

# Avaliação microbiológica da *Lactuca sativa* (Alface) comercializada nas feiras da cidade de Parintins-AM.

Any Tarcila de Souza Pereira<sup>1</sup>

Cynara Carmo Bezerra<sup>2</sup>

**Resumo:** A *Lactuca sativa* (Alface) é uma hortaliça folhosa, faz parte da família Asteraceae, amplamente recomendada como parte da alimentação diária por seu grande aporte de vitaminas, sais minerais, fibras alimentares sendo amplamente utilizada em dieta, consumida de forma crua, precisa ser de qualidade para não oferecer riscos à saúde. O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da alface, buscando identificar a presença de microrganismos principalmente os coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras. As amostras de alface foram coletadas em duas feiras da cidade de Parintins-AM, para determinação dos coliformes foi utilizado o número mais provável (NMP), pela técnica de tubos múltiplos, e para bolores e leveduras o método de plaqueamento direto em superfície em meio BDA. Os resultados confirmam a presença tanto de coliformes totais quanto de coliformes termotolerantes, o que nos revela a falta de condições higiênico-sanitárias, e portanto a necessidade de intervenção no processo de produção, manipulação, transporte e métodos de conservação do alimento. Não foram detectadas a presença de bolores e leveduras nas análises.

**Palavras-chave:** Alface, análise microbiológica, coliformes totais e termotolerantes.

## Introdução

A *Lactuca sativa* (Alface) é uma hortaliça folhosa, faz parte da família Asteraceae e da tribo das Lатуceae. O gênero *Lactuca* compreende cerca de 100 espécies conhecidas. Amplamente recomendada como parte da alimentação diária por seu grande aporte de vitaminas, sais minerais, fibras alimentares e baixo valor calórico, sendo amplamente utilizada em dietas. Apresentam também substâncias com atividades antioxidantes (MONTANHER *et. al.*, 2007).

Visto os benefícios que apresentam para a saúde, o consumo de alimentos saudáveis como frutas e verduras tornam-se essenciais na alimentação diária. No entanto a presença de agentes infecciosos nesses alimentos podem oferecer riscos à saúde, pois causam distúrbios gastrointestinais como diarreia ou infecções urinárias, pneumonia, a presença desses agentes infecciosos nos alimentos podem estar relacionado com a manipulação desses produtos durante a colheita, armazenamento ou transporte dos mesmos.

Em um levantamento relacionado a produção de hortaliças realizado no município de Parintins/AM, mostrou que no município existe pouca ou nenhuma produção de hortaliças

---

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado do Amazonas e-mail anysouza.bio@gmail.com

<sup>2</sup> Doutora pela Universidade do Estado do Amazonas e-mail cynara\_carmo@yahoo.com.br

dentre outras como frutas e verduras, e as que são comercializadas nas feiras são de procedência de outros estados, como o Pará.

Principais hortaliças comercializadas na feira da Paraíba em Parintins são alface, pimentão, cebolinha, couve, feijão-de-metro, repolho, pepino, maxixe, cenoura, beterraba, pimenta-doce, tomate, cebola, batata [...]. Contendo a procedência de 57% vinda de Santarém, 8% Paraná de Parintins, 6% Manaus, 17% Aninga, 3% Paraná do limão, 6% Macurani, 3% Vila Amazônia. Transporte 86% vem de Barco, 5% de caminhão e 9% de Carro. (JANUARIO, *et. al.*, 2011).

Com isso, os alimentos que vem de outros lugares, como o Estado do Pará, os meios de transportes mais utilizados são as embarcações, onde as condições de armazenamento são precárias, deixando muitas vezes, esses produtos vulneráveis a microrganismos.

No município de Parintins – AM, o processo de armazenamento, estocagem e as vendas dessas hortaliças ao consumidor são desconhecidos, cujos produtos são comercializados em feiras ao ar livre, não se conhecem o tratamento das mesmas. Em virtude dessas precariedades nos processos de comercialização desses produtos na feiras do Município, sendo que a alface é consumida de forma crua e necessita serem puras e saudáveis, as exigências crescentes na sociedade, uma vez que uma grande de microrganismo pode estar presentes nessas verduras, buscando a melhoria da qualidade de hortaliças oferecidas a população Parintinense, fez-se importante um estudo da qualidade microbiológica desses produtos, sendo o objeto de estudo desse trabalho a alface.

Por isso o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da alface, buscando identificar a presença de microrganismos principalmente os coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras nessa hortaliça.

## **Referencial teórico**

- **Características da alface**

A *Lactuca sativa* (Alface), é uma hortaliça rica em vitaminas, sais minerais, fibras alimentares e pelo seu valor nutricional é recomendado estar presente na alimentação. De acordo com Montanher, Coradin e Fontoura-da-Silva (2007) “Alface (*Lactuca sativa*), são amplamente recomendadas como parte da alimentação diária por seu grande aporte de vitaminas, sais minerais, fibras alimentares e baixo valor calórico, sendo amplamente utilizada em dietas”. Apresentam também substâncias com atividades antioxidantes. O cultivo de alface vem sendo praticado na forma tradicional, hidropônica e orgânica, que apresenta características

diferenciadas na produção, podendo influenciar nas suas propriedades (MIAZAWA et al. 2001).

É cultivada em todas as Regiões brasileiras, e é a principal salada consumida pela população, tanto pelo sabor e qualidade nutricional quanto pelo reduzido preço para o consumidor. De acordo com uma pesquisa realizada no ano de 2007 pelo Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Os estados de São Paulo e Minas Gerais são os maiores produtores de alface do país, sendo que somente o estado de São Paulo plantou 6.570 ha em 2006, produzindo 129.077 toneladas (IEA, 2007). Na região Centro-Oeste, os maiores produtores são os municípios de Goiânia, Anápolis e a micro região do Entorno de Brasília. (COSTA; SALA, 2005).

Esses dados nos mostram os maiores produtores de alface do país, isso se deve, pela demanda populacional desses estados, visto que cada vez mais as pessoas estão buscando hábitos alimentares mais saudáveis o que inclui as hortaliças.

A alface é uma planta originalmente das regiões de clima temperado, característico do Sul da Europa e da Ásia ocidental. Este fato justifica seu bom desenvolvimento durante a fase vegetativa em condições de clima mais ameno, por outro lado, a fase reprodutiva da planta, que se inicia com o pendoamento, ocorre em temperaturas mais elevadas e dias longos. No cultivo sob condições de temperaturas elevadas, acima de 25°C, e dias longos ocorre redução da fase vegetativa e pendoamento precoce.

Em um levantamento da produção de hortaliças realizado no município de Parintins/Am, mostrou que no município existe pouca ou nenhuma produção dessas, e as que são comercializadas nas feiras são de procedência outros estados como o Pará.

Principais hortaliças comercializadas na feira da Paraíba em Parintins são alface, pimentão, cebolinha, couve, feijão-de-metro, repolho, pepino, maxixe, cenoura, beterraba, pimenta-doce, tomate, cebola, batata [...]. Contendo a procedência de 57% vinda de Santarém, 8% Paraná de Parintins, 6% Manaus, 17% Aninga, 3% Paraná do limão, 6% Macurani, 3% Vila Amazônia. Transporte 86% vem de Barco, 5% de caminhão e 9% de Carro. (JANUARIO, REBEIRO, FEIO, LOURENÇO, LOURENÇO, 2011).

Com isso os produtos se tornam mais caros ao consumidor, e os meios de transporte utilizados podem oferecer riscos de contaminação. Pois a forma como são armazenado, muitas vezes é precária, não oferecendo um padrão de higiene necessário para garantir a qualidade do produto.

Necessita-se de mais investimento no setor primário em Parintins, falta incentivo para que haja uma produção considerável para abastecer o município, com isso o consumo de alimentos saudáveis aumentariam, o preço desses produtos diminuiriam, a qualidade dos produtos poderiam melhorar.

- **Análise Microbiológica**

A análise microbiológica tem como finalidade verificar quais e quantos microrganismos estão presentes na amostra, sendo fundamental para se conhecer as condições de higiene, os riscos à saúde do consumidor e se o produto terá ou não a vida útil pretendida. Essa análise é indispensável também para se verificar se os padrões e especificações microbiológicos estão sendo atendidos adequadamente (SILVA, 2002).

De acordo com Silva (2002), muitos métodos e variações de diferentes métodos que podem ser utilizados para detecção quantitativa e qualitativa de microrganismos. No entanto, é desejável utilizar métodos que tenham sido aprovados por órgãos reguladores. Atualmente esses métodos são comumente divididos em métodos convencionais e métodos rápidos. Feng (1995), diz que os métodos rápidos aprovados pelos órgãos oficiais, podem ser utilizados somente para controle, sendo que, o resultado negativo, são considerados como definitivos, mas resultados positivos são considerados presuntivo e devem ser confirmados por métodos padrões.

- **Coliformes Totais e Termotolerantes**

Há muitos tipos diferentes de bactérias que estão distribuídos em muitos gêneros. Mas algumas merecem atenção especial: o subgrupo dos coliformes.

Existem dois tipos de coliformes: totais e fecais ou termotolerantes.

O grupo do coliformes totais é um subgrupo da família enterobacteriaceae, que inclui 44 gêneros e 176 espécies. No grupo dos coliformes totais estão apenas enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35° C.

A capacidade de fermentar a lactose pode ser verificada pela formação de gás ou ácido, nos meios de cultivo contendo lactose. Eles podem

ser detectados por meio de dois testes. O *Teste presuntivo para coliformes totais*, onde meio de cultura utilizado permite um enriquecimento seletivo dos coliformes, recuperando

células injuriadas. O teste é considerado positivo quando ocorre crescimento com produção de gás no tubo de Durham. E o *Teste confirmativo para coliformes totais*, o meio de cultura utilizado apresenta sais biliares que inibem o crescimento de microrganismos gram-positivos e a lactose é utilizada como substrato para produção de gás pelos coliformes. Crescimento com produção de gás no tubo de Durham evidenciam um teste positivo (HAJDENWURCEL, 1998).

O grupo dos coliformes termotolerantes, ou seja suportam uma temperatura superior a 40°C, comumente chamados de coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45-5°C com a produção de gás (SILVA, 2010).

São Bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase-negativas, caracterizadas pela atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não tenham sido contaminados por material fecal (SANTOS, 2016).

Entre as bactérias que fazem parte do grupo dos coliformes termotolerantes, podemos citar *Escherichia coli*, que vive no intestino humano não causa doenças, no entanto, algumas variantes podem causar distúrbios gastrointestinais como diarreia, Além disso, essa bactéria está relacionada com infecções urinárias, pneumonias e meningites.

A presença desse microrganismo na água ou em alimentos, significa que estes estão contaminados por fezes, vale ressaltar a importância de análises laboratoriais rotineiras, pois permite a prevenção de doenças que são transmitidas pelas fezes, como algumas verminoses.

No Teste para coliformes fecais, o meio de cultura utilizado é seletivo para microrganismo gram-negativo em função da presença de sais biliares. A temperatura de incubação é de 44,5 - 45,5°C que permite evidenciar a presença de coliformes fecais, pois eles apresentam a capacidade de fermentação da lactose com produção de gás a temperaturas mais elevadas. A produção de gás ocorre nos tubos de fermentação. Alíquotas de tubos que apresentarem resultados positivos para coliformes fecais e/ou tubos positivos para coliformes totais devem ser semeadas com alça de platina através de estrias na superfície do meio de cultura Eosina Azul de Metileno - EMB (HAJDENWURCEL,1998).

## **Metodologia**

A metodologia empregada foi de natureza quantitativa, de caráter experimental e descritivo com a alface. Foi realizada uma análise microbiológica, que é necessária para a obtenção de informações sobre as condições de higiene durante sua produção, processamento,

armazenamento e distribuição para o consumo (SILVA, 2002). O procedimento mais viável para detecção de coliformes consiste no uso do método de Tubos Múltiplos pela inoculação de tubos com caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), pois é a técnica mais utilizada para contagem de bactérias do grupo coliforme. A avaliação dos resultados dá-se via utilização de uma tabela (Em anexo) de Números Mais Prováveis (NMP) com intervalo de confiança de 95% de probabilidade, para as diversas combinações de tubos positivos nas séries de três ou cinco tubos (SILVA, 2002).

A técnica do número mais provável (NMP) segundo Silva (2010), essa técnica do número mais provável é um método de análise quantitativo que permite determinar o número mais provável do (s) microrganismo (s) alvo na amostra, através da inoculação de alíquotas dessa amostra em uma série de tubos, contendo meio de cultura líquido adequado ao seu crescimento. Esse método permite a contagem de coliformes totais, termotolerantes e E. Coli que inclui as seguintes etapas: Teste presuntivo, teste confirmativo e teste definitivo para *Escherichia coli*. Também foram realizados testes para o crescimento de bolores e leveduras.

- **Obtenção das Amostras**

Foram utilizadas 4 amostras de alface (*Lactuca sativa*), que foram coletadas em duas feiras da cidade de Parintins – AM, sendo a feira da Francesa, a amostra coletada titulada como amostra 1 (Figura 1) e a feira do Centro como amostra 2 (Figura 2), sendo 2 amostras para cada feira, cada uma das amostras foram colhidas em dias diferentes com o intervalo de uma semana.



**Figura 1.** Amostra de alface da feira da Francesa – Fonte: Pereira, 2016.



**Figura 2.** Amostra da alface da feira do Centro – Fonte: Pereira, 2016.

As amostras foram coletadas e levadas para o laboratório da Universidade do Estado do Amazonas, onde foram submetidas a análises, o tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início da análise foi de 90 minutos, aproximadamente.

- **Meios de cultura**

O preparo dos meios de cultura, específicos para cada grupo de microrganismo, tanto para coliformes, EC (*Escherichia coli*), como para bolores e leveduras, foram utilizados nas análises.

O crescimento dos microrganismo nos diferentes meios de cultura utilizados fornece as primeiras informações para a sua identificação. É importante conhecer o potencial de crescimento e cada meio de cultura e adequar ao perfil bacteriano esperado para cada material (CARVALHO, 2010).

Os meios de cultura utilizados (Figura 3), foram: Caldo Lauryl Sulfato Triptose (LST) Eosina Azul de Metileno (EMB), Ágar Batata Dextrose (BDA).



**Figura 3.** Meios de cultura utilizados nas análise – Fonte: Pereira, 2016.

O caldo lauryl é utilizado para o teste presuntivo (SILVA, 2010), esse contém lactose e a observação de crescimento com produção de gás a partir da lactose, após 24-48h de incubação a 35°C, é considerada suspeita (presuntiva) da presença de coliformes.

Foi diluído 6,408g de lauryl em 180 ml de água destilada no Erlenmeyer de 1000 mL e seguida o meio foi inoculado em tubos seriados (Figura 4), esses tubos foram autoclavados à

1,5 atm durante 15 minutos. Cada tubo durham recebeu 9ml de lauryl, que depois recebeu 1ml da solução de água peptonada + a solução da qual foi homogeneizada a amostra de alface.



**Figura 4.** Caldo Lauryl sendo transferido para tubos em série -  
Fonte: Pereira, 2016.

Em seguida foi preparado o meio BDA para detecção de bolores e leveduras, no qual foi diluído 2,9g em 70 ml de água destilada, em erlenmeyer de 1000 ml, sendo autoclavado à 1,5 atm durante 15 minutos. Após o resfriamento o meio foi vertido em placas de Petri, em triplicatas.

- **Análises microbiológicas**

Para as análises microbiológicas, 10g das amostras de alface foram transferidas para 490 mL de água destilada autoclavada (Figura 5) para realização da diluição preconizada para amostras sólidas. Desta diluição foram transferidos assepticamente 25 ml para frascos contendo 225 ml de água peptonada estéril (diluição 10<sup>-1</sup>). A partir dessa diluição, foram feitas as diluições seriadas até 10<sup>-3</sup> com o mesmo diluente (Figura 6).



**Figura 5.** Homogeneização do alface na água destilada - **Figura 6.** Diluições seriadas –  
Fonte: Pereira, 2016.

- **Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes e *Escherichia coli*.**

A determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes foi realizada com a retirada de alíquotas de 1 mL de cada diluição, inoculadas em séries de três tubos contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com tubo de Durham invertido (teste presuntivo). Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. O LST contém lactose e a observação de crescimento com a produção de gás a partir da lactose, após 24-48h de incubação a 35°, é considerada suspeita (presuntiva) da presença de coliformes.

Para confirmação dos coliformes totais e termotolerantes, uma alçada de cada tubo suspeito é transferida para tubos de Caldo verde brilhante bile (VB) e Caldo *E. coli* (EC), meios seletivos que contém lactose. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24-48h de incubação a 35C, é considerada confirmativa da presença de coliformes totais.

O crescimento com produção de gás no caldo de EC, após 24h de incubação a 45,5C, é considerada confirmativa a presença de coliformes termotolerantes.

Para confirmação da presença de *Escherichia coli*, uma alçada de tubos contendo caldo EC que apresentaram turbidez (com ou sem produção de gás no interior do tubo de Durham) foi semeada em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubadas a 35°C por 24-48 horas para confirmação.

Após o período de incubação, foi realizada a leitura dos tubos positivos que apresentaram produção de gás no caldo de VB e no caldo de EC e o número mais provável (NMP) foi quantificado através da leitura na tabela de Hoskins (APHA, 1992).

- **Determinação de bolores e leveduras**

Para contagem de bolores e leveduras, foi utilizado o método de plaqueamento direto em superfície da diluições e  $10^{-2}$ , em meio Ágar Batata Dextrose. Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  foram semeadas na superfície do Ágar BD e as placas foram incubadas a 22 °C por 5 dias. Se confirmando a presença desses fungos os resultados seriam expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de material.

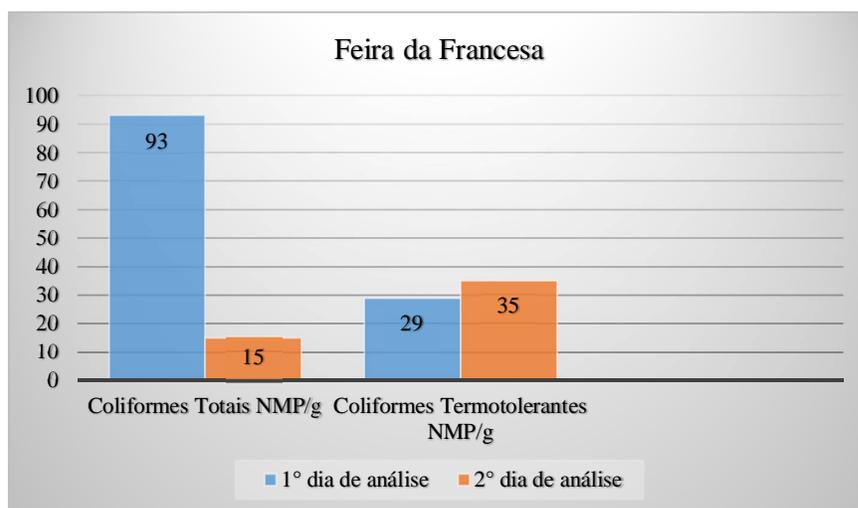


**Figura 7.** Plaqueamento em meio BDA – Fonte: Pereira, 2016.

## Resultados e discussão

- **Análise microbiológica**

A pesquisa foi realizada com amostra de alface de duas feiras sendo conhecidas como feira da francesa e feira do centro, localizadas na cidade de Parintins – AM, foram realizadas duas coletas para cada feira, com o intervalo de uma semana. Na análise microbiológica da feira da francesa detectou tanto a presença de coliformes totais quanto a presença de coliformes termotolerantes como mostra a figura seguir (Figura 8).



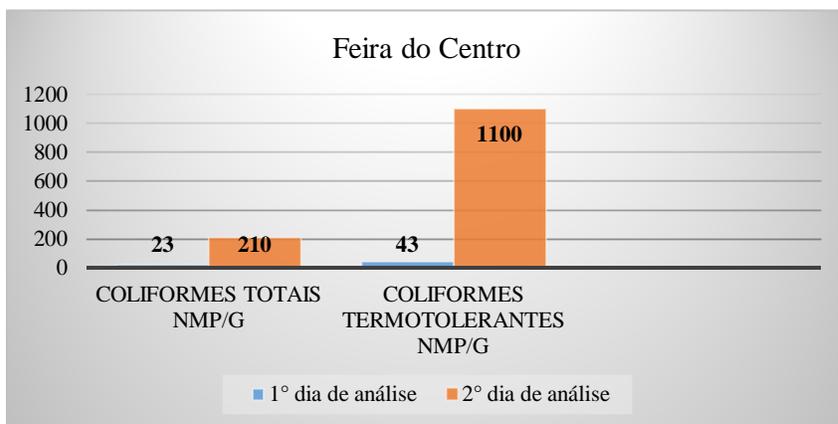
**Figura 8.** Números de coliformes nas amostra da francesa.

Embora não exista informações na legislação brasileira quanto aos limites de contagens toleradas para coliformes totais (JUNIOR *et. al.*,2012), contudo a presença desses microrganismos nas amostras de alface apontam más condições higiênicas do local ou por meios de transporte utilizados, como embarcações, sendo que as amostra da alface da francesa eram proveniente da cidade de Santarém, Estado do Pará.

O número de coliformes totais na figura 08, é de 93 por 100ml no primeiro dia de análise, já no segundo dia de análise, esse número foi de 15 por 100 ml, esses dados foram descritos de acordo com a tabela do NMP/g, um número considerado baixo comparado com a pesquisa de Junior *et. al.* (2012), em suas análises referentes a restaurantes do município de Gurupi no Estado de Tocantins, no qual foram detectadas a presença de coliformes totais com um número superior a 2400 por 100 ml, um número alto que mostra a falta de compromisso com a qualidade da salada oferecida a população desta cidade.

Observando os resultados para a presença de coliformes termotolerantes, nota-se os números também estão dentro do padrões exigidos. De acordo com a ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece o limite máximo de 100 coliformes termotolerantes por 100 ml, e os valores acima se encontram abaixo desse valor.

Das análises microbiológicas realizadas na feira do Centro, também foram detectadas tanto a presença de coliformes totais quanto a presença de coliformes termotolerantes como mostra a figura 9.



**Figura 9.** Números de coliformes na feira do centro.

No primeiro dia de análise a quantidade de coliformes tanto dos coliformes totais quanto dos termotolerante foram bastantes inferiores comparados com a feira da francesa. Já no 2º dia de analise o números de coliformes deram um salto, esses valores foram relativamente altos. Principalmente para coliformes termotolerantes, que no segundo dia de analise apresentaram um valor muito acima do limite aceito pela ANVISA, que estabelece o limite máximo de 100 coliformes termotolerantes por 100 ml ou  $10^2$  NMP/g. Isso demonstra a higiene insatisfatória na qualidade do produto, oferecendo um risco ao consumidor.

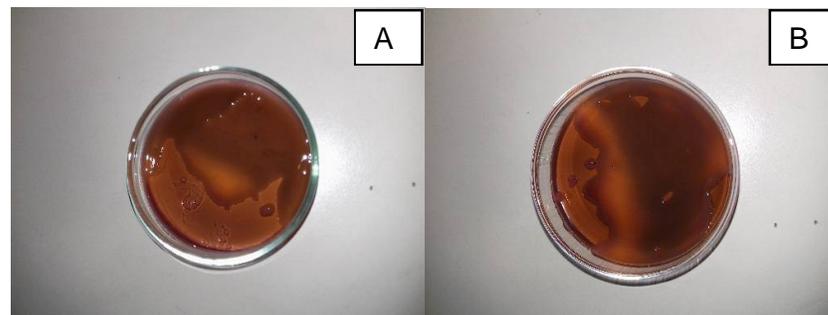
Vale ressaltar, que a alface coletada na feira do centro era proveniente da comunidade do zé açu, podendo ser contaminada durante o transporte, pois para chegar até aqui na cidade, percorre um longo trajeto, outra hipótese, pode ser a maneira como esses produtos são armazenados na feira, nas bancadas que muitas vezes são consideradas sujas.

Outros fatores citados por Almeida e Resende (2012), sugerem que os coliformes a  $45^\circ$  pode estar presente nesses alimentos por meio de vários fatores como a provável contaminação da água de irrigação, sanitização inadequada, manipuladores de alimentos, utensílios e

equipamentos contaminados. Os dois primeiros fatores são os mais adequados, visto que o restante se aplicam mais para as hortaliças minimamente processadas.

Em um trabalho semelhante, de Santana *et al.*, (2006) encontraram nas alfaces alta concentração de coliformes fecais, indicando que estas estavam sendo tratadas com baixos padrões higiênicos (FRANCO e LANDGRAF, 1996). A presença de coliformes é considerada como indicador de condições de higiene insatisfatórias na produção e/ou manipulação do alimento. O número elevado de coliformes pode não significar contaminação direta com material fecal, mas sim manipulação inadequada, como higiene do manipulador, transporte e acondicionamento inadequados.

Os resultados para *E. coli* foram negativos nas placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), pois não apresentaram as características confirmatórias, que é a pigmentação verde metálico indicativo da presença da *Escherichia coli*, como podemos observar na figura 10. Logo esses resultados informam dados positivos na qualidade da alface, pois a presença desse microrganismo é utilizada como indicador de contaminação fecal recente ou condições higiênico-sanitárias insatisfatória de processamento de alimentos.



**Figura 10.** Meio EMB com ausência de *Escherichia coli* A- B.

Com relação a presença de bolores e leveduras na análise da alface, não foram detectados a presença destes nas placas contendo meio BDA.

## **Conclusão**

Os resultados confirmam a presença tanto de coliformes totais quanto de coliformes termotolerantes, mesmo em pequenas quantidades, como o número coliformes totais, sendo que para estes não existe um limite máximo estipulado pela ANVISA, mas que indicam condições precárias na higienização. No entanto para a presença de coliformes termotolerantes em hortaliças existe um padrão estipulado pela ANVISA, que estabelece um limite máximo de  $10^2$  NMP/g, pois acima desse valor podem acarretar prejuízos como infecções gastrointestinais no consumidor. Os resultados obtidos na análise mostram valores superiores a esse valor, o que nos revelam a falta de condições higiênico-sanitárias, e portanto a necessidade de intervenção no processo de produção, manipulação, transporte e métodos de conservação do alimento.

## Referências

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Technical committee on microbiological methods for food.** In VANDERZANT, C; SPLITTSTOESSER, D. F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington, 1992. p. 336 – 383.

ALMEIDA A. G.; RESENDE, A. **Análise microbiológica em alfaces (*Lactuca sativa*) e couves (*Brassica oleracea*) minimamente processadas e comercializadas em Brasília – BF.** Sabios Ver saúde e Biol 2012; 7(3): 52-9. Disponível em: <http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/991/463> acesso em 27 de novembro de 2016.

AZEVEDO, J. L. **Os microrganismos e sua importância para Agricultura Tropical.** Seminário internacional: Os desafios da agricultura tropical. São Paulo, 2009.

CARROL, G.C. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In: Fokkema, N. J., Heuvel, J.V. den (Editors). **Microbiology of phyllosphere.** London: Cambridge University, pp. 205-222. 1986.

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacultura brasileira. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 23, n. 1, jan./mar., 2005. Artigo de capa.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu, 182p.,1996.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos.** São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. p. 66.

JANUÁRIO, N. S.; REBEIRO, E. L.; FEIO, E. F.; LOURENÇO, J. N. P.; LOURENÇO, F. S. **Levantamento da produção de hortaliças no Município de Parintins na Feira da Paraíba.** 62ª Reunião anual da SBPC. Parintins, 2011.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana.** Jaguariúna: Embrapa-CNPMA. 325pp. 1998.

MONTANHER, C. C.; CORADIN, D. C.; FONTOURA-DA-SILVA, S. E. **Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes self- service por quilo, da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil.** 2007.

MYAZAWA, M.; KHATOUNIAN, C.A; ODENATH-PENHA, L. A.; Theor de nitrato nas folhas de alface produzida em cultivar convencional, orgânico e hidropônico. *Agroecologia Hoje*, n.2.p.23,2001.

RESENDE, F. V.; SAMINÊZ, T. C. O.; VIDAL, M. C.; SOUZA, R. B.; CLEMENTE, F. M. **Cultivo de alface em sistema orgânico**. Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Brasília, 2007.

SANTOS, V.S. **Coliformes Totais**. Disponível: <[http://www.mundo\\_educacao.br/uol.php](http://www.mundo_educacao.br/uol.php)>. Acesso em: 24 de novembro, 2016.

SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C. L.; ALCÂNTRA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.; RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca Sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 26, p. 264-269, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema SimPlate**. Dissertação (Mestrado e Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba/São Paulo, 2002. 75 p.

## Anexo

Valores do Número Mais Provável de Microrganismos – NMP de acordo com a ANVISA (2010).

Número de tubos positivos			NMP por g ou ml do produto	Limite de confiança a 95%
Número de g ou ml do produto por tubo				
$10^{-1}$ (0,1)	$10^{-2}$ (0,01)	$10^{-3}$ (0,001)		
0	0	0	<3	0,0 – 9,4
0	0	1	3	0,1 – 9,5
0	1	0	3	0,1 – 10
0	1	1	6,1	1,2 – 17
0	2	0	6,2	1,2 – 17
0	3	0	9,4	3,5 – 35
1	0	0	3,6	0,2 – 17
1	0	1	7,2	1,2 – 17
1	0	2	11	04 – 35
1	1	0	7,4	1,3 – 20
1	1	1	11	04 – 35
1	2	0	11	04 – 35
1	2	1	15	05 – 38
1	3	0	16	05 – 38
2	0	0	9,2	1,5 – 35
2	0	1	14	04 – 35
2	0	2	20	05 – 38
2	1	0	15	04 – 38
2	1	1	20	05 – 38
2	1	2	27	09 – 94
2	2	0	21	05 – 40
2	2	1	28	09 – 94
2	2	2	35	09 – 94
2	3	0	29	09 – 94
2	3	1	36	09 – 94
3	0	0	23	05 – 94
3	0	1	38	09 – 104
3	0	2	64	16 – 181
3	1	0	43	09 – 181
3	1	1	75	17 – 199
3	1	2	120	30 – 360
3	1	3	160	30 – 380
3	2	0	93	18 – 360
3	2	1	150	30 – 380
3	2	2	210	30 – 400
3	2	3	290	90 – 990
3	3	0	240	40 – 990
3	3	1	460	90 – 1980
3	3	2	1100	200 – 4000
3	3	3	>1100	

**Nota:** Os valores de NMP são calculados partindo-se de porções iniciais de 1g ou ml da amostra.

**Fonte:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.