



AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA EM VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS

AVALIAÇÃO DA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN VERDURAS MÍNIMAMENTE PROCESSADAS

EVALUATION OF MICROBIAL QUALITY IN FRESH VEGETABLES

Carlos Roberto Marinho da Silva Filho¹; Antonia Dayane Jenyffer de Farias Marques²; Jeronimo Galdino dos Santos³

DOI: https://doi.org/10.31692/IIICIAGRO.0222

RESUMO

A procura por vegetais prontos para consumo e com características semelhantes às do produto fresco tem crescido de maneira significativa, destacando-se o mercado dos vegetais minimamente processados, que são definidos como quaisquer frutas ou hortaliças que foram alteradas fisicamente a partir de sua forma original e mantidas em seu estado fresco. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a contaminação microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil, através de indicadores de higiene (contagem de coliformes totais e termotolerantes) e de patogenicidade (contagem de estafilococos coagulase positivo e pesquisa de Salmonella spp.). Cinco espécies de frutas, e três de hortaliças, foram coletadas semanalmente, e durante 3 semanas consecutivas nos hipermercados locais, totalizando 24 amostras. Seguindo critérios amostrais de acesso livre e intencional, os produtos foram escolhidos de acordo com a disponibilidade das frutas e hortaliças minimamente processadas nos hipermercados, estando acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, envoltas por filme de polietileno e armazenadas em balcões refrigerados. Toda a avaliação baseou-se nos métodos preconizados pela American Public Health Association (APHA). Verificou-se que nenhuma amostra apresentou contagem de coliformes termotolerantes acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. A contagem de coliformes totais tiveram valores que variaram de < 3 NMP/g à 93 NMP/g nas frutas e de < 3 NMP/g à 39 NMP/g nas hortaliças. Quanto aos patogênicos, 87,5% tinham contagem de estafilococos coagulase positivo acima de 10³ UFC/g e, em 20,8%, presença de Salmonella spp. Os resultados obtidos revelaram produtos de baixa qualidade e/ou inaceitáveis, e que medidas eficazes de controle higiênico-sanitárias devem ser adotadas para minimizar os riscos à saúde dos consumidores.

Palavras-Chave: frutas, hortaliças, segurança alimentar, microbiologia de alimentos.

RESUMEN

A demanda de listas de verduras para consumo com características semelhantes aos dos produtos frescos tem aumentado significativamente, com ênfase no mercado de verduras minimamente processadas, que se define como las frutas ou verduras que tem fisicamente sua forma original e conservada em seu estado fresco. Neste contexto, apresentamos o estudio tuvo como objetivo avaliar a contaminação

¹ Doutor em Química. Professor Associado do Curso de Bacharelado em Agroindústria da Universidade Federal da Paraíba/UFPB, Bananeiras-PB, Brasil, <u>carlito.marinho@gmail.com</u>

² Aluna do Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba/UFPB, João Pessoa-PB, Brasil, <u>dayane.gfm@gmail.com</u>

³ Técnico do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba/UFPB, Bananeiras-PB, Brasil, jeroh2o@ig.com.br



microbiológica de frutas e verduras minimamente processadas vendidas na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil, um percurso de indicadores de higiene (recuento de coliformes totales e termotolerantes) e patogenicidade (recuento de coagulasa positiva). estafilococos e búsqueda de Salmonella spp.). Cinco especies de frutas e tres de hortalizas fueron coletadas semanalmente e durante 3 semanas consecutivas em hipermercados locales, totalizando 24 muestras. Siguiendo critérios de acesso livre e intencional, os produtos foram selecionados de acordo com a disponibilidade de frutas e verduras minimamente processadas nos hipermercados, sendo empacados em charolas de poliestireno expandido, envueltos en filme de polietileno e almacenados en mostradores refrigerados. Toda a avaliação se baseou nos métodos recomendados pela American Public Health Association (APHA). Se consta que ninguna de las muestras apresentou recuentos de coliformes termotolerantes por encima de los limites estabelecidos pela legislación brasileira. O número total de coliformes varia de < 3 NMP/g a 93 NMP/g em frutas, e de < 3 NMP/g a 39 NMP/g em vegetais. Em relação aos patógenos, os 87,5% tiveram um recuo de estafilococos coagulasa positiva superior a 10³ UFC/gy, em 20,8%, a presença de Salmonella spp. Os resultados obtenidos revelam os produtos de baixa qualidade e/ou inaceitáveis, e que se devem adotar medidas de controle higiênico-sanitário eficazes para minimizar os riesgos para a saúde dos consumidores.

Palabras Clave: frutas, verduras, inocuidade dos alimentos, microbiologia dos alimentos.

ABSTRACT

The demand for ready-to-eat vegetables with characteristics similar to those of fresh produce has grown significantly, highlighting the market for minimally processed vegetables, which are defined as any fruit or vegetable that has been physically altered from its original form and kept in their fresh state. In this context, the present study aimed to evaluate the microbiological contamination of minimally processed fruits and vegetables sold in the metropolitan region of João Pessoa, Paraíba, Brazil, through hygiene indicators (count of total and thermotolerant coliforms) and pathogenicity (count of Coagulase positive staphylococci and search for Salmonella spp.). Five species of fruits and three of vegetables were collected weekly, and during 3 consecutive weeks in local hypermarkets, totaling 24 samples. Following sampling criteria of free and intentional access, the products were chosen according to the availability of minimally processed fruits and vegetables in hypermarkets, being packed in expanded polystyrene trays, wrapped in polyethylene film and stored in refrigerated counters. The entire assessment was based on the methods recommended by the American Public Health Association (APHA). It was found that none of the samples presented thermotolerant coliform counts above the limits established by Brazilian legislation. Total coliform counts ranged from < 3 MPN/g to 93 MPN/g in fruits and from < 3 MPN/g to 39 MPN/g in vegetables. As for the pathogens, 87.5% had a positive coagulase staphylococci count above 10³ CFU/g and, in 20.8%, the presence of Salmonella spp. The results obtained revealed low quality and/or unacceptable products, and that effective hygienic-sanitary control measures must be adopted to minimize risks to consumers' health.

Keywords: fruits, vegetables, food safety, food microbiology.

INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos prontos para consumo e com características semelhantes às do produto fresco tem crescido de maneira significativa (PEIXOTO *et al.*, 2014), destacandose o mercado dos vegetais minimamente processados, que são definidos como quaisquer frutas ou hortaliças que foram alteradas fisicamente a partir de sua forma original e mantidas em seu estado fresco (STRANIERI *et al.*, 2017). No processamento mínimo, via de regra, os vegetais são selecionados, lavados, desinfetados, descascados, cortados, embalados e refrigerados,



resultando num produto quase todo aproveitável que, posteriormente, é comercializado no intuito de oferecer aos consumidores frescor, conveniência e qualidade nutricional (SÃO JOSÉ, 2017).

Sabe-se que os vegetais minimamente processados são mais perecíveis quando comparados ao similar *in natura*, uma vez que os mesmos são submetidos a processos que causam acentuado estresse físico. Estes danos aceleram o metabolismo, elevam a taxa respiratória e aumentam a velocidade de deterioração (PICOLI *et al.*, 2010). Além disso, a liberação de exsudato celular disponibiliza nutrientes para a atividade microbiana e o manuseio favorece a contaminação comprometendo a segurança microbiológica desses produtos (BANERJEE *et al.*, 2016).

De acordo com Gunduz e colaboradores (2010), o controle microbiológico dos vegetais minimamente processados ainda é um desafio para a indústria alimentar porque associado ao crescimento dos mercados, e ao consumo, observam-se riscos pela presença de microrganismos deteriorantes e aumento da incidência de toxinfecções alimentares pela ingestão de frutas e hortaliças contaminadas por patógenos. A contaminação, em grande parte, se deve ao descumprimento das Boas Práticas de Fabricação (BPF's), porém ressalta-se que a mesma já pode ocorrer no início da cadeia, ainda na fase de cultivo, por meio de irrigação com água contaminada ou uso de adubos orgânicos inapropriados (ALVES *et al.*, 2013).

Santos *et al* (2010) comunicaram que as frutas e hortaliças frescas são potenciais veiculadores de microrganismos patogênicos, estando seu consumo frequentemente associado à ocorrência de doenças de origem alimentar (DTA's). De acordo com estes autores, a verificação das condições higiênico-sanitárias pode ser realizada através de coletas amostrais dos produtos em suas embalagens originais seguido de análise microbiológica de indicadores de higiene, como a contagem de coliformes termotolerantes, e pesquisa de *Salmonella* spp como indicadores de patogenicidade.

Em consonância ao exposto sobre contaminação, chamamos a atenção para o fato de que há décadas a associação do consumo de alimentos minimamente processados com surtos de doenças tem sido muitas vezes observados. Alguns estudos já mostraram a ocorrência de bactérias patogênicas, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (MAISTRO *et al.*, 2012) e *Staphylococcus* aureus (SEO *et al.*, 2010) em diferentes vegetais.

Sendo assim, no presente estudo, a qualidade microbiológica de amostras de vegetais



minimamente processados foi investigada tendo como modelos os indicadores de higiene (contagem de coliformes totais e termotolerantes) e de patógenos (contagem de estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp.).

REFERENCIAL TEÓRICO

Vegetais Minimamente Processados (VMP)'s

No Brasil o processamento mínimo de frutas e hortaliças se apresenta como um nicho de mercado em fase de crescimento e consolidação e esteja voltado para um perfil de consumidor com poder aquisitivo mais elevado (SATO *et al*, 2006).

O grande crescimento desse setor se deve à economia de tempo e de trabalho que os VMP's proporcionam no âmbito doméstico, nas redes de fast food e nos restaurantes, atendendo às novas exigências decorrentes da crescente participação feminina no mercado de trabalho e às distâncias cada vez maiores entre a moradia e local de trabalho, que intensificam os hábitos de alimentação fora do lar.

O mercado brasileiro e mundial apresenta uma grande variedade de produtos minimamente processados, dentre eles: alface, rúcula, agrião, couve, repolho, cenoura, beterraba, abóbora, brócolis, entre outros. Dentre eles, a alface é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil, sendo um componente básico de saladas, tanto em nível doméstico, comercial, quanto institucional. Em algumas centrais de distribuição, o conjunto das espécies de alface representa quase 50% de todas as folhosas comercializadas (IBGE, 2007). A alface é classificada comercialmente como: Americana, Crespa, Lisa, Mimosa e Romana. Desses tipos, o 13 mais consumido no Brasil é a alface Crespa, a qual também é a hortaliça folhosa mais consumida nesse país.

Pesquisas têm demonstrado o crescimento do consumo de frutas minimamente processadas, como maçãs fatiadas, melão fatiado em cubos, melancia, salada de frutas prontas (SEBRAE, 2008). Adicionado a isso, esses produtos podem ser obtidos a partir de quaisquer frutas, hortaliças, raízes e tubérculos ou combinações destas, in natura, originárias da agricultura convencional, orgânica ou hidropônica.

O processamento mínimo compreende um conjunto de operações unitárias, tais como: recepção e seleção da matéria-prima, lavagem, corte, desinfecção, enxágue, centrifugação e uso



apropriado de embalagens (GIL *et al*, 2015), necessitando de uma rigorosa manutenção da cadeia do frio, que deve iniciar no transporte das matérias-primas, etapa anterior a recepção do produto in natura, e se estender, até o estágio de exposição na prateleira do ponto de venda (ÁRTES e ALLENDE, 2014). Para melhor compreensão, as etapas do processando mínimo de produção estão descritas a seguir.

Obtenção de Vegetais Minimamente Processados

Para que uma fruta ou uma hortaliça seja minimamente processada, são necessárias algumas etapas demonstradas pela Figura 1. Vale ressaltar que, durante todas as etapas envolvidas no processamento mínimo, os manipuladores devem utilizar luvas, aventais, toucas e máscaras, para evitar ao máximo a contaminação dos produtos. É necessário que todo o processamento mínimo seja feito em ambiente resfriado e que, imediatamente após o corte, os vegetais estejam sob refrigeração. Para obter um produto final de qualidade, as frutas/hortaliças minimamente processadas devem possuir consistência, frescor, boa coloração, elevada qualidade sensorial e segurança sanitária, preferencialmente, sem aditivos e livre de microrganismos patogênicos (KLUGE *et al.*, 2016).

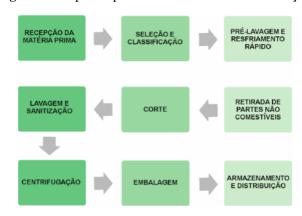


Figura 1 - Etapas do processamento mínimo de hortaliças.

Fonte: KLUGE et al., 2016.

De acordo com as etapas apresentadas na Figura 1, Kluge e colaboradores (2016) descrevem e recomendam sobre os requisitos necessários para a produção de hortaliças minimamente processadas, conforme segue:



- a) A primeira etapa deste processo é a recepção da matéria prima, ou seja, uma matéria prima inadequada será descartada para que não interfira no produto final. Esta etapa ocorre na área suja da planta de processamento, que é uma sala fora do ambiente higienizado do processo. Neste local também é feita a pesagem e a inspeção de qualidade para que seja observado se o produto está dentro dos requisitos esperados e sejam feitas as anotações para controle 8 interno da produção, com informações como rendimento, dados do produtor, data e horário da chegada;
- b) Na etapa de seleção e classificação, o vegetal é selecionado de acordo com a sua aparência, ou seja, se estiver amassado ou danificado, o mesmo será descartado. O ideal é que o produto esteja com a coloração esperada (própria do produto e também do grau de maturação para sua comercialização) tamanho adequado e odor próprio de um produto fresco;
- c) Na pré-lavagem, ocorre a remoção das impurezas superficiais provenientes do campo. Geralmente, a hortaliça é higienizada com água potável e detergente neutro em temperatura entre 5 e 10 °C, para redução da temperatura do vegetal, e, consequentemente, do seu metabolismo, o que evita perdas ao decorrer do processamento. Esta é uma etapa mais econômica, simples e eficaz para a promoção da qualidade do minimamente processado;
- d) Para que se torne um produto pronto para o consumo, é necessário realizar o corte e a retirada de partes não comestíveis, que podem ser realizados de forma automática ou manual com o auxílio de facas de aço inoxidável higienizadas e bem afiadas, pois isso poderá diminuir os danos causados ao tecido vegetal e evitar o risco de contaminação cruzada, visto que as partes consideradas sujas já estão separadas da área limpa;
- e) A seguir ocorrem a lavagem e a higienização que garantem a redução da carga microbiana na superfície do vegetal. Elas pode ser executadas em três etapas: a lavagem com água potável, seguida pela lavagem com sanitizante e, por fim, outra lavagem com água potável ou enxágue para a retirada total dos resíduos remanescentes;
- f) Na etapa de centrifugação, ocorre a retirada do excesso de água que pode ficar retida na superfície do produto após a lavagem. ão realizadas rotações de 30 a 60 segundos, cuja velocidade varia de acordo com a marca e o modelo da centrífuga. Quando se tem produtos muito sensíveis à rotação, pode se colocar uma grelha ou peneira para que a água do produto seja drenada sem a desintegração ou danificação do vegetal, com aspersão de ar;
- g) Após estas etapas, o produto é embalado, com o intuito de protegê-lo de poeiras e de microrganismos, facilitar o armazenamento e transporte e garantir que chegue ao consumidor



com as características de um produto mais próximo possível de um produto fresco. De acordo com a Lei nº 9.782 de 1999, as 9 embalagens devem conter um rótulo com as informações do produto, nome da hortaliça, data de fabricação, validade, peso, nome da indústria, endereço e modo de armazenamento;

h) Por fim, são feitos o armazenamento e a distribuição, que devem ser preferencialmente em baixas temperaturas, entre 0 e 5 °C. O uso da temperatura adequada é importante para a manutenção da qualidade e segurança das hortaliças minimamente processadas, pois reduz o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes.

Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, envolvendo frutas e hortaliças frescas e minimamente processadas

O aumento do consumo de VMP's tem sido associado ao aumento de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's), o que acarreta sérios problemas de saúde pública, em vários países (BENNETT *et al*, 2015).

Nos Estados Unidos, o custo econômico relacionado com DTA em vegetais é maior que 50 bilhões de dólares, por ano (SCHARFF, 2012). Alguns dos microrganismos patogênicos associados a surtos de origem alimentar que envolvem produtos frescos são *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* spp. e *Listeria monocytogenes* (SCHARFF, 2012). Além disso, vários recolhimentos de produtos foram realizados, devido à presença de *E. coli* O157: H7 em alface, *Salmonella* em uvas, tomates e cenouras, vendidos em unidades separadas ou saladas préembaladas em muitos estados norte americanos (FDA, 2012).

No mercado Europeu, as questões mais importantes de segurança de alimentos estão relacionadas a patógenos bacterianos, virais e resíduos de pesticidas (VAN BOXSTAEL *et al.*, 2013). De 2008 a 2011, houve um aumento no número de surtos, hospitalizações e mortes associadas com frutas frescas e legumes. Estes alimentos têm o potencial para serem associados a grandes surtos, como ocorreu em 2011, quando brotos de feno grego contaminados com *E. coli* O104:H4 provocaram doença em mais de 3.000 pessoas, mais de 50 mortes, na Alemanha e na França (EFSA, 2013).

No Brasil, os surtos por VMP raramente são notificados, embora pesquisas venham demonstrando a contaminação desses produtos por bactérias patogênicas (SANT'ANA *et al*,



2012). Explicações para isso podem ser o já corriqueiro problema da subnotificação ou que a produção das indústrias de VMP's brasileiras ainda seja muito pequena, se comparada a produção européia.

O grupo dos coliformes termotolerantes (45° C) são bastante referenciados como indicadores de contaminação de origem fecal pelo fato de serem facilmente isolados e identificados a partir de técnicas simples e rápidas (SILVA et al., 2010), sendo as altas contagens indicadoras de falhas higiênico-sanitárias nos alimentos e nas áreas de preparação e/ou armazenamento (CARVALHO et al., 2010), que podem fazer surgir quadros de infecção cujos sintomas variam de diarreias leves à sanguinolentas com dores abdominais intensas. Já Shinohara et al (2008) relatam que a transmissão da Salmonella spp. para o homem, através do consumo dos alimentos minimamente processados, geralmente ocorre devido ao controle inadequado da temperatura, a adoção de práticas de manipulação incorretas e/ou por contaminação dos alimentos frescos em contato com outros alimentos processados. Segundos estes mesmos autores, esses patógenos causam grandes prejuízos à saúde pública e algumas vezes a morte. Outras espécies bacterianas, a exemplo dos estafilococos coagulase positivo, não fazem parte dos padrões microbiológicos no Brasil designados para minimamente processados, entretanto, sua presença pode causar doenças de origem alimentar, principalmente se houver abuso de tempo e temperatura (TASCI et al., 2011). Entre as espécies coagulase positivo, o Staphylococcus aureus aparece como um dos agentes patogênicos mais envolvidos em surtos e em casos de intoxicação alimentar (FEITOSA et al., 2017), sendo as altas contagens interpretadas como indicadores de contaminação a partir de fossas nasais, boca e pele dos manipuladores, podendo ser transmitida para os alimentos por contato direto ou indireto.

A ocorrência de *Salmonella* spp. em vegetais é considerada baixa quando comparada a outros tipos de alimentos de origem animal. Entretanto, há registros de surtos de infecção alimentar causados por diferentes sorotipos de *Salmonella* associado ao consumo de frutas como maçã, morango, melão e manga, e de hortaliças como a alface, repolho e espinafre (SÃO JOSÉ e SILVA, 2014).

METODOLOGIA

Para a realização desse estudo foram recolhidas vinte e quatro amostras de vegetais minimamente processados, durante os meses de abril e maio de 2022, em hipermercados



localizados na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. O procedimento de coleta das amostras foi realizado pelo recolhimento de uma amostra semanal, durante três semanas e de modo aleatório. O interstício de sete dias entre as coletas foi designado para que as amostras da mesma espécie não pertencessem ao mesmo lote de venda, fato comprovado nas informações contidas nos rótulos, garantindo assim o aspecto de casualidade de compra realizado pelos consumidores.

Seguindo critérios amostrais de acesso livre e intencional, os produtos foram escolhidos de acordo com a disponibilidade das frutas e hortaliças minimamente processadas nos hipermercados, estando acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, envoltas por filme de polietileno e armazenadas em balcões refrigerados. Desse modo, analisaram-se oito vegetais diferentes: 5 frutas minimamente processadas (mamão, melão, goiaba, laranja e melancia) e 3 hortaliças minimamente processadas (acelga, repolho e abóbora) em um grupo total de quatro marcas. Os produtos apesar de modificados fisicamente, mantinham as características de frescor de produtos *in natura* e que não necessitavam, muitas vezes, de preparo subsequente antes do consumo. As preparações foram identificadas e então armazenadas em caixas térmicas com baterias de gelo, a fim de assegurar a temperatura de exposição até a entrega ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, campus III da UFPB.

Para a indicação de higiene nas amostras realizou-se a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais (35° C) e de coliformes termotolerantes (45° C) utilizando o tradicional método de tubos múltiplos em conformidade com o preconizado pela *American Public Health Association* (APHA, 2001). Assim, foram retirados 25 gramas das amostras e diluído em 225 mL de solução de água peptonada tamponada, selecionando posteriormente mais duas diluições (10⁻² e 10⁻³). Com o auxílio de uma pipeta, inoculou-se uma série de 1 mL de cada diluição em três tubos com uma solução de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubos de Durham invertido em cada tubo. Depois de adicionados e incubados a 35 °C por 24-48 horas, foi verificado se houve turvação do meio ou produção de gás. Uma vez positivo, semeou-se uma alçada do caldo presente em tubos contendo Caldo Verde Brilhante (incubados a 35 °C) durante 24-48 horas para a confirmação de coliformes totais, e em tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) incubados a 44,5 °C em banho-maria por um período de 24-48 horas para confirmação de coliformes termotolerantes. Utilizando o método do Número Mais Provável (NMP) foi feita uma contagem probabilística do resultado.



A verificação de patógenos foi realizada através da contagem de estafilococos coagulase positivo e pesquisa de *Salmonella* spp. utilizando a metodologia proposta pela APHA (APHA, 2001). Para a contagem dos estafilococos as diluições (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³) foram semeadas (0,1 ml) em superfície com alça de Drigalski em meio Ágar Vogel-Johnson suplementado com solução de telurito de potássio. Incubaram-se as placas invertidas a 35 °C por 48 horas e, logo após, as colônias típicas foram contadas. As colônias foram então transferidas para o teste de confirmação: cinco colônias típicas foram transferidas para o *Brain Hert Infusion Broth* (BHI) e incubadas a 36° C por 24 horas. Fez-se então o teste da coagulase. Transferiu-se 0,2 mL de cada cultura em Caldo BHI para tubos de ensaio esterilizados e acrescentou-se 0,5 mL de plasma com EDTA Bactident® coagulase. Os tubos foram incubados a 36° C por 6 h. Examinou-se após 6 horas, a formação de coágulo. Foram consideradas coagulase positivas, as colônias classificadas como cocos em cachos na coloração de Gram e com formação de coágulo firme e organizado no teste da coagulase. O número de UFC/g foi então determinado.

Para resultados da pesquisa de Salmonella spp., 25 gramas de cada amostra foi transferida para saco estéril de homogeneização e acrescentado 225 mL de Caldo lactosado (CL). Após homogeneização em "stomacher", as amostras foram incubadas a 35° C por 24 horas, período este de pré-enriquecimento. Em seguida, já na etapa do enriquecimento seletivo foram transferidos 1 mL do caldo enriquecido para 10 mL de Caldo Tetrationato (TT) assim como para o Caldo Selenito Cistina (SC), e então incubados a 35° C por 24 horas. Após este procedimento, na etapa de plaqueamento seletivo diferencial, fez-se o plaqueamento nos meios de cultura Ágar Bismuto Sulfito (BS), Ágar Entérico de Hectoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) durante 24 horas a 35 °C. Para a confirmação preliminar das colônias típicas de Salmonella foram utilizadas provas bioquímicas de crescimento em meio Ágar Lisina Ferro (LIA) e crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). Além destas provas, a confirmação sorológica dos cultivos foi realizada transferindo-os, com alça níquel-cromo, para lâminas de vidro contendo gotas de solução fisiológica. Após a homogeneização da colônia com a solução fisiológica na lâmina, foi acrescentado uma gota de soro anti-Salmonella polivalente somático-O, seguido de movimentação da lâmina para leitura. A prova foi considerada positiva pela aglutinação na mistura.

O referencial de padrão microbiológico foi o estabelecido pela Resolução nº. 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), do Ministério da Saúde, onde não existindo padrões



específicos para vegetais minimamente processados estes foram inseridos no grupo de alimentos designados como "frutas e hortaliças frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto", classificando como aceitável para a contagem de coliformes termotolerantes: até 10^2 NMP/g (Número Mais Provável por grama da amostra) para hortaliças e $5x10^2$ NMP/g para frutas. A referida legislação estabelece ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas para todos os produtos mencionados anteriormente.

Da mesma forma, a legislação não estabelece limites para estafilococos coagulase positivo, entretanto, como as frutas e as hortaliças minimamente processadas têm excessiva manipulação optou-se por também analisar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das avaliações microbiológicas realizadas nos vegetais minimamente processados podem ser lidos na Tabela 1. Nas frutas as contagens dos coliformes totais (35° C) variaram de < 3 NMP/g a 93 NMP/g e nas hortaliças houve uma variação de < 3 NMP/g a 39 NMP/g, valores estes que não puderam ser comparados com a legislação vigente²⁴ por esta não indicar os limites para estes microrganismos. De acordo com metodologia dos tubos múltiplos os valores inferiores a 3 NMP/g indicaram que nenhum dos tubos inoculados se mostrou positivo, ou seja, que a população de coliformes totais estava abaixo do limite de quantificação do método, o que ocorreu em 40% das frutas e em 55,6% das hortaliças. Os demais resultados encontrados para estes microrganismos foram considerados satisfatórios e certamente influenciam diretamente na vida de prateleira desses vegetais. Ressalta-se que se fosse considerado, para as contagens de coliformes totais, o limite legal estabelecido para os coliformes termotolerantes, o número de amostras com valores abaixo de 10² NMP/g seria de 100%.

A despeito de não existir um padrão legal, foi conveniente investigar a contagem de coliformes totais pois estes são considerados indicadores de contaminação geral, visto que englobam desde espécies típicas do trato intestinal de animais, quanto bactérias não entéricas, e são utilizados para avaliar as condições higiênico-sanitárias do processamento.



Tabela 01: Prevalência de coliformes totais, coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positivo e

Salmonella spp. nas amostras de vegetais minimamente processados.					
Frutas/ Coletas		СТ	CTT	Estafilococos coagulase positivo	Salmonella
		(NMP/g)	(NMP/g)	(UFC/g)	spp.
		SD	5x10 ^{2a}	SD	Ausência ^a
Mamão	1	<3	<3	$1,6x10^3$	AUS
	2	12	<3	$1,6x10^3$	AUS
	3	24	<3	$1,5 \times 10^3$	AUS
Melão	1	5	<3	3.0×10^4	AUS
	2	<3	<3	2.8×10^4	AUS
	3	39	57	$2,7x10^4$	PRES*
	1	93	84	$7,5 \times 10^3$	PRES*
Goiaba	2	93	59	$6,7x10^3$	PRES*
	3	43	38	$7,2x10^3$	AUS
Laranja	1	<3	<3	$9,5x10^3$	AUS
	2	<3	<3	$7,4x10^3$	AUS
	3	<3	<3	$9,9x10^3$	AUS
Melancia	1	3,3	3,8	6.0×10^2	AUS
	2	1,7	3	3.0×10^2	AUS
	3	<3	<3	5.0×10^2	AUS
Hortaliças/ Coletas		СТ	CTT	Estafilococos coagulase positivo	Salmonella
		(NMP/g)	(NMP/g)	(UFC/g)	spp.
		SD	10 ^{2a}	SD	Ausência ^a
Acelga	1	5	<3	$2,6x10^3$	AUS
	2	<3	<3	$2,7x10^3$	AUS
	3	23	<3	$2,6x10^3$	AUS
Repolho	1	<3	4,7	1.8×10^3	AUS
	2	<3	37	$2,2x10^3$	AUS
	3	<3	4,6	$2,5x10^3$	AUS
Abóbora	1	39	46	$6,7x10^4$	PRES*
	2	34	73	7.5×10^4	PRES*
	3	<3	<3	7.0×10^4	AUS

Fonte: Própria (2022).

Legenda: (a) Parâmetros estabelecidos pela RDC no. 12 para frutas e hortaliças *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas²⁴; (*) Valor acima do permitido; CT = Coliformes Totais; CTT = Coliformes Termotolerantes; NMP/g = Número Mais Provável por grama; UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; SD = Sem Dados, pois a pesquisa deste microrganismo não é preconizada pela RDC no. 12 de 02/01/01 para este tipo de alimento.



No presente estudo, as baixas contagens de coliformes totais tornam-se relevantes porque a massiva presença desses microrganismos seria sugestiva de deficiências em higiene associadas à presença de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae (*E. coli, Enterobacter, Citrobacter e Klebsiella*, por exemplo). Valores bem superiores (≥ 2,4 x 10³ NMP/g) foram observados em pesquisa feita por Couto e Boni (2018), utilizando metodologia semelhante, ao analisar amostras de hortaliças, raízes e tubérculos comercializados em Maringá/PR.

Na observação dos resultados para coliformes termotolerantes (Tabela 1), e através da metodologia empregada, verificou-se que 11 amostras (45,8%) apresentavam contagens destes microrganismos, porém em valores inferiores a 10² NMP/g. Como não existe no Brasil uma legislação específica para os vegetais minimamente processados, os resultados foram comparados com a resolução RDC n°. 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério de Saúde (BRASIL, 2001), que estabelece um limite máximo de 5 x 10² NMP/g de coliformes termotolerantes (45° C) em frutas frescas e de 10² NMP/g em hortaliças *in natura*. Levando em consideração esses parâmetros, todos os resultados estiveram dentro dos limites estabelecidos.

Assim, as contagens encontradas para os termotolerantes foram consideradas baixas variando de < 3 a 84 NMP/g nas frutas e de < 3 a 73 NMP/g nas hortaliças. Considerando a totalidade das amostras observou-se ainda que em 54,2% delas, a população de coliformes termotolerantes estava abaixo do limite de quantificação do método (<3 NMP/g). Os valores reduzidos encontrados nos vegetais minimamente processados podem estar relacionados à etapa higienização realizada no processamento. Em pesquisa realizada por Passos e colaboradores (2017), a sanitização com hipoclorito de sódio a 100 ppm/15 min mostrou-se eficiente para reduzir a contagem inicial de coliformes termotolerantes em cenouras minimamente processadas adquiridas no comércio de Rio Paranaíba-MG, Brasil, porém estes autores destacaram que a etapa de sanitização ainda não possui completa eficiência se os vegetais já chegarem ao processamento com uma contaminação elevada.

Valores semelhantes aos descritos em nosso trabalho foram encontrados por Fagiani *et al* (2017) ao analisar amostras de hortaliças minimamente processadas, através da técnica dos tubos múltiplos, coletadas no comércio local de Presidente Prudente/SP, onde todas as amostras apresentavam coliformes termotolerantes em valores inferiores a 10² NMP/g. Uma



porcentagem maior foi verificada por Lins *et al* (2015) também utilizando a metodologia da *American Public Health Association*, que analisaram a qualidade microbiológica de mamão, melão, abacaxi e melancia minimamente processados, provenientes de uma Unidade de Alimentação e Nutrição de um município da Região do Cariri do Estado do Ceará, e encontraram contagens de coliformes termotolerantes $\geq 2,4 \times 10^3$ NMP/g em todas as quatro amostras de frutas.

Relativamente à contagem de estafilococos coagulase positivo, as amostras apresentaram uma variação de 3,0 x 10² UFC/g a 3,0 x 10⁴ UFC/g para as frutas e de 1,8 x 10³ UFC/g à 7,5 à 10⁴ UFC/g para as hortaliças. A RDC nº. 12 (BRASIL, 2001) não estabelece limites máximos para a contagem deste patógeno em vegetais minimamente processados, quer sejam frutas ou hortaliças frescas, porém determina para "hortaliças branqueadas ou cozidas, inteiras ou picadas, estáveis à temperatura ambiente, refrigeradas ou congeladas para consumo direto", o limite máximo de 10³ UFC/g nos produtos. Levando-se em consideração esse parâmetro pode-se afirmar que 80% das amostras de frutas, e 100% das hortaliças analisadas neste estudo corresponderiam à produtos impróprios para a comercialização e consumo humano. Dentre os vegetais investigados apenas as amostras de melancia apresentaram contagens inferiores a 10³ UFC/g, estando as quantidades mais elevadas no melão e na abóbora, respectivamente.

Os estafilococos coagulase positivo habitam a pele humana e também estão presentes nas fossas nasais e boca. Assim, as frutas e hortaliças devem ter sido contaminados, provavelmente, em decorrência do contato das mãos dos manipuladores com o nariz, boca e/ou couro cabeludo, ficando o possível crescimento e produção de toxinas mais atreladas às condições de temperatura. Em estudo feito por Graça *et al* (2015) foram analisadas 68 maçãs minimamente processadas comercializadas em Portugal, utilizando metodologias padrão (ISO 6888-1), e verificou-se que 5,8% das amostras apresentavam contagens de estafilococos coagulase positivo. Uma porcentagem maior que esta foi encontrada por Akoachere *et al* (2018) ao analisarem a prevalência de *Staphylococus aureus* em vegetais frescos comercializados em Fako (República dos Camarões) e isolaram o microrganismo em 35,4% das amostras. Em trabalho sobre contaminação de couves-manteiga minimamente processadas comercializadas em Marília-SP (técnica *spread plate* empregando-se o ágar Baird-Parker), Imamura e colabodores (2017) detectaram valores variáveis entre 4,2 x 10³ UFC/g a 1,0 x 10⁹ UFC/g de



estafilococos coagulase positivo.

Das vinte e quatro amostras de vegetais analisados, em cinco (20,8%) foram confirmadas a presença de Salmonella spp., sendo duas frutas (melão e goiaba em duas coletas consecutivas) e uma hortaliça (abóbora, também em duas coletas consecutivas), e assim consideradas impróprias para o consumo segundo legislação vigente (BRASIL, 2001). Curiosamente, as amostras que abrigaram a Salmonella spp. também foram as que apresentaram maiores contagens de coliformes termotolerantes, sugerindo a necessidade de maior atenção no processamento, desinfecção e empacotamento destes produtos. Presume-se que os estabelecimentos envolvidos não apresentem eficiência na manutenção da temperatura de refrigeração preconizada para evitar o crescimento bacteriano, bem como, haja práticas de lavagem e sanitização inadequadas alocadas nas unidades processadoras responsáveis pelo fornecimento dos vegetais minimamente processados. Em pesquisa recente realizada por Delibato et al (2018), demonstrou-se que espécies de Salmonella entérica podem sobreviver em alfaces frescos refrigerados a 4° C durante toda a sua vida de prateleira (que na Europa oscila entre 5 e 7 dias), sem qualquer redução substancial de suas cargas microbianas. Estes autores demonstraram ainda que procedimentos de lavagem doméstica, como o uso de água de torneira ou uso de água adicionada com 60 ppm de cloro, foram incapazes de descontaminar alfaces e eliminar os riscos correlacionados à presença desses patógenos.

Nossos resultados estão bem acima daqueles apresentados por Losio *et al* (2015) que ao analisarem o risco de patógenos associado ao consumo de vegetais minimamente processados comercializados nos mercados da Itália (método ISO 16140: 2003), detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 0,7% das amostras, e inferiores aos encontrados no Brasil por Ferreira e demais colaboradores (2016) quando verificaram a qualidade microbiológica de 12 tipos de hortaliças minimamente processadas, comercializadas em 5 redes de supermercados do estado de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte. Estes autores declaram em seu estudo que a presença de *Salmonella* spp., determinada por meio da técnica do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food*, foi encontrada em 50% das amostras, estando assim fora do padrão microbiológico legal estabelecido pela Resolução nº. 12 de 2 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

Diferentemente dos resultados destas pesquisas, Silva *et al* (2015) não identificaram microrganismos do gênero *Salmonella* spp. em nenhuma das 36 amostras de frutas e hortaliças



minimamente processadas comercializadas em Cuiabá analisadas através da metodologia da APHA (BRASIL, 2001). No citado estudo, infere-se ausência de *Salmonella* spp. às boas práticas de fabricação implementadas e/ou ao uso de detergentes na lavagem dos frutos e verduras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade investigada através de parâmetros microbiológicos e verificada nas amostras de vegetais minimamente processados comercializados na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, sinaliza a necessidade de implantação de melhorias em seu processamento. Com relação à presença de indicadores higiênico-sanitários, apesar de algumas amostras estarem contaminadas com coliformes totais e termotolerantes, as mesmas foram consideradas próprias para o consumo porque apresentaram contagens inferiores ao limite máximo estabelecido pela legislação brasileira vigente. Entretanto, a despeito destes indicadores estarem conformes, os de indícios de patogenicidade não poderiam estar presentes ou em níveis altos, pois a presença de *Salmonella* spp. como confirmada, mesmo que pontual, pode acarretar em graves problemas de saúde pública e as altas contagens de estafilococos coagulase positivo podem causar intoxicações na população que consome esse tipo de alimento.

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a importância da inspeção regular por parte da Agência Nacional de Vigilância Sanitária nos hipermercados locais e uma maior orientação aos produtores, e manipuladores, quanto à correta higienização e manipulação dos alimentos. Ficou claro que a produção de vegetais minimamente processados de boa qualidade microbiológica necessariamente depende da escolha das matérias-primas, da manutenção da cadeia de frio durante preparação e armazenamento, da eficiência na sanitização e de um controle das condições higiênico-sanitárias nos colaboradores, utensílios e equipamentos através da implementação, ou atualização, de programas de Boas Práticas de Fabricação.

REFERÊNCIAS

AKOACHERE, J. F. T. K.; TATSINKOU, B. F.; NKENGFACK, J. M. Bacterial and parasitic contaminants of salad vegetables sold in markets in Fako Division, Cameroon and evaluation of hygiene and handling practices of vendors. **BMC Res Notes**, 2018. v. 11, n. 100, p. 1-7, 2018.



- ALVES, A. S.; NETO, A. C.; ROSSIGNOLI, P. A. Parasitos em alface-crespa (Lactuca sativa), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Rev. Patol. Trop.**, 2013. v. 42, 2, p. 217-229, 2013.
- APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committe on Microbiological for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. Ed. Washington, 2001. 676p.
- ARTÉS, F.; ALLENDE, A. Minimal processing of fresh fruit, vegetables, and juices. **Food**, 2014. v. 4, p. 121-128, 2014.
- BANERJEE, A.; CHATTERJEE, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A. Shelf life extension of minimally processed ready-to-cook (RTC) cabbage by gamma irradiation. **J. Food Technol.**, 2016. v. 53, n. 1, p. 233-244, 2016.
- BENNETT, S. D.; LITTRELL, K. W.; HILL, T.A.; MAHOVIC, M. AND BARTON.; B. C. Multistate foodborne disease outbreaks associated with raw tomatoes, United States, 1990-2010: a recurring public health problem Epidemiol. **Infect.**, 2015. v. 143, p. 1352-1359, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2001. Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.
- CARVALHO, P. G. O. DE; RODRIGUES, S. E. S.; ALMEIDA, C. G. L.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N. DE; RODRIGUES, F. F. G.; OLIVEIRA, A. D. L. et al. Analises microbiológicas e parasitológicas de saladas verdes servidas em self-service no município de Crato Ceará. Cad. Cult. Ciênc., 2010. v. 2, n. 2, p. 20-30, 2010.
- COUTO, E. S.; BONI, S. M. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos minimamente processado comercializados em supermercados de Maringá, PR. **Rev. Hig. Alim.**, 2018. v. 32, p. 284-285, 2018.
- DELIBATO, E.; LUZZI, I.; PUCCI, E.; PROROGA, Y. T. R.; CAPUANO, F.; MEDICI, D. DE. Fresh produce and microbial contamination: persistence during the shelf life and efficacy of domestic washing methods. **Ann. Inst. Super Sanità**, 2018. v. 54, n. 4, p. 358-363, 2018.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). **EFSA Journal**, 2013. v. 11, p. 3025, 2013.
- FAGIANI, M. DE A. B. DE.; TOGAWA, K. N.; MARTINS, T. R.; TASHIMA, N. T. N.; DILLIO, F. L.; CHAGAS, P. H. N. et al. Avaliação microbiológica e parasitológica de produtos minimamente processados no município de Presidente Prudente SP. **Colloq. Vitae**, 2017. v. 9, n. 2, p. 17-28, 2017.
- FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. www.fda.gov/Safety/Recalls, 2012.



- FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M.; TORRES, E. A. T.; SILVA, J. F. M. Staphylococcus aureus em alimentos. **Rev. Desafios**, 2017. v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017.
- FERREIRA, C. C.; GREGORIO, E. L.; COSTA, J. D.; PAULA, R. B. O.; NETA, HAGA.; FONTES, M. D. Análise de coliformes termotolerantes e Salmonella sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte-MG. **HU Revista**, 2016. v. 42, n. 4, p. 307-313, 2016.
- GIL, M. I.; SELMA, M. V.; SUSLOW, T.; JACXSENS, L.; UYTTENDAELE, M.; ALLENDE, A. Pre and Postharvest Preventive Measures and Intervention Strategies to Control Microbial Food Safety Hazards of Fresh Leafy Vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2015. v. 55, p. 453-468, 2015.
- GRAÇA, A.; SANTO, D.; ESTEVES, E.; NUNES, C.; ABADIAS, M.; QUINTAS, C. Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple. **Food Microbiol**, 2015. v. 51, p.179-185, 2015.
- GUNDUZ, G. T, GONUL, S. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of sumac and oregan in inactivation of Salmonella Typhimurium on tomatoes. **Int. J. Food Microbiol.**, 2010. v. 141, n. 1, p. 39-44, 2010.
- IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007. Sistema IBGE de Recuperação Automática e SIDRA. Banco de Dados Agregados, 2007.
- IMAMURA, K. B.; FERREIRA, T. C.; GIANNONI, J. A.; DORTA C. Qualidade microbiológica da couve-manteiga (Brassica oleracea L.) minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília/SP. **Rev. Bras. Anal. Clin**., 2017. v. 49, n. 4, p. 390-395, 2017.
- KLUGE, R. A.; SILVEIRA, A. C.; INESTROZA-LIZARDO, C.; BERNO, N. D. **Processamento mínimo de hortaliças: princípios e práticas**, 2016. Piracicaba, São Paulo, ed. ESALQ Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural nº 62, p. 85, 2016.
- LINS, A. D. F.; LISBOA, C. G. C.; MORAES, M. S.; SAMPAIO, A. C. F.; QUIRINO, D. J. G. Análise microbiológica de frutas minimamente processadas servidas em uma unidade de alimentação e nutrição. **Rev. Verde**, 2015. v. 10, n. 4, p. 22-25, 2015.
- LOSIO, M. N.; PAVONI, E.; BILEI, S.; BERTASI, B.; BOVE, D.; CAPUANO, F. et al. Microbiological survey of raw and ready-to-eat leafy green vegetables marketed in Italy. **Int. J. Food Microbiol.**, 2015. v. 210, p. 88-91, 2015.
- MAISTRO, L. C.; MIYA, N. T.; SANT'ANA, A. S.; PEREIRA, J. L. Microbiological quality and safety of minimally processed vegetables marketed in Campinas, SP e Brazil, as assessed by traditional and alternative methods. **Food Control**., 2012. v. 28, p. 258-264, 2012.



- PASSOS, L. P.; MIRANDA, A. L. S.; MARQUES, D. R. P.; OLIVEIRA, I. R. N. Aspectos microbiológicos de cenouras minimamente processadas e armazenadas em diferentes embalagens sob refrigeração. **J. Eng. Exact Sci.**, 2017. v. 3, n. 6, p. 829-834, 2017.
- PEIXOTO, L. O.; AZEVEDO, C. V.; ALMEIDA, S. M. A.; FREITAS, B. K. S. DE.; MELO, M. V. C.; SILVA, I. N. G. DA. Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces minimamente processadas, comercializadas em supermercados da cidade de Fortaleza, Ceará. **Rev. Nutri. Vigil. Saúde**, 2014. v. 1, n. 1, p. 27-31,2014.
- PICOLI, A. A.; FARIA, D. B.; JOMORI, M. L. L.; KLUGE, R. A. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. **Bragantia**, 2010. v. 69, n. 4, p. 983-988, 2010.
- SANT'ANA, A. S.; IGARASHI, M. C.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M. Prevalence, populations and phenol-and genotypic characteristics of Listeria monocytogenes isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, 2012.
- SANTOS, T. B. A. DOS.; SILVA, N. DA.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Braz. J. Food Technol.**, 2010. v. 13, n. 2, p. 141-146, 2010.
- SÃO JOSÉ, J. B. F.; SILVA, L. F. Ocorrência de patógenos em frutas e hortaliças. **Rev. Hig. Alim.**, 2014. v. 28, n. 234, p. 96-101, 2014.
- SÃO JOSÉ, J. F. B. DE. Estratégias alternativas na higienização de frutas e hortaliças. **Rev. Ciênc. Agrárias**, 2017. v. 40, n. 3, p. 630-640, 2017.
- SATO, G. S.; MARTINS, V. A.; BUENO, C. R. F. (2006). Análise exploratória do perfil do consumidor de minimamente processados na cidade de São Paulo. In: III SEMINÁRIO ABAR SUL (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ADMINISTRAÇÃO RURAL Região Sul). Anais... Curitiba (PR), 2006.
- SCHARFF, R. L. Economic burden from health losses due to foodborne illnesses in the United States. **Journal of Food Protection**, 2012. v. 75, n. 1, p. 123-131, 2012.
- SEBRAE/ESPM Estudos de Mercado (2008). **Hortaliças Minimamente Processadas**. Relatório completo, 2008.
- SEO, Y. H.; JANG, J. H.; MOON, K. D. Occurrence and characterization of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from minimally processed vegetables and sprouts in Korea. **Food Sci. Biotechnol.**, 2010. v. 19, p. 313-319, 2010.
- SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B. DE.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA, J. L. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Rev. Ciênc. Saúde Colet.**, 2008. v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.



SILVA, F. G. DA.; CUNHA NETO, A.; RODRIGUES, L. J.; FIGUEIREDO, E. E. DE S. Quality of minimally processed products marketed in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. **Int. Food Res. J.**, 2015. v. 4, n. 5, p. 157-164, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 2010.

SMANIOTO, T. F.; PIROLO, N. J.; SIMIONATO, E. M. R. S.; ARRUDA, M. C. DE. Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 2009. v. 68, n. 1, p. 150-154, 2009.

STRANIERI, A.; RICCI, E.C.; BANTERLE, A. Convenience food with environmentally sustainable attributes: A consumer perspective. **Appetite**, 2017. v. 116, p. 11-20, 2017.

TASCI, F.; SAHINDOKUYUCU, F.; OZTURK, D. Detection of Staphylococcus species and staphylococcal enterotoxins by ELISA in ice cream and cheese consumed in Burdur Province. **Afr. J. Agric. Res.**, 2011. v. 6, p. 937-942, 2011.

VAN BOXSTAEL, S.; HABIB, I.; JACXSENS, L.; DE VOCHT, M.; BAERT, L.; VAN DE PERRE, E.; RAJKOVIC, A.; LOPEZ-GALVEZ, F.; SAMPERS, I.; SPANOGHE, P.; DE MEULENAER, B., UYTTENDAELE, M. Food safety issues in fresh produce: bacterial pathogens, viruses and pesticide residue syndicated as major concerns by stakeholders in the fresh produce chain. **Food Control**, 2013. v. 32, p. 190-197, 2013.