

Qualidade microbiológica de alface fertirrigada por gotejamento com fertilizantes orgânicos ou mineral



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Hortaliças
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO 179

Qualidade microbiológica de alface fertirrigada por gotejamento com fertilizantes orgânicos ou mineral

*Lucimeire Pilon
Verônica Cortez Ginani
Mariana Rodrigues Fontenelle
Carlos Eduardo Pacheco Lima
Marcos Brandão Braga
Daniel Basílio Zandonadi*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na

Embrapa Hortaliças

Rodovia BR-060, trecho Brasília-Anápolis, km 9
Caixa Postal 218
Brasília-DF
CEP 70.275-970
Fone: (61) 3385.9000
Fax: (61) 3556.5744
www.embrapa.br/fale-conosco/sac
www.embrapa.br

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Hortaliças

Presidente
Henrique Martins Gianvecchio Carvalho

Editora Técnica
Mariana Rodrigues Fontenelle

Secretária
Clidíneia Inez do Nascimento

Membros
Carlos Eduardo Pacheco Lima
Raphael Augusto de Castro e Melo
Ailton Reis
Giovani Olegário da Silva
Iriani Rodrigues Maldonade
Alice Maria Quezado Duval
Jairo Vidal Vieira
Rita de Fátima Alves Luengo

Supervisora Editorial
Caroline Pinheiro Reyes

Normalização bibliográfica
Antônia Veras de Souza

Tratamento das ilustrações
André L. Garcia

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
André L. Garcia

Foto da capa
Lucimeire Pilon

1ª edição
1ª impressão (2019): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Hortaliças

Qualidade microbiológica de alface fertirrigada por gotejamento com fertilizantes orgânicos ou mineral / Lucimeire Pilon ... [et al.]. - Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2019.

18 p. : il. color. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Hortaliças, ISSN 1677-2229 ; 179).

1. Lactuca sativa. 2. Fertirrigação. 3. Irrigação por gotejamento. 4. Qualidade. I. Pilon, Lucimeire. II. Embrapa Hortaliças. III. Série.

CDD 635.52

Sumário

Resumo	7
Abstract	9
Introdução.....	11
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	15
Conclusões.....	16
Referências	17

Qualidade microbiológica de alface fertirrigada por gotejamento com fertilizantes orgânicos ou mineral

Lucimeire Pilon¹

Verônica Cortez Ginani²

Mariana Rodrigues Fontenelle³

Carlos Eduardo Pacheco Lima⁴

Marcos Brandão Braga⁵

Daniel Basílio Zandonadi⁶

Resumo – A alface é a folhosa de maior importância no Brasil, cultivada e consumida em todo o território brasileiro. O objetivo desse trabalho foi comparar a qualidade microbiológica de alfaces ‘Laurel’ produzidas em cultivo protegido, fertirrigadas por gotejamento com biofertilizante Hortbio[®], biofertilizante comercial e fertilizante mineral, bem como a qualidade microbiológica desses fertilizantes. As alfaces, os biofertilizantes e o fertilizante mineral, nas formas diluídas e não diluídas, foram analisados quanto à presença de bactérias do grupo coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. As contagens microbianas encontradas nos fertilizantes não resultaram em contagens similares nas alfaces. Foram detectados os patógenos *E. coli* e *Salmonella* no Hortbio[®], o que representa um alerta sobre os cuidados durante o preparo desse biofertilizante no campo. Apesar da detecção no Hortbio[®], esses patógenos não foram detectados nas alfaces, sugerindo que a fertirrigação por gotejamento diminui a possibilidade de contaminação dessa hortaliça.

Termos para indexação: *Lactuca sativa* L., Hortbio[®], *Escherichia coli*, *Salmonella*.

¹ Engenheira-agrônoma, doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF

² Nutricionista, doutora em Nutrição Humana, professora da Universidade de Brasília, Brasília, DF

³ Bióloga, doutora em Microbiologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF

⁴ Engenheiro-ambiental, doutor em Solos e Nutrição e Plantas, pesquisador da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia (Irrigação e Drenagem), pesquisador da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF

⁶ Engenheiro-agrônomo, doutor em Biociências e Biotecnologia, professor da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ

Microbiological quality of lettuce drip fertirrigated with organic or mineral fertilizers

Abstract – Lettuce is the most important leaf vegetable in Brazil. It is grown and consumed all over the country. The aim of this study was to compare the microbiological quality of ‘Laurel’ lettuces grown in greenhouse, drip fertirrigated with biofertilizer Hortbio®, commercial biofertilizer and mineral fertilizer, and the microbiological quality of these fertilizers. Lettuces and the diluted and undiluted biofertilizers and mineral fertilizer were analyzed for the presence of total coliforms bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Microbial counts found in fertilizers have not resulted in similar microbial counts on lettuce. *E. coli* and *Salmonella* were detected in Hortbio®, which warned about the care for the preparation of this biofertilizer in the field. Despite detection in Hortbio®, these pathogens were not detected in lettuce, suggesting that the drip fertirrigation reduces the possibility of contamination of vegetables.

Index terms: *Lactuca sativa* L., Hortbio®, *Escherichia coli*, *Salmonella*.

Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.), planta anual, originária de clima temperado, destaca-se como a folhosa mais consumida no Brasil e ocupa o terceiro lugar em volume de produção (Udsen, 2016). É uma hortaliça cultivada e consumida em todo o território brasileiro, não obstante as diferenças climáticas e os hábitos de consumo (Costa e Sala, 2005).

A alface, sendo uma hortaliça de ciclo curto, é bastante exigente na extração de nutrientes do solo em tempo reduzido. Nesse sentido, os fertilizantes orgânicos líquidos, como os biofertilizantes, podem ser mais eficientes do que os sólidos, em virtude da maior disponibilidade dos nutrientes e do suprimento no momento adequado, de acordo com a exigência da cultura (Lüdke et al., 2009).

De acordo com a Instrução Normativa nº 27, de 2006, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) (Brasil, 2006), os fertilizantes e os biofertilizantes devem atender aos limites máximos de contaminantes químicos e biológicos com vistas a assegurar a qualidade das hortaliças produzidas.

Dessa forma, o objetivo geral desse trabalho foi comparar a qualidade microbiológica de alfaces 'Laurel' produzidas em cultivo protegido, fertirrigadas por gotejamento com biofertilizante Hortbio®, biofertilizante comercial e fertilizante mineral, bem como a qualidade microbiológica desses fertilizantes. As alfaces, os biofertilizantes e o fertilizante mineral, nas formas diluídas e não diluídas, quanto à presença de coliformes totais, *E. coli* e *Salmonella* spp.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Hortaliças, em Brasília, DF. Primeiramente, o Hortbio® foi produzido. Após homogeneização de seus componentes em bombona plástica de 200 L, vedada, o biofertilizante foi aerado durante 15 min a cada hora com um compressor de ar ligado a uma mangueira por 10 dias. Previamente ao plantio das alfaces, a casa de vegetação e o sistema de irrigação (tanques de água e soluções nutritivas) foram preparados (Figura 1).

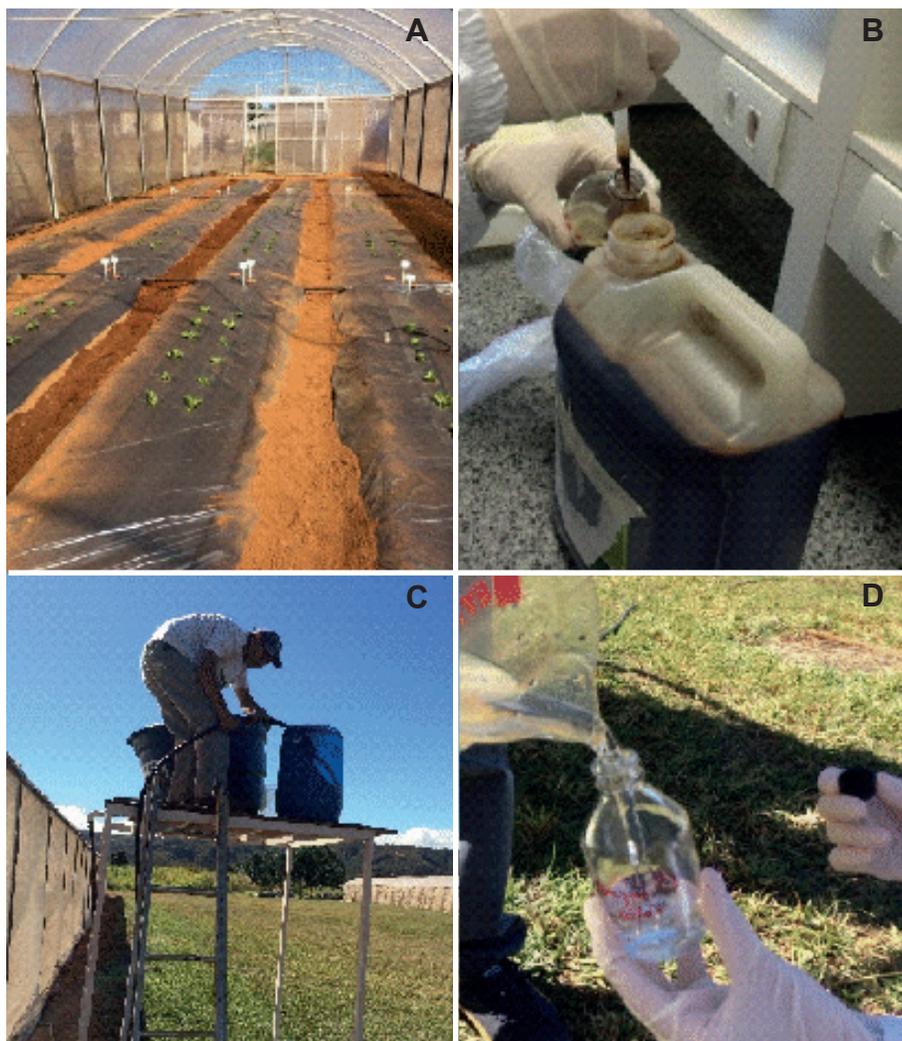


Figura 1. (A) (A1) Produção de Hortbio®; (B) Distribuição do sistema de irrigação, e (C) Caixa de água.

As amostras do Hortbio® e do biofertilizante comercial, não diluídas (puros) e nos respectivos tanques, e do fertilizante mineral, diluídas no tanque, e a água usada na irrigação, foram coletadas em frascos de vidro de 150 mL previamente autoclavados e, após, foram levados em caixa de isopor com gelo para o Laboratório de Higiene de Alimentos, da Universidade de Brasília (UnB) (Figura 2). A diluição e adição dos biofertilizantes e fertilizante mineral ocorreram de modo a atender a adubação proposta pela 5ª Aproximação (Ribeiro et al., 1999), de 150 kg/ha de nitrogênio, 150 kg/ha de fósforo e 80 kg/ha de potássio.

Os biofertilizantes e o fertilizante mineral foram analisados quanto à presença de coliformes totais, *E. coli* e *Salmonella* spp. com kits 3M™ Petrifilm™. As amostras foram diluídas em água peptonada até 10^{-3} e plaqueadas nos kits

específicos para cada microrganismo. Amostras de solos foram, também, analisadas quanto à presença desses mesmos microrganismos em kits 3M™ Petrifilm™. Os solos foram coletados (cinco amostras simples constituíram uma amostra composta por parcela experimental), na fração de 0 a 10 cm de profundidade.



Fotos: Lucimeire Pilon

Figura 2. (A) Alfaces 'Laurel' transplantadas; (B) Coleta de biofertilizante comercial não diluído, (C) Tanques com soluções nutritivas, e (D) Coletas das amostras contidas nos tanques.

As alfaces foram transplantadas em casa de vegetação e fertirrigadas por gotejamento. O delineamento experimental foi em blocos casualizados 4 x 4, com quatro tratamentos (1. Hortbio®, 2. biofertilizante comercial, 3. fertilizante mineral, e 4. Água como controle), quatro repetições contendo 12 plantas. Após 45 dias do plantio, foram colhidas três alfaces de cada repetição, que foram embaladas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório (Figura 3). Na colheita foram usadas facas de aço inoxidável previamente sanitizadas com hipoclorito de sódio 200 mg/L, individualmente para cada tratamento, e lavadas com detergente e álcool 70% entre as colheitas dentro do mesmo tratamento.

Para as análises microbiológicas, cada repetição constituiu uma amostra composta de três alfaces. Foi utilizado o terço médio das alfaces. Foram feitos cortes longitudinais dividindo a cabeça da alface em três partes, desprezando as superiores e a parte próxima à raiz.

Foram homogeneizados 25 g de alface em 225 g de água peptonada 0,1%. Uma alíquota de 1 mL da solução foi então diluída em série em água peptonada estéril 0,1% até a diluição final de 10^{-4} . Foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada uma das diluições de 10^{-1} a 10^{-4} e plaqueadas no 3M™ Petrifilm™ (Método Oficial AOAC 991.14 e 998.08) para detectar coliformes totais e *E. coli* (uma placa por diluição). As placas para coliformes totais e *E. coli* foram incubadas a 35 °C por 24 h e 48 h, respectivamente. Os microrganismos foram contados em contador de colônias Phoenix CP 600 Plus (Araraquara, SP, Brasil). Os resultados foram expressos em UFC/g de alface. Para análise de *Salmonella* spp., 25 g de alface foram homogeneizados em 225 mL de meio de Enriquecimento com suplemento 3M™ e incubados a 41,5 °C por 18 h. As placas 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System (uma placa por diluição) (Método Oficial AOAC 2014.01) foram hidratadas com 2 mL de água destilada estéril e, após 1 h, foram feitas estrias com as amostras previamente enriquecidas. As placas foram incubadas a 41,5 °C por 24 h para a leitura do teste presuntivo.

Os efeitos dos tratamentos nas alfaces foram testados pelo GLM (*General Linear Model*), SAS® 9,2. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5%.



Fotos: Lucimeire Pilton

Figura 3. (A) (A1) Colheita das alfaces; (B) Análise microbiológica.

Resultados e Discussão

Na água do tanque de irrigação foram detectados coliformes totais ($7,2 \times 10^2$ UFC/g), mas os resultados foram negativos para *E. coli* e *Salmonella*. O biofertilizante comercial, quando analisado puro, não apresentou coliformes totais (CT), no entanto, as amostras coletadas no tanque de solução apresentaram esses microrganismos ($2,1 \times 10^3$ UFC/g), provavelmente em função de contaminação da água de preparo ou mesmo do tanque onde foi produzida a solução. Não houve presença de *E. coli* e *Salmonella* em nenhuma das amostras de biofertilizante comercial. O fertilizante mineral puro não foi analisado e as amostras do tanque de solução apresentaram CT $5,8 \times 10^3$ UFC/g, mas não foram detectadas *E. coli* e *Salmonella*. O Hortbio[®] puro apresentou contagem alta para CT ($5,2 \times 10^5$ UFC/g) e *E. coli* ($2,3 \times 10^3$ UFC/g), bem como presença de *Salmonella*. As amostras de Hortbio[®] iluídas no tanque de solução também apresentaram CT ($7,8 \times 10^4$ UFC/g), *E. coli* ($1,1 \times 10^3$ UFC/g) e presença de *Salmonella*, tornando o produto impróprio para o uso, de acordo com a IN-27 (Brasil, 2006). As amostras de solo apresentaram contagens variando de 10^3 a 10^4 UFC/g para os coliformes totais e não houve presença de *E. coli* e *Salmonella*.

A Tabela 1 apresenta o resultado das análises microbiológicas nas alfaces fertirrigadas com biofertilizantes e fertilizante comercial. As amostras de alface não apresentaram *E. coli* e *Salmonella*, encontrando-se, portanto, dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Agência Nacional de

Vigilância Sanitária. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001). Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as amostras de alface quanto às contagens de coliformes totais.

Tabela 1. Contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* em alfaces 'Laurel' fertirrigadas com Hortbio®, biofertilizante comercial e fertilizante mineral e irrigadas com água.

	Coliformes Totais (UFC/g)	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> (Ausência em 25 g)
Alfaces fertirrigadas com Hortbio®	$1,3 \times 10^4$	Ausência	Ausência
Alfaces fertirrigadas com biofertilizante comercial	$1,9 \times 10^3$	Ausência	Ausência
Alfaces fertirrigadas com fertilizante mineral	$6,0 \times 10^4$	Ausência	Ausência
Irrigadas com água	$9,7 \times 10^3$	Ausência	Ausência

No grupo dos coliformes totais, encontram-se, predominantemente, as bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Dentre esses, apenas a *E. coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais homeotérmicos. Esta é a razão principal que faz dessa bactéria a mais importante indicadora de contaminação fecal em alimentos (Franco e Landgraf, 2003; Pierson et al., 2007). Os coliformes termotolerantes são um subgrupo de bactérias do grupo dos coliformes totais. As bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes termotolerantes correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de fermentar a lactose a 45 °C, com produção de gás (Franco e Landgraf, 2003).

Conclusões

As contagens microbianas encontradas nos fertilizantes não resultaram em contagens similares nas alfaces. A presença dos patógenos *E. coli* e *Salmonella* no Hortbio® é um alerta para os cuidados durante o preparo desse biofertilizante no campo, tais como preparar em ambiente fechado e

controlado, evitar o acesso de moscas com telas e armazenar adequadamente as matérias-primas, protegendo-as do contato com insetos e roedores. Apesar da detecção no Hortbio®, esses patógenos não foram detectados nas alfaces, sugerindo que a fertirrigação por gotejamento diminui a possibilidade de contaminação da hortaliça.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001. <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: 18 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 27 de 05 de junho de 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-sda-27-de-05-06-2006-alterada-pela-in-sda-07-de-12-4-16-republicada-em-2-5-16.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2018.

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 176 p.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. A. **Tipos de alface cultivados no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009. 7 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 75). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/783588>>. Acesso em: 16 abr. 2019.

LÜDKE, I. **Produção orgânica de alface americana fertirrigada com biofertilizantes em cultivo protegido**. 2009. 79 f. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília.

PIERSON, M. D.; ZINK, D. L.; SMOOT, L. M. Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. (Ed.). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 2007. p. 69-85.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARAES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a. aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.

UDSEN, S. **O mercado de folhosas: números e tendências**. Campinas: ABCSEM, 2016. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O_mercado_de_folhosas_Numeros_e_Tendencias_-_Steven.pdf>. Acesso em: 17 set. 2018.

