

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

LETÍCIA RAQUEL SILVA SOUZA

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE ALFACE CULTIVADA EM
DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZADA EM SÃO LUÍS -
MA**

SÃO LUÍS – MA

2019

LETÍCIA RAQUEL SILVA SOUZA

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE ALFACE CULTIVADA EM
DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZADA EM SÃO LUÍS –
MA**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia da
Universidade Estadual do Maranhão para obtenção do grau de
Bacharel em Agronomia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gislane da Silva Lopes

SÃO LUÍS – MA

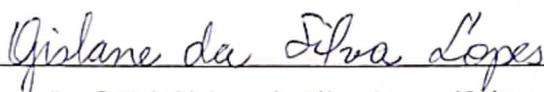
2019

QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE ALFACE CULTIVADA EM
DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZADA EM SÃO LUÍS -
MA

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia da
Universidade Estadual do Maranhão para obtenção do grau de
Bacharel em Agronomia

Aprovada em: 28/06/2019

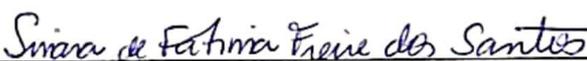
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Gislane da Silva Lopes (Orientadora)

Universidade Estadual do Maranhão

(Doutora em Agronomia)



Profª Drª Sinara de Fátima Freire dos Santos

Faculdade Pitágoras

(Doutora em Ciências)



Profª Drª Francisca Neide Costa

Universidade Estadual do Maranhão

(Pós-Doutora em Ciência Animal)

Dedico à minha mãe, Lucimary Castro, fonte de inspiração para mim, por todo incentivo e palavras de apoio. E a minha avó, Domingas Castro (*in memoriam*), que sempre acreditou no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir concretizar mais uma etapa da minha jornada.

A Universidade Estadual do Maranhão, por todas as oportunidades de aprendizado.

A FAPEMA, pelo apoio financeiro nesse projeto.

A minha orientadora, Gislane da Silva Lopes, por todo conhecimento repassado.

Aos colaboradores do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, em especial a Ruthe Cordeiro, por toda ajuda, companheirismo e colaboração durante toda a execução desse trabalho.

A todos os professores da instituição, por todo empenho para nos ajudar a construir um grande legado de conhecimento.

A minha mãe, Lucimary Castro, por todo apoio e incentivo em todos os momentos, sem medir esforços para que essa etapa fosse concluída. E meu pai, Paulo Souza, que sempre esteve presente para acompanhar cada passo meu com carinho.

A toda minha família, em especial a minha avó materna, Domingas Castro (*in memoriam*), por todas as palavras de incentivo e apoio que lembrarei por toda a minha existência.

A Makelly Reis, minha melhor amiga, que sempre esteve ao meu lado compreendendo os momentos de ausência.

Aos amigos da graduação por toda cumplicidade e paciência durante o curso.

A todos envolvidos direta e indiretamente no desenvolvimento desse projeto.

RESUMO

SOUZA, Letícia Raquel Silva. Graduação em Agronomia. Universidade Estadual do Maranhão, julho/2019. **Qualidade higiênico-sanitária de alface cultivada em diferentes sistemas de produção e comercializada em São Luís – MA.** Prof^a Dr^a Gislane da Silva Lopes (Orientadora); Prof^a Dr^a Sinara de Fátima Freire dos Santos; Prof^a Dr^a Francisca Neide Costa.

A alface destaca-se como um vegetal de grande importância na alimentação e na saúde humana. Normalmente, por ser consumida *in natura*, são requeridos sérios cuidados, pois hortaliças e frutas podem ser contaminadas com patógenos em qualquer etapa da cadeia produtiva, desde o cultivo em campo até o consumo. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica da alface produzida nos sistemas de produção convencional, hidropônico e orgânico, comercializadas no município de São Luís – MA. As coletas foram realizadas em feiras, mercados e supermercados. Analisou-se 24 amostras de cada sistema de produção dentre os meses de outubro/2018 a maio/2019, totalizando 72 amostras. Avaliou-se a presença de coliformes totais e termotolerantes, de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras. Na análise dos coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, que permite a quantificação por número mais provável (NMP) de microrganismos. Os resultados obtidos foram comparados com o estabelecido pela Resolução RDC n°12, de 2 de Janeiro de 2001, do Ministério da Saúde. Para determinação de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras foi utilizado o método da contagem padrão em placas com resultado expresso em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g). Para coliformes totais, todas as amostras apresentaram a contagem $>1,1 \times 10^3$ NMP/g. Na contagem de coliformes termotolerantes, 22 amostras foram consideradas impróprias ao consumo humano por ultrapassarem o limite de tolerância do NMP de 10^2 NMP/g. A variação geral de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras foi, respectivamente, $7,2 \times 10^3$ a $3,2 \times 10^6$ UFC/g e de $1,0 \times 10^1$ a $5,7 \times 10^5$ UFC/g. Evidenciando a necessidade de adoção de boas práticas de higiene para atingir uma qualidade higiênico-sanitária satisfatória.

Palavras-Chave: Higiene dos alimentos. Microrganismos indicadores. *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

SOUZA, Leticia Raquel Silva. Graduation in Agronomy. Universidade Estadual do Maranhão, July/2019. **Hygienic-sanitary quality of lettuce grown in different production systems and marketed in São Luís - MA.** Prof^ª Dr^a Gislane da Silva Lopes (Advisor); Prof^ª Dr^a Sinara de Fátima Freire dos Santos; Prof^ª Dr^a Francisca Neide Costa.

Lettuce stands out as a vegetable of great importance in food and human health. Serious care is usually required because vegetables and fruits can be contaminated with pathogens at any stage of the production chain, from field cultivation to consumption. The objective of this work was to analyze the microbiological quality of the lettuce produced in conventional, hydroponic and organic production systems commercialized in the city of São Luís-MA. The collections were held in fairs, markets and supermarkets. Three samples were analyzed for each production system in the months of October/2018 to May/2019, totaling 72 samples. The presence of total and thermotolerant coliforms, of aerobic mesophiles and of molds and yeasts were evaluated. In the analysis of total and thermotolerant coliforms the multiple tube technique was used, which allows the quantification by most probable number (MPN) of microorganisms. The results obtained were compared with that established by Resolution RDC n^o. 12 of January 2, 2001, of the Ministry of Health. For the determination of aerobic mesophiles and molds and yeasts the standard counting method was used in plates with the result expressed in colony forming units per gram (CFU/g). For total coliforms, all samples had the count $>1.1 \times 10^3$ NMP/g. For thermotolerant coliforms, 22 samples were considered unfit for human consumption because they exceeded the tolerance limit of NMP of 10^2 NMP/g. The general variation of aerobic mesophiles and molds and yeasts was, respectively, 7.2×10^3 to 3.2×10^6 UFC/g and from 1.0×10^1 to 5.7×10^5 UFC/g. Evidencing the need to adopt good hygiene practices to achieve a satisfactory hygienic-sanitary quality.

Keywords: Food Hygiene; Indicator microorganisms; *Lactuca sativa*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Lavagem de amostra com água estéril (1A), frascos para diluição 10^{-1} (1B) e tubos de ensaio para diluições 10^{-2} e 10^{-3} (1C). 19
- Figura 2. Tubos com Lauril para teste presuntivo de coliformes totais (2A), tubos positivos para coliformes (2B) e tubos para confirmação de coliformes totais e termotolerantes (2C). .20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagem de Coliformes Totais encontrados nas amostras de alface dos sistemas convencional, orgânico e hidropônico, comercializadas em São Luís-MA, 2019.	22
Tabela 2. Número de amostras contaminadas por contagem de Coliformes Termotolerantes encontradas nos sistemas convencional, orgânico e hidropônico e comercializadas em São Luís-MA, 2019.	23
Tabela 3. Variação das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/g) de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras encontradas em amostras de alface dos sistemas convencional, orgânico e hidropônico comercializadas em São Luís-MA, 2019.....	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Justificativa	12
1.2 Objetivo Geral	13
1.3 Objetivos Específicos	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Cultivo da alface	14
2.2 Qualidade sanitária de hortaliças	15
2.3 Doenças transmitidas por alimentos	16
2.4 Microrganismos indicadores.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Coleta das amostras	19
3.2 Preparo das amostras	19
3.3 Análise de coliformes totais e termotolerantes	20
3.4 Análise de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O consumo de hortaliças é de grande importância para nosso organismo, trazendo melhorias à saúde e, conseqüentemente, uma vida mais saudável (SILVA; SOUSA JÚNIOR; PONTES, 2016), contribuindo para a variedade da alimentação e oferta adequada de micronutrientes (SILVA; COELHO, 2014). Dentre estas, a alface (*Lactuca sativa*) destaca-se como um vegetal de grande importância na alimentação e na saúde humana, principalmente como fonte de vitaminas e sais minerais, além de se constituir como a mais popular hortaliça folhosa (BARBOSA et al., 2016), bastante utilizada na elaboração de sanduíches, decorações de pratos, saladas, e produto pronto para consumo, na forma de hortaliça minimamente processada (MACHADO et al., 2009).

A busca cada vez maior por hábitos alimentares mais saudáveis proporciona um aumento no consumo de hortaliças, sendo a alface, a olerícola folhosa mais consumida (CECCONELLO, 2018). Segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde, o consumo diário de frutas e hortaliças recomendado é de 400g (WHO, 2003). No Brasil, o número de estabelecimentos agropecuários produtores de alface em 2017 foi de 108.603, com produção total de 908.186 toneladas (IBGE, 2017).

Normalmente, por serem consumidas *in natura*, são requeridos sérios cuidados (NASCIMENTO et al., 2005), pois hortaliças e frutas podem ser contaminadas com patógenos em qualquer uma das etapas do processo de cultivo (BUYUKUNAL, 2015). Essa contaminação pode ocorrer diretamente ou indiretamente durante a pré-colheita, bem como no manuseio pós-colheita (HASSAN; PURWANI, 2016), principalmente, por meio de água contendo material fecal de origem humana, utilizada na irrigação de hortas e, ainda, por contaminação do solo por uso de adubo orgânico com dejetos fecais (ARBOS et al., 2010).

Os cuidados na aquisição dos alimentos perpassam desde a compra em pontos de venda com asseio das instalações e dos manipuladores, condições de armazenamento, embalagem, manuseio e uso de utensílios adequados até o cuidado na aquisição de alimentos expostos a pragas e vetores urbanos (SILVA et al., 2016). Falhas no processamento e/ou conservação poderão permitir a sobrevivência e proliferação de microrganismos patogênicos e seus produtos tóxicos (FERREIRA, 2015).

De acordo com a Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) são causadas pela ingestão de alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão deste agente, ou de seu produto tóxico (BRASIL, 2001). No Brasil, as

infecções e/ou intoxicações veiculadas pela água ou alimentos contaminados podem se converter em um grande problema de Saúde Pública (SOUSA, 2006), pois muitos consumidores não têm consciência de que alimentos contaminados podem causar problemas potenciais muito mais graves que um curto episódio de gastroenterite, podendo levar a hospitalização (FORSYTHE, 2013; SANTOS; CARVALHO, 2017).

Entre os anos 2000 a 2017 foram notificados 12.660 surtos de DTAs no Brasil, destes apenas 3.196 foram confirmados laboratorialmente, sendo a identificação do agente etiológico obtida apenas em 2.593, onde 92,2% foram de origem bacteriana (BRASIL, 2018; MELO et al., 2018). Para um alimento ter uma boa qualidade sanitária, é necessário que seja livre de microrganismos patogênicos, por isso há necessidade de se identificar o grau de contaminação dos alimentos para que, de acordo com a carga microbiana obtida, se possa estabelecer recomendações e aplicação de medidas de controle para garantir a segurança alimentar (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2000). Diferentes organizações sugeriram que a avaliação do risco microbiológico dos alimentos fosse realizada, para que medidas corretivas apropriadas pudessem ser adotadas, assim reduzindo os episódios de doenças transmitidas por alimentos (CHATURVEDI et al., 2013).

Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo analisar a qualidade higiênico-sanitária da alface (*Lactuca sativa*) dos sistemas de produção convencional, hidropônico e orgânico, comercializada no município de São Luís – MA.

1.1 Justificativa

Dentre os meses de setembro de 2017 a junho de 2018 foi desenvolvido o projeto de pesquisa intitulado “Qualidade microbiológica das principais hortaliças comercializadas em feiras e mercados do município de São Luís–MA” cujos resultados foram o ponto inicial do presente estudo. Na ocasião, as hortaliças analisadas foram: alface (variedade crespa), cheiro verde (coentro e cebolinha), tomate e pepino. Realizou-se coleta em cinco bancas de quatro feiras e dois mercados, com coleta de uma amostra por banca, totalizando 120 amostras, com 30 amostras por hortaliça. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, do Centro de Ciências Agrárias, na Universidade Estadual do Maranhão. Avaliou-se a presença de coliformes totais e termotolerantes, de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras, utilizando os mesmos métodos do presente estudo.

As análises obtiveram como resultado 73% das amostras de alface, 40% de cheiro verde, 13% de tomate e 7% de pepino, consideradas impróprias para o consumo humano por

apresentarem valor de NMP/g (Número Mais Provável por grama) de coliformes termotolerantes superior ao tolerado pela RDC nº 12/2001. Nas 30 amostras de alface analisadas foram encontrados, para coliformes totais, o NMP/g de $>1,1 \times 10^3$ em 28 amostras, para coliformes termotolerantes, 22 amostras com $>10^2$ NMP/g (contagem máxima permitida pela legislação vigente), contagens mínimas de $3,2 \times 10^4$ UFC/g para mesófilos aeróbios e $1,5 \times 10^3$ UFC/g para bolores e leveduras. Resultados que confirmaram as amostras de alface com alta contaminação por todos os microrganismos analisados, gerando o questionamento se diferentes sistemas de produção resultariam em diferentes níveis de contaminação.

1.2 Objetivo Geral

Analisar a qualidade microbiológica da alface produzida nos sistemas de produção convencional, hidropônico e orgânico comercializada no município de São Luís – MA.

1.3 Objetivos Específicos

- Selecionar os principais locais que comercializam alface (*Lactuca sativa*) *in natura* dos diferentes sistemas de produção no município de São Luís;
- Avaliar a qualidade microbiológica da alface de diferentes sistemas de produção comercializada em São Luís.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultivo da alface

A alface é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo boa fonte de vitaminas e sais minerais, destacando-se seu elevado teor de vitamina A (LOPES et al., 2003). A composição nutricional média da alface, *in natura*, por 100g de parte comestível é: água (96,1%), valor calórico ou energia (11 Kcal), fibra alimentar (1,8 g), cálcio (38mg), magnésio (11 mg) e vitamina C (15,6 mg), segundo a tabela de composição química de alimentos (TACO, 2011; HEINTZE, 2018).

O cultivo da alface é praticado na forma convencional, hidropônica e orgânica, apresentando diferentes características na produção, podendo influenciar nas propriedades dessa hortaliça. Em culturas convencionais, os vegetais crescem no solo com aporte adequado de nutrientes e água, com adoção frequente de fertilizantes. Há produtores especializados no cultivo de hortaliças folhosas que produzem alface de forma contínua na mesma área durante o ano, com ou sem rotação de culturas, e também pequenos produtores que possuem apenas alguns canteiros de alface juntamente com outras espécies de hortaliças (HENZ; SUINAGA, 2009).

Segundo a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, considera-se sistema orgânico de produção todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por 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.

Para a produção orgânica, são adotadas práticas de rotação de cultura, aproveitamento de resíduos orgânicos e controle biológico, sem a utilização de fertilizantes químicos (STERTZET et al., 2004; BARBOSA et al., 2016). Além do uso de biofertilizantes, compostos e outros adubos orgânicos, defensivos alternativos (caldas, óleos e extratos naturais), cultivos consorciados, adubação verde, rotação de culturas, plantio direto, e variedades tolerantes e adaptadas (SILVA et al., 2011).

No Brasil, o cultivo hidropônico é uma das atividades que mais investe em tecnologia de produção em ambiente protegido, em função da elevada exigência do mercado consumidor e do alto valor econômico agregado aos produtos desse segmento (MORAIS et al., 2011). Para Lopes et al. (2003), no cultivo hidropônico sob ambiente protegido, a alface não está

exposta a fatores adversos do meio ambiente, fica protegida de geadas, chuvas intensas, granizo e ventos fortes, com ganho na produtividade e qualidade, fatores que contribuem para o fornecimento constante aos pontos de venda, trazendo satisfação ao consumidor. Por não apresentarem contato com o solo as hortaliças comercializadas nesse sistema tendem a apresentar menor contaminação (SANTOS et al., 2010).

2.2 Qualidade sanitária de hortaliças

A cultura de produtos hortícolas, notadamente os consumidos na forma crua, requer sérios cuidados no que se refere às condições de plantio. Os vegetais podem, facilmente, ser contaminados por práticas inadequadas de adubação e irrigação, além das contaminações por água poluída, são passíveis de serem contaminadas durante o transporte e armazenamento, ou ainda, no preparo de saladas (NASCIMENTO et al., 2005).

A contaminação microbiana de frutas e hortaliças pode ter consequências mais sérias e no caso de microrganismos patogênicos, se eles não se manifestarem sob a forma de lesões visíveis podem passar despercebidos e levar a diferentes tipos de intoxicação alimentar, como consequência do consumo desses produtos (HURTADO; ISASA; MATA, 2003).

Normalmente, as feiras livres são as maiores responsáveis pela distribuição de hortaliças (MACHADO; COSTA, 2017). Em avaliação da estrutura física e do comércio de feiras livres de Petrolina foi constatado que, quanto à forma de exposição dos alimentos comercializados, 62% ocorriam de maneira inadequada, com armazenamento impróprio e deficiente, aliado às condições precárias de higiene, propiciam a proliferação de vetores nas imediações (SOARES; MENDES; MESSIAS, 2014).

A presença de agentes infecciosos de origem fecal em alimentos ingeridos crus representa um alto risco à saúde humana, podendo tornar-se um veículo de transmissão de incontáveis doenças. Assim, a análise microbiológica e parasitológica de hortaliças é de grande importância, pois fornece dados do estado de higiene das hortaliças permitindo o controle das condições em que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumo (PERES JUNIOR; GONTIJO; SILVA, 2012) e permite conhecer os riscos à saúde do consumidor (SANTOS; CARVALHO, 2017).

Para garantir a segurança dos alimentos, o Ministério da Saúde estabeleceu padrões microbiológicos em relação às bactérias *Salmonella* spp e Coliformes a 45°C. Segundo tais padrões, hortaliças cruas não devem apresentar *Salmonella* spp em 25g de produto e para Coliformes a 45°C a tolerância para amostra indicativa é de 10^2 de número mais provável

(NMP g⁻¹) (BRASIL, 2001). Tais padrões visam reduzir esses riscos microbiológicos, além de medidas preventivas que devem ser tomadas em toda a cadeia produtiva, como higienização inclusa em todas as etapas e processos da produção, incluindo as mãos dos manipuladores, equipamentos e utensílios e o ambiente (ÁVILA et al., 2016).

2.3 Doenças transmitidas por alimentos

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são causadas por procedimentos incorretos na cadeia de produção dos alimentos fazendo-os fonte de contaminação com manifestações clínicas que vão desde leves indisposições a sequelas graves ou mesmo ao óbito. As infecções alimentares são ignoradas como um problema de saúde pública, mas têm um nível de gravidade considerável. Muito embora o risco de adquirir este tipo de infecção exista, é possível evitá-lo por meio de condutas higiênicas que vão desde a obtenção da matéria-prima até a mesa do consumidor (ALVES, 2015).

Existem variadas formas de manifestações das DTA's, são elas: infecção, intoxicação e toxinfecção. As infecções resultam da ingestão de um alimento que contenha organismos prejudiciais à saúde. A intoxicação ocorre quando uma pessoa ingere alimentos com substâncias tóxicas, incluindo as toxinas produzidas por microrganismos, como bactérias e fungos. As toxinfecções resultam da ingestão de alimentos que apresentam organismos prejudiciais à saúde, sendo que eles ainda liberam substâncias tóxicas. Os sintomas das DTA's variam de acordo com o organismo ou a toxina encontrada no alimento e a quantidade do alimento ingerido (BRASIL, 2008).

A ocorrência de DTA's vem aumentando de modo significativo em nível mundial e vários fatores contribuem para a emergência dessas doenças, dentre os quais destacam-se o crescente aumento das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis e/ou mais expostos, o processo de urbanização desordenado, a necessidade de produção de alimentos em grande escala e o deficiente controle dos órgãos públicos e privados quanto a qualidade dos alimentos ofertados a população (BRASIL, 2010). Tambekar e Mundhada (2006) destacaram a possibilidade de surtos de doenças relacionados a alimentos, considerando a prática de manejo normalmente realizada por vendedores e ambientes em que eles exibem as hortaliças.

Dados do Ministério da Saúde mostram que dos anos 2000 a 2017 houve 2.660 casos de surtos de DTA's no Brasil, destes 16,2% ocorreram no Nordeste e 36,5% dos locais de ocorrência foram em residências. Dos agentes etiológicos encontrados nesse levantamento

35% foram identificados como *Salmonella*, 28,2% como *Escherichia coli*, 18,2% como *Staphylococcus aureus*, 6% como *Bacillus cereus* e 19,9% como outros agentes etiológicos (BRASIL, 2018).

A higiene dos vegetais antes do preparo das refeições é uma maneira de resguardar a saúde e diminuir a taxa de mortalidade por doenças transmitidas pelos alimentos contaminados (MACHADO; COSTA, 2017). Ávila et al. (2016) afirmaram que o risco de contaminações microbiológicas, responsáveis pelo aparecimento das DTAs, é observado desde a produção agrícola até a sua distribuição ao consumidor. Assim, faz-se necessário a realização de treinamentos e supervisão frequente das medidas preventivas estabelecidas pelas Boas Práticas de Fabricação visando assegurar a qualidade dos alimentos e manter a integridade da saúde dos consumidores.

2.4 Microrganismos indicadores

A contaminação dos alimentos pode ser verificada através da presença de microrganismos indicadores, que são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, que podem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (LANDGRAF, 1996).

Para Silva et al. (2007), as aplicações desses microrganismos como indicadores são responsáveis por apontar as condições de higiene dos processos de fabricação, falhas no processamento ou contaminação pós processo em alimentos pasteurizados e contaminação fecal em alimentos *in natura*, por serem facilmente inativados pelos sanitizantes e pelo calor.

Dentre os principais microrganismos indicadores pode-se relacionar os coliformes totais, os coliformes termotolerantes, mesófilos aeróbios e bolores e leveduras (SANTOS, JUNQUEIRA, FERREIRA, 2010; SANTOS et al. 2010; BOBCO et al. 2011; FRANÇA, BONNAS, SILVA, 2014; PEREIRA, BEZERRA, 2017). No grupo dos coliformes totais estão as enterobactérias, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Dentre as quais encontra-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (SILVA et al., 2007). Silva et al. (2016), em análise bacteriológica de hortaliças em Caruaru-PE, encontraram nas 50 amostras de hortaliças coletadas com contagens de $>1,1 \times 10^3$ NMP/g.

Os coliformes termotolerantes correspondem a um subgrupo dos coliformes totais, restritos aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás. A *E. coli* está incluída no grupo dos termotolerantes, tendo como habitat natural o trato intestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (SILVA et al., 2007). Ao verificar a qualidade microbiológica de alimentos minimamente processados comercializados em Maringá-PR, Couto e Boni (2018) constataram que sete das 25 amostras analisadas apresentavam coliformes termotolerantes em valores superiores a 10^2 NMP/ e 10^3 NMP/g, indicando condições higiênicas-sanitárias precárias no momento de preparo ou armazenamento desses alimentos.

Na análise de contagem de microrganismos mesófilos aeróbios em placas não se diferencia tipos de bactéria, mas se obtém informações gerais sobre a qualidade dos produtos, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. Não é um indicador de segurança, pois não está diretamente relacionado à presença de patógenos ou toxinas. Dependendo da situação pode ser útil na avaliação da qualidade, porque populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo (SILVA, 2017). Para Coutinho et al. (2015), em avaliação microbiológica de alfaces comercializadas em Sobral-CE, o valor médio de mesófilos aeróbios foi de $3,2 \times 10^5$ UFC/g, demonstrando alto grau de contaminação das alfaces por esses microrganismos.

Quanto aos bolores e leveduras, estes constituem um grande grupo de microrganismos, a maioria originária do solo ou do ar, bastante resistentes às condições adversas, como pH ácido e atividade de água baixa. A temperatura ótima de crescimento da maioria dos fungos encontra-se na faixa de 25 a 28° C. Algumas leveduras de origem alimentar podem desencadear reações alérgicas e vários bolores produzem micotoxinas, que são metabólitos tóxicos formados durante o crescimento, podendo causar infecções em indivíduos imunodeprimidos (SILVA, 2017).

Em pesquisa de Fagiani et al. (2017), avaliando a carga microbiológica de alface minimamente processadas em Presidente Prudente-SP, obteve contagens mínimas de $4,8 \times 10^4$ UFC/g para bolores e leveduras. Esses microrganismos apresentam exigências nutricionais muito variadas, mas, geralmente, encontram nos alimentos condições propícias para a sua multiplicação, tornando-os de particular interesse na deterioração de matérias-primas (HOFFMANN, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

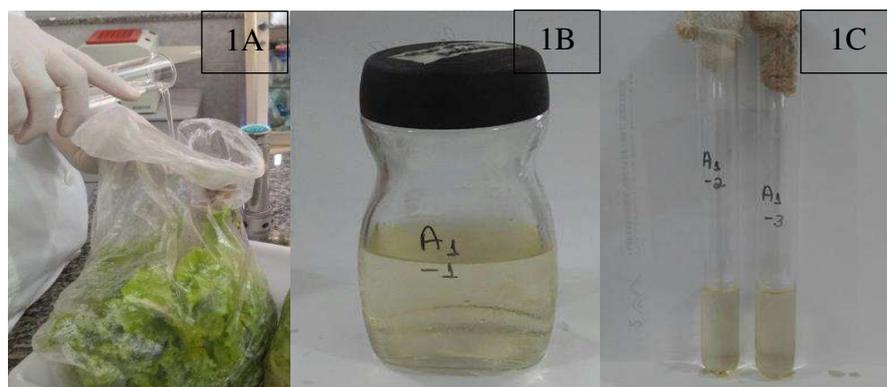
3.1 Coleta das amostras

As coletas foram realizadas em feiras, mercados e supermercados do município de São Luís – MA que comercializavam, respectivamente, alface, da variedade crespa, produzida nos sistemas convencional, orgânico e hidropônico. Analisou-se mensalmente três amostras para cada sistema de produção nos meses de outubro/2018 a maio/2019, totalizando 72 amostras, 24 por sistema de produção. As amostras foram obtidas a partir da compra das hortaliças, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso fornecido pelos vendedores, seguida por sua identificação e transporte para as análises no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, do Centro de Ciências Agrárias, na Universidade Estadual do Maranhão, imediatamente após a coleta.

3.2 Preparo das amostras

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao laboratório onde foram manipuladas assepticamente, seguindo orientações da *American Public Health Association* (APHA) adaptado por Silva et al. (2017). Foi realizada a lavagem superficial de cada amostra com 100 mL de água estéril (Figura 1A) retirando-se 25 ml do lavado com auxílio de uma pipeta, transferindo para um frasco com 225 mL de água peptonada tamponada estéril, formando a diluição 10^{-1} (Figura 1B). Em seguida, retirou-se 1 mL da diluição 10^{-1} para um tubo de ensaio com 9 mL de água peptonada, formando a diluição 10^{-2} e, dessa diluição, transferiu-se 1 mL para outro tubo de ensaio com 9 mL de água peptonada, formando a diluição 10^{-3} (Figura 1C).

Figura 1. Lavagem de amostra com água estéril (1A), frascos para diluição 10^{-1} (1B) e tubos de ensaio para diluições 10^{-2} e 10^{-3} (1C).



Fonte: Arquivo próprio

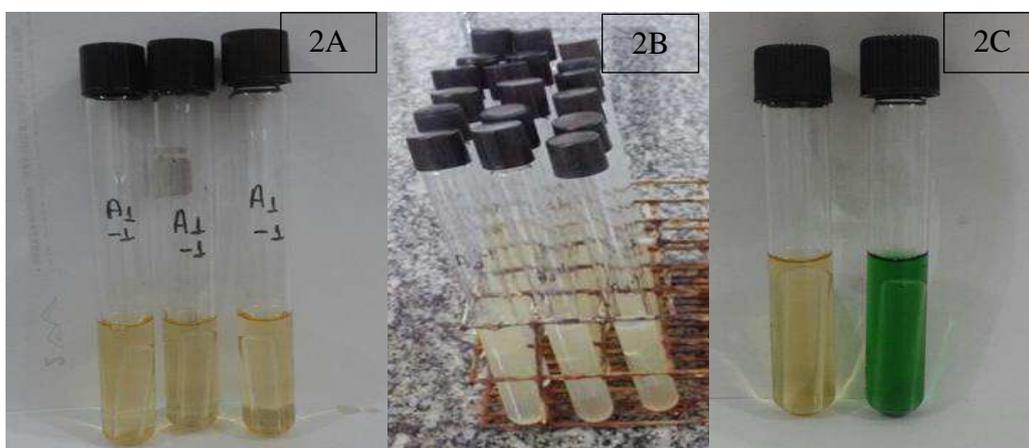
Estas diluições foram utilizadas nas análises para a determinação de coliformes totais, coliformes termotolerantes, mesófilos aeróbios e bolores e leveduras.

3.3 Análise de coliformes totais e termotolerantes

Na análise dos coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, que permite a quantificação por número mais provável (NMP) de microrganismos, conforme orientações da *American Public Health Association* (APHA) descritas no *Bacteriological Analytical Manual*, adaptado por Silva et al. (2017). Essa técnica é composta por duas fases: a presuntiva, em que é constatado se há presença de coliformes totais, e a confirmativa, realizada apenas se houver crescimento positivo na fase anterior para confirmação da presença de coliformes totais e complementar, para detecção de coliformes termotolerantes.

Na fase presuntiva, foi realizada a transferência de 1 mL de cada diluição para tubos de ensaios contendo, no fundo, um tubo de Durhan invertido para coleta de gás e o meio de cultura caldo Lauril Triptose (Figura 2A). Posteriormente, os tubos com meio Lauril foram incubados em estufa a 35°C durante 24 horas e a identificação dos que tiveram crescimento de coliformes ocorreu pela coloração amarelada ou gás retido no tubo de Durhan (Figura 2B). Nas fases confirmativa e complementar foram realizadas transferências de alíquotas com alça de platina dos tubos presuntivos positivos para tubos de ensaios contendo, no fundo, um tubo de Durhan invertido e o meio de cultura caldo verde brilhante (VB), para coliformes totais, e meio caldo *Escherichia coli* (EC) para detecção dos coliformes termotolerantes (Figura 2C).

Figura 2. Tubos com Lauril para teste presuntivo de coliformes totais (2A), tubos positivos para coliformes (2B) e tubos para confirmação de coliformes totais e termotolerantes (2C).



Fonte: Arquivo próprio

Os tubos com VB foram incubados em estufa a 35°C e os tubos com EC a 44,5°C durante 24 horas e a identificação dos positivos para crescimento de coliformes totais e termotolerantes foi verificado pela de produção de gás nos tubos de Durhan e coloração turva dos meios de cultura. Os resultados obtidos foram calculados por meio da tabela de NMP, retirada do *Bacteriological Analytical Manual*, modificada por Silva et al. (2017) e, os de coliformes termotolerantes, comparados com o estabelecido pela Resolução RDC n°12, de 2 de Janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, que estabelece para hortaliças frescas, refrigeradas ou congeladas, o limite de tolerância do NMP de Coliformes Termotolerantes de no máximo 1×10^2 NMP/g (BRASIL, 2001).

3.4 Análise de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras

Para determinação de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras foi utilizado o método da contagem padrão em placas, seguindo métodos da APHA descritos no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, adaptado por Silva et al. (2017), que consiste em transferir 1 mL das diluições para placas de Petri com meios de cultura Plate Count Agar (PCA) e Potato Dextrose Agar (BDA), para mesófilos aeróbios e bolores e leveduras, respectivamente, adicionando-se 0,1 mL de ácido tartárico nas placas com BDA para acidificar o meio. Em seguida, as placas com PCA foram incubadas em estufa a 35°C por 48 horas e as placas com BDA em BOD a 28°C por 3 dias. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização das análises em alfaces de diferentes cultivos, para coliformes totais todas as amostras apresentaram contagem $>1,1 \times 10^3$ NMP/g (Tabela 1), valores considerados altos que indicam ausência de cuidados sanitários em alguma etapa da sua cadeia produtiva. França, Bonnas e Silva (2014) em análise da qualidade higiênico sanitária de alfaces comercializadas na cidade de Uberlândia - MG, detectaram todas as amostras com elevadas contaminações por coliformes totais, com valores $>1,1 \times 10^3$ NMP/g. Resultado similar ao encontrado por Batista (2018) em diagnóstico microbiológico da alface comercializada em feiras livres de Mossoró-RN que obteve como resultado todas as amostras analisadas com $>1,1 \times 10^3$ NMP/g de coliformes totais.

Tabela 1. Contagem de Coliformes Totais encontrados nas amostras de alface dos sistemas convencional, orgânico e hidropônico, comercializadas em São Luís-MA, 2019.

Sistemas de Produção	Amostras analisadas	Coliformes Totais (NMP/g)
Convencional	24	$>1,1 \times 10^3$
Orgânico	24	$>1,1 \times 10^3$
Hidropônico	24	$>1,1 \times 10^3$

NMP/g= Número mais provável por grama.

Arbos et al. (2010) em análise de hortaliças orgânicas em Curitiba-PR, obtiveram resultados semelhantes com as amostras de alface apresentando contagens $>1,1 \times 10^3$ NMP/g, relatando ainda que, embora não existam limites para coliformes totais estabelecidos pelo Ministério da Saúde, resultados positivos já indicam condições inadequadas de higiene do local, do produto e risco da presença de patógenos nesses alimentos.

Quanto a presença de coliformes termotolerantes, a variação encontrada foi de $0,3 \times 10^1$ a $>1,1 \times 10^3$ NMP/g (Tabela 2). Das 72 amostras analisadas, 22 (30,5%) apresentaram resultados acima de 10^2 NMP/g, conforme estabelecido pela Resolução RDC nº12, de 2 de Janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001). Estes valores são inferiores aos encontrados por Santos et al. (2010) em análise da qualidade da alface comercializada no município de Botucatu-SP, onde 100% das amostras analisadas foram consideradas impróprias ao consumo por apresentarem valores $>10^2$ NMP/g. Resultado que difere dos observados por Tonet et al. (2011) em estudo da qualidade microbiológica da alface cultivada

em sistema hidropônico em Campo Mourão-PR, em que 100% das amostras analisadas apresentaram valores de coliformes termotolerantes inferiores a 1×10^2 NMP/g, limite máximo permitido na legislação vigente.

Tabela 2. Número de amostras contaminadas por contagem de Coliformes Termotolerantes encontradas nos sistemas convencional, orgânico e hidropônico e comercializadas em São Luís-MA, 2019.

NMP/g	Sistema Convencional	Sistema Orgânico	Sistema Hidropônico
$<0,3 \times 10^1$	3	8	4
$0,3 \times 10^1$ a $9,3 \times 10^1$	10	8	17
$1,5 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^2$	5	4	0
$>1,1 \times 10^2$	6	4	3
Total	24	24	24

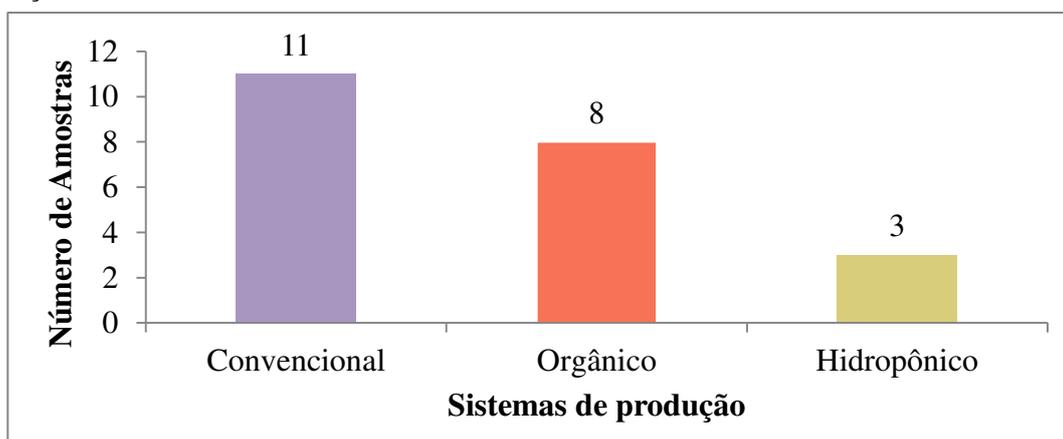
NMP/g= Número mais provável por grama.

Em pesquisa realizada por Costa et al. (2012), verificando a qualidade de alfaces convencionais e orgânicas, obtiveram nas amostras convencionais maior contaminação de origem fecal com valor 346 NMP/g, acima do permitido pela legislação RDC nº12/2001 que estabelece limite máximo até 100 NMP/g ou 10^2 NMP/g, enquanto que as alfaces orgânicas tiveram baixas contagens (57 NMP/g), portanto, apresentaram condições satisfatórias para o consumo. Nesta mesma pesquisa, os autores relacionam que a contaminação por coliformes termotolerantes pode indicar que a qualidade do solo e da água utilizada no manuseio das hortaliças, independente do tipo de cultivo, foram inadequadas. Fato similar foi ressaltado por Barbosa et al. (2016), ao avaliar a contaminação da alface proveniente do cultivo convencional e hidropônico comercializada em Teresina-PI, que indicaram que a contaminação da alface pode começar no cultivo, pelo uso de adubo orgânico, água ou solo contaminados e prosseguir até o momento do consumo pelo consumidor.

A partir dos dados analisados no presente estudo, 22 amostras foram consideradas impróprias ao consumo humano por ultrapassarem o limite de tolerância do NMP de Coliformes Termotolerantes estabelecido pelo Ministério da Saúde de 10^2 NMP/g, onde 11 (onze) pertenciam ao sistema convencional, 8 (oito) ao sistema orgânico e 3 (três) ao sistema hidropônico (Gráfico 1). Resultado inferior ao encontrado em pesquisa realizada por Coutinho et al. (2015) analisando alfaces comercializadas em feiras livres no município de Sobral – CE, que encontraram todas as doze amostras de alfaces impróprias para o consumo. Logo, as

condições higiênico-sanitárias das amostras de alface analisadas em São Luís – MA, no quesito, presença de coliformes termotolerantes, são tão baixas quanto às comercializadas em Sobral - CE.

Gráfico 1. Distribuição de amostras impróprias ao consumo humano por sistema de produção, de acordo com o estabelecido na RDC nº 12/2001, 2019.



Para os resultados encontrados nas análises de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras houve, respectivamente, a variação geral de $7,2 \times 10^3$ a $3,2 \times 10^6$ UFC/g e de $1,0 \times 10^1$ a $5,7 \times 10^5$ UFC/g. As variações encontradas em cada sistema de produção estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Variação das contagens de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/g) de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras encontradas em amostras de alface dos sistemas convencional, orgânico e hidropônico comercializadas em São Luís-MA, 2019.

Sistemas de Produção	Mesófilos Aeróbios (UFC/g)		Bolores e Leveduras (UFC/g)	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
Convencional	$7,2 \times 10^3$	$3,2 \times 10^6$	$1,0 \times 10^1$	$1,4 \times 10^5$
Orgânico	$7,6 \times 10^3$	$1,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^1$	$1,3 \times 10^4$
Hidropônico	$1,9 \times 10^4$	$1,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^1$	$5,7 \times 10^5$

UFC/g= Unidades formadoras de colônia por grama

Bobco et al. (2011) em avaliação das condições higiênicas de alfaces comercializadas na cidade de Erechim-RS, apresentaram bactérias aeróbias mesófilas com contagens variando entre $2,0 \times 10^2$ e $1,1 \times 10^5$ UFC/g, variações inferiores das apresentadas no presente estudo. França, Bonnas e Silva (2014) ao analisarem a qualidade higiênico sanitária de alface em Uberlândia-MG, encontraram elevada contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios,

com números superiores a 10^6 UFC/g, indicando possível presença de microrganismos patogênicos, resultante da falta ou falha de higiene na obtenção e manuseio do produto.

Ressalta-se que, apesar da legislação brasileira não estipular limites máximos aceitáveis destes microrganismos, em países como França e Alemanha estes limites estão padronizados para vegetais preparados para consumo em valores de $<5,9 \times 10^7$ UFC/g e no Japão para vegetais frescos devem ser inferiores a 1×10^5 UFC/g, demonstrando a importância destes organismos indicadores (SANTOS et al., 2010). Logo, comparando-se os resultados obtidos nesta pesquisa com a legislação adotada pelo Japão apenas uma amostra do sistema convencional, sete do sistema orgânico e quatro do sistema hidropônico apresentaram contagens abaixo de 1×10^5 UFC/g e estariam próprias ao consumo humano.

As variações máximas encontradas no presente estudo para bolores e leveduras são inferiores as obtidas por Carvalho et al. (2012), em estudo da avaliação microbiológica de alface convencional comercializados em Limoeiro do Norte-CE, em que o resultado para as contagens máximas foram de $9,0 \times 10^5$ UFC/g. Em pesquisa de Pereira e Bezerra (2017), ao realizarem avaliação microbiológica da alface comercializada nas feiras da cidade de Parintins-AM, não detectou presença de bolores e leveduras, diferentemente do que foi encontrado nas alfaces analisadas em São Luís.

Paiva (2011) ressalta que a alta contagem de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras indica contaminação da matéria-prima ou do processo sanitário insatisfatório. Indicando ainda que, embora não seja estabelecido pelo Ministério da Saúde um valor máximo permitido, a presença destes microrganismos em contagens elevadas é indicativa da contaminação dessas hortaliças por más condições higiênicas do local, durante o manuseio ou por meios de transporte utilizados.

A partir do exposto, todas as amostras analisadas apresentaram contaminação por coliformes totais, coliformes termotolerantes, mesófilos aeróbios e bolores e leveduras, indicando que as alfaces dos diferentes sistemas de produção comercializadas em São Luís foram contaminadas em algum momento da sua cadeia produtiva. Seja durante o cultivo, por uso água de contaminada na irrigação ou solo contaminado; ou no armazenamento e transporte, por meio de embalagens e caixas não sanitizadas corretamente; ou pela ausência/falha nas práticas higiênicas dos manipuladores durante o manuseio e exposição desses alimentos aos consumidores.

O sistema convencional foi o que ocorreu maior número de amostras impróprias ao consumo humano, por apresentar contagem de coliformes termotolerantes superior a 10^2 NMP/g, limite máximo permitido pela legislação brasileira vigente. Essa contaminação pode

ser indicativa de falha na higiene durante o manejo da alface no cultivo ou durante a sua exposição para venda, já que frequentemente é utilizada água de origem duvidosa para mantê-la fresca nos locais de comercialização. Enquanto que o sistema hidropônico apresentou o menor número de amostras com contagem de coliformes termotolerantes superior a 10^2 NMP/g, que pode ser pela hortaliça não ter contato com o solo durante o seu cultivo ou por ser comercializada em locais com maior cuidado quanto à higiene dos manipuladores.

Logo, para assegurar a saúde do consumidor é imprescindível que se faça a correta lavagem e sanitização dos alimentos consumidos *in natura* (ADAMI, DUTRA, 2011; SOUZA et al., 2019).

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, as amostras de alface produzidas nos sistemas convencional, orgânico e hidropônico e comercializadas em São Luís, apresentaram baixa qualidade higiênico-sanitária, evidenciando a importância das boas práticas de higiene na manipulação de alimentos para fornecer alimentos seguros à população.

REFERÊNCIAS

- ADAMI, A. A. V.; DUTRA, M. B. de L. Análise da Eficácia do Vinagre como Sanitizante na Alface (*Lactuca sativa*, L.). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Campinas, v. 3, p. 134-144, 2011.
- ALVES, T. S. **Estudo dos indicadores de qualidade microbiológica de hortaliças em dois restaurantes self – service do Distrito Federal**. 2015. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2015.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S. de; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 215-220, 2010.
- ÁVILA, M. de O.; SANTOS, P. H. da S.; GOIS, F. N. de; FURTADO, M. de C.; REIS, I. A. de O. A importância do controle das condições microbiológicas e higiênico sanitárias na prevenção de doenças transmitidas por alimentos - uma revisão de literatura. **Revista Expressão Científica**, Aracaju, v. 1, n.1, p. 01-12, 2016.
- BARBOSA, V. A. A.; CARDOSO FILHO, F. das C.; SILVA, A. X. de L. da; OLIVEIRA, D. G. S.; ALBUQUERQUE, W. F. de; BARROS, V. C. Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v.10, n.2, p. 231 – 242, 2016.
- BATISTA, J. I. L. **Diagnóstico microbiológico e parasitológico em alface (*Lactuca sativa* L.) comercializada em município do semiárido brasileiro**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade — Universidade Federal Rural Do Semi-Árido, Mossoró, 2018.
- BOBCO, S. E.; PIEROZAN, M. K.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, D. de; PINHEIRO, T. da L. F.; TONIAZZO, G. Condições higiênicas de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Erechim-RS. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 2, p. 301-305, 2011.
- 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://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 14 dez. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 15 mar. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**, 2010. Disponível em http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_prevencao_doencas_alimentos.pdf Acesso em 17 ago 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Brasília, 2018. Disponível em: <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf> Acesso em : 17 jun. 2019

BUYUKUNAL, S. K.; ISSA, G.; AKSU F.; VURAL, A. Microbiological Quality of Fresh Vegetables and Fruits Collected from Supermarkets in Istanbul, Turkey. **Journal of Food and Nutrition Sciences**, New York, v. 3, n. 4, p. 152-159, 2015.

CARVALHO, L. L.; SILVA, M. S.; REGIS, J. F.; RODRIGUES, H. N. B.; SOUZA, P. A.; FREITAS, R. V. S. Avaliação microbiológica de alface sanitizados com hipoclorito de sódio e ácido acético. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 283-387, 2012.

CECCONELLO, A. M. **Plantio direto de alface crespa cultivada com distintos espaçamentos no oeste catarinense**. 2018. Dissertação (Mestrado em Olericultura) — Programa de Pós-Graduação em Olericultura, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Morrinhos, 2018.

CHATURVEDI, M.; KUMAR, V.; SINGH, D.; KUMAR, S. Assessment of microbial load of some common vegetables among two different socioeconomic groups. **International Food Research Journal**, Selagor, v. 20, n. 5, p. 2927-2931, 2013.

COSTA, E. A.; FIGUEIREDO, E. A. T.; CHAVES, C. S.; ALMEIDA, P. C.; VASCONCELOS, N. M.; MAGALHÃES, I. M. C.; MORAES, A. F.; PAIXÃO, L. M. N. Avaliação de alfaces e eficiência da sanitização. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 387-392, 2012.

COUTINHO, M. G. S.; FERREIRA, C. da S.; NEVES, A. M.; ALVES, F. R. L.; SOUZA, F. F.P. de; FONTENELLE, R. O. dos S. Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa* L) comercializadas em feiras livres no município de Sobral – CE. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 2, p. 388-397, 2015.

COUTO, E. S.; BONI, S. M. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos minimamente processados comercializados em supermercados de Maringá, PR. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.32, n. 284/285, p. 88-92, 2018.

FAGIANI, M. de A. B.; TOGAWA, K. N.; MARTINS, T. R.; TASHIMA, N. T.; DILLIO, F. L.; CHAGAS, P. H. N.; SILVA, M. A. da. Avaliação microbiológica e parasitológica de produtos minimamente processados no município de Presidente Prudente – SP. **Colloquium Vitae**, Presidente Prudente, v. 9, n. 2, p. 17-21, 2017.

FERREIRA, J. N. **Epidemiologia dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no município de São Luís - Ma**. 2015. Dissertação (Mestrado em Gestão de Programas e Serviços de Saúde) — Universidade Ceuma, São Luís, 2015.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2. ed., 2013.

FRANÇA, B. R.; BONNAS, D. S.; SILVA, C. M. de O. Qualidade higiênico sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 30, n 1, p. 458-466, 2014.

HASSAN, Z. H.; PURWANI, E. Y. Microbiological aspect of fresh produces as retailed and consumed in West Java, Indonesia. **International Food Research Journal**, Selagnor, v.23, n.1, p. 350-359, 2016.

HEINTZE, T. C. D.; BRANDÃO, W. A. P. L. N. T de M.; COSTA JUNIOR, I. L.; VINCENZI, S. L.; MENDONÇA, S. N. T. G. de. Perfil de consumo de alface em instituição de ensino superior da região oeste do Paraná. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.32, n. 284/285, p. 41-45, 2018.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. Tipos de Alface Cultivados no Brasil. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, Comunicado Técnico 75, 2009.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 9, p. 23-30, 2001.

HURTADO, M. M.; ISASA, M. E. T.; MATA, M. C. S.. **Frutas y verduras, fuentes de salud**. Servicio de Promoción de la Salud, Madrid, 2003. Disponível em: <http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM009019.pdf> Acesso em 15 mar. 2019

IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6619#resultado>. Acesso em: 17 jun. 2019.

LANDGRAF, M. Microorganismos indicadores. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu. 1 ed., p.27-31, 1996.

LOPES, M.C.; FREIER, M.; MATTE, J.C.; GÄRTNER, M.; FRANZENER, G.; NOGAROLLI, E.L.; SEVIGNANI, A. Acúmulo de nutrientes por cultivares de alface em cultivo hidropônico no inverno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 211-215, 2003.

MACHADO, J. de C. P.; COSTA, P. D. Contaminação bacteriana em hortaliças comercializadas em feiras livres. **Revista Educação, Meio Ambiente e Saúde**, Minas Gerais, v.7, n. 03, p. 69-77, 2017.

MACHADO, S. S.; BUENO, P. R. M.; OLIVEIRA, M. B. de; MOURA, C. J. de. Contribuição à análise de perigos na produção de alface. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.11, n.2, p.191-198, 2009.

MELO, E. S. de; AMORIM, W. R. de; PINHEIRO, R. E. E.; CORRÊA, P. G. do N.; CARVALHO, S. M. R.; SANTOS, A. R. S. S.; BARROS, D. de S.; OLIVEIRA, E. T. A. C.; MENDES, C. A.; SOUSA, F. V. de. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **PUBVET**, Maringá, v.12, n.10, p.1-9, 2018.

MORAIS, P. L. D. de; DIAS, N. da S.; ALMEIDA, M. L. B.; SARMENTO, J. D. A.; NETO, O. N. de S. Qualidade pós-colheita da alface hidropônica em ambiente protegido sob malhas termorefloras e negra. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n.5, p. 638-644, 2011.

NASCIMENTO, A. R.; MOUCHREK FILHO, J. E.; MOUCHREK FILHO, V. E.; MARTINS, A. G. L. A.; MARINHO, S. C.; SERRA, C. L. M.; ALVES, L. M. C. Avaliação da sensibilidade de antimicrobianos a cepas de enterobacteriaceae isoladas de amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializada na cidade de São Luís-MA. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 265-272, 2005.

NASCIMENTO, M. da G.F. do; NASCIMENTO, E.R. do. Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos. **Embrapa Agrobiologia**, Seropédica, n. 120, 11p, 2000.

PAIVA, J. L. de. **Avaliação microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) em sistema de cultivo hidropônico e no solo, correlacionando os microrganismos isolados com os encontrados em toxinfecções alimentares em municípios da região Noroeste de São Paulo - SP**. 2011. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) — Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

PEREIRA, A. T de S.; BEZERRA, C. C. **Avaliação microbiológica da *Lactuca sativa* (Alface) comercializada nas feiras da cidade de Parintins-AM**. Universidade do Estado do Amazonas, 17 p., 2017. Disponível em: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/640> Acesso em: 17 jan 2019.

PERES JUNIOR, J.; GONTIJO; E. E. L.; SILVA, M. G. da. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi-TO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.5, n.1, p. 8-15, 2012.

SANTOS, C. M. G.; BRAGA, C. de L.; VIEIRA, M. R. da S.; CERQUEIRA, R. C.; BRAUER, R. L.; LIMA, G. P. P. Qualidade da alface comercializada no município de Botucatu - SP. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, vol. 11, núm. 1, p. 67-74, 2010.

SANTOS, R. B.; CARVALHO, L. R. de. Qualidade microbiológica de saladas de frutas comercializadas no município de Ilhéus – BA. **Revista Brasileira de Ciências em Saúde**, Ilhéus, v. 1, n. 1, p. 69-81, 2017.

SANTOS, T. B. A. dos; SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 141-146, 2010.

SILVA E. M. N. C. P.; FERREIRA R. L. F.; ARAÚJO NETO S. E.; TAVELLA L. B.; SOLINO A. J. S. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 242-245, 2011.

SILVA, Á. F. S.; LIMA, C. A. de; QUEIROZ, J. J. F.; JÁCOME, P. R. L. de A.; JÁCOME JÚNIOR, A. T. Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas. **Revista Ambiente e Água**, Taubaté, v.11, n.2, p. 428-438, 2016.

- SILVA, A. S.; SILVA, I. M. M.; REBOUÇAS, L. T.; ALMEIDA, J. S.; ROCHA, É. V. S.; AMOR, A. L. M. Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia (Brasil). **Vigilância Sanitária Debate**, Rio de Janeiro, v. 4, n.3, p. 77-85, 2016.
- SILVA, I. B. D. da; SOUSA JÚNIOR, J.; PONTES, A. F. Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas em restaurantes self-service de Santos-SP. **Interbio**, Dourados, v.10, n.2, p. 27-34, 2016.
- SILVA, M. M. da C.; COELHO, A. B. Demanda por frutas e hortaliças no Brasil: uma análise da influência dos hábitos de vida, localização e composição domiciliar. **Pesquisa e Planejamento Econômico**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 3, 2014.
- SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C.A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S. dos; GOMES, R.A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 3. ed, 552p., 2007.
- SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C.A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S. dos; GOMES, R.A. R; OKAZAKI, M. M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo: Blucher, 5. ed, 560p., 2017.
- SOARES, J. M. D.; MENDES, M. L. M.; MESSIAS, C. M. B. O. Feiras livres: Avaliação da estrutura física e do comércio. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 38, n. 2, p. 318-326, 2014.
- SOUSA, C. P. de. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista de Atenção Primária a Saúde**, Juiz de Fora, v.9, n.1, p. 83-88, 2006.
- SOUZA, I. P. de; BAPTISTA, N. F.; ASSIS, R. M. de; MIYAHIRA, R. F.; GUIMARÃES, R. R. Estudo da eficácia de saneantes comerciais de uso doméstico na redução da carga microbiana em alface (*Lactuca sativa*) crespa in natura. **Vigilância Sanitária Debate**, Rio de Janeiro, v.7, n. 2, p. 82-86, 2019.
- STERTZ, S. C.; PENTEADO, P. T. P. S. ; FREITAS, R. J. S. de. Nitritos e nitratos em hortícolas produzidas pelos sistemas de cultivo convencional, orgânico e hidropônico na Região Metropolitana de Curitiba. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.63, n. 2 p.200-207, 2004.
- TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. UNICAMP/NEPA, Campinas, 4. ed. p 161, 2011. Disponível em: http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4-versao_ampliada_e_revisada.pdf . Acesso em: 17 jun. 2019.
- TAMBEKAR, D.H; MUNDHADA, R. H. Bacteriological Quality of Salad Vegetables sold in Amravati City (India). **Journal of Biological Sciences**, Dubai, v. 6, n. 1, p. 28-30, 2006.
- TONET, A.; RIBEIRO, A. B.; BAGATIN, A. M.; QUENEHENN, A.; SUZUKI, C. C. L. F. Análise microbiológica da água e da alface (*Lactuca sativa*) cultivada em sistema aquapônico,

hidropônico e em solo. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v.2, n.2, p.83-88, 2011.

WHO, World Health Organization. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation**. Geneva, 2003.