



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ADRIELLY PRISCILA GOMES DA SILVA

Eficácia da água sanitária e do vinagre como sanitizantes de couve (*Brassica oleracea* L.)

Vitória de Santo Antão

2016

ADRIELLY PRISCILA GOMES DA SILVA

Eficácia da água sanitária e do vinagre como sanitizantes de couve (*Brassica oleracea* L.)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição sob orientação da Professora Marisilda de Almeida Ribeiro e coorientação de Michelle Rose de Oliveira Silva.

Vitória de Santo Antão

2016

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Roseane Souza de Mendonça, CRB4-1148

S586e Silva, Adrielly Priscila Gomes da.
Eficácia da água sanitária e do vinagre como sanitizantes de couve (*Brassica oleracea* L.) / Adrielly Priscila Gomes da Silva. Vitória de Santo Antão, 2016.
37f.

Orientadora: Marisilda de Almeida Ribeiro.
Coorientadora: Michelle Rose de Oliveira Silva.
TCC (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV,
Bacharelado em Nutrição, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Nutrição. 2. Hortaliças - Sanitização. 3. Hortaliças - Contaminação. 4. *Brassica oleracea* L. 5. Segurança alimentar. I. Ribeiro, Marisilda de Almeida (Orientadora). II. Silva, Michelle Rose de Oliveira. III. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-081/2017

ADRIELLY PRISCILA GOMES DA SILVA

Eficácia da água sanitária e do vinagre como sanitizantes de couve (*Brassica oleracea* L.)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

Data:

Nota:

Banca Examinadora:

Dedico este trabalho de conclusão de curso ao meu amado esposo pela força e estímulo para que eu conseguisse administrar o tempo para a realização deste trabalho e os cuidados com a família.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, pois sem sua benevolência eu não chegaria a lugar algum, obrigada meu Deus pela tua presença em minha vida;

À minha família, pois sem ela eu não estaria trilhando os caminhos hoje trilados.

À minha querida professora orientadora Marisilda Ribeiro por toda dedicação, paciência e empenho;

À minha coorientadora Michelle Oliveira que muito contribuiu para execução deste trabalho,

A todo o corpo docente que dividiu comigo o seu conhecimento, contribuindo ricamente para minha formação acadêmica;

Aos meus amigos de faculdade, em especial, minhas amigas Jaiane Katia e Renata Emmanuele que estiveram comigo nos momentos mais difíceis e também nos de muitas alegrias e conquistas.

“Para conseguir a amizade de uma pessoa digna é preciso desenvolver em nós mesmos as qualidades que naquela admiramos.” **Sócrates**

RESUMO

Introdução: Estima-se que doenças diarréicas estão ligadas ao consumo de alimentos ou água contaminados, razão pela qual padrão higiênico-sanitário para alimentos possuem legislação específica. O consumo *in natura* de hortaliças, com vista à manutenção de suas propriedades nutricionais e funcionais, implica do ponto de vista microbiológico em cuidados redobrados com o processo de sanitização desses alimentos. Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária recomende o uso de solução clorada para sanitização de hortaliças, culturalmente o emprego do vinagre com esta finalidade é mantido pela população. **Objetivo:** Avaliar a eficácia da água sanitária e do vinagre como agentes sanitizantes de folhas de couve (*Brassica oleracea* L.). **Material e Métodos:** A eficácia da água sanitária e do vinagre foi avaliada na sanitização de folhas de couve comercializadas *in natura* em feira livre do município da Vitória de Santo Antão. As condições higiênico-sanitárias do local de venda foram avaliadas por meio de *check list* de observação. Análises microbiológicas para contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, coliformes totais e coliforme a 45 °C foram realizadas em amostras da água de lavagem das folhas de couve; em folhas depois de higienizadas (controle) e em folhas depois de sanitizadas tanto com solução de água sanitária 200 ppm (2,0 a 2,5% de cloro ativo) quanto com vinagre (4% de ácido acético). As análises foram realizadas em duplicatas e os resultados expressos em UFC/g para mesófilos aeróbios e NMP/g para coliformes. **Resultados:** As condições higiênico-sanitárias do local de comercialização foram consideradas satisfatórias, posto que, 2/3 dos itens questionados mostraram-se de acordo com o recomendado pela legislação. Valores para micro-organismo mesófilos aeróbios variaram entre $1,25 \times 10^4$ UFC/g na água de lavagem a $5,4 \times 10^2$ UFC/g nas folhas sanitizadas com solução de água sanitária. As folhas sanitizadas com a solução de vinagre também mostrou redução na quantidade de colônias iniciais ($5,7 \times 10^3$ UFC/g) comparando-se com o resultado do controle ($1,76 \times 10^4$ UFC/g). Também para coliformes totais, os valores encontrados na amostra controle foi maior que na água de lavagem (460 NMP/g), enquanto nas amostras sanitizadas com água sanitária e vinagre houve redução significativa, nas duas amostras (43 NMP/g). Para a pesquisa de coliforme a 45° C todas as amostras apresentaram valores $< 3,0$ NMP/g, atendendo ao recomendado pela legislação.

Conclusão: A redução da carga microbiana inicial nas folhas de couve para níveis aceitáveis, constatada neste trabalho, comprovam a eficácia das soluções de água sanitária e de vinagre como agentes sanitizantes de folhas de couve nas condições deste estudo.

Palavras-chave: Contaminação. Hortaliças. Sanitização. Vinagre.

ABSTRACT

Introduction: It is estimated that diarrheal diseases are linked to the consumption of contaminated food or water, which is why the hygienic-sanitary standard for food has specific legislation. The in natura consumption of vegetables, with a view to the maintenance of their nutritional and functional properties, implies from the microbiological point of view in redoubled care with the process of sanitization of these foods. Although the National Sanitary Surveillance Agency recommends the use of chlorinated solution to sanitize vegetables, culturally the use of vinegar for this purpose is maintained by the population. **Objective:** To evaluate the efficacy of bleach and vinegar as sanitizing agents of cabbage leaves (*Brassica oleracea* L.). **Material and Methods:** The efficacy of bleach and vinegar was evaluated in the sanitization of cabbage leaves commercialized in natura at a fair in the municipality of Vitória de Santo Antão. The hygienic-sanitary conditions of the place of sale were evaluated through an observation checklist. Microbiological analyzes for counting of aerobic mesophilic microorganisms, total coliforms and coliform at 45 °C were carried out in samples of the wash water of cabbage leaves; On leaves after sanitizing (control) and on sheets after sanitizing with either 200 ppm water solution (2.0 to 2.5% active chlorine) or with vinegar (4% acetic acid). The analyzes were performed in duplicates and the results expressed in CFU / g for aerobic mesophiles and NMP / g for coliforms. **Results:** The hygienic-sanitary conditions of the place of commercialization were considered satisfactory, since 2/3 of the items questioned were in accordance with what is recommended by the legislation. Values for aerobic mesophilic microorganisms ranged from 1.25x10⁴ CFU / g in the wash water to 5.4x10² CFU / g in leaves sanitized with bleach solution. The leaves sanitized with the vinegar solution also showed a reduction in the number of initial colonies (5.7x10³ CFU / g) compared to the control result (1.76x10⁴ CFU / g). The total sample size of the samples was 43.5 MPa / g and the total sample was 43 MPa / g. The samples were sanitized with bleach and vinegar. For the coliform research at 45° C all samples had values <3.0 MPN / g, according to what is recommended by the legislation. **Conclusion:** The reduction of the initial microbial load in the cabbage leaves to acceptable levels, verified in this work, proves the effectiveness of the solutions of bleach and vinegar as sanitizing agents of cabbage leaves under the conditions of this study

Keywords: Contamination. Vegetables. Sanitization. Vinegar.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Folhas de couve manteiga <i>in natura</i>	17
Figura 2: Fluxograma do preparo das amostras.....	22
Figura 3: Local de comercialização de frutas e hortaliças em feira livre do município da Vitória de Santo Antão - PE.....	25
Figura 4: Contagem de mesófilos aeróbios em placa de Petri.....	26
Figura 5: Prova confirmativa de coliformes totais.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da análise microbiológica para micro-organismos mesófilos aeróbios.....	26
Tabela 2. Resultado das análises microbiológicas para micro-organismos do tipo Coliformes totais e Coliformes a 45°C.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CVS - Centro de Vigilância Sanitária

DVAs - Doenças Veiculadas por Água e Alimentos

NMP - Número Mais Provável

OMS - Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 JUSTIFICATIVA	15
4 REVISÃO DA LITERATURA	16
4.1 Couve	16
4.2 Contaminações Microbiológicas.....	17
4.3 Micro-organismos Mesófilos Aeróbios.....	18
4.4 Coliformes Totais e Coliformes a 45°C.....	18
4.5 Utilização de Sanitizantes na Descontaminação de Hortaliças.....	20
5 METODOLOGIA	21
5.1 Condições Higiênico-Sanitária.....	21
5.2 Coleta da Matéria-prima.....	21
5.3 Preparo das Amostras de Couve.....	21
5.4 Análises Microbiológicas.....	23
5.4.1 Contagem Padrão para Micro-organismos Mesófilos Aeróbios.....	23
5.4.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) para Coliformes.....	23
5.4.2.1 Coliformes Totais.....	23
5.4.2.2 Coliformes a 45°C.....	24
5.4.3 Estimativa do Número Mais Provável (NMP)	24
6 RESULTADOS	25
7 DISCUSSÃO	28
8 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33
ANEXO	37

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde – OMS (2006) estima-se, anualmente, 1.8 milhões de mortes decorrentes de doenças diarréicas, em sua grande maioria, ligadas ao consumo de alimentos ou água contaminados.

Em Pernambuco, na rede pública e conveniada ao SUS, no período entre 2004 e 2013, foram registrados 208.868 internamentos por Doenças Diarréicas Agudas (DDA), que corresponderam a 3,9% do total de hospitalizações, com um custo superior a seiscentos e sessenta e seis milhões de reais (R\$ 66.524.220) (SEVS, 2015).

Doenças veiculadas por água e alimentos são conhecidas desde épocas remotas. No ano 2000 AC., Moisés determinou algumas leis sobre os alimentos que se podia ou não comer, bem como sugestões de sua preparação e a importância da limpeza das mãos antes de ingerir os alimentos (SVS/MS, 2005).

Doenças Veiculadas por Água e Alimentos (DVA) é um termo genérico utilizado para a denominação de síndrome caracterizada por náuseas, vômito, diarreia e anorexia, resultantes da ingestão de alimentos e/ou água, contaminados por parasitas, micro-organismos patógenos, agrotóxicos, produtos químicos ou outros metais pesados (SVS/MS, 2005).

Os cuidados higiênicos com os alimentos podem prevenir a ocorrência da maioria dos casos de DVA, razão pela qual, padrões higiênico-sanitários foram estabelecidos por legislação específica, uma vez que contaminações de alimentos e/ou água por organismos patógenos ou substâncias tóxicas podem decorrer de condições inadequadas de higiene ambiental, incluindo máquinas e utensílios, processos de manipulação (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2009).

O desrespeito ao binômio tempo x temperatura, compreendido desde a estocagem do alimento *in natura* até o preparo e conservação do produto disponível para o consumo humano e pode favorecer a proliferação bacteriana, uma vez que o crescimento de micro-organismos patogênicos tende a ser maior devido a essa variação de temperatura (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2009).

Um número significativo de possibilidades, a depender dos vários tipos de agentes causais, favorece a ocorrência das DVAs, resultando em infecções

ou intoxicações que podem apresentar-se de forma crônica ou aguda, com características de surtos ou casos isolados (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2009).

Neste contexto, todo indivíduo está suscetível a adquirir DVA, todavia esta suscetibilidade mostra-se aumentada em crianças, idosos e imunodeprimidos. O período de incubação até o surgimento dos sintomas pode ser de frações de hora, variando conforme o tipo do agente etiológico (SVS/MS, 2005).

As hortaliças, especialmente as folhosas, por apresentarem rico conteúdo de água, vitaminas, minerais, fibras e substâncias bioativas, compõem o grupo de alimentos, cuja recomendação é de que sejam consumidos crus, tendo em vista a manutenção de suas propriedades nutricionais (TACO, 2006).

Em contrapartida, são os folhosos os alimentos mais susceptíveis a contaminações microbiológicas, oriundas do próprio solo de cultivo, de irrigações sem o devido controle da água, e/ou de inadequadas condições de manuseio e boas práticas, o que torna imprescindível o processo de sanitização desse tipo de alimento, de maneira a torná-lo apto ao consumo humano (VIZZOTTO; KROLOW; TEIXEIRA, 2010).

No Brasil, o conhecimento da contaminação fecal de hortaliças, especialmente alfaces, data de 1945, quando alguns pesquisadores encontraram *Escherichia coli* em 29,3% de 252 amostras de diversas hortaliças pesquisadas (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001). Sob esse aspecto, a contagem de índices populacionais de micro-organismos em hortaliças é método empregado como indicador de qualidade de processos higiênico-sanitário, e de risco de veiculação de patógenos e seus diversos patótipos (NASCIMENTO et al., 2003).

A couve, assim como as alfaces e outras hortaliças, pode ser facilmente contaminada, tendo em vista os vários pontos críticos de contaminação a que está exposta, podendo ocorrer antes e após a colheita, desde o contato com o solo, condições da água de irrigação, acondicionamento, transporte e mãos dos manipuladores (ADAMI; DUTRA, 2011).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), recomenda, em cartilhas para manipuladores de alimentos, que após lavagem em água corrente, as hortaliças permaneçam imersas em solução de água clorada a 200

ppm (1 colher de sopa de água sanitária para 1 litro de água) por 10 minutos, tendo em vista a correta sanitização para que possam ser consumidas cruas (BRASIL, 2004).

No entanto, o Centro de Vigilância Sanitária (CVS), recomenda que quando a sanitização for realizada com solução clorada, as hortaliças devem permanecer imersas por 15 a 30 minutos, seguidos de enxágue final com água potável (10 ml ou uma colher de sopa rasa de hipoclorito de sódio na concentração de 2,0 a 2,5% de cloro ativo, para 1 litro de água potável) (CVS,2013).

Com relação ao uso do vinagre na desinfecção de verduras cruas o CVS, (1993) em nota informou que o mesmo não é produto que esteja relacionado como desinfetante. Oficialmente, o vinagre está registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e foi avaliado laboratorialmente como “condimento”. Ainda, é o ácido usado para fins alimentícios que está sendo caracterizado como “aditivo” usado para a conservação de alimentos e não o vinagre. O ácido, e não especificamente o vinagre, é tecnicamente indicado em algumas etapas de transformação dos produtos alimentícios.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a eficácia da água sanitária e do vinagre como agentes sanitizantes de folhas de couve (*Brassica oleracea* L.)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar as condições higiênico-sanitárias do local de comercialização de hortaliças do Município da Vitória de Santo Antão;
- Realizar contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, coliformes totais e coliformes a 45°C em amostras da água de lavagem das folhas de couve, e nestas depois de limpas (controle) e nas folhas submetidas aos tratamentos sanitizantes tanto com água sanitária, quanto com vinagre;
- Avaliar as folhas de couve quanto a legislação na contagem de coliformes a 45°C.

3 JUSTIFICATIVA

Vitória de Santo Antão constitui área considerada como cinturão verde da capital Recife, tendo em vista sua produção elevada em hortaliças (CAVALCANTE; FERREIRA; NASCIMENTO, 2010).

A couve é uma hortaliça habitualmente consumida pela população brasileira, que a utiliza em diversos tipos de preparações (DANTAS et al., 2005). Mais recentemente, a demanda por este vegetal tem sido crescente, tendo em vista a divulgação das propriedades funcionais de seu suco, empregando a folha crua, indicado principalmente para a redução de acidez estomacal e esofagite de refluxo e também associada com a redução de peso (VIZZOTTO; KROLOW; TEIXEIRA, 2010).

Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), recomende o uso de solução de água clorada a 200 ppm para a sanitização das hortaliças folhosas, culturalmente, o emprego do vinagre com esta finalidade ainda é mantido pela população.

Neste cenário, e considerando que a couve está entre as hortifrutículas envolvidas, diretamente, em surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, justifica-se a realização deste trabalho.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Couve

A couve (*Brassica oleracea* L.) é uma hortaliça originária da costa do mediterrâneo, arbustiva anual ou bienal, pertencente à família das *Brassicaceae*, assim como o repolho, o brócolis, a couve-flor e o rabanete. (SANTOS et al., 2015). Quando comparada às outras hortaliças folhosas, a couve se destaca por seu maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, vitamina A, niacina e vitamina C. Além de excelente fonte de carotenóides, este vegetal apresenta alta concentração de luteína, elementos associados à redução de riscos de câncer no pulmão e de doenças oftalmológicas crônicas, como a catarata (NOVO et al., 2010).

No Brasil o consumo de couve tem aumentado, gradativamente, devido às recentes descobertas da ciência quanto as suas propriedades funcionais e novas maneiras de sua aplicação na culinária. Em 2006, a área plantada de couve no Estado de São Paulo era de 1200 hectares, aumentando para 1424 hectares em 2007, com produtividades, nesse período, entre 26,7 e 28,8 toneladas por hectare (NOVO et al., 2010).

A couve faz parte de uma importante cadeia produtiva. Aproximadamente 65% dos mais de 33 mil produtores rurais, concentram a produção em áreas com menos de 10 hectares (SEBRAE, 2006). Indicando uso intensivo de mão de obra familiar, fixação do homem no campo e geração de renda (EMBRAPA, 2012).

Segundo dados obtidos pelo SEBRAE (2006) no ano de 2006 foram produzidas no Brasil, cerca de 93.551 toneladas de couve, sendo o Nordeste responsável por aproximadamente 19.700 toneladas, ficando atrás apenas da região Sudeste, responsável por mais de 56 mil toneladas. Os estados de maior produção dentro da região Nordeste são Alagoas (11.885 toneladas), Bahia (3.948 toneladas) e Pernambuco (1.547 toneladas).

Em termos monetários, isso significa mais de 17 milhões de reais para os produtores desta região. Em geral, seu custo de produção é relativamente baixo quando comparado ao de outras espécies hortícolas (SEBRAE, 2006).

Figura 1: Folhas de couve manteiga *in natura*



Fonte: NOVO et al., 2010.

4.2 Contaminações Microbiológicas

O Brasil tem a sua produção agrícola estendida a praticamente todos os itens essenciais à alimentação. Porém, há grandes perdas quantitativas, qualitativas e nutricionais, devido a práticas inadequadas no manuseio após a colheita, no transporte e no armazenamento dos produtos agrícolas (COSTA; VANETTI; PUSCHMANN, 2009).

Os vegetais, em especial as frutas e hortaliças, podem ser contaminados em seus diversos estágios, sejam eles frescos ou industrializados. Essa contaminação poderá ocorrer antes e depois da colheita, através do solo, do ar, da irrigação imprópria, de más condições higiênicas de envoltórios e recipientes, pelo transporte inadequado e agressões mecânicas contra a estrutura do produto. (SILVA, 2013).

Micro-organismos como a *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Aeromonas* e o vírus da Hepatite A, são associados a surtos causados pela ingestão de alimentos crus contaminados, e indicam a importância do controle destes patógenos para a saúde pública (JOSÉ; SILVA, 2014).

No processamento de alimentos, alguns pontos precisam ser avaliados e considerados como críticos no controle da produção. A falta de higiene adequada das mãos dos manipuladores pode ser uma via de contaminação em potencial, podendo contaminar alimentos já preparados para consumo imediato. Práticas higiênicas em torno da produção, armazenamento e comercialização, desempenham um papel de suma importância para a qualidade dos alimentos (ALMEIDA et al., 1995).

4.3 Micro-organismos Mesófilos Aeróbios

Os micro-organismos mesófilos aeróbios são constituídos por espécies da família Enterobacteriaceae, além de outras espécies tais como *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp. e *Streptococcus* spp. Possuem temperatura ótima de multiplicação entre 25°C e 40°C, mínima entre 5°C e 25°C, e máxima entre 40°C e 50°C. Os micro-organismos mesófilos correspondem à grande maioria daqueles de importância em alimentos, inclusive a maior parte dos patógenos de interesse (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

A contagem padrão em placas de Petri utilizando meios de cultivo PCA (*Plate Count Agar*) ou AN (Ágar Nutriente) tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Os micro-organismos mesófilos aeróbios não estão diretamente relacionados com a saúde do homem, sendo sua presença ou contagem indicadora de deterioração ou contato excessivo ambiental (ALMEIDA, 2006).

4.4 Coliformes Totais e Coliformes a 45°C

Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, que fermentam a lactose dentro de 48 horas. De forma geral os coliformes são representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* e *Klebsiella*. Os coliformes são capazes de crescer na presença de sais biliares, os quais inibem o crescimento de

bactérias Gram-positivas. Isso confere uma vantagem no seu isolamento seletivo a partir de várias fontes. Ao contrário de muitas outras bactérias, os coliformes têm a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás, sendo esta única característica suficiente para determinações presuntivas. Em geral, a facilidade com que os coliformes podem ser cultivados e diferenciados torna-os praticamente indicadores ideais, exceto pela dificuldade de identificação de linhagens atípicas (JAY, 2005).

O Ministério da Saúde, através da Resolução nº 12, de 2 de janeiro e 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) adotou a denominação coliformes a 45°C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliformes termotolerantes” como equivalentes a coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

A *E. coli*, também conhecida como coliformes fecais, é encontrada primariamente no trato gastrintestinal de animais de sangue quente, são expelidas em grandes quantidades nas fezes ($>10^6$ por grama) e por terem resistência semelhante aos patógenos entéricos, sua presença indica que houve contaminação fecal no alimento, e, por isso, existe a possibilidade de haver patógenos, como *Salmonella*. Pode estar presente no ar, na poeira, nas mãos dos indivíduos, assim, qualquer alimento que o homem consome pode estar contaminado por microrganismos. O problema não está simplesmente na presença dos coliformes fecais, mas sim no seu número relativo, onde em elevada quantidade no alimento poderá resultar em episódios diarréicos em quem vier a consumi-los (JAY, 2005).

A bactéria *E.coli* apresenta características que podem garantir sua sobrevivência de modo oportuno, pode atuar como um organismo comensal, colonizando o intestino humano algumas horas após o nascimento. Essa interação com as células epiteliais intestinais é benéfica e, nesse contexto, atua por competição, impedindo a colonização por patógenos. Ela também pode se comportar como um micro-organismo oportunista, ocasionando doenças em hospedeiros suscetíveis e infecções em órgãos ou tecidos normalmente estéreis. Outra habilidade é agir como um patógeno extremamente especializado, ocasionando doenças em hospedeiros saudáveis. Infecções ocasionadas por *E. coli* podem ser limitadas à colonização de superfícies mucosas ou podem se disseminar através do organismo, tendo sido implicadas

em processos de infecção, meningite e infecções gastrintestinais (SOUZA, 2006).

4.5 Utilização de Sanitizantes na Descontaminação de Hortaliças

A utilização de sanitizantes nas hortaliças é fundamental para garantir a qualidade microbiológica. Para tanto devem ser utilizados sanitizantes que, além de eficazes, sejam também seguros do ponto de vista toxicológico, uma vez que, para evitar riscos de contaminação, é recomendável que os alimentos sejam mantidos e consumidos sem enxágue subsequente (ADAMI e DUTRA, 2011).

Dentre as soluções sanitizantes, com registro no Ministério da Saúde, as mais utilizadas são aquelas à base de cloro (PEREIRA et al., 2011). O hipoclorito de sódio é o mais empregado devido a sua rápida ação, fácil aplicação e completa dissociação em água (SREBERNICH, 2007), entretanto, nos últimos anos, o uso do hipoclorito e demais sais de cloro também tem sido motivo de preocupação, tendo em vista servirem de precursores na formação de cloraminas orgânicas, as quais apresentam alto potencial carcinogênico (VITORINO et al., 2013).

Segundo Srebernich (2007), em outros países, agentes como o vinagre, ácidos acéticos e ácido peracético ganharam aceitação por serem considerados tão eficazes quanto o cloro. Além disso, o vinagre comumente utilizado como condimento, é um produto de baixo custo, facilmente encontrado e acessível à população, e seu uso como sanitizante estaria livre do inconveniente da produção de resíduo tóxico (SILVA et al., 2016).

5 METODOLOGIA

5.1 Condições Higiênico-Sanitária

Para avaliação das condições higiênico-sanitárias do local de comercialização de hortaliças e frutas em feira livre do Município da Vitória de Santo Antão, foi aplicado um *check-list* de observação, conforme modelo proposto por SILVA et al. (2012) (ANEXO A).

5.2 Coleta da Matéria-Prima

As folhas de couve comercializadas *in natura* foram adquiridas no comércio local do município da Vitória de Santo Antão – PE. Estas foram acondicionadas em sacos plásticos com fecho hermético e transportadas, sem refrigeração, ao Laboratório Microbiologia dos Alimentos do Centro Acadêmico de Vitória da UFPE para higienização, sanitização e análises microbiológicas.

5.3 Preparo das Amostras de Couve

As operações executadas no preparo das amostras de couve estão descritas na figura 2.

As folhas de couve foram inicialmente lavadas com água destilada esterilizada em uma bacia plástica e separadas ao acaso para formação três lotes (1, 2 e 3), servindo o lote 1 de amostra controle, a qual não recebeu outro tratamento, além da lavagem com água destilada. O lote 2 recebeu tratamento com água sanitária (2,0 a 2,5% de cloro ativo), enquanto o lote 3, com vinagre (4% ácido acético).

A água de lavagem das folhas também foi analisada quanto à contagem de micro-organismos, seguindo os mesmos procedimentos de análises utilizados para as amostras.

O lote 1 das folhas de couve seguiram para análises microbiológicas apenas com a lavagem inicial em água destilada. No tratamento das folhas do lote 2, estas foram completamente imersas em solução de água sanitária, na proporção de 1 colher de sopa (10ml) para 1,0 L de água destilada, durante 20

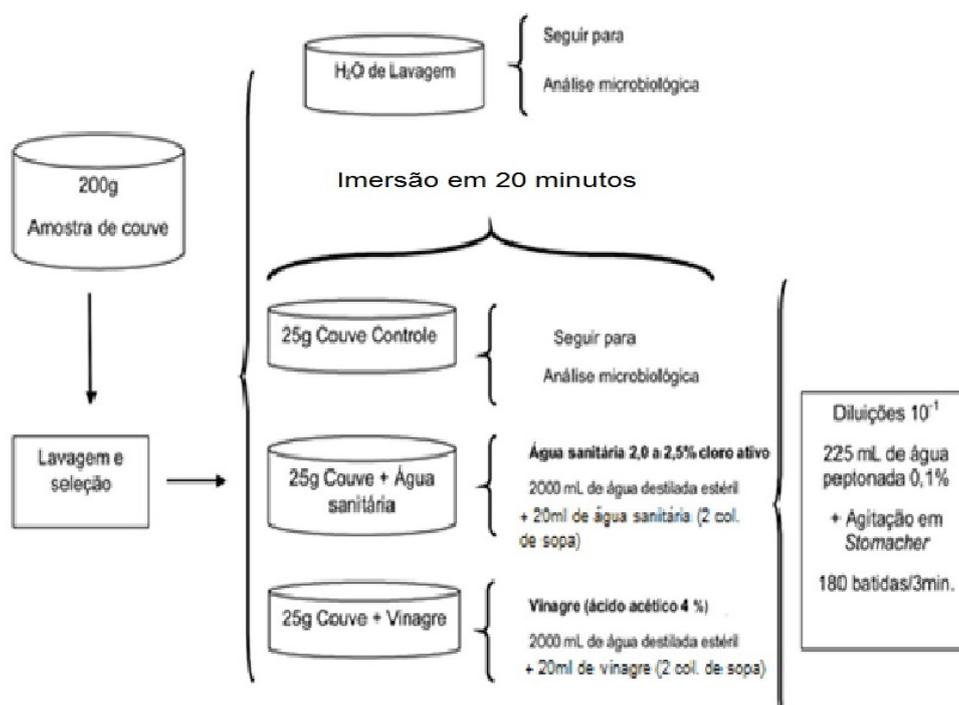
minutos. A marca da água sanitária utilizada apresentava registro no Ministério da Saúde, estava dentro do prazo de validade e trazia no rótulo a informação de concentração entre 2,0 e 2,5% de cloro ativo (BRASIL, 2009).

Para o tratamento das folhas do lote 3, foi adotado o mesmo procedimento descrito no parágrafo anterior, apenas com a substituição da água sanitária pelo vinagre. Decorrido o tempo de imersão de 20 minutos, estabelecido para cada tratamento, foram iniciados os procedimentos para o preparo das diluições, com vista às análises microbiológicas.

Para as análises da água de lavagem, inoculou-se 1,0 mL da água em tubos de ensaio contendo 9 ml de água destilada esterilizada, obtendo-se assim a primeira diluição (10^{-1}). A partir desta, foram preparadas diluições seriadas até a última diluição, 10^{-6} .

Para cada amostra de couve (controle e sanitizadas), foram pesadas, assepticamente, 25 g de folhas e diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizadas em *Stomacher* (180 batidas/minuto, durante 3 minutos), obtendo-se desta forma a primeira diluição (10^{-1}). A partir desta, foram preparadas diluições seriadas até a última diluição, 10^{-6} .

Figura 2: Fluxograma do preparo das amostras.



5.4 Análises Microbiológicas

Todas as amostras preparadas foram submetidas a análises microbiológicas para a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, coliformes totais e coliformes a 45°C. A metodologia empregada foi de acordo com as instruções contidas no Anexo II da Instrução Normativa Nº 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). As análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por grama de couve (UFC/g).

5.4.1 Contagem Padrão para Micro-organismos Mesófilos Aeróbios

Para a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, inoculou-se 1,0 mL de cada diluição em placas de Petri esterilizadas e, então, adicionado aproximadamente 20 mL do meio Ágar Nutriente (AN), seguindo a técnica “*pour plate*”. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa tipo BOD a 35°C por 48 horas.

5.4.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) para Coliformes

A determinação do NMP para coliformes foi realizada a partir de uma série de tubos de ensaio para as três diluições decimais sucessivas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Dessa forma, para cada diluição, inoculou-se 1 mL em três tubos de ensaio contendo 10mL de caldo lactosado (CL) e tubos de Durhan invertidos. Os tubos de ensaio foram incubados em estufa tipo BOD a 35°C por 24 e 48 horas.

5.4.2.1 Coliformes Totais

A partir da formação de gás no interior do tubo de Durhan no caldo lactosado, a análise para coliformes totais nas amostras de couve foi realizada pela transferência de uma alçada de cada tubo positivo para tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% (VB). Os tubos foram incubados em estufa tipo

BOD a 35°C por 24 e 48 horas. A confirmação da presença de coliformes totais se deu pela presença/formação de gás nos tubos de Durhan.

5.4.2.2 Coliformes a 45°C

A partir da formação de gás no interior do tubo de Durhan no caldo lactosado, a análise para coliformes fecais nas amostras de couve foi realizada através da transferência de uma alçada de cada tubo positivo para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos foram incubados em banho maria sob agitação a temperatura de 45°C por 24 e 48 horas. A confirmação da presença de coliformes fecais se deu pela presença/formação de gás nos tubos de Durhan.

5.4.3 Estimativa do Número Mais Provável (NMP)

A estimativa do número mais provável tanto para coliformes totais quanto para coliformes a 45°C foi realizada a partir da contagem dos tubos positivos em VB e EC, respectivamente, e comparados com a tabela do NMP do ANEXO III da Instrução Normativa N° 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

6 RESULTADOS

O resultado do *check-list* de observação, relativo às condições higiênico-sanitária do local de comercialização de hortaliças do Município da Vitória de Santo Antão, mostrou que 70% (13/18) dos itens avaliados estavam de acordo com o recomendado.

Figura 3: Local de comercialização de frutas e hortaliças em feira livre do município da Vitória de Santo Antão - PE



Fonte: Própria autora.

A tabela 1 apresenta o resultado da análise para micro-organismos mesófilos aeróbios realizados nas amostras de água de lavagem e couve *in natura* com e sem tratamentos sanitizantes.

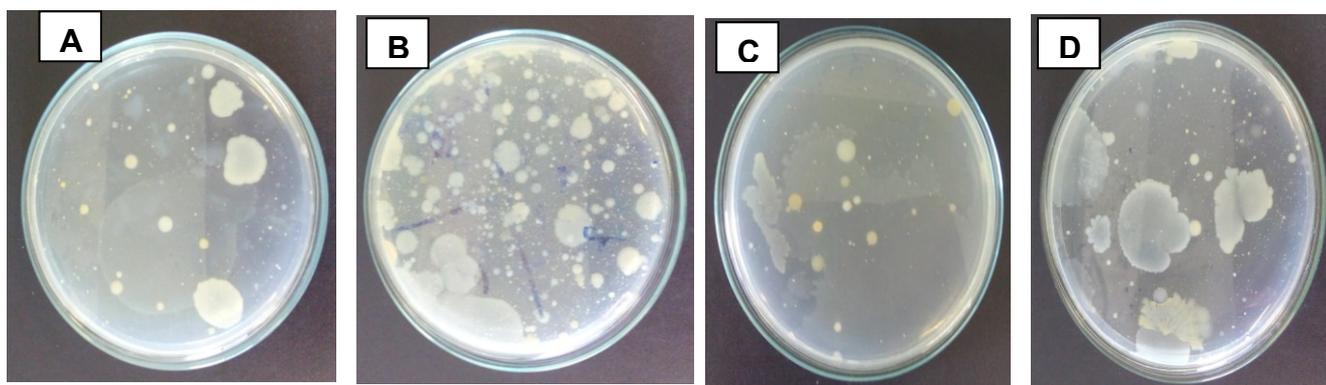
TABELA 1 - Resultado da análise microbiológica nas amostras de água de lavagem couve *in natura* com e sem tratamentos sanitizantes para micro-organismos mesófilos aeróbios.

Amostras	Mesófilos Aeróbios (UFC/g)
Água de Lavagem	$1,25 \times 10^4$
Couve Controle	$1,76 \times 10^4$
Couve com Vinagre	$5,7 \times 10^3$
Couve com Água Sanitária	$5,4 \times 10^2$

Fonte: Própria autora

A figura 4 mostra as colônias de mesófilos aeróbios visualizadas em cada tratamento utilizado.

Figura 4: Visualização da contagem de colônias de mesófilos aeróbios em placa de Petri **A:** água de lavagem, **B:** Couve controle, **C:** Couve sanitizada com água sanitária, **D:** Couve sanitizada com vinagre.



Fonte: Própria autora

Na tabela, é possível observar resultados obtidos para coliformes, em amostras de água de lavagem e couve *in natura* com e sem tratamentos sanitizantes.

TABELA 2 - Resultado das análises microbiológicas nas amostras de água de lavagem couve *in natura* com e sem tratamentos sanitizantes para micro-organismos do tipo Coliformes totais e Coliformes a 45°C

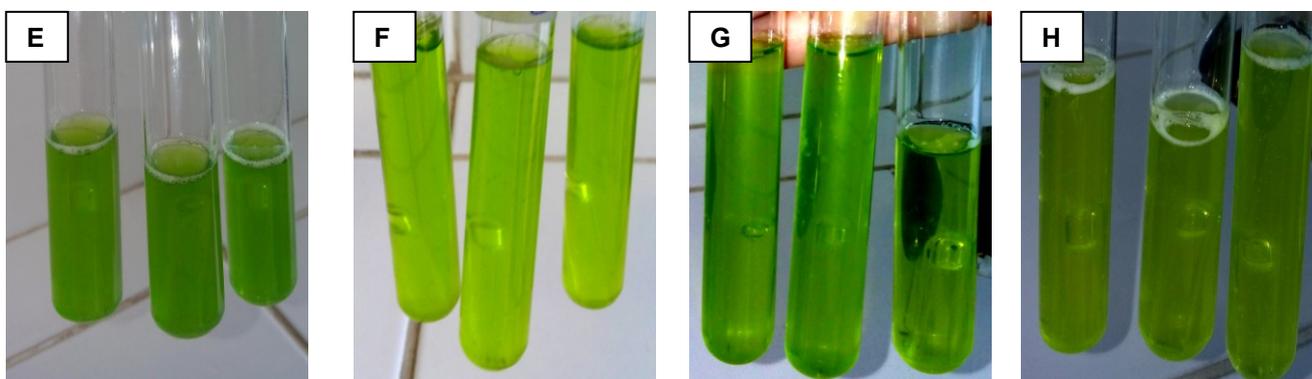
Amostras	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes a 45°C (NMP/g)
Água de Lavagem	240	*<3,0
Couve Controle	460	<3,0
Couve com Vinagre	43	<3,0
Couve com Água Sanitária	43	<3,0

Fonte: Própria autora

* Resultado expresso como < 3 NMP/g, representa ausência de crescimento, considerando limites do método

Tubos contendo caldo verde brilhante com resultados confirmativos de coliformes totais podem ser visualizados na Figura 5.

Figura 5: Prova confirmativa de coliformes totais. **E:** água de lavagem, **F:** Couve controle, **G:** Couve sanitizada com água sanitária, **H:** Couve sanitizada com Vinagre.



Fonte: Própria autora

7. DISCUSSÃO

No que diz respeito às condições higiênico-sanitárias do local de comercialização de hortaliças do Município da Vitória de Santo Antão, estas foram consideradas satisfatórias, posto que mais de 2/3 dos itens do questionário aplicado estavam de acordo com o recomendado pela legislação. Observou-se, principalmente, que os produtos comercializados obedeciam à adequada disposição, estando separados por tipo. A limpeza do local demonstrava cuidados por parte dos feirantes. Apesar disso, os produtos à venda mostravam-se sem a devida proteção contra poeira ou outras sujidades.

Com relação à higiene pessoal, os vendedores encontravam-se aparentemente limpos, com as unhas cortadas, sem barba ou adornos, todavia, não utilizavam uniforme de cor clara, nem touca descartável, conforme recomendado na RDC 216/04. Também foi observado que os vendedores manipulavam, simultaneamente, alimentos e dinheiro, uma vez que eram responsáveis tanto pela venda do produto, quanto por receber e passar o troco. Como apresentado na tabela 1, nas análises realizadas para micro-organismos mesófilos aeróbios foram encontrados na água de lavagem valores entre $1,25 \times 10^4$ UFC/g à $5,4 \times 10^2$ UFC/g após o tratamento sanitizante com a água sanitária, considerado o menor valor encontrado. Em relação à contagem na água de lavagem ($1,25 \times 10^4$ UFC/g) e a couve controle, ou seja, depois de lavada ($1,76 \times 10^4$ UFC/g) o vinagre também mostrou eficácia na redução da contagem de colônias ($5,7 \times 10^3$ UFC/g).

Dos dados apresentados, foi possível observar que a couve controle apresentou valores mais elevados de micro-organismos mesófilos aeróbios quando comparados aos valores encontrados na água de lavagem. Esta variação segundo López-Gálvez et al. (2010), pode estar associada à localização das células bacterianas, as quais podem estar protegidas nos estômatos teciduais das hortaliças, não sendo arrastadas de maneira satisfatória, apenas com a lavagem com água, necessitando assim de tratamento com sanitizante.

A legislação brasileira não contempla limites para a contagem total de mesófilos aeróbios para hortaliças frescas *in natura*. Neste sentido, foi utilizado

como referência, a recomendação de Morton, (2001) para contagem de bactérias mesófilas aeróbias em vegetais congelados e similares (valores máximos de 10^5 - 10^6 UFC/g) e para couve, especificamente, até 10^6 UFC/g.

De acordo com Beuchat et al. (2001), a lavagem de folhas de alface reduz mecanicamente até 90% da carga microbiana presente, porém, neste experimento, antes de serem imersas na solução de água sanitária e vinagre, as folhas de couve foram lavadas em água destilada esterilizada e, ainda assim, apresentaram contagens elevadas de bactérias nas análises da couve controle ($1,76 \times 10^4$ UFC/g), esses resultados assemelham-se aos encontrados por SANTOS et al. (2015), em estudo comparativo, realizado pelo autor, com couve *in natura* e minimamente processada, em que a couve *in natura* não recebeu nenhum tipo de tratamento, apresentando valores entre $1,3 \times 10^5$ UFC/g e $1,96 \times 10^5$ UFC/g,

Tendo por base os estudos para micro-organismos mesófilos aeróbios realizados por Morton, (2001) e parâmetros por ele estabelecidos, os resultados aqui apresentados mostram-se aceitáveis, uma vez que o maior valor encontrado foi na couve controle ($1,76 \times 10^4$ UFC/g). Também ficou demonstrada redução do número de colônias, a níveis satisfatórios, tanto nas folhas de couve tratadas com solução clorada (água sanitária), quanto com solução com ácido acético (vinagre), todavia, com vantagem para a primeira.

A tabela 2 apresenta os resultados das análises para micro-organismos do tipo coliformes totais e Coliformes a 45°C

Embora não haja um padrão estabelecido para coliformes totais em hortaliças, os valores encontrados (460 NMP/g) na amostra de couve (controle), ou seja, após lavagem, apenas em água, foi quase o dobro daquele encontrado na água de lavagem (240 NMP/g), um indicativo de que o procedimento de lavagem é prática ineficiente para a remoção segura de microorganismos presentes em hortaliças, e que do ponto de vista microbiológico é desaconselhável, o consumo da couve apenas higienizada com água.

Gasparello (2008), em pesquisa de coliformes totais em saladas de vegetais folhosos servidos *in natura*, encontrou valores entre $1,7 \times 10^6$ UFC/g e

$8,7 \times 10^6$ UFC/g. O autor considerou que em hortaliças sanitizadas, populações de coliformes totais acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/g (240 NMP/g) são consideradas altas.

Em relação às amostras que foram submetidas aos tratamentos com água sanitária e vinagre, estas apresentaram uma redução significativa do número de coliformes totais, ambas com 43 NMP/g. Resultados semelhantes foram encontrados por Vitorino et al. (2013), que foram de 93 NMP/g em estudo com couve minimamente processada, utilizando as mesmas soluções testadas neste trabalho.

As amostras de couve que passaram pelos tratamentos com água sanitária e com o vinagre apresentaram uma redução da contagem microbiana a níveis aceitáveis, mostrando igual eficácia.

Soares; Cantos (2006) observaram efeitos positivos do vinagre na descontaminação de hortaliças, mostrando-se eficaz na descontaminação de alimentos parasitados e patógenos antes de serem ingeridos, reduzindo dessa maneira possíveis infecções. O mesmo efeito foi verificado neste trabalho, a partir dos resultados obtidos nas análises realizadas para a contagem de coliformes totais em couve, posto que a solução com vinagre equiparou-se à solução com água sanitária apresentando resultados idênticos. Também nas análises para mesófilos aeróbios mostrou redução da carga microbiana, o que confirma sua eficácia na sanitização de hortaliças. Segundo Adami; Dutra (2011), a provável redução de coliformes no tratamento com o vinagre é devido ao fato da acidificação do meio, uma vez que estes micro-organismos não toleram condições ácidas de pH.

Conforme cita Leitão et al. (1981), quando da pesquisa de eficácia de um agente sanitizante, em indústria de alimentos, a que ser levado em conta, que a redução observada nas contagens microbianas, não pode ser atribuída exclusivamente à atividade germicida do agente sanitizante, tendo que considerar que o efeito pode estar conjugado a uma remoção das células na lavagem inicial, sendo esta de boa qualidade. Muito se sabe acerca da eficácia do hipoclorito como sanitizante, no entanto o uso do vinagre ainda é uma prática bastante utilizada nas residências com a mesma finalidade.

O Centro de Vigilância Sanitária (CVS) (1993) informou em nota com relação ao vinagre na sanitização de verduras cruas, que o mesmo não é produto relacionado como sanitizante, sendo oficialmente registrado pelo MAPA e avaliado laboratorialmente como “condimento”. Mesmo com essa avaliação, a acidez do vinagre age positivamente contra os micro-organismos patogênicos.

Nas análises realizadas para coliformes a 45°C, todas as amostras, (água de lavagem, couve controle e couves sanitizadas), apresentaram valores < 3 NMP/g, representando ausência de crescimento bacteriano.

A Legislação Brasileira, ANVISA – RDC-12/01, indica como padrão microbiológico para hortaliças, a contagem de 10^2 UFC de coliformes a 45°C por grama de produto. Das amostras analisadas nesta pesquisa, todas apresentaram valores abaixo do padrão exigido pela legislação para tal micro-organismo, um indicativo de que o cultivo da couve utilizada no estudo foi realizado livre de contaminação fecal (BRASIL, 2001).

8 CONCLUSÕES

Considerando os objetivos e metodologia utilizada neste trabalho, é possível concluir que:

1. Ainda que alguns quesitos constantes do *check-list* de observação não tenham sido atendidos, o padrão microbiológico da couve comercializada na feira de Vitória de Santo Antão mostrou atender ao recomendado pela legislação vigente com ausência de crescimento de coliformes a 45°C em todas as amostras avaliadas e resultados aceitáveis para hortaliças *in natura*, constituiu indicativo de que o cultivar da couve estava livre de contaminação fecal;

2. A contagem de micro-organismos na amostra controle, ou seja, depois da simples lavagem das folhas de couve com água, mostrou a necessidade e importância da sanitização, de forma a tornar o produto apto para consumo;

3. A presença evidenciada de mesófilos aeróbios nas amostras analisadas, ainda que não consignada como risco à saúde do consumidor, uma vez não identificadas às espécies, indica que a couve não suportaria um tempo de armazenamento longo podendo acarretar em prejuízo econômico;

4. A redução da carga microbiana inicial nas folhas de couve para níveis aceitáveis, constatada neste trabalho, comprovam a eficácia das soluções de água sanitária a 200ppm (2,0 a 2,5% de cloro ativo) e de vinagre (4% ácido acético) como agentes sanitizantes de folhas de couve (*Brassica oleracea* L.), respeitado o tempo de 20 minutos de imersão das folhas.

REFERÊNCIAS

ADAMI, Angélica Aparecida Vieira; DUTRA, Mariana Borges de Lima. - Análise da Eficácia do Vinagre Como Sanitizante Na Alface (*Lactuca sativa*, L). REAS, **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 2011. Vol. 3, p.134-144. 2011.

ALMEIDA, Maria Teresa Trovó de. Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) em restaurantes *self-service* no município de Limeira – SP, Piracicaba, 2006.

ALMEIDA, Rogéria Comastri de Castro; KUAYE, Arnaldo Yoshiteru; SERRANO, Antônio de Melo; ALMEIDA, Paulo Fernando de. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista Saúde Pública** vol.29 nº.4 São Paulo Aug. 1995.

BAÚ, Denise; SIQUEIRA, Márcia Ruth; MOOZ, Edinéia Dotti. *Salmonella* - Agente Epidemiológico Causador de Infecções Alimentares: Uma Revisão. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA DOMÉSTICA, 2009, Fortaleza. Anais... Fortaleza: **XX CBED**, 2009.

BEUCHAT; L.R.; FARBER; J.M.; GARRET; F.;H, HARRIS; I.J.; PARISH; M.E.; SUSLOW; T.V.; et al. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruit and vegetables. **Journal Food Protection**. 2001;V. 64 N.(7):P.1079-84.

BERBARI, Shirley Aparecida Garcia; PASCHOALINO, José Eduardo; SILVEIRA, Neliane. F. Arruda. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(2): 197-201, maio-ago. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (**Dispoa**). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, que aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Disponível em:<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 27/03/2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (**ANVISA**). Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus anexos I e II. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan 2001, Seção 1, n. 7-E, p. 45.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (**ANVISA**). Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Cartilha. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 15 set 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, ano 05, n. 6, dezembro 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária Executiva de Vigilância em Saúde. Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco. **Boletim Anual**, ano 05, Março 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. **Comunicado CVS-64**, de 19-5-93.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde Coodenadoria de controle de doenças Centro de Vigilância Sanitária. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. **DOE de 19/04/2013 - nº. 73 - Poder Executivo – Seção I, pág. 32, 35.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 55, de 10 de novembro de 2009. Aprova Regulamento Técnico que estabelece os requisitos mínimos para o registro de produtos saneantes categorizados como água sanitária e alvejantes à base de hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 13 nov 2009, Seção 1, p. 42-43.

CAVALCANTI, Nathalia Amanda de Oliveira; FERREIRA, Vanelly; NASCIMENTO, Rogéria Mendes do; Proposta de Cursos para Capacitação dos Agricultores como Instrumento de Educação Ambiental, Bacia Hidrográfica De Natuba, Município da Vitória de Santo Antão/PE- Brasil. In: V CONGRESSO NORTE E NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 2010, Maceió/Alagoas. Anais...Maceió/Alagoas **V CONNEPI**, 2010

COSTA, Wanessa Altimiras; VANETTI, Maria Cristina Dantas; PUSCHMANN, Rolf. 2009 - Biocontrole de *Listeria monocytogenes* por *Pediococcus acidilactici* em couve minimamente processada- **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(4): 785-792, out.-dez. 2009.

DANTAS, Maria I. S; DELIZA, Rosires; MINIM, Valéria P.R.; HEDDERLEY, Duncan. Avaliação da Intenção de Compra de Couve Minimamente Processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 25(4): 762-767, out.-dez. 2005.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: **Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças**. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br>. Acesso em: 20/07/2016.

GASPARELLO, Elaine Angélica. Pesquisa de Coliformes a 35°C e 45°C, Samonelas e Estafilococos Coagulase Positiva em Saladas de Vegetais Folhosos Servidos “In Natura” em Restaurantes no município de Campo Mourão – Paraná. Tese (Especialização) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2008.

JAY, James M. Microbiologia de Alimentos. 6ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JOSÉ, Jackline Freitas Brilhante de São; SILVA, Leonardo Faria. Ocorrência de patógenos em frutas e hortaliças. **Higiene Alimentar** – Vol. 28 – nº 234/235 – julho/agosto de 2014.

LEITÃO, M.F.F.; E, MONTEIRO FILHO; I.DELAZARI and E.ANGELUCCI, Effects of chemical desinfectants for reducing bacterial contamination in lettuce (*Lactuca sativa* L). **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, Brasil, v. 19, p. 201-226, 1981.

LÓPEZ-GÁLVEZ F, Gil MI, TRUCHADO P, SELMA MV, ALLENDE A. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorine dioxide or sodium hypochlorite. **Food Microbiology**. 2010; V.27N. (2):P.199-204.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. IN: DOWNES; F.P.; ITO; K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 th ed. Washington: **American Public Health Association**, 2001. Cap. 7, p. 63-67.

NASCIMENTO, Maristela da Silva do; SILVA, Nausely da; CATANOZI, Maria da Penha L. Mortatti. SILVA, Kamila Cristina da. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.6, n.1, p.63- 68, jan./jun.2003.

NOVO, Maria do Carmo de Salvo Soares; PANTANO, Angélica Praela-; DEUBER, Robert; TORRES, Roseli Buzanelli; TRANI, Paulo Espindola; BRON, Ilana Urbano. Morfologia de Folhas de Couve do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônômico - Campinas, 2010.

OMS – Organização Mundial de Saúde; Five Keys for Safer Food Manual, 2006. Disponível em:

<http://www.who.int/foodsafety/consumer/manual_keys_portuguese.pdf>
Acesso em: 10/06/ 2016.

PEREIRA, Ana Paula Maciel; WERLE, Catierine Hirsch; GONÇALVES, Tânia Maria Vinturin; HOFFMANN, Fernando Leite. Identificação e avaliação da resistência antimicrobiana de leveduras em vegetais minimamente processados. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.2, p.139-43, 2011.

SANTOS, Kécia Rejany da. Silva Batista; TEIXEIRA, Cleide Novais da Silva; JÚNIOR, Nivaldo Moraes Viana; SANTANA, Renata Ferreira; MIRANDA, Adriana da Silva; COUTINHO, Rita Graziella. - Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. DOI: **10.12957/demetra.2015.13856**

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. 2006. **Censo Agropecuário**. Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, p.777.

SILVA, Ákylla Fernanda Souza; LIMA, Camila Ananias de; QUEIROZ, José Jeyvson Florencio; JÁCOME, Paula Regina Luna de Araújo; JÚNIOR, Agenor Tavares Jácome. Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas. **Revista. Ambiental Água**, vol.11 nº.2 Taubaté Apr./June 2016.

SILVA, Amanda Graziely da; SILVA, Viviane Aparecida Ferreira da; SILVA, Maciel Lopes da; MACHADO, Adalva Lopes. Avaliação da condição higiênico-sanitária na comercialização de frutas e hortaliças em feiras livres do município de Luís Gomes/ RN – Brasil. In: VII CONGRESSO NORTE E NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 2012, Tocantins. Anais...Tocantins **VII CONNEPI**, 2012

SILVA, Anderson Clayton da. Caracterização microbiológica e importância da pesquisa de estafilococos coagulase positiva em couves minimamente processadas, comercializadas no município de Campo Mourão, 2013. 48 f. Monografia- Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, p.1997.295.

SOARES; Bolivar; CANTOS, Geny Aparecida. Avaliação de Agentes Químicos Indicadores para Descontaminação de Hortaliças. **SAÚDE EM REVISTA**. PIRACICABA, 8(19): 45-49, 2006.

SOUSA, Cristina Paiva de. Segurança Alimentar e Doenças Veiculadas por Alimentos: Utilização do Grupo Coliforme como um dos Indicadores de Qualidade de Alimentos. **Revista APS**, v.9, n.1, p. 83-88, jan./jun. 2006.

SREBERNICH, Silvana Mariana. Utilização de dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.744-50, 2007.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP.- T113 Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: **NEPA-UNICAMP**, 2006. 113p.

VITORINO, Luciana Cristina; OLIVEIRA, Kênia Borges de; MOURA Lígia Campos de, FURTADO, Diogo Cunha. Eficiência de Sanitizantes no Controle Microbiano da Couve (*Brassica Oleracea* L.) Minimamente Processada, em Função do Tempo de Armazenamento. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.9, N.16; p.965, 2013.

VIZZOTTO, Marcia; KROLOW, Ana Cristina; TEIXEIRA, Fernanda Cardoso. Alimentos Funcionais: Conceitos Básicos. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2010.20 p.

ANEXO

ANEXO A – *Check-list* de observação para verificação da situação higiênico-sanitária da barraca de comercialização de hortaliças em feira livre do Município da Vitória de Santo Antão - PE

1. Há presença de animais? N () S (), quais?
2. Exposição de alimentos: sem proteção, na poeira? N () S ()
3. Como é comercializada?
4. O vendedor está limpo? N () S (),
5. Usa toucas? N () S (),
6. Quem recebe o dinheiro é quem vende? N () S (),
7. Utiliza-se pano de prato na secagem das mãos? N () S (),
8. Os funcionários estão com adornos? N () S (),
9. Comem no local enquanto trabalham? N () S (),
10. As unhas estão cortadas e sem esmalte? N () S (),
11. As mãos limpas e rosto sem barba? N () S (),
12. Usam uniforme de cor clara e adequado para a atividade? N () S (),
13. Fumam durante o atendimento? N () S (),
14. Os utensílios utilizados parecem ser limpos? N () S (),
15. Há presença de lixo? N () S (),
16. Há local adequado para estocagem do lixo? N () S (),
17. Condições de bancos: Estão em bom estado de conservação? N () S (),
18. Existe a presença de produtos de origem animal sendo comercializados juntamente com as frutas e hortaliças? N () S ().

Fonte: Adaptado de SILVA et al., 2012.