencional.