

---

# Coliformes totais e fecais em hortaliças de cultivos convencional, hidropônico e orgânico

*Total and fecal coliforms in conventional, hydroponic and organic crops*

Marina Bianca Santos da Silva<sup>1</sup>, Tatiane Iembo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Nutrição da Universidade Paulista, São José do Rio Preto-SP, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade de Medicina Ceres, São José do Rio Preto-SP, Brasil.

---

## Resumo

**Objetivo** – Analisar e comparar a presença de coliformes totais e fecais em hortaliças de cultivos convencional, hidropônico e orgânico. **Métodos** – A presença de coliformes totais e fecais foi analisada em amostras de alface, da variedade crespa (*Lactuca sativa* var. *cripa*), a partir do seu enriquecimento com água peptonada 0,1% para inoculá-las em diluições de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em Petrifilm EC (3M Company). Após a incubação a 37°C por 24 horas, as colônias foram contadas e o resultado foi expresso como UFC.g<sup>-1</sup> de coliformes totais e UFC.g<sup>-1</sup> de *Escherichia coli*. **Resultados** – Foram analisadas seis amostras de alface, sendo duas de cultivo tradicional, três de cultivo orgânico e uma de cultivo hidropônico. Somente uma delas se apresentou própria para consumo, uma vez que o número de coliformes totais não ultrapassou o limite exigido pela vigilância sanitária. Além disso, uma das amostras de alface orgânica estava contaminada com coliformes fecais. **Conclusão** – O presente estudo evidenciou que a maioria das amostras de alface orgânica apresentou um número maior de coliformes totais quando comparado aos outros tipos de cultivo, e uma delas estava contaminada com *E. coli*. Além disso, a maioria mostrou-se em desacordo com o padrão microbiológico estabelecido pela legislação brasileira.

**Descritores:** Agricultura; Agricultura orgânica; Hidroponia; Coliformes

## Abstract

**Objective** – To analyze and compare the presence of total and fecal coliforms in conventional, hydroponic and organic crops. **Methods** – The presence of total and fecal coliforms was analyzed in lettuce samples from the crespa variety (*Lactuca sativa* var. *Cripa*) from their enrichment with 0.1% peptone water to inoculate them in  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  and  $10^{-3}$  in Petrifilm EC (3M Company). After incubation at 37 °C for 24 hours, the colonies were counted and the result was expressed as UFC.g<sup>-1</sup> of total coliforms and UFC.g<sup>-1</sup> of *Escherichia coli*. **Results** – Six lettuce samples were analyzed, two of them being traditional, three organic and one hydroponic. Only one of them presented itself for consumption, since the number of total coliforms did not exceed the limit required by sanitary surveillance. In addition, one of the organic lettuce samples was contaminated with fecal coliforms. **Conclusion** – The present study showed that the majority of the organic lettuce samples presented a higher number of total coliforms when compared to the other types of culture, and one of them was contaminated with *E. coli*. In addition, the majority were in disagreement with the microbiological standard established by Brazilian legislation.

**Descriptors:** Agriculture; Organic agriculture; Hydroponics; Coliforms

---

## Introdução

A alface (*Lactuca sativa* var. *cripa*) é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo considerada uma cultura hortícola de grande consumo. Devido ao seu baixo valor calórico qualifica-se para diversas dietas, o que favorece grandemente o seu consumo de uma maneira geral, constituindo-se em componente imprescindível das saladas dos brasileiros.<sup>1</sup>

O cultivo dessa hortaliça vem sendo praticado nas formas tradicional, hidropônica e orgânica, cujas características diferenciadas na produção podem influenciar as suas propriedades. No entanto, a não ser pelas diferenças práticas entre os três tipos de cultivo, o consumidor não possui dados indicativos sobre a qualidade e as propriedades das hortaliças oriundas dos diferentes cultivos.<sup>2,3</sup>

A produção orgânica adota práticas de rotação de cultura, aproveitamento de resíduos orgânicos e controle biológico, eliminando a utilização de produtos químicos sintéticos, minimizando impactos ao meio ambiente.<sup>4</sup> Já a hidropônica, é um sistema de cultivo de plantas onde se utiliza solução nutritiva como prin-

cipal componente. Esse manejo tem sido utilizado com sucesso em plantios de alface, possibilitando a elevação da produtividade e o número de colheitas por ano.<sup>5</sup>

Entretanto, independentemente do tipo de cultivo, a preocupação com a qualidade das hortaliças é crescente. Isto porque notícias publicadas mostram a disseminação de doenças através de frutas e verduras cruas, indicando os perigos para a saúde do consumidor, o que prova que não está sendo feito o controle de qualidade adequado nos processos da cadeia de produção. No Brasil, não obstante a relevância e atualidade do problema, são poucos os trabalhos avaliando a qualidade das hortaliças consumidas pela população.<sup>6</sup>

Entre as bactérias patogênicas que podem ser transmitidas pelo consumo de vegetais crus, destacam-se *Salmonella* e *Escherichia coli*. Essa última, que por ser uma enterobactéria da microbiota normal do intestino humano, uma vez detectada no alimento, indica que há contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias. Em regiões onde são utilizados dejetos de animais como fertilizantes ou água contaminada na irrigação, é de se

esperar que as hortaliças contenham patógenos intestinais e bactérias patogênicas, como *Salmonella*, *Shigella*, esporos de *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*.<sup>7</sup>

A contaminação microbiológica da alface pode ocorrer antes e após a colheita, através do contato com o solo, irrigação com água contaminada, transporte e pelas mãos dos manipuladores. Diversos autores citam as hortaliças cruas, destacando as alfaces, como veiculadoras de patógenos em surtos de infecções, devido à presença de *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* veiculados a águas contaminadas e contaminação cruzada.<sup>8</sup>

Nos últimos anos, a preocupação do homem com a qualidade e segurança dos alimentos vem crescendo, e por essa razão, os consumidores os escolhem de acordo com os riscos alimentares que os produtos podem oferecer, como as práticas higiênicas, riscos microbiológicos, métodos de produção, aplicações de pesticidas, uso da biotecnologia e várias outras inovações tecnológicas.<sup>9</sup>

Com base nestes aspectos e considerando, sobretudo, a carência de informações comparativas sobre os níveis de contaminação dos produtos oriundos do cultivo tradicional, hidropônico e orgânico, este trabalho teve como objetivo a avaliação microbiológica de amostras de alfaces da variedade crespa, provenientes destes três sistemas de cultivo e comercializadas nos principais supermercados da cidade de São José do Rio Preto-SP.

## Métodos

As amostras de alface utilizadas para as análises do presente trabalho foram compradas em quatro diferentes estabelecimentos da cidade de São José do Rio Preto-SP. Foi estabelecido como unidade amostral um pé de alface, adotando-se como critério de escolha das amostras a observação, levando em consideração que obtivessem um aspecto de uma hortaliça fresca, brilhante, firme e sem áreas escuras, estando em locais prontas para serem comercializadas.

As amostras em seus respectivos invólucros originais foram acondicionadas em sacos de polietileno estéreis sem o contato manual. De acordo com a resolução RDC nº 12/01,<sup>10</sup> as amostras foram devidamente identificadas e em suas condições adequadas levadas ao Laboratório Multidisciplinar da Universidade Paulista (UNIP), para serem processadas.

A contagem dos coliformes totais e fecais foi realizada a partir do inóculo das amostras na placa Petrifilm EC (3M Company), que possibilita a contagem desses dois tipos de microrganismos ao mesmo tempo. Foram feitas as diluições das amostras, adicionando o volume de diluente água peptonada 0,1% para diluição inicial desejada de 1:1, ou seja, 1,0 ml de diluente por grama de amostra, de forma que cada mililitro do lavado correspondesse a um grama de amostra. Nesse caso, foram utilizados 100 gramas de alface que foram lavados agitando vigorosamente o saco, por 50 vezes, massageando a hortaliça com as mãos, por fora do saco, to-

mando os devidos cuidados para que pontas ou outras protuberâncias não furassem a embalagem.

Da diluição inicial foram retirados 25 ml, adicionados em um frasco estéril com 225ml de água peptonada 0,1%, homogeneizando em seguida para obter a diluição considerada  $10^{-1}$ . Em seguida, realizaram-se diluições de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , procedimento obtido após transferir 1 ml da diluição anterior para um tubo de ensaio contendo 9 ml de solução peptonada 0,1% com posterior agitação dos tubos. A partir das diluições realizadas, foi seguida a metodologia descrita em *Official Methods of Analysis*<sup>11</sup> – Método 991.14 (AOAC, 2000), em que 1 ml da amostra das respectivas diluições foram depositadas nas placas de Petrifilm EC e em seguida incubadas horizontalmente com a lâmina para cima, a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas.

Foram contadas nas placas as colônias consideradas características para coliformes totais e *Escherichia coli* e o resultado expresso como UFC.g<sup>-1</sup> de coliformes totais e UFC.g<sup>-1</sup> de *E. coli*.

## Resultados

Foram utilizadas seis amostras de alface, da variedade crespa, de quatro diferentes pontos de comércio da cidade, sendo duas de cultivo tradicional, três de cultivo orgânico e uma de cultivo hidropônico, sendo detectados coliformes fecais somente em uma delas (Tabela 1).

As placas de Petrifilm EC com colônias vermelhas que liberaram gás evidenciam os coliformes totais (Figura 1). Já o crescimento de *E. coli* foi identificado pelas colônias azuis que também liberam gás.

## Discussão

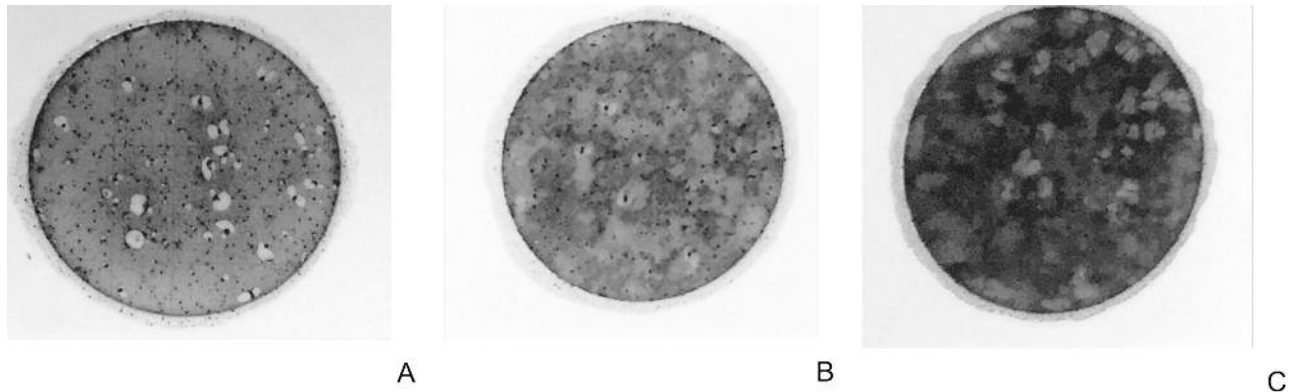
No Brasil, ainda não existe uma legislação específica para alimentos minimamente processados, sendo seguidos os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC Nº12/01 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, para frutas e/ou hortaliças “frescas, in natura, preparadas (descascadas, selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”. A RDC 12/01 estabelece ausência de *Salmonella* em 25 g e contagem máxima de coliformes termotolerantes ou *E. coli* de  $5 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> (2,7 log UFC.g<sup>-1</sup>) para frutas e  $1 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> (2,0 log UFC.g<sup>-1</sup>) para hortaliças.<sup>12</sup>

Outros países, como França, Alemanha e Japão também não dispõem de legislação específica para vegetais minimamente processados, mas permitem um número um pouco maior do que no Brasil.<sup>13</sup>

A contaminação microbiológica da alface pode ocorrer antes e após a colheita, a partir do contato com o solo, irrigação com água contaminada, transporte e pelas mãos dos manipuladores. Diversos autores citam as hortaliças cruas, destacando as alfaces, como veiculadoras de patógenos em surtos de infecções, devido à presença de *E. coli*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* veiculados a águas contaminadas e contaminação cruzada.<sup>9</sup>

**Tabela 1. Contagem dos coliformes totais e E. coli em UFC.g-1.**

Tipo de cultivo	Local	Coliformes totais	<i>Escherichia coli</i>
Orgânica	2	1,0.10 <sup>2</sup>	Ausente
Orgânica	4	5,4.10 <sup>2</sup>	Ausente
Orgânica	3	4,1.10 <sup>3</sup>	2,0.10
Convencional	1	4,1.10 <sup>2</sup>	Ausente
Convencional	2	2,0.10 <sup>2</sup>	Ausente
Hidropônico	3	3,2.10 <sup>3</sup>	Ausente

**Figura 1.** Crescimento dos coliformes totais e fecais na placa de Petrifilm. A. Amostra de alface do cultivo convencional (Local 1). B. Amostra de alface do cultivo orgânica (Local 3). C. Amostra de alface do cultivo hidropônico (Local 3). Fonte: Acervo pessoal

A análise da presença de coliformes totais e fecais nas amostras de alface do presente estudo evidenciou que apenas uma delas, sendo a do cultivo orgânico, estava satisfatória para a quantidade de coliformes totais permitida pela legislação brasileira. Isso pode se dar ao fato de que os produtores estejam seguindo corretamente os procedimentos exigidos pela certificadora, a qual não permite que o esterco animal seja utilizado antes da sua correta compostagem.

O consumo de alimentos produzidos por este tipo de cultivo vem crescendo nos últimos anos, uma vez que são adotadas práticas de rotação de cultura, aproveitamento de resíduos orgânicos e controle biológico, para eliminar a utilização de produtos químicos sintéticos e minimizar impactos ao meio ambiente.<sup>8</sup>

Entretanto, a única amostra que estava contaminada com *E. coli* foi outra de cultivo orgânico, além de apresentar a maior quantidade de coliformes totais encontrada. De acordo com a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)*, a presença de coliformes em alimentos indica manipulação inadequada durante o processamento, uso de equipamentos em más condições sanitárias ou ainda utilização de matéria-prima contaminada.<sup>14</sup> Esses resultados diferem dos encontrados em uma pesquisa realizada no Distrito Federal, em que metade das 32 amostras de vegetais minimamente processados estavam contaminadas com *E. coli*.<sup>15</sup>

Outra amostra do presente estudo que continha alto grau de contaminação por coliformes totais foi a hi-

dropônica, cujo sistema de cultivo de plantas utiliza solução nutritiva como principal componente.<sup>9</sup> Esse manejo tem sido utilizado com sucesso em plantios de alface, possibilitando a elevação da produtividade e o número de colheitas por ano. Contudo, é necessário acompanhamento técnico especializado, para que se tenha uma solução nutritiva balanceada que forneça nutriente suficiente para o desenvolvimento das plantas e evite o acúmulo excessivo de nitrato.<sup>10</sup> Outro ponto negativo da hidroponia é que se manejada de forma incorreta provoca redução na produtividade e na qualidade do produto. Dessa forma, vários cultivos hidropônicos realizados no país são legados ao fracasso em função do desconhecimento do manejo nutricional.<sup>16</sup>

Trabalhos internacionais também mostram elevadas contagens de indicadores da qualidade higiênico-sanitária em hortaliças minimamente processadas. De 120 amostras de alface pronta para o consumo na Itália, 76% apresentaram contagens de microrganismos entre 5 e 7 log UFC.g<sup>-1</sup>, valores próximos dos encontrados no presente estudo.<sup>13</sup>

Um estudo francês encontrou, ao analisar 112 amostras de vegetais minimamente processados embalados individualmente ou mistos, 56,25% de contagem total de microrganismos ao redor de 7 log UFC.g<sup>-1</sup>, sendo que 19,64% das amostras ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação francesa (7,7 log UFC.g<sup>-1</sup>). Entretanto, 95,54% das amostras apresentaram contagens de *E. coli* < 1 log UFC.g<sup>-1</sup>.<sup>13</sup>

Diversos fatores podem influenciar a qualidade final de vegetais minimamente processados, como a qualidade da matéria-prima, as condições de cultivo e os produtos utilizados durante essa etapa, assim como o tempo e a temperatura em que o alimento é mantido em toda a cadeia produtiva até chegar ao consumidor final. Uma alternativa seria a utilização de água de boa qualidade no processo, com potencial de oxidorredução acima de 650 mV, que pode inibir o crescimento da maioria dos patógenos, mesmo sem a cloração.<sup>17</sup>

Dessa maneira, os resultados obtidos pela presente pesquisa indicam que melhores práticas higiênicas na produção dos vegetais minimamente processados precisam ser implantadas para assegurar qualidades nutricionais e microbiológicas aos consumidores.

De acordo com a resolução RDC 216/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a lavagem das hortaliças deve ser feita com água corrente e potável. Em seguida, deve ser feito o mergulho das frutas, legumes e hortaliças em uma solução com um litro de água e uma colher de sopa de água sanitária ou hipoclorito de sódio, por quinze minutos. Após retirar os alimentos, se deve lavá-los em água corrente.<sup>18</sup>

## Conclusão

Tanto a amostra de alface orgânica quanto a de hidroponia apresentaram um número maior de coliformes totais. Além disso, coliformes fecais só foram encontrados em uma amostra de cultivo orgânico. Apesar do baixo número de amostras analisadas, a maioria mostrou-se em desacordo com o padrão microbiológico estabelecido pela legislação brasileira.

## Referências

1. Fernandes AA, Martinez HEP, Pereira PRG, Fonseca MCM. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. *Horticultura Bras.* 2002;20(2):195-200.
2. Miyazawa M, Khatounian CA, Odenath-Penha LA. Teor de nitrato nas folhas de alface produzida em cultivo convencional, orgânico e hidropônico. *Agroecologia Hoje.* 2001; 2:23.
3. Sediya MAN, Santos IC, Lima PC. Cultivo de hortaliças no sistema orgânico. *Rev Ceres.* 2014; 61(Suppl): 829-37.
4. Guadagnin SG, Rath S, Reyes FGR. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. *Food Addit Contam.* 2006; 22(12):1203-08.
5. Resh HM. *Hydroponic food production: a definitive guide book for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower.* 5th ed. Santa Barbara: Woodbridge. 1995.
6. Takayanagui OM, Capuano DM, Oliveira CAD, Bergamini AMM, Okino MHT, Castro e Silva AAMC et al. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 [acesso 04 jun 2020]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822006000200018&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822006000200018&lng=en).
7. Franco BDGM, Landgraf M. *Microbiologia de alimentos.* São Paulo: Atheneu; 2002.
8. Nascimento AR. Incidência de *Escherichia coli* e *Salmonella* em alface (*Lactuca sativa*). *Hig Aliment.* 2005;19(128):121-4.
9. Arbos KA, Freitas RJS, Stertz SC, Carvalho LA. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. *Ciênc Technol Aliment.* 2010;30(1):215-20.
10. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da União*, 10 jan. 2001. Seção 1.
11. AOAC Official Methods of Analysis. *Microbiological Methods.* 991.14. 20th ed. 2016.
12. Szabo EA, Scurrah KJ, Burrows JM. Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. *Lett Appl Microbiol.* 2000;30(160):456-60.
13. Previdi MP, Tomasoni L, Bondi B. Minimally processed and frozen vegetables: microbiological quality and incidence of pathogens in commercial products. *Int Food Safety News.* 2000; 11(5):11.
14. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms In Foods.* 2nd ed. Toronto: University of Toronto Press; 1978.
15. Cruz MRG, Leite YJBS, Marques JL, Pavelquesi SLS, Oliveira LRA, Silva ICR et al. Qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas comercializadas em Brasília, DF, Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2019; 39(2).
16. Furlani PR, Bolonhezi D, Silveira LCP, Faquin V. Nutrição mineral de hortaliças, preparo e manejo de soluções nutritivas. *In: Informe Agropecuário.* 1999; 20(200/201):90-8.
17. Sigris JMM, Junqueira VCA, Benato EA, Funo M, Santos TBA, Cremonesi VC. Efeito do potencial de oxirredução da água de lavagem na qualidade e na microbiota de alfaces minimamente processadas. *In: Encontro Nacional sobre o Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 4.; Simpósio Ibero-Americano de Vegetais Frescos Cortados. Resumos.* São Pedro. 2006. p. 162.
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Cartilha sobre Boas Práticas para serviços de alimentação – Resolução-RDC no 216/2014 (acesso 23 mai 2020). Disponível em [http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/cartilha\\_gicra.pdf](http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/cartilha_gicra.pdf).

### Endereço para correspondência:

Tatiana Iembo  
Av. Anísio Haddad, 6751 – Jardim Morumbi  
São José do Rio Preto-SP, CEP 1590-305  
Brasil

E-mail: [iembo.tatiane@gmail.com](mailto:iembo.tatiane@gmail.com)

Recebido em 21 de janeiro de 2021  
Aceito em 28 de abril de 2021