

2010/2011

**PROVA DE APTIDÃO
PROFISSIONAL**



TEMA

**Controlo higiénico-sanitário das saladas efectuadas
no bufete da ESPL**

Verónica Isabel Monteiro Cambalacho

Orientador
Lidia de Jesus Pessegueiro Serra

Preâmbulo

Relatório da Prova de Aptidão Profissional apresentado à Escola Secundária do Padrão da Légua para conclusão do Curso Profissional de Técnico de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar, de acordo com o consagrado na Portaria 550-C/2004, de 25 de Maio, com as alterações introduzidas pela Portaria 797/2006, de 7 de Junho.

Agradecimentos

A realização e concretização deste trabalho não teriam sido bem sucedidos sem a contribuição de algumas Entidades e pessoas das quais presto os meus agradecimentos:

- À Escola Secundária do Padrão da Légua e aos directores do Conselho Executivo, pela criação e implementação do Curso Profissional de Técnico de Processamento e Controlo de Qualidade Alimentar e juntamente a Prova de Aptidão Profissional;

- À Directora de Curso e paralelamente minha orientadora da PAP Dr.^a Lídia Serra , pela orientação, apoio e dedicação prestado neste projecto;

- À Professora Bárbara Serra pelas sugestões construtivas e informações fornecidas que complementaram o trabalho;

- À minha colega de turma Sofia Costa por todo o acompanhamento e ajuda prestados na realização do trabalho experimental;

- Às minhas outras colegas de turma Marlene Monteiro e Joana Gomes pela ajuda e apoio que me deram;

- Às funcionárias do bar da Escola Secundária do Padrão da Légua pelo fornecimento de dados em questionários e pelo acesso aos produtos alimentares;

- À Universidade Católica Portuguesa de Biotecnologia do Porto, pelo acesso aos livros da biblioteca desta.

- À minha família e ao meu namorado pelo apoio e sugestões que me deram, e também pela paciência.

Índice

Orientação do trabalho.....	2
Preâmbulo.....	3
Agradecimentos.....	4
I. Introdução.....	7
II. Parte Teórica.....	8
1. Os benefícios de uma alimentação equilibrada.....	9
2. Importância dos hortícolas na alimentação humana.....	10
3. Microrganismos e hortícolas.....	12
3.1. Factores relacionados com o crescimento microbiano.....	12
3.1.1. O ambiente.....	12
3.1.2. A manipulação.....	13
3.1.3. A humidade e a actividade da água.....	13
3.1.4. A temperatura.....	13
3.1.5. A atmosfera.....	13
3.2. Microrganismos deterioradores de alimentos.....	14
4. Principais doenças dos hortícolas.....	16
4.1. Cercosporiose ou mancha-de-cercospora.....	16
4.2. Podridão-mole.....	16
4.3. Septoriose ou mancha das folhas.....	17
4.4. Vira-cabeça.....	17
5. Cuidados a ter no pós-colheita da alface.....	17
III. Parte Prática.....	18
1. Material e Métodos.....	19
1.1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas.....	19
1.1.1. Questionário aplicado.....	20
1.2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL.....	26
Procedimento 1: Preparação de material para as colheitas e para o trabalho analítico.....	26

Procedimento 2: Colheita e Preparação da amostra para análise microbiológica.....	27
Procedimento 3: Controlos de laboratório.....	28
Procedimento 4: Enumeração de microrganismos viáveis a 22°C e a 37°C.....	30
Procedimento 5: Enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de <i>E.coli</i>.....	32
Procedimento 6: Detecção de <i>Salmonella</i>.....	34
Procedimento 7: Detecção de fungos.....	36
Procedimento 8: Prospecção de protistas.....	37
IV. Resultados.....	38
1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL.....	37
2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL.....	42
V. Discussão de resultados.....	46
1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL....	46
2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL.....	47
VI. Conclusões.....	50
1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL...	50
2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL.....	50
VII. Bibliografia.....	51
VIII. Anexos.....	52

1. **Introdução**

É do conhecimento geral que se deve ter uma alimentação variada incluindo produtos hortícolas e legumes utilizados nas saladas, normalmente para acompanhamento de refeições ou até como prato principal.

A alface, de nome científico *Lactuca sativa*, é um vegetal muito utilizado na confecção de saladas, com a qual se tem de ter um certo cuidado pois é muito susceptível a contaminações e infestações por ser uma planta de pequeno porte que, obrigatoriamente, está em contacto com o solo, e também porque geralmente não é cozinhada, sendo consumida crua, o que aumenta ainda mais a probabilidade de contágio.

Durante o cultivo da alface, esta pode contrair doenças que, posteriormente, poderão afectar a saúde humana, em caso de desinfecção insuficiente e tratamentos incorrectos, sendo estas cerca de 75, das quais 15 são provocadas por espécies de fungos, 5 constituem bacterioses e 21 são provocadas por vírus ou fitoplasmas, entre outros infestantes, como larvas e insectos.*

Este estudo consiste na avaliação das condições higiénico-sanitárias da alface no pós-colheita de forma a dar a conhecer as consequências para a saúde humana se estas não passarem por um processo adequado de higienização. Algumas boas práticas no manuseamento bem como a utilização de alguns desinfectantes poderão fazer toda a diferença na certificação da qualidade da alface, diminuindo-se assim a contaminação microbiana. Para tal, foram realizadas análises microbiológicas a amostras de folhas de alface obtidas no bufete/bar dos alunos da Escola Secundária do Padrão da Légua.

Este estudo tem relevância para esta entidade escolar porque, por um lado, permite controlar a qualidade deste género alimentar e, posteriormente, sensibilizar os funcionários a importância da adopção de procedimentos de higienização adequados, concretamente, em relação ao modo como é manipulado e lavado este produto alimentar. Efectivamente, este trabalho constitui um contributo para a resolução de problemas do domínio da saúde pública.

* FONSECA, SUSANA CALDAS DA. MORAIS, ALCINA MARIA MIRANDA BERNARDO DE. Boas práticas pós-colheita para hortícolas frescos. Porto: AESBUC, 2000

2. PARTE TEÓRICA

1. Os benefícios de uma alimentação equilibrada

Uma alimentação adequada é uma necessidade básica fundamental para a manutenção da vida, que permite fornecer energia, construir e reparar estruturas orgânicas bem como regular os processos de funcionamento do nosso organismo, além de ser um importante instrumento de socialização e de expressão cultural.

As necessidades alimentares de cada indivíduo são variáveis em função da idade, do sexo, da altura, do metabolismo basal e do nível de actividade física. Podem também ser influenciadas por situações especiais de doenças, gravidez e aleitamento e até alterações climáticas.

No entanto, a proporção de alimentos de cada grupo deve ser mantida independentemente das necessidades e tal está representado na roda dos alimentos (figura 1). As recomendações sugeridas pela pirâmide dos alimentos (figura 2) são de que deveremos ingerir diariamente maiores quantidades os cereais e derivados, legumes, frutos e lacticínios e menores quantidades de carne, peixe, ovos e derivados, leguminosas e gorduras.¹

A pirâmide dos alimentos é uma representação gráfica dos vários grupos de alimentos que devem ser incluídos na alimentação diária. Assim na base da pirâmide estão os alimentos que devemos ingerir em maiores quantidades pois são a base da nossa alimentação, e no pico da pirâmide os que necessitamos em menores quantidade. Existem várias pirâmides de alimentos, com algumas variantes, de acordo com o país que a criou, os seus hábitos e recomendações alimentares (figura 2).

No caso da roda dos alimentos, utiliza-se exactamente da mesma forma mas esta é representada circularmente, dividida em secções de tamanhos diferentes conforme a porção recomendada diariamente (figura 1).

Figura 1 – Roda dos alimentos



(<http://ludotecajovem.blogspot.com/2010/10/cancao-roda-dos-alimentos.html>)

Figura 2 – Pirâmide dos alimentos



(<http://dietspramim.blogspot.com/2010/05/dieta-da-piramide-alimentar.html>)

¹ <http://www.alimentacao.org/alimentacao-equilibrada/>

2. Importância dos hortícolas na alimentação humana

Como já foi referido anteriormente, é importante ter uma alimentação equilibrada rica em nutrientes e vitaminas. Um dos principais sectores da pirâmide e da roda dos alimentos são os legumes que devem ser consumidos diariamente com muita importância.

Estes são muito ricos em água, essencial à nossa sobrevivência, fibras alimentares que auxiliam e mantêm o corpo livre de toxinas e substâncias em excesso, vitaminas B e C e sais minerais que controlam e regularizam as actividades do nosso metabolismo e mantêm a saúde dos nossos órgãos e tecidos².

O seu conteúdo em gordura e açúcar é baixo o que lhes confere muito baixo valor energético.

Como o organismo humano não tem a capacidade de armazenar durante um longo período de tempo estes nutrientes, é necessária uma ingestão diária destes, especialmente provenientes das hortaliças pois estas possuem estas substâncias em grande quantidade. Contudo, deve-se diversificar o tipo de hortaliça sendo que estas diferem umas das outras acabando por umas serem mais ricas em nutrientes do que outras. Mas não deixam de ser uma das variedades alimentícias mais aconselhadas numa alimentação equilibrada. (figuras 1 e 2).

Entre muitas outras variedades, a alface, a acelga, o agrião, a chicória, a escarola, a endívia belga, e a rúcula são hortícolas muito consumidas em Portugal principalmente em saladas (tabela 1).

A salada verde geralmente faz parte de uma refeição saudável e, mesmo que se utilize muitas outras verduras, a alface é definitivamente o ingrediente mais popular. O consumo desta verdura tem vindo a aumentar dia após dia por razões básicas: as pessoas preocupam-se cada vez mais com sua saúde. Consumem mais frutas e hortícolas, também devido ao baixo custo da destas utilizadas nas saladas.

Tabela 1. Hortícolas consumidos em saladas

Nome e características	Imagem
Acelga - Nome comum a diversas variedades dessa espécie, como acelga-crespa, acelga-de-cardo, acelga-japonesa, etc. As suas folhas e talos são consumidos em saladas e refogados.	 http://www.dicasecia.com/legumes-e-verduras-vitaminas-fibras-acelga
Agrião - Cresce em leitos de córregos durante o final do inverno e o início da primavera. Tem um sabor aguçado e é utilizado também como guarnição ou em sopas.	 http://plantamania.wordpress.com/2010/03/08/99/
Alface-americana - Alface crespa de cabeça compacta. O seu valor nutritivo é inferior ao de outras variedades de alfaces e folhas.	 http://www.proplanta.net/pro-productos/sementes/alf_lucy.html

² http://www.iglo.pt/alimentacao_nutricao/grupos_alimentos_horticolas.aspx

Alface-de-cordeiro - Tem folhas pequenas e delicadas.



<http://dademaioir.sapo.pt/sabores-mediterranicos/frescos-que-lhe-fazem-bem/canonigos/>

Alface de folha solta - Inclui alfaces de ramos ou folhas verdes ou roxas, assim como outros tipos que não formam cabeças.



<http://plantasdecasa.blogspot.com/2009/02/alface.html>

Alface lisa - A mais consumida, com folhas soltas, macias e de sabor suave.



http://viverintegral.blogspot.com/2010_03_01_archive.html

Alface romana - Tem folhas verde-escuras, longas e crespas que formam uma cabeça de folhas soltas. É utilizada em receitas de saladas como a salada Caesar.



http://papodacozinha.blogspot.com/2010_08_01_archive.html

Chicória e escarola - Verduras semelhantes, com sabor ligeiramente amargo. São nutritivas, mas não muito utilizadas devido ao seu sabor intenso.



<http://culinariarebuscada.blogspot.com/2010/09/admordius-em-refeitório-universitário.html>

Endívia belga - Prima ligeiramente amarga da chicória, é plantada sob uma cobertura de terra para produzir uma cabeça pequena de folhas amarelas claras ou brancas. Oferece textura e sabor interessante às saladas e pode ser refogada ou cozida no vapor e servida quente.



http://worldpeaceandlove.com/Create_a..._Book_.html

Rúcula - Assemelha-se ao dente-de-leão, tem um sabor forte e é mais saborosa quando cultivada a baixas temperaturas.



<http://lentilhas.wordpress.com/2010/01/04/rucula/>

¹ <http://www.ufms.br/horta/hortalicas.htm>

3. Microrganismos e hortícolas

As hortícolas têm um papel muito importante na nossa alimentação mas, como todos os alimentos, são propícias à contaminação microbiana.

Os alimentos minimamente processados (AMP), tais como frutas e hortaliças intactas, deterioram-se após a colheita devido a alterações fisiológicas. Entretanto, as lesões provocadas durante o processamento promovem descompartimentalização celular e possibilitam o contacto de enzimas e substratos, que originam modificações bioquímicas, como escurecimento, formação de odores desagradáveis e perda da textura original (figura 3). Dois problemas básicos dificultam a extensão da vida de prateleira dos AMP. Primeiro, os tecidos vegetais estão vivos, respirando e muitas reacções químicas acontecem, e segundo, a proliferação de microrganismos que precisa ser retardada. O controlo destes dois parâmetros é crítico para a produção destes produtos, concomitantemente com o desenvolvimento de embalagens apropriadas para atingir as condições ideais de armazenamento e conservação.

Factores extrínsecos, como a temperatura e a composição atmosférica são fundamentais para retardar desordens fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas dos alimentos minimamente processados, que afectam as suas características sensoriais. Sob o ponto de vista microbiológico, os vegetais estão entre os alimentos mais seguros. Não obstante, existem condições extrínsecas e intrínsecas ao alimento que podem permitir ou favorecer o crescimento de microrganismos decompositores e até patogénicos (figura 3).



Figura 3 – Evidência da acção de factores extrínsecos sobre a salada

<http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados2.shtml>

3.1 Factores Relacionados com o Crescimento Microbiano

As alterações microbiológicas que ocorrem em vegetais variam segundo a composição da microflora de cada alimento, que por sua vez está relacionada com outros factores tais como: o ambiente; a manipulação; a água disponível e a humidade; a temperatura; a atmosfera e a acidez. De um modo geral, as alterações são causadas por microrganismos mesófilos, bactérias lácticas, coliformes totais e fecais, bactérias pectinolíticas, leveduras e fungos.

3.1.1. O ambiente

É o primeiro factor contaminante dos alimentos. O solo, por exemplo, é rico em bactérias gram-positivas e fungos, que podem contaminar os alimentos directamente ou serem transportados pelo vento ou por insectos. O ar serve mais como veículo do que como meio de crescimento. A chuva pode arrastar terra para produtos

cultivados próximo ao solo e elevar sua carga microbiana, além de aumentar a humidade e favorecer o crescimento de fungos em até 72%.

3.1.2. A manipulação

A manipulação traduz-se em contaminação cruzada pelos trabalhadores e determinados recipientes com superfícies desiguais ou salientes podem rasgar hortaliças e cascas de frutas. Estes danos provocam a libertação do suco nutritivo, que favorece o crescimento microbiano nos equipamentos e nos próprios alimentos. Tratamentos como cortes no produto, que expõem grandes superfícies podem provocar proliferação microbiana 6 a 7 vezes superiores comparativamente a alimentos intactos. Mesmo microrganismos não deteriorantes noutras condições, podem ocasionar a degradação do produto após a perda da protecção natural que as epidermes representam.

3.1.3. Humidade e actividade da água

As frutas e hortaliças apresentam actividade de água (A_w) em torno de 0,95 ou maior, permitindo o crescimento de muitos microrganismos. Uma baixa humidade no interior da embalagem dificulta o crescimento de bactérias, mas promove a rápida desidratação do alimento e pode seleccionar fungos. Já a alta humidade facilita a condensação de gotículas sobre os produtos, servindo como meio difusivo de microrganismos e como caldo de cultivo.³

3.1.4. A temperatura

É, provavelmente, o factor mais importante que afecta o crescimento de microrganismos. Como as frutas e hortaliças são cultivadas e colhidas em temperatura ambiente, tal resulta em predominância de bactérias mesófilas. Entretanto, o tratamento de refrigeração a que é sujeito a maioria dos alimentos minimamente processados pode modificar este quadro, contribuindo para a predominância de psicotróficos. Temperaturas de refrigeração exercem efeito de redução da proliferação microbiana em frutas e hortaliças.

3.1.5. A atmosfera

No interior da embalagem, o ar existente afecta não apenas o metabolismo do alimento, como visto anteriormente, mas é fundamental na selecção da microflora presente. O efeito bacteriostático de elevadas concentrações de CO_2 e reduzidas concentrações de O_2 é bem conhecido há mais de um século, mas o impacto efectivo sobre os microrganismos depende do organismo em si, da concentração do gás, da temperatura e da tolerância fisiológica do alimento. Geralmente, são necessárias concentrações entre cinco por cento e vinte e cinco por cento e os efeitos variam em temperaturas diferentes. Baixas temperaturas aumentam a solubilidade do dióxido de carbono, acentuando seus efeitos bacteriostáticos, cuja acção máxima ocorre em

1°C. O CO₂ interfere no metabolismo celular dos microrganismos mais sensíveis, como as bactérias gram-negativo, aeróbios e bactérias psicotróficas (entre as quais *Pseudomonas sp.*) e bolores. Entretanto, altas concentrações podem seleccionar anaeróbios facultativos ou obrigatórios, como as bactérias lácticas e as bactérias acéticas ou de eucarióticos unicelulares. Qualquer que seja a atmosfera presente existe risco microbiológico potencial, e portanto, não substituem a refrigeração. Inclusive, pode inibir o crescimento de microrganismos deterioradores, mas permitir a proliferação de patogénicos, que sem os sinais deteriorativos comuns podem ser ingeridos com os alimentos. Por isso, o aumento da vida de prateleira dos alimentos minimamente processados deve se visto criteriosamente.

As frutas e hortaliças apresentam características químicas diferentes, que se reflectem na composição da microflora presente em cada uma. As hortaliças apresentam elevada quantidade de água e de nutrientes e pH neutro. Assim, as bactérias tornam-se os microrganismos preponderantes nestes alimentos, pois o seu crescimento é mais rápido que o de microrganismos eucariotas. Entre as bactérias, as gram-negativas são as mais isoladas, sendo que as famílias PSEUDOMONACEAE e ENTEROBACTERIACEAE representam a maioria, principalmente os géneros *Pseudomonas* e *Erwinia*. O género *Pseudomonas* apresenta actividade pectinolítica, mas não resiste a altas concentrações de CO₂. As frutas apresentam maiores quantidades de açúcar e pH mais ácidos (4,6 ou menos), o que desfavorece o crescimento de bactérias, que não sejam as lácticas. Portanto, os fungos prevalecem nestes alimentos.⁴

3.2. Microrganismos deterioradores de alimentos

A alteração é qualquer modificação que torna o alimento indesejável para consumo. A degradação microbiológica é apenas uma das alterações, sendo as maiores perdas causadas por danos físicos. As alterações microbiológicas podem ser classificadas como pré-colheita ou de campo e alterações pós-colheita. Todavia estas classificações podem levar a equívocos, visto que algumas alterações podem iniciar no período de pré-colheita, mas serem agravadas na pós-colheita. Por isso, outra forma de classificar as alterações microbiológicas seria mediante a análise dos sinais e sintomas apresentados (podridão húmida, podridão branda aquosa e podridão negra). Entretanto, mais uma vez a classificação deixa dúvida, pois o mesmo microrganismo pode produzir diversas alterações e diferentes microrganismos podem provocar as mesmas lesões. Assim, a melhor forma de classificar as alterações microbiológicas é a descrição do tipo de alteração pelo sintoma, complementada com o nome do microrganismo envolvido.

Os microrganismos empregam diversos mecanismos para suplantar as defesas naturais das plantas. Um dos principais é a produção de enzimas pectinolíticas, como a pectinametilsterase e a poligalacturonase, e em segundo plano, hemicelulases, celulasas e proteinases. Estas enzimas causam a liquefacção dos tecidos. Os microrganismos mais comuns que produzem estas enzimas são a *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, *Botrytis sp.*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* e *Colletotrichum sp.*. Apenas *P. marginales*, e o género *Pseudomonas* são produtores de pectinases, o que significa que frutas e hortaliças são alvos destas enzimas deterioradoras de origem microbiana.

Na tabela 2, descrevem-se algumas características de bactérias importantes na alteração de saladas.

³ <http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados2.shtml>

Bactérias existentes nas saladas

Espécie	<i>Erwinia</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Salmonella</i> (1)	<i>Escherichia</i> (1)
Classificação	<p align="center">Classificação científica</p> Reino: Bacteria Filo: Proteobacteria Classe: Gammaproteobacteria Ordem: Enterobacterales Família: Enterobacteriaceae Género: <i>Erwinia</i>	<p align="center">Classificação científica</p> Reino: Bacteria Filo: Proteobacteria Género: <i>Pseudomonas</i> Espécie: <i>P. aeruginosa</i>	<p align="center">Classificação científica</p> Domínio: Bacteria Filo: Proteobacteria Classe: Gammaproteobacteria Ordem: Enterobacterales Família: Enterobacteriaceae Género: <i>Klebsiella</i> Trevisan, 1885	<p align="center">Classificação científica</p> Domínio: Bacteria Filo: Proteobacteria Classe: Gammaproteobacteria Ordem: Enterobacterales Família: Enterobacteriaceae Género: <i>Salmonella</i>	<p align="center">Classificação científica</p> Domínio: Bactéria Filo: Proteobacteria Classe: Gammaproteobacteria Ordem: Enterobacterales Família: Enterobacteriaceae Género: <i>Escherichia</i> Espécie: <i>E. coli</i>
Características (tamanho, forma, etc...)	-Tamanho: 0,5-1,0 x 1,0-3,0 µm; -Forma de bastonetes; - Não esporoladas.	-Tamanho: 1,5-5,0 x 0,5-1,0 µm - Forma de bastonetes; -Produzem pigmentos, alguns fluorescentes.	- Tamanho inferior a 0,3 µm -Forma de bastonetes; -Não esporoladas;	- Tamanho: 0,5-0,7 x 1-3 µm - Forma de bacilo; - Não esporoladas;	- Tamanho: 0,5 x 2 µm -Forma de bacilo; -Não esporoladas;
Mobilidade	Móveis com flagelos peritríquicos	Móveis com flagelos polares, simples ou múltiplos	Imóveis	Móveis com flagelos peritríquicos	Móveis com flagelos
Aeróbias/Anaeróbias	Anaeróbias facultativas	Aeróbias e anaeróbias	Aeróbios e anaeróbias facultativos	Aeróbios facultativos	Aeróbias e anaeróbias facultativas
Gram	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Catalase / Oxidase	(+) / (-)	(+) / (+)	(+) / (-)	(+) / (-)	(+) / (-)
Lactose	(+)	(-)	(+) 35°C	(-)	(+) 35°C
Produção de gás	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
Citrato	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Habitat natural	Intestino de animais de sangue quente, solo ou ambientes aquáticos, vegetais.	Ambiente terrestre, água doce, ambiente marinho, plantas e animais	Água, solo, tracto gastrointestinal, vegetais e frutas, e cereais.	Intestino de gado e aves	Flora intestinal de mamíferos
Temperatura (Máx-Min) e pH óptimo de crescimento.	15 a 37°C Opt. 36-37°C pH 6,5-7,5	4°C – 42°C pH 4-8	22 a 37°C pH 4,9 – 7,9	5 a 45°C Opt - 35 a 37°C pH 6,5 a 7,5	12 a 45°C opt- 37°C. pH 6,5 a 7,5
Perigosidade para o Homem	Não exerce efeitos directos Homem; É patogénico para plantas	Causa a infecção do aparelho pulmonar e do aparelho urinário, queimaduras, infecções do ouvido externo e outras sanguíneas; Raramente pode causar pneumonia;	Causam pneumonias, infecções no tracto urinário, infecções nos serviços de cuidados intensivos e infecções neonatais;	Causam gastroenterites, septicemia e febre entérica; <i>Salmonella Tiph</i> y provoca infecções sistémicas e febre tifóide;	Causa flatulência, toxinfecção alimentar, Colecistite, Apendicite, Peritonite, Meningite e Septicemia
Outras características (Factores de virulência)	Produce Pectinases, Celulasas, Proteases, Lipases, Xilanases e Nucleases.	Produce Piocianina e Exotoxina A causando necrose.	Produce ESBL podem ser clinicamente resistentes ao tratamento com penicilinas, cefalosporinas ou aztreonam.	Sobrevivem no interior de macrófagos; Produce Catalase, superóxido dismutase e gene ATR que a protege do ácido;	Possui fímbrias ou adesinas que permitem a sua fixação, impedindo o arrastamento pela urina ou diarreia; Muitas produzem exotoxinas;

Tabela 2 – Características de algumas bactérias contaminantes da salada.

(1) Microrganismos estudados

4. Principais doenças dos hortícolas (Alface)

As plantas também são susceptíveis à acção patogénica de microrganismos que pela sua acção em culturas constituem um problema para Homem. Seguidamente, citam-se algumas destas patologias.⁴

4.1. Cercosporiose ou mancha-de-cercospora

Agente Causal: *Cercospora longissima*

Sintomas: Os sintomas da doença ocorrem, inicialmente, nas folhas mais baixas. As lesões têm tamanhos variados, tornando-se irregulares ou angulares, com coloração castanho clara a castanho escura, circundadas por tecido clorótico com um ponto central de coloração acinzentada. Quando a doença apresenta alta severidade, as lesões coalescem e extensas áreas do tecido foliar morrem. A cercosporiose diferencia-se da septoriose por não apresentar corpos de frutificação do fungo.



Figura 4 – Alface com cercosporiose

(http://carmoeatrindade.blogspot.com/2007_09_01_archive.html)

4.2. Podridão-mole

Agente causal: *Pectobacterium carotovorum*

Sintomas: A podridão-mole aparece inicialmente como uma murcha nas folhas externas, sendo que plantas próximas à colheita são mais susceptíveis. A murcha é causada pelo colapso dos tecidos vasculares, com o desenvolvimento de uma descoloração rosa a castanha. Com o progresso da doença, a medula do caule torna-se encharcada, macerada e esverdeada. Em estádios avançados, toda a planta pode tornar-se apodrecida. Durante a pós-colheita as folhas externas tornam-se murchas, descoloridas e, toda a planta pode apodrecer. Uma das características que mais diferencia esta doença das demais podridões é o odor fétido exalado pelas partes afectadas da alface.



Figura 5 – Alface com podridão-mole

(<http://rubraacacia.blogspot.com/2010/11/como-uma-alface.html>)

⁴ <http://www.esb.ucp.pt/spiral/pdfs/Manual01a.pdf>

4.3. Septoriose ou mancha das folhas

Agente causal: *Septoria lactucae*

Sintomas: Estes surgem em folhas, hastes e órgãos florais. Nas folhas surgem manchas com contornos irregulares e centro escuro, oliváceo para negro, inicialmente apresenta aspecto desidratado, tornando-se pardacento, com numerosos pontos escuros correspondentes aos picnídios. Órgãos florais são atacados em campos de produção de sementes. Sob condições de alta humidade, observa-se uma massa de esporos envoltos em massa mucilaginosa, emergindo do interior dos picnídios.



Figura 6 – Alface com septoriose

<http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=64>

4.4. Vira-cabeça

Agente causal: *Tospovirus*

Sintomas: Manchas necróticas e bronzeamento em folhas, geralmente em um lado da planta. Quanto à infecção ocorre de forma sistémica, é caracterizada por uma murça marginal, amarelecimento e bronzeamento de folhas internas e da nervura.

5. Cuidados a ter no pós-colheita da alface

A perda de água por transpiração é particularmente importante em legumes com folhas, que têm uma fina camada de pele com muitos poros e em que a área superficial é elevada. A perda de água tem consequências directas e indirectas no valor comercial do produto que, por um lado perde qualidade, tornando-se menos atractivo ao consumidor e, por outro, perde peso, valendo menos.

O critério de colheita da alface é o peso e varia consoante a época do ano. No Inverno o consumidor prefere tamanhos mais pequenos e no Verão tamanhos maiores. O rápido arrefecimento logo após a colheita para temperaturas próximas de 0° C é muito importante para a manutenção da qualidade da alface. A alface não deve ficar exposta ao sol pois as folhas são muito sensíveis à perda de água. A eliminação das folhas exteriores, o rápido arrefecimento e a manutenção da temperatura baixa são factores que diminuem o risco de contaminação bacteriana. O acondicionamento, normalmente é feito, durante a colheita, em grades plásticas com os repolhos dispostos com o caule para cima, numa única camada e sem pressão sendo mantida neste estado durante todo o processamento. A alface não deve ser guardada ou transportada com produtos que emitam etileno, pois pode provoca-lhe uma lesão fisiológica causando o aparecimento de pigmentos castanhos no caule e surge também nas folhas e por todo o repolho à medida que a concentração de etileno aumente.

III. PARTE PRÁTICA

1. Material e Métodos

Com o objectivo de desenvolver o “Controlo higiénico-sanitário das saladas preparadas na cantina/bar da Escola Secundária do Padrão da Légua” foi realizado um trabalho prático que inclui duas partes. Uma destinada a avaliar os procedimentos de higienização e preparação de saladas pelos assistentes operacionais que trabalham no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua. Outra parte consistiu na realização de trabalho analítico de controlo microbiológico de saladas preparadas no referido espaço.

1.1 Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas

Com o intuito de avaliar os procedimentos de higienização e preparação de salada pelos assistentes operacionais que trabalham no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua, foi estruturado um questionário organizado em duas partes:

- PARTE I – Informações sobre o trabalhador
- PARTE II – Espaço e lavagem da salada.

A parte I do questionário foi realizada com o objecto de obter informações sobre as habilitações literárias do trabalhador e o cargo ocupado por este no local de trabalho. Também se pretendeu saber se o trabalhador possui alguma habilitação especializada para exercer a profissão e se frequentou alguma acção de formação no âmbito da implementação do HACCP e/ou Código de Boas Práticas na manipulação de alimentos.

A parte II do questionário serviu principalmente para conhecer as práticas utilizadas pelos manipuladores do bar durante a confecção de saladas. Foi assim questionada a informação que o trabalhador possui, nomeadamente, em relação ao plano de HACCP da ESPL e se cumpre o estabelecido no referido plano. Também foi solicitada informação sobre a área de lavagem das saladas, nomeadamente, se existem locais específicos para o efeito, se o bar está organizado por áreas de confecção de alimentos separados de acordo com o tipo, os produtos de limpeza utilizados para a lavagem dos locais e das saladas, a frequência com que se higienizam os alimentos e de que forma se faz, se existem utensílios próprios para cada alimento e relativamente à apresentação e armazenamento do alimento. Foi, ainda, questionada a forma como o assistente operacional do bar se apresenta ao trabalho em termos de indumentária.

O questionário aplicado está apresentado nas páginas seguintes.

1.1.1 Questionário aplicado

Questionário

Eu, Verónica Isabel Monteiro Cambalacho, aluna do Curso Profissional de Técnico de Processamento e Controlo de Qualidade Alimentar, da turma 3ºA, estando a desenvolver o projecto da Prova de Aptidão Profissional (PAP) subordinada ao tema “Controlo higiénico-sanitário das saladas preparadas na cantina/bar da ESPL”, venho solicitar o preenchimento de um questionário para conhecimento dos procedimentos regulares aplicados na confecção de saladas. As respostas dadas no questionário têm carácter estritamente confidencial. Agradeço a colaboração.

PARTE I – Informações sobre o trabalhador

Local de Trabalho:

- Bufete
- Cantina

Cargo ocupado:

- Cozinheira
- Ajudante de Cozinha
- Assistente operacional
- Outro. Qual? _____

Habilitação especializada para o exercício da função (cursos / formação que possui):

Última acção de formação sobre Higiene e Segurança na Confecção de Alimentos, HACCP e/ou Boas Práticas frequentada:

Designação da Acção: _____ DATA: _____

(Continua na página seguinte)

PARTE II – Espaço e lavagem da salada

1. Conhece o plano de HACCP implementado na escola?

Sim

Não

2. Os funcionários do bar ou da cantina aplicam as especificações constantes no plano de HACCP, na confecção de alimentos?

Não

Sim. Quais? _____

3. No espaço de trabalho:

3.1 Quantas áreas de lavagem de mãos existem:

Nenhuma 1 2 3 4 ou mais

3.2 A cantina e/ou o bar está organizado por áreas de confecção, sendo cada uma específica para um tipo de alimento?

Sim. Quais? _____

Não

3.3 Que produtos de limpeza são utilizados nos processos de higienização das áreas de confecção dos alimentos?

3.4. Com que frequência é realizado o processo de higienização de alimentos?

Uma vez por dia Duas vezes por dia Três ou mais vezes por dia

De manhã, antes da abertura

No fim do dia, após o fecho

Outro. Qual? _____

3.5. Existem áreas/recipientes de resíduos/lixos?

Sim

Se sim, quantos?

Não

1 2 3 4 ou mais

(Continua na página seguinte)

3. Em que produtos alimentares confeccionados no bar é utilizada a salada? Que variedades hortícolas são usadas?

4. Em que local e condições do bar e/ou bufete são efectuadas as acções de lavagem das saladas?

- Banca própria, previamente higienizada;
- Banca própria, sem prévia higienização;
- Tábuas próprias, previamente higienizadas;
- Tábuas próprias, sem prévia higienização;
- Tábuas comuns à confecção de outros produtos alimentares, previamente higienizadas;
- Tábuas comuns à confecção de outros produtos alimentares, sem higienização entre a manipulação de géneros alimentares distintos;
- Recipiente só para saladas, previamente higienizado;
- Recipiente só para saladas, sem prévia higienização;
- Facas e outros utensílios, previamente higienizadas;
- Facas e outros utensílios, sem prévia higienização;
- Facas e outros utensílios, usados na confecção de outros géneros alimentares

PARTE II – Espaço e lavagem da salada

4. Conhece o plano de HACCP implementado na escola?

- Sim
 Não

5. Os funcionários do bar ou da cantina aplicam as especificações constantes no plano de HACCP, na confecção de alimentos?

- Não
 Sim. Quais? _____

6. No espaço de trabalho:

6.1 Quantas áreas de lavagem de mãos existem:

- Nenhuma 1 2 3 4 ou mais

6.2 A cantina e/ou o bar está organizado por áreas de confecção, sendo cada uma específica para um tipo de alimento?

- Sim. Quais? _____
 Não

6.3 Que produtos de limpeza são utilizados nos processos de higienização das áreas de confecção dos alimentos?

3.6. Com que frequência é realizado o processo de higienização de alimentos?

- Uma vez por dia Duas vezes por dia Três ou mais vezes por dia
 De manhã, antes da abertura No fim do dia, após o fecho
 Outro. Qual? _____

3.7. Existem áreas/recipientes de resíduos/lixos?

- Sim Se sim, quantos?
 Não 1 2 3 4 ou mais

(Continua na página seguinte)

5. Em relação ao vestuário, durante a confecção dos alimentos:

	Sempre/ Diariamente	Muitas vezes	Poucas vezes	Nunca	Obs.
A bata é utilizada?					
Quantas vezes é mudada / lavada a bata, por semana?					
A touca é utilizada?					
São utilizadas luvas? Em que circunstâncias?					
As unhas são mantidas curtas e sem verniz?					
Utiliza adornos? (anéis, pulseiras, etc...)					

6. Os trabalhadores da cantina e/ou bar higienizam as mãos:

	Sempre	Muitas vezes	Poucas vezes	Nunca
Antes do início do processo de confecção das saladas				
Antes da lavagem de saladas				
Depois da confecção géneros alimentares contendo saladas				
Depois da manipulação de lixos / resíduos orgânicos				
Depois de uma ida ao quarto de banho				
Depois da execução de processos de limpeza das instalações				
Depois da manipulação de outros alimentos				
Depois da manipulação de dinheiro				
Depois da manipulação de cartões magnéticos dos membros da comunidade escolar				

8. Que tipo de procedimento utiliza para a lavagem de saladas?

- Água corrente
 Água em bacia

Quantas lavagens / mudas de água efectua?

- Nenhuma 1 2 3 ou mais

8.1 Utiliza produtos de lavagem das saladas?

- Sim
 Não

Se sim, qual é o produto? _____

Tempo de aplicação: _____

(Continua na página seguinte)

9. Em que condições é processado o armazenamento das saladas, após sua lavagem:

9.1 Local: _____

9.2 Tempo máximo de permanência no local/recipiente de armazenamento:

9.3 Que tipo de recipientes são usados no armazenamento: Fechado Aberto

10. Se a salada lavada não for toda utilizada, o que faz ao excedente?

Rejeita-se

Reutiliza-se:

Apenas no próprio dia

No dia seguinte

11. Depois do produto confeccionado, onde é mantido até ao momento da venda?

Expositor

Frigorífico

Outro. Qual? _____

12. Como são transportadas os géneros alimentares com saladas para o bar dos professores?

13. Como é entregue o produto final ao consumidor?

Com guardanapo

Na mão

Com utensílio próprio (pinças ou outros)

Directamente no prato

Em taças individuais

14. Comentários:

Agradeço a sua colaboração.

Escola Secundária do Padrão da Légua, 11 de Novembro de 2010

1.2 Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL

Com o intuito de estudar a qualidade microbiológica das saladas utilizadas na confecção de refeições no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua, foram realizadas duas colheitas nos dias 19 e 31 de Janeiro de 2011. O estudo microbiológico implicou a análise dos parâmetros microbiológicos “enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C”, “enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de *E. coli*”, “detecção de *Salmonella*”, “detecção de fungos” e “prospecção de protistas”, cujas técnicas são seguidamente descritas.

Procedimento 1: Preparação de material para as colheitas e para o trabalho analítico

- A. Lavagem de material**
 - a. Lavar o material com água e detergente iónico;
 - b. Enxaguar em água da torneira 3 a 4 vezes;
 - c. Passar por água destilada;
 - d. Secar na estufa a 40° C.

- B. Esterilização de material de vidro e material de dissecação – (técnica de esterilização por calor seco).**
 - a. Embrulhar o material em papel Kraft e amarrar com fio de norte, identificando-o;
 - b. Para o material como provetas, tubos de ensaio e balões de Erlenmeyer tapar com algodão cardado e folha de alumínio;
 - c. Colocar na estufa a 140° C.

- C. Esterilização de meios de cultura e água destilada – (técnica de esterilização por calor húmido)**
 - a. Depois da preparação dos meios de cultura em balões Erlenmeyer, cobri-los com algodão cardado e folha de alumínio.
 - b. Encher um frasco da água destilada e rolar.
 - c. Colocar na panela de pressão com água no fundo e fechar. Após início da ebulição, deixar nestas condições durante 15 minutos.

- D. Ambiente asséptico**
 - a. Colocar duas lamparinas em pontos diametralmente opostos da bancada de trabalho e acendê-las;
 - b. Passar algodão embebido em álcool na bancada de trabalho;
 - c. Desinfectar as mãos e trabalhar perto das lamparinas para reduzir contaminações.

- E. Esterilização de equipamento**
 - a. Para equipamentos metálicos passar um algodão embebido em álcool nestes para os desinfectar (ex. balança e estufa)
 - b. Esterilizar o copo do liquidificador em panela de pressão como descrito acima.

Procedimento 2: Colheita e Preparação da amostra para análise microbiológica (ISO 6579 – 2002)

Material:

Ambiente asséptico

- Álcool
- Pinça esterilizada
- Algodão
- Lamparinas (2)
- Fósforos

Colheita da amostra

- Saco de colheita esterilizado
- Proveta 250mL esterilizada
- Recipiente para resíduos
- Copo do homogeneizador esterilizado
- Caneta

Equipamentos:

- Balança desinfectada
- Homogeneizador esterilizado
- Refrigerador

A. Recolha da amostra

1. Lavar e desinfectar as mãos com álcool etílico a 96°.
2. Recolher com uma pinça esterilizada a amostra de salada para um saco de colheita esterilizado.
3. Identificar a amostra (nome, produto, data).
4. Fechar muito bem o saco e transportá-lo para o laboratório em mala térmica com acumuladores de frio. Manter refrigerado a $2 \pm 2^{\circ}$ C até ao momento da realização das análises.

B. Preparação da amostra de salada para análise microbiológica

1. Lavar e desinfectar as mãos.
2. Em ambiente asséptico, pesar 25 g da amostra no copo do homogeneizador.
3. Medir numa proveta 225 mL de água peptonada 0,1% esterilizada e adicioná-la à amostra.
4. Adicionar no liquidificador e homogeneizar durante 1 minuto.

Procedimento 3: Controlos de laboratório

Realizar controlos ao ambiente asséptico e à superfície da bancada de trabalho em todos os parâmetros em estudo.

Material:

Ambiente asséptico

- Álcool
- Pinça esterilizada
- Algodão
- Lamparinas (2)
- Fósforos
- Recipiente para resíduos

Meio de cultura:

- Meio de cultura PCA (Plate Count Ágar)
- Meio de Cultura Rose-Bengal

- Água destilada esterilizada
- Balão de Erlenmeyer 250mL esterilizado
- Proveta 250mL esterilizada
- Espátula esterilizada
- Folha de alumínio

Inoculação:

- Caixas de Petri esterilizadas
- Placas de contacto

- Caneta de acetato

Equipamentos:

- Balança desinfectada
- Estufa
- Placa de aquecimento
- Autoclave/panela de pressão
- Banho-maria
- Refrigerador
- Contador de UFC

A. PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA:

1. Preparar o meio de cultura PCA, suspendendo 23,5 g de meio em 1000 mL de água destilada;
2. Preparar o meio de cultura Rose Bengal em pó num balão de Erlenmeyer, suspendendo 3 2g de meio em 1000 mL de água destilada;
3. Aquecer a preparação na placa de aquecimento até dissolver o conteúdo;
4. Esterilizar na panela de pressão, levando à ebulição durante 15 minutos;
5. Reservar em banho-maria até ao momento de utilização.

B. CONTROLO DO AMBIENTE ASSÉPTICO:

Para análise de presença de bactérias:

1. Manter aberta uma caixa de Petri contendo meio de cultura PCA, dentro do ambiente asséptico, durante o trabalho analítico;
2. Fechar a caixa de Petri e identificá-la (meio de cultura, método de análise, tipo de controlo e data da realização);
3. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $48\pm 4\text{h}$.

Para análise de presença de fungos:

1. Abrir uma caixa de Petri, dentro do ambiente asséptico, contendo meio de cultura Rose-Bengal e deixá-la durante o processo de análises;
2. Fechar a caixa e identificá-la como referido anteriormente (passo 2 da análise de presença de bactérias)
3. Incubar a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $48\pm 4\text{h}$.

C. CONTROLO DE SUPERFÍCIE:**Para análise de presença bactérias:**

1. Encher placas de contacto com o meio de cultura PCA, fechar imediatamente, e conservar refrigerado a $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$ até ao momento de utilização;
2. Em ambiente asséptico, inverter a placa destapada sobre a bancada de trabalho e pressionar ligeiramente;
3. Fechar rapidamente a placa de contacto e identificá-la como referido anteriormente (passo 2 da análise de presença de bactérias);
4. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $48\pm 4\text{h}$.

Para análise de presença de fungos:

1. Encher placas de contacto com o meio de cultura Rose-Bengal, fechar imediatamente, e conservar refrigerado a $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$ até ao momento de utilização;
2. Em ambiente asséptico, inverter a placa destapada sobre a bancada de trabalho e pressionar ligeiramente;
3. Fechar rapidamente a placa de contacto e identificá-la como referido anteriormente (meio de cultura, método de análise, tipo de controlo e data da realização)
4. Incubar a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $48\pm 4\text{h}$.

Procedimento 4: Enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C (totais)

Material:

Ambiente asséptico

- Álcool
- Espátula esterilizada
- Algodão
- Lamparinas (2)
- Fósforos

Meio de cultura:

- Meio de cultura PCA (Plate Count Ágar)
- Água destilada esterilizada
- Balão de Erlenmeyer 250mL esterilizado
- Proveta 250mL esterilizada
- Espátula esterilizada
- Folha de alumínio

Inoculação:

- Pipetas 1mL esterilizadas
- Caixas de Petri esterilizadas
- Placas de contacto
- Caneta
- Propipeta

Equipamentos:

- Balança desinfectada
- Estufa
- Autoclave/panela de pressão
- Banho-maria
- Refrigerador
- Contador de UFC

A. PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

1. Preparar o meio de cultura PCA (suspender 23,5 g de meio para 1000 mL de água destilada);
2. Aquecer o meio na placa de aquecimento até à ebulição;
3. Esterilizar na panela de pressão, levando à ebulição durante 15 minutos;
4. Reservar em banho-maria até ao momento de utilização (no próprio dia) ou no refrigerado a $2\pm 2^\circ\text{C}$, até 7 dias.

B. PRIMEIRO TEMPO

Controlo da inoculação:

1. Em ambiente asséptico, encher caixas de Petri com cerca de 15-20 mL meio de cultura PCA;
2. Incorporar 1mL de água destilada esterilizada em caixas de Petri contendo PCA ainda líquido;
3. Fechar as caixas, dispersar o inoculo e identificá-las.
4. Incubar a $22\pm 2^\circ\text{C}$ durante $68\pm 4\text{h}$.
5. Repetir os procedimentos anteriores (passos 1 a 3), incubando a $37\pm 2^\circ\text{C}$ durante $44\pm 4\text{h}$

Análise da(s) amostra(s)

1. Em ambiente asséptico, encher 2 caixas de Petri com cerca de 15-20 mL meio de cultura PCA;
2. Pipetar 1 mL da amostra para as caixas de Petri contendo o meio de cultura ainda líquido (técnica de inoculação por incorporação);
3. Dispersar e identificar as caixas de Petri (meio de cultura, método de análise, tipo de controlo e data da realização);
4. Deixar solidificar, inverter e incubar as caixas de Petri a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $44\pm 4\text{h}$ e o outro conjunto a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $68\pm 4\text{h}$.

C. SEGUNDO TEMPO

1. Observar as caixas assim que terminar o tempo de incubação ou armazená-las a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ e fazer a observação num período de 48h;
2. Exprimir os resultados como número de UFC/mL da amostra para cada temperatura;
3. Se não existirem colónias nas caixas inoculadas com a amostra não diluída, exprimir os resultados como não detectados por mL. Se existirem mais de 300 colónias nas caixas inoculadas com a diluição mais alta utilizada, exprimir os resultados como > 300 .

Procedimento 5: Enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de *E. coli*

Material:

<u>Ambiente asséptico</u>		
- Álcool	- Balão de Erlenmeyer 250mL esterilizado	- Placas de contacto esterilizadas
- Pinça esterilizada	- Proveta 250mL esterilizada	- Ansa de inoculação
- Algodão	- Espátula esterilizada	- Suporte para tubos
- Lamparinas (2)	- Folha de alumínio	- Caneta
- Fósforos		- Parafilme
		- Propipeta
<u>Meio de cultura:</u>	<u>Inoculação:</u>	Equipamentos:
- Meio de cultura Caldo Bile Verde Brilhante	- Amostra(s)	- Balança desinfetada
- Meio de cultura PCA (Controlo ambiente asséptico e superfície)	- Tubos de ensaio	- Estufa
- Água destilada esterilizada	- Pipetas 1mL esterilizadas	- Autoclave/panela de pressão
	- Pipetas 10 mL esterilizadas	- Banho-maria
	- Caixas de Petri esterilizadas	- Refrigerador
		- Contador de UFC

A. PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

1. Preparar o meio de cultura Caldo BÍlis Verde Brilhante (CBVB) num balão de Erlenmeyer, suspendendo 40 g de meio para 1000 mL de água destilada;
2. Aquecer a preparação na placa de aquecimento até à ebulição;
3. Esterilizar na panela de pressão, levando à ebulição durante 15 minutos.

B. PRIMEIRO TEMPO

Controlo da inoculação:

1. Pipetar 10 mL de água destilada esterilizada para um tubo de Durhan contendo 10 mL de meio de cultura CBVB;
2. Pipetar 1 mL de água destilada esterilizada para um tubo de Durhan contendo 10 mL de meio de cultura CBVB;
3. Pipetar 0,1 mL de água destilada esterilizada para um tubo de Durhan contendo 10 mL de meio de cultura CBVB;
4. Tapar os tubos com vitafilme e identificá-los (meio de cultura, método de análise e data da realização).

Análise da(s) amostra(s)

1. Inocular uma série de 5 tubos de Durhan, pipetando 10 mL do meio CBVB com 10 mL da amostra;
2. Inocular uma série de 5 tubos de Durhan pipetando 10 mL do meio CBVB com 1 mL da amostra;
3. Inocular uma série de 5 tubos de Durhan pipetando 10 mL do meio CBVB com 0.1 mL da amostra;
4. Tapar com parafilme e identificá-los;
5. Levar a incubar a $37\pm 0.5^{\circ}$ C, durante 24 ± 2 horas. Findo esse tempo reservar no frigorífico até a sua utilização.

C. SEGUNDO TEMPO: TESTE PRESUNTIVO

1. Verificar a produção de gás nos tubos, anotando o número de tubos positivos e negativos em cada série;
2. Determinar o NMP de microrganismos coliformes na amostra numa tabela de McCrady.

D. TERCEIRO TEMPO: TESTE CONFIRMATIVO

1. Repicar com uma ansa de inoculação os tubos positivos para novos tubos de Durhan contendo 10 mL de meio de cultura CBVB;
2. Tapar com parafilme e identificá-los;
3. Levar a incubar a $37\pm 0.5^{\circ}$ C, durante 24 ± 2 horas. Findo esse tempo reservar no frigorífico até a sua utilização.

E. TESTE FINAL

1. Repicar com uma ansa os tubos positivos para novos tubos de Durhan contendo 10 mL de meio de cultura CBVB;
2. Tapar com vitafilme e identificá-los;
3. Levar a incubar a 44.5° C durante $24+24$ horas;
4. Após o tempo de incubação verificar a produção de gás nos tubos, anotando o número de tubos positivos e negativos em cada série;
5. Determinar o NMP de coliformes fecais na amostra numa tabela de McCrady.

F. DETECÇÃO DE *E. COLI* (TESTE DO INDOL)

1. Repicar com uma ansa de inoculação os tubos positivos para novos tubos contendo 10 mL de meio peptonado. Tapar com vitafilme e identificá-los;
2. Levar a incubar a 44.5° C durante $24+24$ horas. Findo esse tempo reservar no frigorífico até a sua utilização.
3. Adicionar uma gota de reagente de Kovacs a cada um dos tubos;
4. Registrar a formação de um anel cor-de-rosa é um resultado positivo que indica a presença de *E. coli* na amostra.

Procedimento 6: Detecção de *Salmonella*

Material:

Ambiente asséptico

- Álcool
- Pinça esterilizada
- Algodão
- Lamparinas (2)
- Fósforos

Meio de cultura:

- Meio de cultura MacConkey
- Meio de cultura PCA (Controlo ambiente asséptico e superfície)
- Meio de cultura Muller-Kauffmann Tetracionato
- Meio de cultura Citrato de Simmons

- Solução de iodo
- Água destilada esterilizada
- Balão de Erlenmeyer 100mL esterilizado
- Proveta 100mL esterilizada (3)
- Proveta 50mL
- Pipeta 2mL
- Espátula esterilizada (3)
- Folha de alumínio

Inoculação:

- Tubos de ensaio esterilizados
- Pipetas 1mL esterilizadas

- Pipetas 10 mL esterilizadas
- Caixas de Petri esterilizadas
- Placas de contacto
- Parafilme
- Caneta
- Propipeta

Equipamentos:

- Balança desinfectada
- Estufa
- Autoclave/panela de pressão
- Banho-maria
- Refrigerador
- Contador de UFC

A. PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

1. Preparar o meio de cultura Müller-Kauffman em pó num balão de Erlenmeyer, suspendendo 89,4 g de meio em 1000 mL de água destilada;
2. Aquecer o meio até dissolver completamente; Deixar arrefecer até cerca de 45-50° C;
3. Adicionar 2 mL de solução de iodo preparada dissolvendo 20 g de iodo e 25 g de iodeto de potássio em 100 mL de água;
4. Preparar o meio de cultura Agar de MacConkey (MAC), suspendendo 51,5 g de meio em 1000 mL de água destilada. Aquecer o meio na placa de aquecimento até dissolver o conteúdo e esterilizar na panela de pressão (ebulição durante 15 minutos). Reservar em banho-maria até ao momento de utilização.
5. Preparar o meio de cultura Citrato de Simmons, suspendendo 24 g do meio para 1000 mL de água destilada. Aquecer na placa de aquecimento até dissolver o conteúdo e esterilizar na panela de pressão (ebulição durante 15 minutos).

B. ANÁLISE DA AMOSTRA

1. Incubar o homogeneizado da amostra a $37 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 16 a 20 horas (enriquecimento).
2. Transferir 1 mL do homogeneizado da amostra após incubação para um tubo de ensaio com 10 mL de Caldo de Muller-Kauffmann Tetrionato de Novobiocina (isolamento selectivo).
3. Incubar a $37 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 24 ± 3 horas.
4. Inocular 1 mL da amostra incubada em Caldo de Müller-Kauffmann:
 - 4.1. Pelo método de incorporação, numa caixa de Petri contendo Caldo de MaConkey. Incubar a $37 \pm 1^\circ \text{C}$.
C. Confirmar a presença de *Salmonella* observadas como colónias incolores.
 - 4.2. Num tubo de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura Citrato de Simmons. Incubar a $37 \pm 1^\circ \text{C}$.
confirmar a presença de *Salmonella typhimurium* se o meio desenvolver a cor azul e de *Salmonella typhi* se o meio desenvolver cor verde.

Procedimento 7: Detecção de fungos

Material:

Ambiente asséptico

- Álcool
- Espátula esterilizada
- Algodão
- Lamparinas (2)
- Fósforos

Meio de cultura:

- Meio de cultura PCA
- Meio de cultura Rose Bengal
- Água destilada esterilizada

- Balão de Erlenmeyer 250mL esterilizado
- Proveta 250mL esterilizada
- Espátula esterilizada
- Folha de alumínio

Inoculação:

- Pipetas 1mL esterilizadas
- Espalhador em L esterilizado
- Caixas de Petri esterilizadas

- Placas de contacto
- Caneta
- Propipeta

Equipamentos:

- Balança desinfectada
- Estufa
- Autoclave/panela de pressão
- Banho-maria
- Refrigerador
- Contador de UFC

A. PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

1. Preparar o meio de cultura Rose Bengal num balão de Erlenmeyer, suspendendo 32 g de meio em 1000 mL de água destilada;
2. Aquecer a preparação na placa de aquecimento até à ebulição;
3. Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos;
4. Reservar em banho-maria até ao momento de utilização.

B. PRIMEIRO TEMPO

Controlo ao processo de inoculação:

1. Encher caixas de Petri com cerca de 15-20 mL meio de cultura Rose Bengal;
2. Inocular pela técnica do espalhador 1mL de água destilada esterilizada em caixas de Petri contendo 15-20mL de meio Rose Bengal sólido.
3. Fechar as caixas e identificá-las (meio de cultura, método de análise e data da realização).

Análise da(s) amostra(s)

5. Encher caixas de Petri com cerca de 15-20 mL meio de cultura Rose Bengal;
6. Inocular pela técnica do espalhador 1 mL da amostra para caixas de Petri contendo o meio de cultura;
7. Identificar as caixas de Petri (meio de cultura, método de análise e data da realização.)
8. Incubar a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante $72 \pm 4\text{h}$.

C. SEGUNDO TEMPO

1. Observar as caixas assim que terminar o tempo de incubação ou armazená-las a $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fazer a observação num período de 48h;
2. Verificar a presença de fungos nas caixas e identificá-los.

Procedimento 8: Prospecção de Protistas

Material:

Prospecção

- Folhas de alface
- Tina
- Proveta de 100 mL
- Tubos de centrífuga

Observar ao MOC

- Agulhas de dissecação

- Lamelas
- Lâminas
- Pipeta de Pasteur
- Tetina

Equipamentos

- MOC (Microscópio Óptico Composto)
- Centrifugadora

A. PROSPECÇÃO DE PROTISTAS EM ÁGUA DE LAVAGEM

1. Medir 150 ml de água numa proveta e transferir para um gobelé ou pequena tina.
2. Lavar vigorosamente as folhas de alface nessa água.
3. Distribuir o líquido filtrado por tubos de centrífuga e centrifugá-los a 2500 rpm durante 1 minuto.
4. Eliminar a maior parte do sobrenadante e reservar o *pellet* e cerca de 1 cm (em altura) do líquido de todos os tubos.

B. OBSERVAÇÃO DE PREPARAÇÕES AO MOC

1. Com uma pipeta de Pasteur colocar 1-2 gotas do líquido do *pellet* numa lâmina;
2. Com a ajuda de uma agulha de dissecação colocar a lamela sobre a lâmina fazendo um ângulo de 45° e deixando cair devagar para evitar a formação de bolhas de ar;
3. Observar ao MOC e registar os resultados, filmando os protistas presentes.

IV. Resultados

Resultados do processo de “Controlo higiénico-sanitário das saladas preparadas no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua” incluem a análise gráfico-estatística das respostas dadas pelos assistentes operacionais que trabalham no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua ao questionário aplicado e os resultados do trabalho analítico de controlo microbiológico de saladas preparadas no referido espaço.

1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL

Os resultados da avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas pelos assistentes operacionais que trabalham no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua estão apresentados nos gráficos 1 a 26.

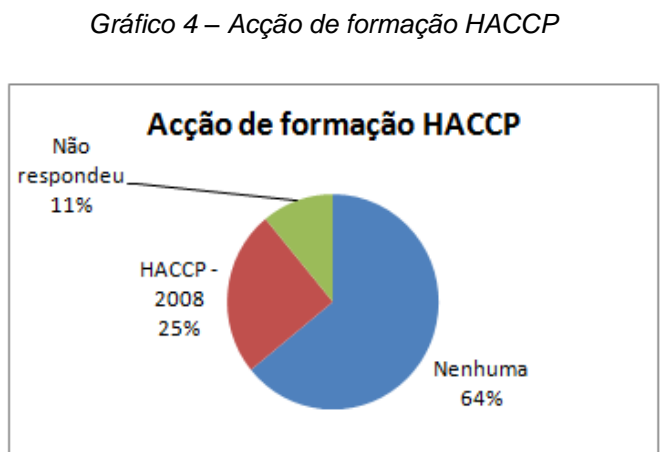
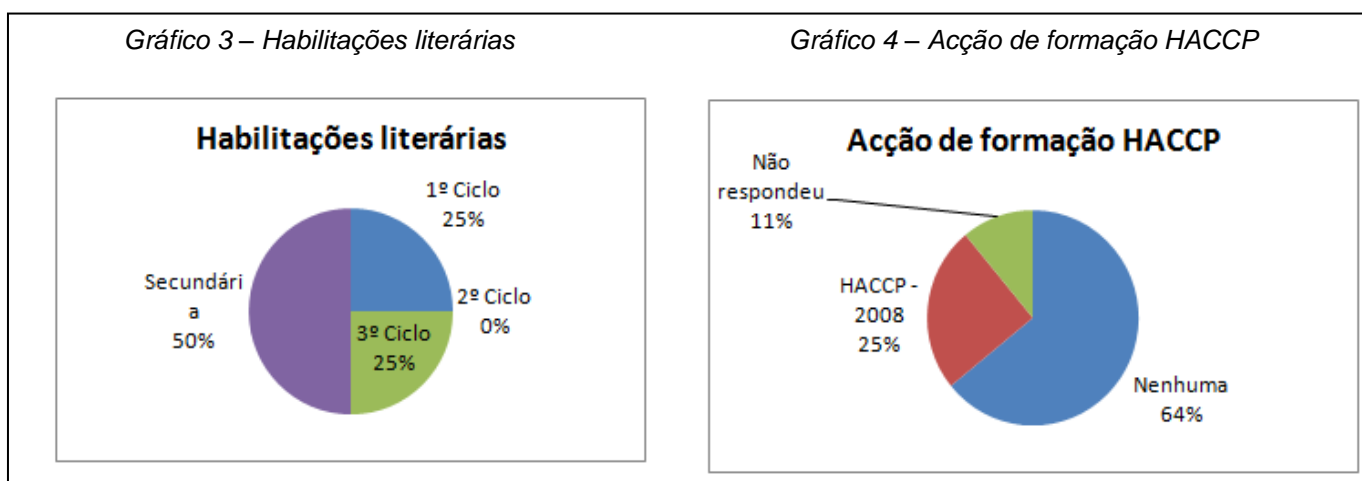
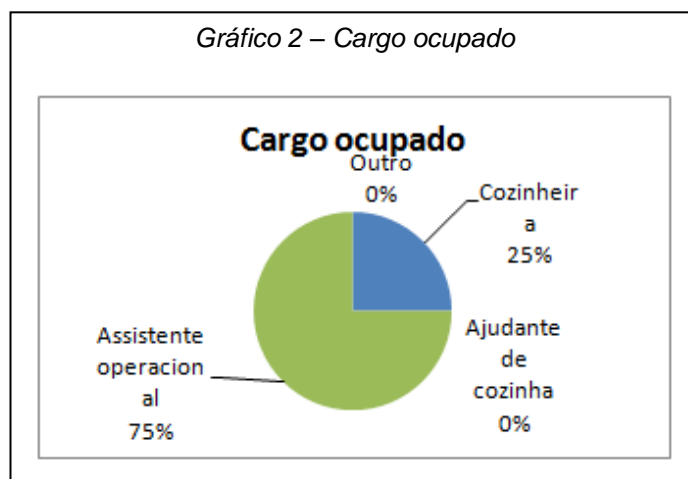
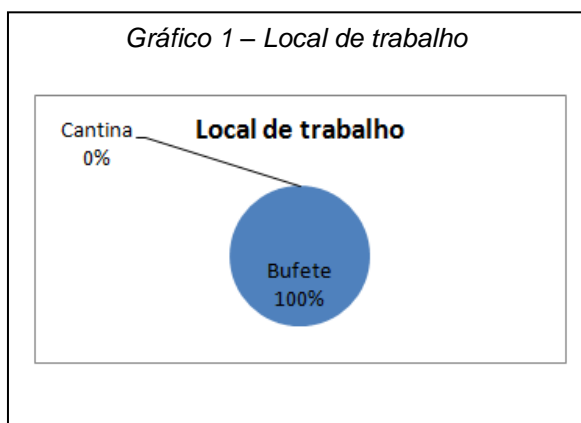


Gráfico 6 – Aplicação desse plano no dia-a-dia de trabalho

Gráfico 5 – Conhecimento do plano de HACCP da escola

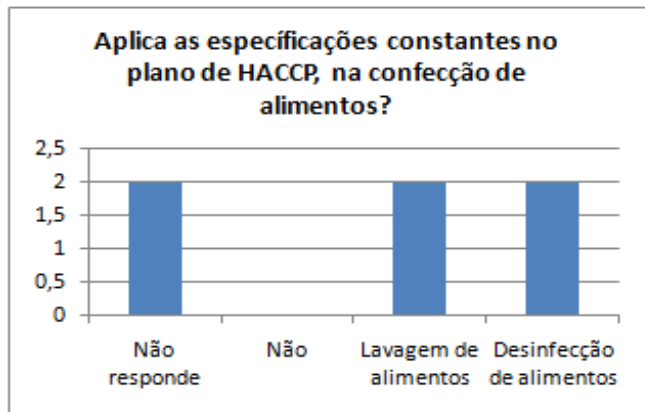
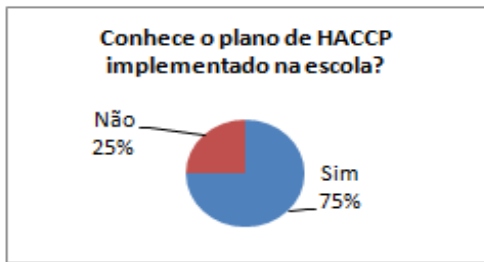


Gráfico 7 – Produtos de limpeza usados nas áreas de preparação de alimentos

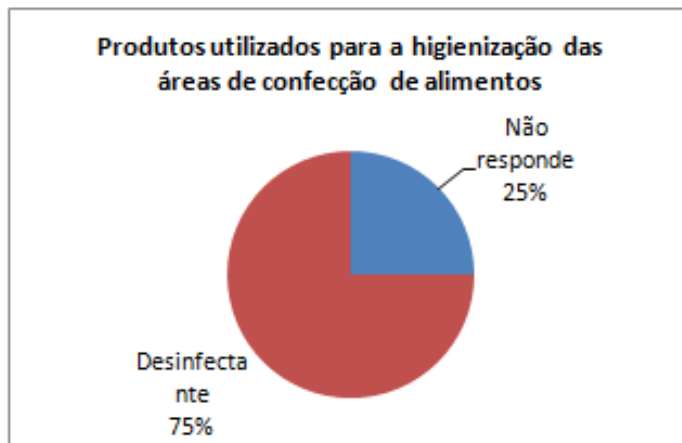


Gráfico 8 – Áreas de lavagem de mãos existentes no local

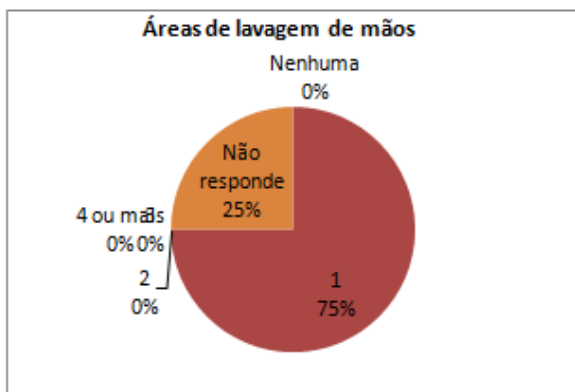


Gráfico 9 – Organização do espaço por áreas



Gráfico 10 – Frequência de higienização dos alimentos

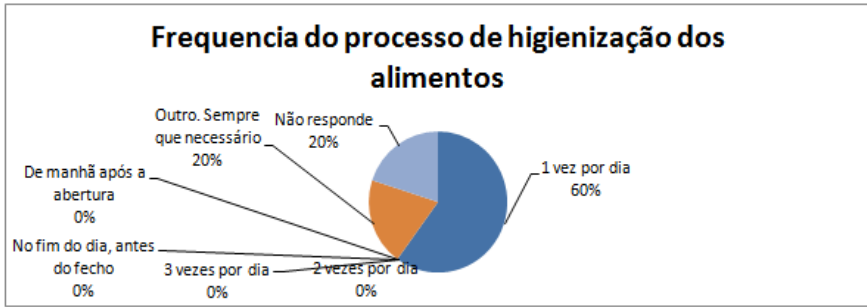


Gráfico 11 – Recipientes de resíduos existentes

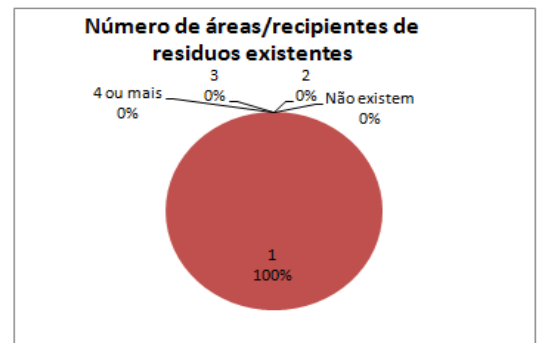


Gráfico 12 – Local de lavagem das saladas

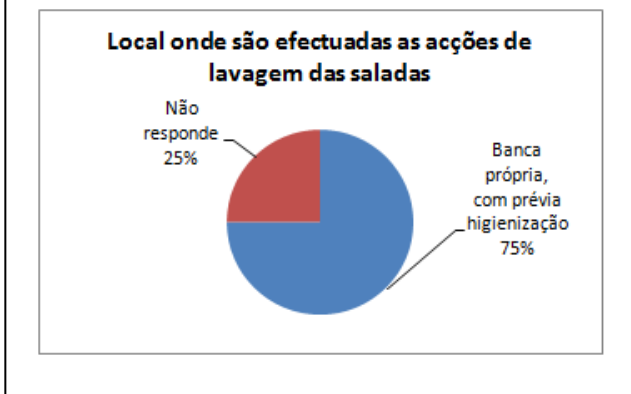


Gráfico 13 – Alimentos processados com saladas

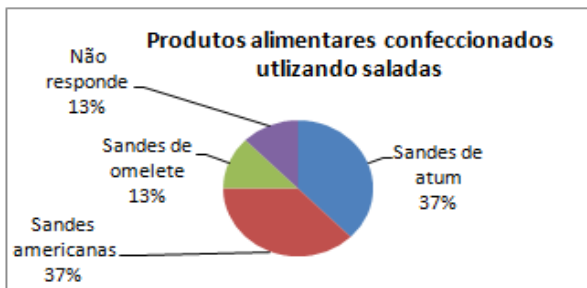


Gráfico 14 – Variedades hortícolas utilizadas na confecção de alimentos

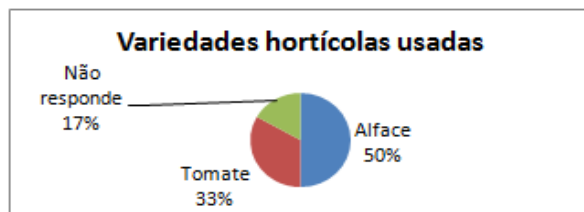


Gráfico 15 – Utilização de adornos, limpeza de vestuário

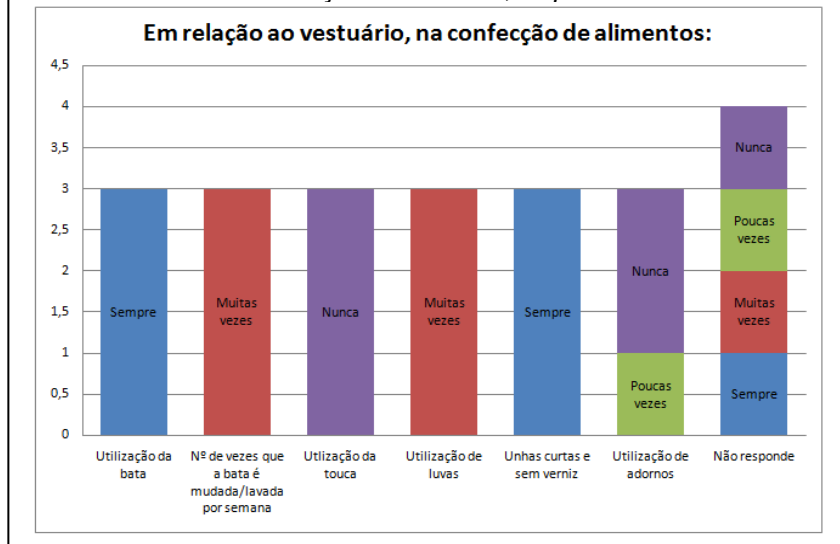


Gráfico 16 – Higieneização das mãos

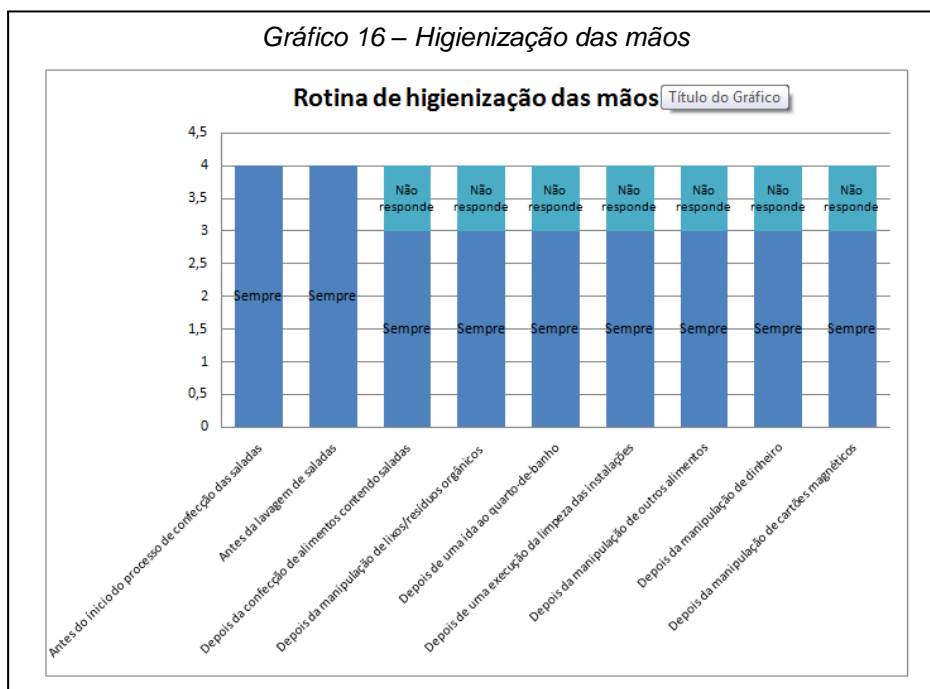


Gráfico 17 – Mudanças de água de lavagem

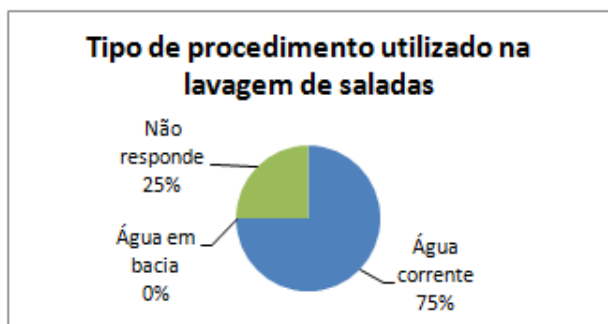


Gráfico 18 – Procedimento na lavagem de saladas

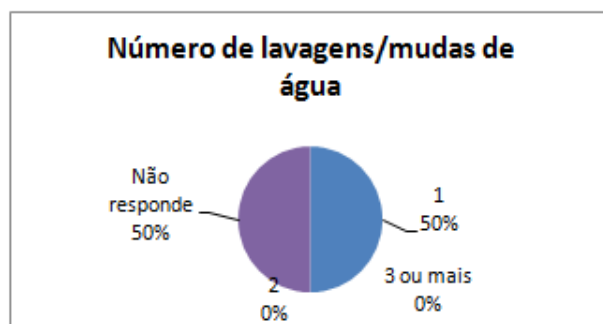


Gráfico 19 – Local e tempo máximo de armazenamento das saladas

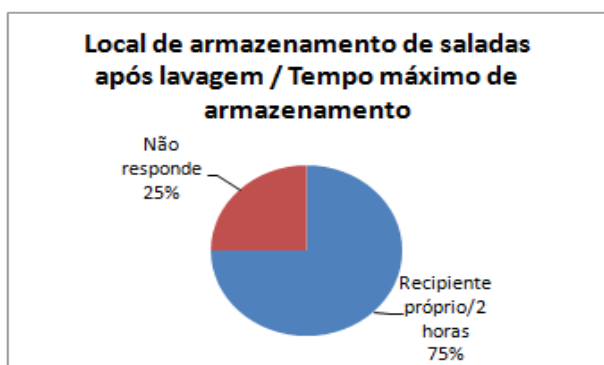


Gráfico 20 – Tipo de recipiente de armazenamento

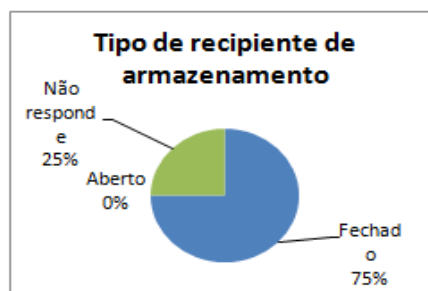


Gráfico 21 – Excedente da salada



Gráfico 22 – Armazenamento do produto pronto



Gráfico 23 – Produtos desinfectantes utilizados

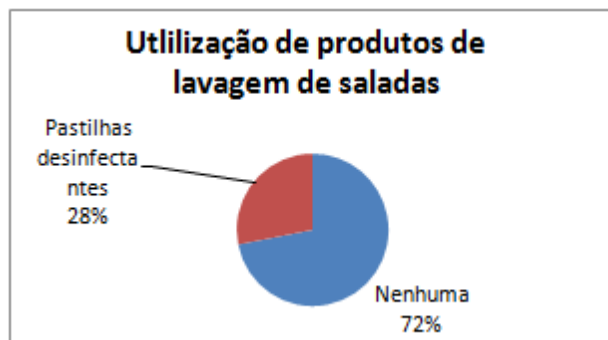


Gráfico 24 – Tempo de aplicação dos produtos de lavagem

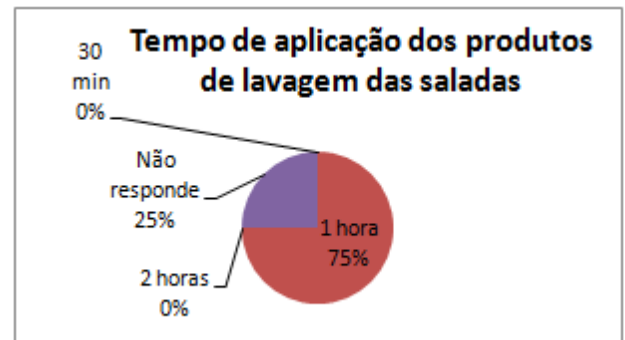
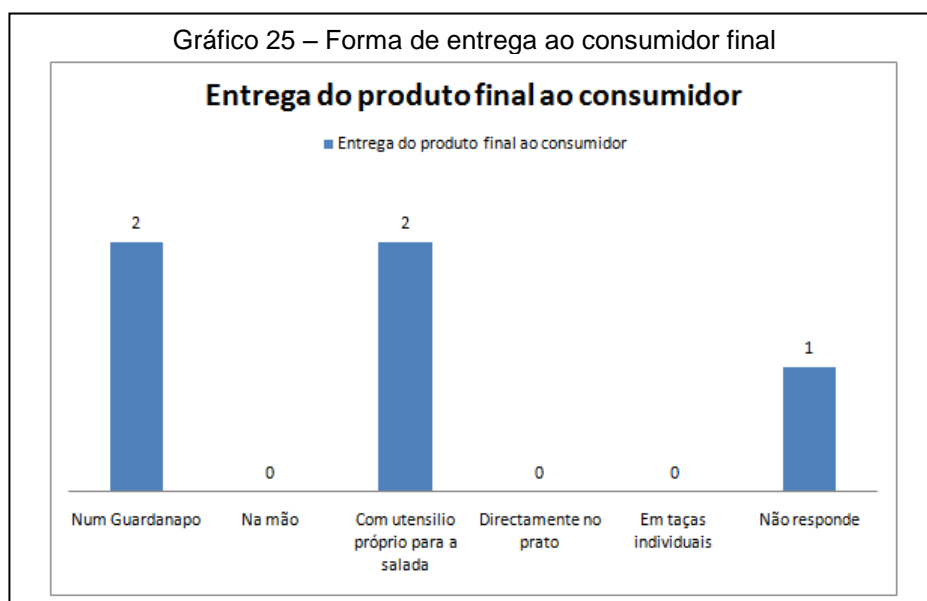


Gráfico 25 – Forma de entrega ao consumidor final



2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL

Os resultados obtidos no estudo microbiológico de saladas usadas na confecção de refeições no bar da Escola relativos aos parâmetros microbiológicos “enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C”, “enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de *E. coli*”, “detecção de *Salmonella*”, “detecção de fungos” e “prospecção de protistas”, estão representados nas tabelas 1 a 6.

Os resultados apresentados reportam a duas colheitas, realizadas a 19 de Janeiro e a 2 de Fevereiro de 2011. Na primeira colheita, apenas se colectou alface recém-lavada em água corrente enquanto na segunda colheita se recolheu alface lavada em água corrente e com o desinfectante AMUKINA durante 3 minutos.

Tabela 1. Resultados dos controlos de laboratório

		1ª Colheita 19/01/2011	2ª Colheita 02/02/2011
Meio de Cultura PCA	Controlo ambiente	>300 UFC	32 UFC
	Controlo inoculação	Presença Fungos	-
	Controlo bancada	>300 UFC	-
Meio de Cultura Rose Bengal	Controlo inoculação	1 <i>Aspergillus</i>	-
	Controlo ambiente	1 <i>Penicillium</i>	3 <i>Penicillium</i> 1 <i>Rizhopus</i>
	Controlo bancada	2 <i>Penicillium</i> 1 <i>Aspergillus</i>	-

(-) Controlos não realizados.

Tabela 2. Resultados da análise de enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C (totais) em saladas procedentes do bar da ESPL

Amostras	1ª Colheita 19/01/2011		2ª Colheita 02/02/2011	
	Sem amukina	Com amukina	Sem amukina	Sem amukina
	Contagem de UFC/mL	Contagem de UFC/mL	Contagem de UFC/mL	Contagem de UFC/mL
22°C	>300 UFC	131 UFC	>300 UFC	
37°C	>300 UFC	247 UFC	0 UFC	

Tabela 3. Resultados da análise de enumeração de coliformes totais, coliformes fecais e detecção de *E. coli* em saladas procedentes do bar da ESPL

Amostra sem amukina	1ª Colheita 19/01/2011 (gás +)			NMP/ 100 mL	2ª Colheita 02/02/2011 (gás +)			NMP/ 100 mL
	10:10	10:1	10:0,1		10:10	10:1	10:0,1	
Teste Presuntivo	4	5	5	55	3	2	5	20
Teste Confirmativo	1	2	1	8	2	1	2	12
Teste Final	1	2	1	8	2	1	2	12
<i>E. coli</i>	Anel negro	Anel negro	Anel negro		Anel negro	Anel negro	Anel negro	
Amostra com amukina								
Teste Presuntivo	-	-	-	-	2	4	4	15
Teste Confirmativo	-	-	-	-	1	0	2	6
Teste Final	-	-	-	-	1	0	2	6
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Anel negro	Anel negro	Anel negro	

(-) Análise não realizada por ausência de amostra de salada de salada com amukina na colheita.

Tabela 4. Resultados da detecção de fungos em saladas procedentes do bar da ESPL

Amostras	1ª Colheita 19/01/2011		2ª Colheita 02/02/2011	
	Sem amukina	Com amukina	Sem amukina	Com amukina
Ensaio 1	2 espécimes <i>Aspergillus</i>	2 espécimes <i>Penicillium</i>	13 espécimes <i>Penicillium</i>	
	1 espécimes <i>Penicillium</i>	1 espécimes <i>Aspergillus</i>		
Ensaio 2	2 espécimes <i>Aspergillus</i>	6 espécimes <i>Penicillium</i>	0 fungos	
		1 espécimes <i>Aspergillus</i>		

Tabela 5. Resultados da detecção de *Salmonella* em saladas procedentes do bar da ESPL

Amostra	1ª Colheita 19/01/2011		2ª Colheita 02/02/2011	
	MacConkey	Citrato de Simmons	MacConkey	Citrato de Simmons
Sem amukina	0 UFC	Azul	0 UFC/mL	Azul
Com amukina	-	-	0 UFC/mL	Azul

(-) Análise não realizada por ausência de amostra de salada de salada com amukina na colheita.

Tabela 6. Resultados da prospecção de Protistas em saladas procedentes do bar da ESPL

Preparações												
Preparação extemporânea	25/01/2011				08/02/2011							
	Sem amukina				Sem Amukina				Com Amukina			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Quistos	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paramecium</i>	7	>10	>10	>10	1	>10	4	>10	0	0	0	0
<i>Colpoda</i>	>100	>100	>100	>100	>10	>10	>10	>20	0	0	0	0
<i>Volvox</i>	3	1	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didinium</i>	5	>10	7	4	0	0	0	0	0	0	0	0

V. Discussão de resultados

1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL

Os resultados da avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas pelos assistentes operacionais que trabalham no bar da Escola Secundária do Padrão da Légua estão apresentados nos gráficos de 1 a 25.

Os resultados permitem, assim, constatar que os trabalhadores do local onde foi realizada a análise são na maioria assistentes operacionais sem qualquer tipo de formação a esse nível. Apenas 25% dos entrevistados possuíam carteira profissional na área da cozinha. (gráfico 2). Ainda sobre os trabalhadores verificou-se que uma minoria apenas possui formação em HACCP e quanto às habilitações literárias 50% possuíam qualificações ao nível do 12ºano e o resto ao nível do 1º e 2º ciclo. Sobre o plano de HACCP da escola verifica-se que 75% dos trabalhadores conhece-o e aplica-o normalmente na lavagem e desinfecção de alimentos. (gráficos 3 a 6)

Quanto ao espaço de trabalho, a estatística dos questionários elaborada em gráficos demonstrou que é um local onde existe uma área de lavagem de mãos, no entanto este não está organizado por áreas de confecção de alimentos mas são utilizados desinfectantes nos locais de preparação de alimentos. Uma outra resposta dada nos questionários foi que os alimentos utilizados são higienizados maioritariamente apenas 1 vez por dia. Existe apenas um recipiente para resíduos no local. (gráficos 7 a 12).

Relativamente à confecção das saladas, as respostas mostram que estas são utilizadas no processamento de sandes de atum, de omelete e americanas. As variedades hortícolas mais utilizadas foram a alface e o tomate (gráficos 13 e 14).

Quanto ao seguimento de normas de higiene dos próprios manipuladores verifica-se que estes utilizam sempre a bata lavada quase sempre também, assim como a utilização de luvas que também é sempre aplicada aquando da manipulação dos alimentos. A utilização de touca é que falha pois nunca é usada mas existe a preocupação em retirar os adornos e em manter as unhas curtas e sem verniz. No que toca à lavagem das mãos é de salientar que é efectuada em todos os casos questionados sem considerar as respostas em branco, ou seja, os manipuladores higienizam as mãos antes de qualquer contacto com alimentos. (gráficos 15 e 16).

Na lavagem das saladas propriamente dita observou-se nas respostas dadas que esta é higienizada uma vez com água corrente sendo depois armazenada em recipiente próprio fechado no máximo até 2 horas. Paralelamente são usadas pastilhas desinfectantes aplicadas durante 1 hora. Se sobrar salada, esta é reutilizada no dia seguinte. (gráficos 17 a 20 e 22 a 24).

Quando o produto já está confeccionado, verifica-se que este é armazenado em expositor refrigerado e entregue ao consumidor final em guardanapo ou com um utensílio próprio para a salada. (gráficos 21 e 25)

2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL

O estudo microbiológico de saladas usadas na confecção de refeições no bar da Escola teve por base a realização de duas colheitas, a 19 de Janeiro e a 02 de Fevereiro de 2011, em que na primeira colheita, apenas se colectou alface lavada em água corrente enquanto na segunda colheita se recolheu alface lavada em água corrente e higienizada com o desinfectante AMUKINA durante 3 minutos. Estas saladas foram sujeitas à análise dos parâmetros “enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C”, “enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de *E. coli*”, “detecção de *Salmonella*”, “detecção de fungos” e “prospecção de protistas”.

Paralelamente às análises foram realizados controlos nomeadamente: Controlo de ambiente asséptico, controlo da inoculação e controlo da bancada de trabalho.

Na colheita realizada no dia 19/01/2011, relativamente aos resultados obtidos referentes aos controlos de laboratório que podem permitir apreciar a ocorrência eventual de situações de contaminação associada às análises realizadas e que estão apresentados na tabela 1, pode-se afirmar que estes revelam alta contaminação do ambiente asséptico uma vez que o crescimento bacteriano foi superior a 300 UFC, quer no controlo do ambiente, quer no controlo da bancada de trabalho. Relativamente ao controlo da inoculação verificou-se também alta contaminação mas neste caso fúngica, nomeadamente pelas espécies *Rizhopus* (verde escuro), *Aspergillus* (fungo de cor branca) e *Penicillium* (apresentado pela cor verde).

No caso da colheita realizada no dia 02/02/2011, em que apenas foi realizado o controlo do ambiente asséptico registou-se melhoria na qualidade do ambiente de trabalho pois o grau de contaminação reduziu-se de >300 UFC/mL para apenas 32 UFC/mL no caso do controlo bacteriano. O controlo fúngico não apresentou grandes alterações nesta 2ª colheita. (tabela 1).

Pressupõe-se que esta contaminação quer bacteriana, quer fúngica, deve-se ao facto de as instalações onde foram realizadas as análises não serem as mais adequadas para o efeito, declarando-se assim que o laboratório possui elevada contaminação devido à falta de condições de equipamentos (autoclave, estufas), de organização (sistema de marcha em frente) e higiene verificados. Para evitar que o acontecimento volte a ocorrer sugere-se reestruturação em todo o laboratório, uma modificação do aspecto deste, evitando assim acumulações de sujidade que venham a ser lugares propícios ao desenvolvimento de microrganismos, e se isto não for possível aconselha-se mesmo a realizar análise noutra local mais adequado, ou seja, para resolver o caso só mesmo a construção de um novo laboratório com uso exclusivo para trabalho microbiológico.

No caso dos resultados relativos ao parâmetro microbiológico “enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C” apresentados na tabela 2, realizados nas saladas da 1ª colheita, estes demonstram que as amostras de salada submetidas quer a 22°C, quer a 37°C, não possuem qualquer significado pois face aos resultados dos controlos, o seu crescimento microbiano de >300UFC/mL pode ter sido devido à contaminação do ambiente de trabalho pelas razões já descritas em cima. No caso das análises feitas às saladas da 2ª colheita, os resultados de 131UFC/mL na amostra a 22° C com amukina, de 247 UFC/mL na amostra a 37°C com amukina, de >300 UFC/mL na amostra a 22° C sem amukina e de 0 UFC/mL na amostra a 37° C sem

amukina, ainda estão afectados pela baixa qualidade do ambiente asséptico pelo que apesar de não terem sido consideradas válidas, é de indicar que o crescimento sendo maior sugere a presença de bactérias com origem na salada.

De seguida, a análise “enumeração de coliformes totais, fecais e detecção de *E. coli*” realizada também em duas colheitas e cujos resultados estão representados na tabela 3, estes são indicativos de presença de coliformes totais e fecais tanto na 1ª colheita como na 2ª colheita tendo havido menor abundância nesta última. Observou-se então na colheita do dia 19/01/2011, 8 NMP/100 mL de coliformes totais confirmados dos todos eram estreptococos fecais. Já na outra colheita, a análise confirmou que existiam 12 NMP/100mL de coliformes totais na salada lavada apenas com água (sem amukina) sendo todos também estreptococos fecais. No entanto na amostra de salada emergida durante 3 minutos em amukina, os resultados reportaram a existência de 6 NMP/100 mL de coliformes totais confirmando-se serem todos estreptococos fecais. Com a avaliação da presença de *Escherichia coli* na salada, pôde-se afirmar que houve ausência desta em todas as amostras pois não se formou um anel rosa/avermelhado na superfície dos tubos que confirmava a presença da bactéria, formou-se um anel negro, que significa um resultado negativo quanto à presença de *E.coli*.

Este resultado esteve em parte de acordo com o Regulamento (CE) Nº 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007 (em que de 5 amostragens de 25g, 2 poderão conter este microrganismo) mas não totalmente pois apenas a amostra de alface sem amukina da 2ª colheita possuía 5 amostras, as restantes não se pode afirmar estarem dentro do parâmetro estabelecido pela lei pois havia um número insuficiente de amostragens. Também se denota, nesta análise que a amukina produz algum efeito nos coliformes totais e fecais mas não muito relevante pois a diferença entre as amostras era pouca. (tabela 3).

Paralelamente foi verificada a presença de fungos nestas amostras (tabela 4), em que os resultados obtidos apontam que existe contaminação fúngica que apesar de não serem relevantes devido ao crescimento de fungos que houve nos controlos, ainda assim é de atentar que estes podem ter como fonte a salada analisada nomeadamente na amostra sem amukina onde o número de bolores foi muito superior – 13 espécimes de *Penicillium* enquanto que no controlo apenas se registaram 3 (Tabelas 4 e 1). Quanto à amukina, pode-se verificar que esta não produz efeitos nestes microrganismos pois não houve grande diferença de crescimento entre as saladas. Nestas amostras, as espécies mais abundantes foram *Aspergillus* e *Penicillium*. Este resultado carece de confirmação em trabalhos experimentais cuja contaminação seja completamente controlada.

Também foi realizada uma análise ao parâmetro microbiológico “detecção de *Salmonella*”, apresentado na tabela 5, em que se obtiveram resultados anunciativos de não existência de *Salmonella* nestas saladas independentemente se lhes foi adicionada amukina ou não, pois houve ausência de UFC incolores nas amostras cultivadas em meio selectivo para *Salmonella* (MacConkey) de acordo com o presente Regulamento, (em que diz que em 5 amostragens de 25g, 0 poderão ser positivas em relação a este microrganismo) pois só foram realizadas 3 amostras e ainda porque o método experimental teve que ser alterado por falta de material (meio de cultura). O facto de o meio de cultura Citrato de Simmons apresentar a cor azul não é significativo pois este cultivo só seria válido se se confirmasse a presença de *Salmonella* através do meio MAC, serviria assim para diferenciar entre *Salmonella tiphy* e *Salmonella typhimurium*.

Por último, e não menos importante, foi realizado o parâmetro “prospecção de Protistas” (tabela 6) que avaliou a presença de protozoários nas saladas analisadas, originando resultados que reportam que estes microrganismos existem neste alimento (alface), principalmente as espécies *Paramecium*, *Colpoda* em maior abundância, e em menor número os géneros *Volvox*, *Didinium* e ainda alguns quistos formados por parte destes microrganismos. Foi de salientar que a primeira salada colhida possuía maior abundância do que a 2ª colheita (sem amukina), julgando-se assim que a razão para este facto provém da forma de lavagem efectuada, pois da primeira vez foi utilizada água corrente e na segunda colheita a salada foi submersa em água. Apesar disso, as duas saladas possuíam ainda grande número de protistas, por isso deve-se ter em atenção que lavagem com água não elimina esta ocorrência, sendo necessária uma desinfecção posterior. Assim, a desinfecção (neste caso com amukina) é a forma eficaz de suprimir estes organismos pois nessa amostra não existiu qualquer presença de protistas vivos. (tabela 5).

Como em todos os trabalhos experimentais, existiram dificuldades sendo principalmente a falta de material e equipamentos com qualidade, disponíveis no laboratório, e adequados para as actividades realizadas, a falta de condições ambientais e higiénicas no laboratório o que não permitiu que as análises fossem consideradas totalmente válidas pois não se pode garantir que o crescimento bacteriano seja da amostra analisada ou por contaminação, sendo que o ambiente é um factor a considerar. Outra das limitações que dificultou a realização satisfatória dos ensaios foi a falta de tempo e instalações disponíveis para efectuar o proposto havendo assim atrasos no trabalho.

VI. Conclusões

1. Avaliação dos procedimentos de higienização e preparação de saladas no bar da ESPL

Com a realização dos questionários aos funcionários da escola pôde-se concluir que a manipulação das saladas é realizada de forma adequada, como se pode verificar nos gráficos pois utilizam todos os meios (utilização de desinfetantes na lavagem das saladas, lavagem das mãos e vestuário, e não utilização de adornos, separação de alimentos em recipiente próprio, etc...) para tal.

Concluiu-se também que a alface é utilizada principalmente em sandes juntamente com outras variedades de legumes como o tomate.

2. Controlo microbiológico de saladas confeccionadas no bar da ESPL

Durante todo este trabalho experimental retiraram-se algumas conclusões como o facto de o laboratório utilizado actualmente pela Escola Secundária do Padrão da Légua, para realizar análises, não ser adequado para o efeito, sendo impossível a obtenção de resultados viáveis de trabalho.

Em relação ao parâmetro microbiológico “Enumeração de microrganismos viáveis a 22° C e a 37° C (totais) ” conclui-se que a alface analisada possui bactérias provavelmente com origem nesta, apesar de não ser considerado relevante. Esta conclusão é válida também para o parâmetro “detecção de fungos”.

É de salientar ainda que a amukina é um desinfetante eficaz para eliminar protozoários, já que estes não conseguiram sobreviver na amostra com amukina. Foi ainda chamada à atenção, o facto de que a lavagem efectuada apenas com água corrente não é eficaz na eliminação dos protozoários, pois apesar da sensibilidade de destes microrganismos, conseguem resistir à lavagem.

Por fim, um dos aspectos mais considerados foi que não é possível a realização satisfatória de análises microbiológicas no laboratório da Escola Secundária do Padrão da Légua pois existe grande contaminação microbiana ambiental neste.

7. Bibliografia

Regulamento (CE) N° 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007

FONSECA, SUSANA CALDAS DA. MORAIS, ALCINA MARIA MIRANDA BERNARDO DE. Boas práticas pós-colheita para hortícolas frescos. Porto: AESBUC, 2000

<http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados2.shtml>

http://www.esa.ipsantarem.pt/Norma_IPQ_homepage_206.pdf

<http://www.eidh.eu/magazine/?p=4892>

<http://www.ceplac.gov.br/radar/Artigos/artigo8.htm>

<http://www.alimentacao.org/alimentacao-equilibrada/>

http://www.iglo.pt/alimentacao_nutricao/grupos_alimentos_hortícolas.aspx

http://www.esac.pt/noronha/legislalimentar/regulamento_1441_2007_criterios_micro.pdf

<http://www.ufms.br/horta/hortalicas.htm>

http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/estagio_docencia/RicardoSilvaeGlaucianeCoelho.pdf

<http://analgesi.co.cc/html/t17077.html>

<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Enterobacter>

http://pt.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Salmonella>

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Erwinia>

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>

<http://www.esb.ucp.pt/spiral/pdfs/Manual01a.pdf>

Anexos

Pré-projecto da Prova de Aptidão Profissional

Planificação da Prova de Aptidão Profissional

Carta de pedido de autorização à Direcção da ESPL

Questionários preenchidos pelos funcionários do bar da ESPL

Registo diário do trabalho realizado no âmbito da PAP