

ESTUDO DA MICROBIOTA FÚNGICA EM HORTALIÇAS MINIMAMENTE PROCESSADAS COMERCIALIZADAS EM UM SUPERMERCADO DA CIDADE DE JUIZ DE FORA – MG

Moisés Henrique Almeida Gusmão¹
Fernando Teixeira Gomes²

RESUMO

A procura por hortaliças prontas para consumo tem incentivado o desenvolvimento de novas tecnologias para o processamento de alimentos frescos, com vida útil prolongada, qualidade sensorial e nutritiva para atrair os consumidores. Os vegetais minimamente processados são aqueles que passaram por modificações físicas, ou seja, foram descascados, picados e ralados, entre outros processos, mas mantidos na forma fresca e, metabolicamente, ativos. Esses produtos são sensíveis à deterioração, bem como podem ser veículos de microrganismos patogênicos ao homem. O objetivo deste estudo foi de avaliar a qualidade da microbiota fúngica em amostras de couve, espinafre e rúcula minimamente processadas e comercializadas em um supermercado da cidade de Juiz de Fora – MG. No laboratório, sob condições de assepsia, amostras de cada hortaliça foram homogeneizadas em água peptonada tamponada 0,1% e espalhados com alça de Drigalski em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol. Após o período de incubação os fungos crescidos foram utilizados para a preparação das lâminas em microcultivo. Após este período, a lamínula foi cuidadosamente retirada e colocada sobre uma lâmina contendo uma gota de azul de algodão. As características do micélio fúngico foram observadas em microscópio óptico. Concluiu-se que as hortaliças analisadas, mesmo que tenham sido higienizados, estavam impróprios para o pronto consumo, sugerindo inadequação no processo de higienização e conservação por parte dos fabricantes e distribuidores, respectivamente. Diante dos resultados encontrados, faz-se necessária a intensificação de ações dos órgãos de fiscalização e saúde.

Palavras-chave: Boas práticas de fabricação. Contaminação de alimentos. Manipulação de alimentos. Qualidade dos alimentos.

¹ Discente do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora (CES/JF). E-mail: gusmaomoises@hotmail.com.

² Doutor em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa; Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora (CES/JF). E-mail: fernandogomes@cesjf.br

1 INTRODUÇÃO

Os diversos aspectos sobre a alimentação saudável têm sido reconhecidos por muitas instituições nacionais e internacionais, que procuram constantemente a implementação de políticas nutricionais e campanhas educativas para a conscientização da população visando aumentar o consumo de produtos frescos (NASCIMENTO et al., 2014)

O mercado de frutas e hortaliças nos últimos anos aumentou significativamente, sendo que o segmento dos alimentos minimamente processados é o que mais cresceu, justificada principalmente pela praticidade e comodidade do consumidor.

Os alimentos minimamente processados são definidos de acordo com a *International Fresh-Cut Producers Association* como qualquer fruta ou hortaliça, que sofreu alterações físicas na sua forma original, embora mantenha o seu estado fresco. Neste processamento, o alimento, é selecionado, lavado, descascado e cortado, e, posteriormente, embalado ou pré-embalado (IFPA, 2017).

No Brasil, a Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Nesta resolução não existem padrões específicos para as frutas e hortaliças minimamente processadas. Sendo assim, os minimamente podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: "alimentos frescos, 'in natura', preparados (descascados ou selecionados ou fracionados), sanificados, refrigerados ou congelados, para consumo direto" (BRASIL, 2001).

A mudança no perfil da populacional ao longo dos anos é um fator importante para compreender o aumento na busca por esses produtos. Alguns pesquisadores associam o crescente interesse pelas hortaliças minimamente processadas ao aumento da participação da mulher no mercado de trabalho, ao desenvolvimento no segmento de alimentações coletivas e ao envelhecimento da população (MORETTI, 2001). A redução do tempo

disponível para o preparo das refeições nas residências também afeta diretamente na procura por estes alimentos, bem como a diminuição no tamanho das famílias, o aumento no número de indivíduos que moram sozinhos e a maior preocupação com a saúde (PINTO, 2007).

Além disso, os alimentos minimamente processados tem sido cada vez mais procurados pelos consumidores, por serem encontrados facilmente no mercado, estarem disponíveis em porções reduzidas, possuírem facilidade no manuseio e tempo de preparo do alimento, bem como a qualidade do produto. No entanto, mesmo com o mínimo processamento durante esta etapa, danos mecânicos são causados aos tecidos vegetais, o que pode acelerar a senescência e causar danos ao produto, ocorrendo a perda da coloração original e redução do valor nutricional do alimento. Por isso, os produtos minimamente processados tendem a possuir curto período de vida útil se comparado ao produto inteiro (KLUGE et al., 2014).

Sendo assim, o aumento no consumo de alimentos minimamente processados trouxe também uma preocupação por parte das autoridades sanitárias relacionadas à qualidade higiênica destes produtos, pois são oferecidos ao consumidor prontos para o consumo, sem necessidade de lavagem, conforme rótulo de algumas marcas comerciais. Contudo, sua segurança microbiológica deve ser monitorada periodicamente (PENA et al., 2015).

Mesmo assim, nos últimos anos, apesar de todo o crescimento verificado neste setor, é crescente o relato de doenças infecciosas associadas ao consumo de frutas e hortaliças frescas. Estudos mostram que no Brasil, no período de 2000 a 2013 foram registrados 9.510 surtos alimentares, sendo 118 destes relacionados ao consumo de hortaliças (BRASIL, 2014). Não se deve esquecer que os alimentos minimamente processados possam representar grande risco do ponto de vista de higiene e segurança, pois não são consumidos no seu local de preparo, nem imediatamente após seu processamento, como ocorre com as hortaliças *in natura*.

Existem diversos aspectos específicos para produtos minimamente processados, pois geralmente são consumidos sem passar por etapas de eliminação de microrganismos contaminantes, além de serem expostos a elevadas temperaturas, consideradas abusivas durante o processo de distribuição. Embora seja comum ocorrer a contaminação e desenvolvimento de patógenos mesmo em temperaturas reduzidas e ambientes modificados (CANTWELL, 2000).

Estes alimentos são susceptíveis à colonização microbiana devido à ocorrência de rupturas em suas superfícies, proporcionando o desenvolvimento de uma microbiota diversificada em bactérias gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras, geralmente, representados pelos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Cândida* (PEREIRA et al., 2011). Alguns destes microrganismos são produtores de enzimas pectinolíticas as quais podem degradar a estrutura celular vegetal e desta forma disponibilizar mais nutrientes para atividade microbiana favorecendo multiplicação celular mais rápida (RAGAERT; DEVLIEGHERE; DEBEVERE, 2007). Além disso, de acordo com Franco; Landgraf (2003) contagens elevadas de bolores e leveduras representam, além do aspecto deteriorante, rejeição do produto, indicando risco à saúde pública devido à produção de micotoxinas por algumas espécies de fungos.

Uma das principais metas do ramo da pós-colheita é buscar alternativas que visam aumentar a vida útil das hortaliças minimamente processadas. Diante disso, mediante melhorias na forma de armazenar os vegetais é possível diminuir os processos respiratórios dos tecidos, bem como reduzir o crescimento microbiológico, podendo prolongar o tempo de prateleira destes alimentos (FANTUZZI; PUSCHMANN; VANETTI, 2004).

Buscar estabilidade entre qualidade do sabor, frescor, cor e aroma desse tipo de alimento é o principal foco de estudo na fase de exposição desses produtos minimamente processados nas gôndolas dos mercados. Definir melhorias nas condições de armazenagem e técnicas de manuseio de

vegetais submetidos ao processamento mínimo tem sido um grande desafio (RINALDI; BENEDETTI; CALORE, 2005).

No Brasil, dentre as hortaliças minimamente processadas a couve, o espinafre e a rúcula são altamente consumida pela população brasileira, viabilizando o seu uso como minimamente processada. Sendo assim, pesquisas de investigação na área de processamento mínimo são necessárias para a identificação de padrões específicos de qualidade, devido a este incremento do consumo destas hortaliças.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da microbiota fúngica em hortaliças minimamente processadas comercializados em um supermercado da cidade de Juiz de Fora – MG

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DOS ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS EM SUPERMERCADO DO MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA - MG

Foram adquiridas três embalagens da mesma marca contendo couve (*Brassica oleracea* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.) e rúcula (*Eruca sativa* Mill), minimamente processadas em um supermercado da cidade nos meses de setembro e outubro do ano de 2017. Essas hortaliças estavam hermeticamente fechadas no interior de um saco de polietileno, acondicionadas em gôndola refrigerada. Foram coletadas ao acaso, sendo anotados os estados das embalagens e das hortaliças em questão. No momento da coleta as amostras foram acondicionadas em caixa térmica contendo gelo e encaminhadas para o laboratório de Microbiologia do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora - MG.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE

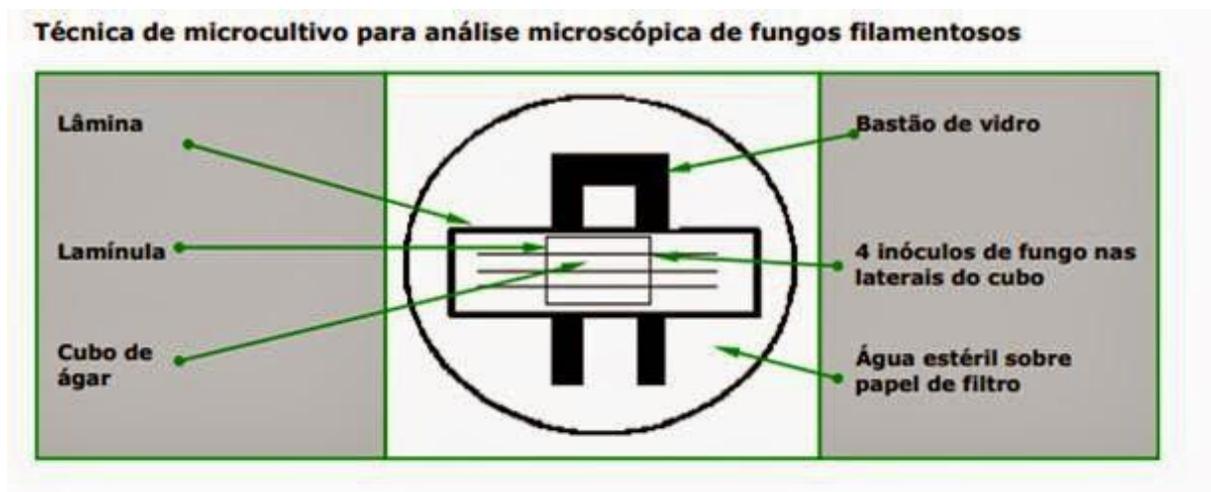
No laboratório, no interior de uma capela de fluxo laminar sob condições de assepsia, as embalagens foram higienizadas em álcool 70%. Amostras de 25g de cada hortaliça foram pesadas em balança analítica, maceradas e homogeneizadas em frascos de vidro esterilizados, contendo 225mL água peptonada tamponada 0,1% para a obtenção da diluição 10^{-1} . A partir desta diluição (10^{-1}) foi tomado 1mL do extrato e adicionado em um tubo de ensaio contendo 9mL de água peptonada tamponada 0,1% para a obtenção da diluição 10^{-2} . Posteriormente, 0,1mL de cada diluição foram adicionados e espalhados com alça de Drigalski em placas de Petri, contendo o meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol. As placas de Petri foram incubadas à temperatura ambiente por sete dias. Cada tratamento foi constituído de três repetições.

2.3 PREPARO DAS LÂMINAS PARA ANÁLISE

Após o período de incubação das placas, os fungos crescidos nas duas diluições foram utilizados para a preparação das lâminas em microcultivo (Figura 1). Após a montagem das lâminas para o microcultivo (BRASIL, 2004), estas permaneceram em temperatura ambiente no interior de uma placa de Petri com algodão umedecido em água destilada estéril, por sete dias.

Após este período, a lamínula foi cuidadosamente retirada e colocada sobre uma lâmina contendo uma gota de azul de algodão e posteriormente sendo as bordas das lamínulas fixadas com esmalte de unha. As características do micélio fúngico foram observadas em microscópio óptico.

Figura 1 - Técnica de microcultivo para análise microscópica de fungos filamentosos



Fonte: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a coleta, as hortaliças foram avaliadas segundo suas condições higiênico-sanitárias no local de comercialização e verificou-se que todas estavam sob refrigeração com a embalagem em perfeito estado, dentro do prazo de validade. As mesmas não apresentavam nenhuma alteração na cor e nem na turgescência dos tecidos foliares (Tabela 1).

Tabela 1 - Época e coloração das folhas, diluições, crescimento fúngico e condições higiênico-sanitárias de três hortaliças minimamente processadas em supermercado de Juiz de Fora – MG.

Hortaliças analisadas	Época de coleta	Coloração das folhas	Diluição do extrato	Crescimento fúngico	Condições higiênico-sanitárias
Couve	Setembro	Verde	10^{-1}	Elevado	Razoável
			10^{-2}	Elevado	
Espinafre	Setembro	Verde	10^{-1}	Elevado	Razoável
			10^{-2}	Elevado	
Rúcula	Setembro	Verde	10^{-1}	Elevado	Razoável
			10^{-2}	Elevado	

Os alimentos minimamente processados são expostos a várias formas de contaminação; sendo assim, durante o processamento destes alimentos, a

aplicação de Boas Práticas de Fabricação é extremamente importante e indispensável para garantir qualidade ao produto final. Nos supermercados a temperatura e o local de armazenamento também influenciam na qualidade do alimento minimamente processado (IMAMURA et al., 2017).

O desenvolvimento microbiano nos alimentos é condicionado por diversos fatores ambientais, como temperatura e umidade relativa, denominados extrínsecos e por fatores intrínsecos, sendo os principais a atividade de água, o pH e a composição do alimento (TORREZAN; EIROA; PFENNING, 2000). Após o período de incubação observou-se o crescimento de fungos filamentosos e leveduriformes em meio de cultura a partir de todos os extratos avaliados para as duas diluições testadas. Segundos dados da literatura os principais fungos que contaminam os alimentos no processo de estocagem são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* (FRANCO; LANDGRAF, 2003). A maior preocupação com a contaminação por fungos em alimentos deve-se à sua capacidade de produzir micotoxinas, que podem ser prejudiciais à saúde do consumidor. Porém, o desenvolvimento de fungos em alimentos pode elevar o pH e promover o crescimento de bactérias patogênicas como *Salmonella* e *Clostridium* (MORETTI, 2001). Para o extrato de couve, observou-se o crescimento inicial de muitas colônias de leveduras, sendo a levedura de coloração branca e aspecto rugoso pertencentes à espécie *Saccharomyces cerevisiae* predominante sobre a placa. Outro grupo que também foi observado pela sua coloração avermelhada é do gênero *Rhodotorula* (Figura 2). Em um estudo na cidade de São Paulo, amostras de couve manteiga minimamente processadas obtidas em supermercados da cidade foram submetidas a testes de verificação da presença de microrganismos e foi constatado valores elevados de mesófilos aeróbios e fungos, assim como, a presença de *Escherichia coli* em todas as amostras. Este fato é decorrente de falhas na sanitização, armazenamento ou distribuição do produto (ROCHA et al., 2014).

Apenas no final do período de incubação de sete dias, foi observado o surgimento de fungos filamentosos (Figura 3).

Após o microcultivo e a coloração das lâminas com azul de algodão observou-se a presença de muitas células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* nas amostras provenientes do extrato de folhas de couve (Figura 4).

Figura 2 - Colônias de leveduras crescidas em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol a partir de extrato de folhas de couve minimamente processadas coletados em supermercado em Juiz de Fora – MG.



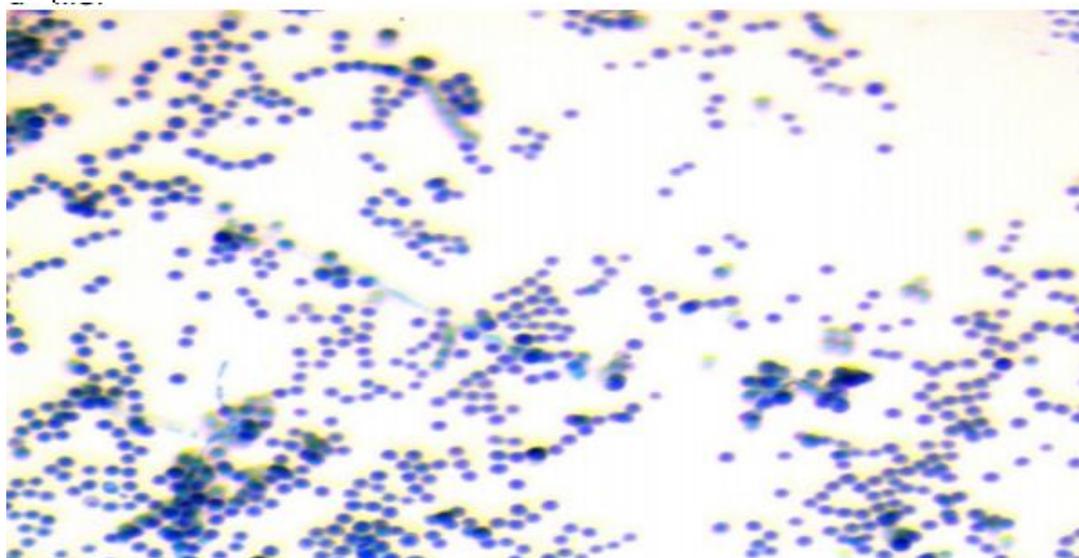
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 3 - Colônias de leveduras e fungos filamentosos crescidos em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol a partir de extrato de folhas de couve minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4 - Lâminas coradas com azul de algodão apresentando células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* de extrato de folhas de couve minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

Para o extrato de espinafre, observou-se no início do período de incubação o crescimento de duas colônias de fungos filamentosos com aspecto cottonoso, sendo a colônia de coloração escura pertencente ao gênero *Mucor* e a colônia de coloração branca pertencente ao gênero *Penicillium*. Além destes fungos foi observado a presença de algumas colônias da levedura *Saccharomyces cerevisiae* que iniciaram seu desenvolvimento no final do período de incubação para as duas diluições avaliadas (Figuras 5 e 6).

O gênero *Mucor* é um fungo amplamente utilizado para fermentação de alimentos, mas raramente causa mucormicose em pacientes imunocomprometidos. São fungos saprofitos comumente encontrados no ambiente em frutas, legumes, plantas, pão e no solo e como componentes comuns da decomposição de matéria orgânica (PORTE; MAIA, 2001). O *Penicillium* é um fungo que cresce em matéria orgânica especialmente no solo e outros ambientes úmidos. Por contágio, contaminam frutas, hortaliças e

sementes e chegam a invadir habitações, sendo responsáveis pelos bolores que se instalam em alimentos para consumo humano (PORTE; MAIA, 2001).

Figura 5 - Colônias de fungos filamentosos e leveduras crescidas em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol a partir de extrato de folhas de espinafre minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

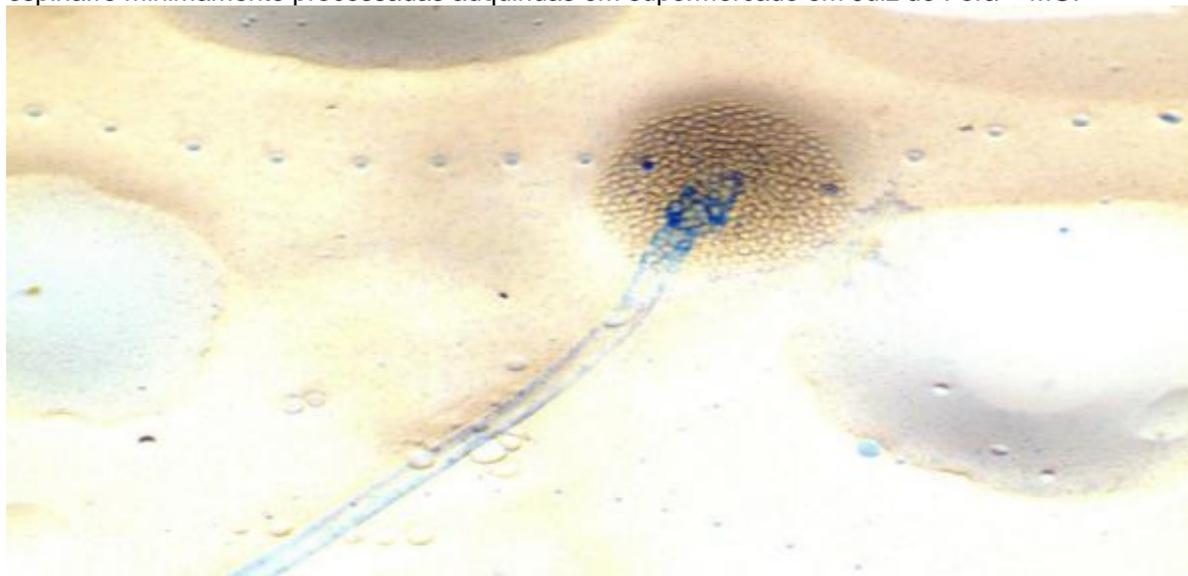
Figura 6 - Colônias de fungos filamentosos e leveduras crescidas em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol a partir de extrato de folhas de espinafre minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

As estruturas de reprodução assexuada do fungo *Mucor* apresenta os esporangióforos hialinos ou amarelados, retos com ramos longos, tendo seus esporângios a coloração amarelada ou marrons (Figura 7).

Figura 7 – Esporangióforo do gênero *Mucor* contendo esporângio na extremidade com a formação de endósporos de coloração amarelada, isolados a partir de extrato de folhas de espinafre minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

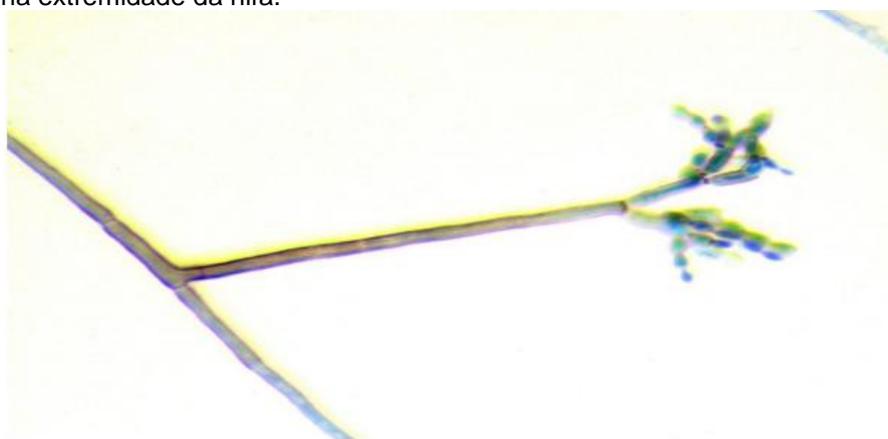
A estrutura reprodutiva do fungo *Penicillium* se apresenta no formato de vassoura com conidióforo que se ramifica na forma de um micélio simples. O conidióforo no final apresenta células conidiogênicas produtoras de conídios (Figura 8).

Para o extrato de folhas de rúcula, observou-se o crescimento de várias colônias fúngicas destacando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 9). O *Saccharomyces cerevisiae* são fungos que se reproduzem por divisão binária e se apresentam de forma unicelular, invisíveis a olho nu, sendo visualizadas com o auxílio de microscópio. São encontradas em vários ambientes, como o solo, ar, plantas, frutos e alimentos.

Poucos são os fungos capazes de crescer em temperatura de refrigeração e provocar degradação em hortaliças. Entre eles destacam-se *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Mucor* sp.

Embora estando as embalagens e as hortaliças em bom estado de conservação e dentro do prazo de validade, a presença de bolores e leveduras encontradas em todos os produtos avaliados, indicam condições inadequadas de higiene durante o processamento, comprometendo seu armazenamento e sua qualidade microbiológica.

Figura 8: Estrutura reprodutiva do fungo *Penicillium*. Conidióforo com a formação de esporos (conídios) na extremidade da hifa.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 9 - Colônias de leveduras de aspecto rugoso crescidas em meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol a partir de extrato de folhas rúcula minimamente processadas adquiridas em supermercado em Juiz de Fora – MG.



Fonte: Arquivo pessoal

4 CONCLUSÃO

A presença de população de bolores e leveduras nas hortaliças minimamente processadas indica qualidade sanitária insatisfatória. É aconselhável que o consumidor faça a higienização do alimento como de costume, para retirar qualquer tipo de resíduo que possa estar presente devido ao manuseio incorreto no local de comercialização até o local de consumo.

Os resultados deste trabalho sugerem a necessidade de aplicação das boas práticas de fabricação pelos estabelecimentos produtores e de uma efetiva fiscalização pela Vigilância Sanitária, para assegurar um produto saudável e seguro ao consumidor.

ABSTRACT

The demand for ready-to-eat vegetables has encouraged the development of new technologies for the processing of fresh foods with long shelf life, sensory and nutritional quality to attract consumers. Minimally processed vegetables are those that undergo physical modifications, ie they have been peeled, chopped and grated, among other processes, but kept fresh and metabolically active. These products are sensitive to deterioration, and may be carriers of microorganisms pathogenic to man. The objective of this study was to evaluate the quality of the fungal microbiota in samples of cabbage, spinach and arugula minimally processed and marketed in a supermarket in the city of Juiz de Fora - MG. In the laboratory, under aseptic conditions, samples of each vegetable were homogenized in 0.1% buffered peptone water and scattered with Drigalski loop in Sabouraud Agar culture medium with chloramphenicol. After the incubation period the grown fungi were used for the preparation of the slides in microculture. After this period, the coverslip was carefully removed and placed on a slide containing a drop of cotton blue. The characteristics of fungal mycelium were observed under an optical microscope. It was concluded that the vegetables analyzed, even if they were hygienized, were unfit for ready consumption, suggesting inadequacy in the hygiene and conservation process by the manufacturers and distributors, respectively. In view of the results found, it is necessary to intensify the actions of the health and inspection agencies.

Keywords: Good manufacturing practices. Contamination of food. Food handling. Food quality.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº12. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de jan. 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 29 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e identificação de fungos de importância médica**. Brasília, DF, 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_7_2004.pdf Acesso em: 29 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos - VE-DTA**. 2014. Disponível em: <http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014>. Acesso em: 29 nov. 2018.

CANTWELL, M. The dynamic fresh-cut sector of the horticultural industry. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa, **Anais...** Viçosa: UFV, 2000. p. 147-155.

FANTUZZI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 207-211, abr./jun. 2004.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182p.

IFPA – International fresh-cut product association. **Ofering global expertise in fresh-cut produce**. 2017. Disponível em: <http://www.creativew.com/sites/ifpa/about.html>. Acesso em: 29 nov. 2018.

IMAMURA, K. B. et al. Qualidade microbiológica da couve-manteiga (*Brassica oleracea* L.) minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília-SP. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Araraquara, v.49, v. 4, p. 390-395, 2017

KLUGE, R. A. et al. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 801-812, mar./abr. 2014.

MORETTI, C. L. Processamento mínimo de hortaliças: tendências e desafios. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 172 Suplemento, jul. 2001.

NASCIMENTO, K. O. et al. Alimentos minimamente processados: uma tendência de mercado. **Acta Tecnológica**, São Luís, v. 9, n. 1, p. 48-61, 2014.

PENA, F. de L. et al. Avaliação microbiológica de hortaliças minimamente processadas disponíveis no mercado e servidas em redes de fast-food e em unidades de alimentação e nutrição nas cidades de Limeira e Campinas, São Paulo, Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 633-643, 2015.

PEREIRA, A. P. M. et al. Identificação e avaliação da resistência antimicrobiana de leveduras em vegetais minimamente processados **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 139-43, 2011.

PINTO, A. R. C. **Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas: uma revisão**. 2007. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (especialização em Tecnologia de Alimentos)-Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

PORTE, A; MAIA, L.H. Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 19, n.1, p. 105-118, jan./jun. 2001.

RAGAERT, P.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. **Postharvest Biol Tech**. vol. 44, p. 185-194, 2007.

RINALDI, M. M.; BENEDETTI, B. C.; CALORE, L. Efeito da embalagem e temperatura de armazenamento em repolho minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 480-486, 2005.

ROCHA, G. G. et al. Qualidade microbiológica de couve manteiga (*Brassica oleracea*) minimamente processada comercializada em São Paulo, Brasil. **Revista UNIVAP**, São José dos Campos, v. 20, n. 36, p. 47-53, 2014.

TORREZAN, R.; EIROA, M. N. U.; PFENNING, L. Identificação de microrganismos isolados em frutas, polpas e ambiente industrial. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 27-38, jan./jun. 2000.