

ACÇÃO DE COMPOSTOS NA DESCONTAMINAÇÃO DE CENOURA COM BACTÉRIAS DO GRUPO COLIFORMES

A. L. PARADELA¹; G. J. HUSSAR²; R. M. A. DE ALMEIDA¹; C. H. Z. DA CONCEIÇÃO³; A. P. ROMÃO⁴; R. H. GONÇALVES⁴ & L. MIYAMOTO⁴

1- Docentes da disciplina Microbiologia Ambiental, Centro Regional Universitário de Pinhal – CREUPI, CEP 13990-000 Espírito Santo do Pinhal – SP. 2- Docente da disciplina Ecologia, Saneamento Ambiental e Perícia Ambiental - CREUPI. 3- Docente da disciplina de Tratamento de Água para Abastecimento, – CREUPI. 4- Discentes do curso de Engenharia Ambiental e estagiários do Laboratório de Microbiologia do CREUPI. E-mail: cesea@creupi.br
Aceito para publicação em: 12/12/2003.

RESUMO

A cultura da cenoura é uma das mais difundidas no Brasil. É a quarta hortaliça mais consumida em São Paulo. Levantamentos realizados na Região Metropolitana de São Paulo estimam o consumo domiciliar em 1,8 kg “per capita”/ano. Mais de 82 mil toneladas do produto são vendidas anualmente no Entrepasto Terminal de São Paulo da CEAGESP. Em valor, ocupa o terceiro lugar, com faturamento anual superior a R\$ 24 milhões. É produzida por 3,5 mil pessoas que trabalham em mais de 2000 propriedades agrícolas, ocupando uma área de pouco mais de 10,5 mil hectares. O aproveitamento de águas residuárias vem constituindo um importante papel, principalmente no uso em irrigação de hortaliças, devido ao seu alto teor de nutrientes. Um dos problemas do uso dessa água é a provável contaminação pelas bactérias do grupo coliforme. O presente trabalho teve como objetivo verificar a eficiência antimicrobiana de alguns compostos caseiros na desinfecção de cenouras irrigadas com água contaminada com bactérias do grupo coliformes fecais. Os resultados do experimento que foi conduzido no laboratório de microbiologia, evidenciaram a eficiência do uso de alguns compostos de uso doméstico, principalmente o suco de limão.

Palavras-chave: cenoura, desinfecção, grupo coliforme.

ABSTRACT

EVALUATION OF SOME NATURAL PRODUCTS ON CARROT CONTAMINED WITH COLIFORM BACTERIA GROUP

The carrot crop is one of the most planted in Brazil. More than three thousand people work with this crop at more than tow thousand little farms. The use of wastewater as irrigation is increasing because this water has some nutrients sources. However the use of wastewater may cuase some health problems due to the presence of coliform bacteria group. In this trial, the objetive was to contribute for the carrot decontamination. Some products as lemon juice, NaClO and ascetic acid were used by carrot immersion during a little time. In conclusion, the lemon juice showed best results by reducing coliform bacteria group.

Key-Words: carrot, decontamination, coliform group.

INTRODUÇÃO

A cenoura é uma planta que produz uma raiz comestível e muito apreciada em todo o mundo, consumida pura ou como acompanhamento para os mais diversos pratos na maioria das cozinhas do mundo. É uma das hortaliças mais plantadas no Brasil. Prefere climas amenos e o seu período de maior produção é de julho a novembro. Existem muitas variedades, algumas desenvolvidas no Brasil, para que a produção possa ocorrer durante todo o ano e na maioria das regiões do País (internet <http://www.ruralnews.com.br>).

A cenoura é a quarta hortaliça mais consumida em São Paulo. Levantamentos realizados na Região

Metropolitana de São Paulo estimam o consumo domiciliar em 1,8 kg “per capita”/ano. Mais de 82 mil toneladas do produto são vendidas anualmente no Entrepasto Terminal de São Paulo da CEAGESP. Em valor, ocupa o terceiro lugar, com faturamento anual superior a R\$ 24 milhões. É produzida por 3,5 mil pessoas que trabalham em mais de 2000 propriedades agrícolas, ocupando uma área de pouco mais de 10,5 mil hectares (MEIRELLES, s/d)

A cenoura (*Daucus carota*), pertence a família *Apiaceae*, mesma família de aipo, coentro e nabo. A cenoura é bastante rica em vitamina A, importante para a prevenção da cegueira noturna. Também possui as vitaminas B1 e B2, além de fibras importantes para o bom funcionamento do intestino (SASAKI, s/d).

A atual política nacional de recursos hídricos, estabelecido na Lei Federal nº 9.433, de janeiro de 1997, considera a água um bem público, limitado, dotado de valor econômico, cujo uso prioritário é o consumo humano. Assim, as alternativas de integração do uso da água com as diversas atividades sociais e econômicas que atendem aos mais diversos interesses, tomam-se cada vez mais direcionadas à conservação desse bem, vital à sobrevivência humana.

O aproveitamento planejado de águas residuárias, efluentes tratados ou não, na agricultura é uma alternativa para controle da poluição de corpos d'água, disponibilização de água e fertilizantes para as culturas, reciclagem de nutrientes e aumento de produção agrícola (internet <http://www.riosurbanos.com.br/>).

Nas águas, do ponto de vista sanitário, o que realmente põe em risco a saúde pública é a ocorrência de poluição fecal, pela possibilidade de estarem presentes também microrganismos patogênicos intestinais, como bactérias, vírus, protozoários e ovos de helmintos, agentes freqüentemente responsáveis por doenças de veiculação hídrica (GELDREICH, 1974).

As infecções intestinais são amplamente difundidas tanto nas áreas rurais quanto urbanas dos países em desenvolvimento devido às baixas condições

sanitárias, sendo as hortaliças consideradas como um dos veículos de suas estruturas infectantes. A principal forma de contaminação dessas hortaliças dá-se, principalmente, através da água contaminada, utilizada na irrigação das hortas ou ainda por contaminação do solo, por uso de adubo orgânico com dejetos fecais. (SILVA, et. al, 2003)

No entanto, a evidência direta daqueles agentes patogênicos na água é tecnicamente bastante difícil. Por estes motivos, empregam-se métodos indiretos na investigação da presença ou não de poluição de origem fecal nas águas, pesquisando-se bactérias indicadoras de poluição fecal. Para isto são pesquisadas rotineiramente as bactérias do grupo coliforme, pois, geralmente, elas estão presentes quando ocorre poluição de origem fecal e ausentes quando não ocorre tal poluição (BRANCO,1972; CRISTOVÃO et al., 1974; GELDREICH, 1974; NYSDH, 1971). Deste modo, verificando-se a presença de bactérias coliformes em uma água pode-se considerar que ela recebeu matéria fecal e passa a ser potencialmente perigosa à saúde humana, pelo fato de ser capaz de veicular microrganismos patogênicos intestinais, que são também eliminados habitualmente com as fezes (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, 1970; BRANCO,1974; CRISTOVÃO et al., 1974; CETESB, 1993).

Do ponto de vista de Saúde Pública, como indicadores de poluição de origem fecal, são comumente utilizados os coliformes, principalmente o grupo dos coliformes fecais ou termotolerantes e os estreptococos fecais (American Public Health Association, 1985).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, quase 25% dos leitos hospitalares do mundo estão ocupados por enfermos portadores de doenças veiculadas pela água. Quanto ao Brasil, 60% das internações da população infantil (indicadores referentes à média nacional) têm como causas doenças de veiculação hídrica (internet <http://www.geocities.com/agenda21rj>).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no mês de julho de 2003 no Laboratório de Microbiologia do Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal (CREUPI), após a coleta de raízes de cenouras provenientes de um estudo sobre a utilização de água residuária proveniente de suinocultura verificando a influência no aspecto nutricional na cultura.

Coleta da Amostra

Para o presente trabalho as raízes de cenoura foram coletadas de parcelas que receberam a aplicação via irrigação de água residuária proveniente da suinocultura a fim de atender o objetivo do trabalho.

Metodologia de Avaliação Microbiológica

Preparo da Amostra

As amostras de raízes de cenoura coletadas foram processadas mediante a pesagem de 25 gramas da raiz (amostra composta) e imersão em 225 mL de água destilada peptonada, seguido de agitação por 5 minutos. A partir desta suspensão, realizou-se em seguida a técnica de diluição em série a partir de 10^{-1} até 10^{-3} .

Análise Microbiológica

As Análises microbiológicas para verificar a incidência de coliformes fecais (CF), coliformes totais (CT) e Estreptococos Fecais (EF), foram realizadas pelo método do Número Mais Provável (NMP), pela técnica dos tubos múltiplos de acordo com a American Public Health Association, (1985).

Meios de Cultura Utilizados

a) Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST)

| Composição | Concentração (g/L) |
|--------------------------------|--------------------|
| Triptona | 20 |
| Lactose | 5,0 |
| Cloreto de sódio | 5,0 |
| Lauril sulfato de sódio | 0,1 |
| Fosfato dibásico de potássio | 2,75 |
| Fosfato monobásico de potássio | 2,75 |
| pH final | $6,8 \pm 0,2$ |

Princípio bioquímico: Os nutrientes presentes no meio e o tampão fosfato permitem o rápido crescimento e produção de gás de microrganismos que fermentam a lactose, mesmo aqueles que fermentam lentamente. O lauril sulfato apresenta ação seletiva, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis.

b) Caldo *Streptococcus faecalis* Medium (SF Medium)

| Composição | Concentração (g/L) |
|--------------------------------|--------------------|
| Triptona | 20 |
| Dextrose | 5 |
| Fosfato monobásico de potássio | 1,5 |
| Fosfato dibásico de potássio | 4 |
| Cloreto de sódio | 5 |
| Azido de sódio | 0,5 |
| Bacto brom cresol purple | 0,032 |
| pH final | $6,9 \pm 0,2$ |

Princípio bioquímico: Os nutrientes presentes no meio e o tampão fosfato permitem o rápido crescimento de microrganismos que fermentam a lactose e não produzem gás, mesmo aqueles que fermentam lentamente. Este meio é utilizado para identificação de coliformes fecais da espécie *Streptococcus faecalis*.

c) Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante 2%

| Composição | Concentração (g/L) |
|-------------------------|--------------------|
| Peptona | 10,0 |
| Lactose | 10,0 |
| Bile de boi desidratada | 20,0 |
| Verde brilhante | 0,0133 |
| pH final | $7,2 \pm 0,1$ |

Princípio bioquímico: A presença de verde brilhante e bile inibem o crescimento de microrganismos indesejáveis. Os nutrientes presentes no meio permitem o crescimento de microrganismos que fermentam a lactose e produzem gás. Este meio é utilizado para identificação de coliformes totais que podem ser de origem fecal ou não. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*,

Klebsiella e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo.

d) Caldo EC

| Composição | Concentração (g/L) |
|--------------------------------|--------------------|
| Triptona | 20,0 |
| Lactose | 5,0 |
| Sais biliares | 1,5 |
| Fosfato dibásico de potássio | 4,0 |
| Fosfato monobásico de potássio | 1,5 |
| Cloreto de sódio | 5,0 |
| pH final | 6,9 ± 0,1 |

Princípio Bioquímico: A presença de lactose favorece o crescimento de microrganismos que fermentam a lactose. Os sais biliares inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas e de microrganismos não adaptados ao ambiente intestinal. Este meio é utilizado para identificação de coliformes fecais em especial a espécie *Escherichia coli* da família *Enterobacteriaceae*.

e) Plate Count Agar (PCA)

| Composição | Concentração (g/L) |
|---------------------|--------------------|
| Peptona de caseína | 5,0 |
| Extrato de levedura | 2,5 |
| Dextrose | 1,0 |
| Agar bacteriológico | 15,0 |
| pH final | 7,0 ± 0,2 |

Princípio bioquímico: Meio de enriquecimento para contagem total de microrganismos heterotróficos em placas, ou para manutenção de culturas de bactérias.

Inoculações nos devidos meios de cultura

Realizada as diluições, alíquotas de 1 mL foram introduzidas no caldo LST, teste presuntivo usado para identificar a presença de Coliformes, caldo *Streptococcus faecalis* Medium utilizado para a identificação de Enterococos Fecais, e também introduzidas no caldo Lactose Verde Bile Brillhante que é usado para identificar a incidência de Coliformes Totais

e confirmando a incidência de Coliformes Fecais no caldo EC.

Para a determinação de microrganismos heterotróficos utilizou-se o meio de cultura PCA (Plate Count Agar). Retirou-se uma alíquota de 1 mL da diluição 10^{-1} da amostra e introduziu-se em placa de Petri estéril em duplicata e em seguida verteu-se 20 mL de meio de cultura PCA fundido e resfriado a aproximadamente 45°C.

Incubação das amostras inoculadas nos meios de cultura

A incubação das amostras foi realizada em uma estufa com temperatura ajustada para 37° C por um período de 24 a 48 horas para os meios LST, SF Médium e Lactose Verde Bile Brillhante. Após este período foi aferida a leitura dos dados através da tabela do método do Número Mais Provável (NMP). Para a confirmação da incidência de Coliformes Fecais foi utilizada uma estufa com temperatura ajustada para 44,5°C por um período de 24 a 48 horas (meio EC), sendo posteriormente obtida a leitura dos resultados através da tabela citada acima.

Após a solidificação do meio de cultura PCA nas placas de Petri foi realizada a incubação em estufa com temperatura ajustada para 37°C por um período de 48 horas.

Transcorrido o tempo de incubação fez-se a contagem de colônias com o auxílio de um contador de colônias. Multiplicou-se a média aritmética das duplicatas pelo fator de diluição que foi 10^{-1} .

Tratamentos das raízes visando sua desinfecção

As amostras de cenoura (aproximadamente 200 g) foram submetidas aos seguintes tratamentos:

a) Água sanitária (Teor de cloro ativo de 2 a 2,5%. Composição: Água, (q.s.a.), Hipoclorito de Sódio e Hidróxido de Sódio) – Diluiu-se 2 mL em 1 litro de água destilada estéril. Imergiu-se a cenoura fatiada nesta solução por 20 minutos e deu-se início a análise bacteriológica.

b) Vinagre comercial (Composição: Fermentado Acético de Álcool e Vinho Tinto Hidratado) – Diluiu-se 2

mL em 1 litro de água destilada estéril. Imergiu-se a cenoura fatiada nesta solução por 20 minutos e deu-se início a análise bacteriológica.

c) Suco de limão (poupa da fruta) - Diluiu-se 2 mL em 1 litro de água destilada estéril. Imergiu-se a cenoura fatiada nesta solução por 20 minutos e deu-se início a análise bacteriológica.

d) Água esterilizada. As raízes permaneceram imersas em 1 litro de água, por 20 minutos também.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise microbiológica das raízes que receberam tratamento com água residuária

Observando os dados da Tabela 1, podemos inferir que as raízes coletadas provenientes de parcelas que receberam somente irrigação via água de torneira, não apresentaram número elevado de coliformes (contaminação). Para raízes que foram irrigadas com água residuária de suinocultura, estas apresentaram uma contaminação para coliformes totais e fecais maior do que 2.400 NMP/g. Para *Enterococcus faecalis*, o nível de contaminação em raízes que receberam água residuária não foi tão grande.

Em relação aos microrganismos heterotróficos (bactérias), pode-se observar que os maiores números de bactérias foram obtidos de amostras de cenoura que receberam como irrigação a água residuária.

Tabela 1. Valores das análises bacteriológicas, Coliformes Totais, Coliformes Fecais, Enterococos Fecais e microrganismos heterotróficos, obtidos nas amostras de raiz da cenoura irrigadas com água da torneira após simplesmente enxaguar, no mês de Julho de 2003.

| Diagnóstico Prévio | CF | CT | EF | HETEROTRÓFICOS |
|---------------------------------------|---------|---------|---------|----------------|
| | (NMP/g) | (NMP/g) | (NMP/g) | (UFC/g) |
| Raízes Irrigadas com Água de Torneira | < 3 | 3 | 3 | 3835 |
| Raízes Irrigadas com Água de Efluente | ≥ 2400 | ≥ 2400 | < 3 | 5060 |

Tratamento das raízes

Os resultados para tratamento das raízes encontram-se na Tabela 1.

Os resultados da Tabela 2 mostram que as raízes que receberam algum tipo de tratamento diminuíram o número de bactérias do grupo Coliforme. O tratamento onde as raízes foram imersas em suco de limão (ácido cítrico), foi o mais eficiente na redução das bactérias. A utilização de água sanitária, (hipoclorito de sódio) também reduziu bastante o número de bactérias, sendo inferior ao suco de limão, porém, superior ao tratamento de imersão em vinagre (ácido acético), que foi o tratamento menos eficiente na redução de bactérias. As raízes que permaneceram imersas em água estéril não apresentaram desinfecção.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- cenouras que receberam água residuária para irrigação apresentam contaminação por bactérias do grupo Coliforme.
- todos os tratamentos para desinfestação/desinfecção das raízes mostraram eficiência na redução dos coliformes.
- o melhor tratamento para desinfestação/desinfecção foi a imersão das raízes em suco de limão.
- O uso desses compostos tornam-se alternativas de baixo custo e eficiência na descontaminação de hortaliças para o consumidor.

Tabela 2. Valores das análises bacteriológicas, Coliformes Totais, Coliformes Fecais, Enterococos Fecais e microrganismos heterotróficos, obtidos nas amostras de raízes da cenoura irrigadas com água residuária após realizar os tratamentos de desinfecção, no mês de Julho de 2003.

| Tipo de Tratamento Utilizado | CF | CT | EF | Heterotróficos |
|-------------------------------------|---------|---------|---------|----------------|
| | (NMP/g) | (NMP/g) | (NMP/g) | (UFC/g) |
| Raízes imersas com água estéril | ≥ 2400 | ≥ 2400 | < 3 | 5060 |
| Raízes imersas em Vinagre Comercial | 460 | 460 | 0 | 13120 |
| Raízes imersas em Água Sanitária | 120 | 120 | 4 | 1600 |
| Raízes imersas em Suco de Limão | 11 | 11 | < 3 | 960 |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**, 18.th. Washington : American Public Health Association, p. 9-26,1992.

BRANCO, S. M. Remoção de microrganismos nas diversas fases dos processos de tratamento de águas de abastecimento. Efeitos da sedimentação natural em represas: remoção de organismos na floculação, decantação e filtração. In: Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e de Controle de Poluição das Águas. **Desinfecção de águas**. São Paulo, . p. 5-10, 1974.

CHRISTOVÃO, D. A. et al. Padrões bacteriológicos. In: **Água, qualidade, padrões de potabilidade e poluição**. São Paulo : Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e Controle de Poluição das Águas,. p. 57-119, 1974

GELDREICH, E. E. Aspectos microbiológicos dos esgotos e dos seus processos de tratamento. In: Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento

Básico e de Controle de Poluição das Águas. **Desinfecção de águas**. São Paulo. p. 115-134, 1974

MEIRELLES, J. C. S. Cenoura: No caminho da modernização. In: Programa Brasileiro para a melhoria dos padrões comerciais e embalagens de hortigranjeiros, **Folder**, s/d.

NEW YORK STATE DEPARTMENT OF HEALTH. **Manual para operadores de estações de tratamento de água**. São Paulo : Universidade de São Paulo, 1971.

SASAKI, E. T. Cenoura: Coma faz bem para os olhos. In: Programa Brasileiro para a melhoria dos padrões comerciais e embalagens de hortigranjeiros, **Folder**, s/d. SILVA, C. S. M da; OLIVEIRA, A. M.; STANFORD, T. L. M.. Enteroparasitas em vegetais: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v.17 n°. 109, p 13-18, 2003.

SOUZA, H. B.; DERISIO, J. C. **Guia técnico de coleta de amostras de água**. São Paulo : CETESB,. p. 195-199, 1977.

[Http://www.riosurbanos.com.br](http://www.riosurbanos.com.br) , visitado em 22/10/2003, FONSECA, S.S.P. Colaboradores ABAS – MG/MS em Irrigação e Drenagem.

[Http://www.geocities.com/agenda21rj](http://www.geocities.com/agenda21rj), visitado em 22/10/2003, LÚCIA SOUTO, Presidente do Grupo Executivo da Agenda 21. Manifesto de lançamento a frente nacional pelo saneamento ambiental.

[Http://www.ruralnews.com.br](http://www.ruralnews.com.br), visitado em 29/10/2003, A Cenoura e seu cultivo.