

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Letícia Katiene da Silva

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DE
ALFACE (*Lactuca sativa*) E CONTAGEM DE
BACTÉRIAS MESÓFILAS APÓS DESINFECÇÃO**

**Taubaté – SP
2019**

Letícia Katiene da Silva

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DE
ALFACE (*Lactuca sativa*) E CONTAGEM DE
BACTÉRIAS MESÓFILAS APÓS DESINFECÇÃO**

Trabalho de Graduação apresentado para
obtenção do Título de Bacharel pelo curso de
Nutrição do Departamento de Departamento
de Enfermagem e Nutrição da Universidade de
Taubaté.

Orientadora: Profa. Dra. Mariko Ueno

**Taubaté – SP
2019**

Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBi/UNITAU
Biblioteca Setorial de Biociências

S586a Silva, Letícia Katiene da
Avaliação da qualidade sensorial de alface (*Lactuca sativa*) e contagem de bactérias mesófilas após desinfecção /
Letícia Katiene da Silva. -- 2019.
42f. : il.

Monografia (Graduação) – Universidade de Taubaté,
Departamento de Enfermagem e Nutrição, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Mariko Ueno, Instituto Básico de
Biociências.

1. *Lactuca sativa*. 2. Sanitização de alfaces. 3.
Armazenamento. I. Título.

CDD- 613.2

LETÍCIA KATIENE DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DE ALFACE (*Lactuca sativa*) E
CONTAGEM DE BACTÉRIAS MESÓFILAS APÓS DESINFECÇÃO**

Trabalho de Graduação apresentado para
obtenção do Título de Bacharel pelo curso
de Nutrição do Departamento de
Departamento de Enfermagem e Nutrição
da Universidade de Taubaté.

Orientadora: Profa. Dra. Mariko Ueno

Data: 27/06/2019

Resultado: aprovada

BANCA EXAMINADORA

Profa Ms Mariana Gardin Alves

Assinatura_____

Universidade de Taubaté

Prof.Ms Ivan da Silva de Faria

Assinatura_____

Universidade de Taubaté

Profa. Dra. Mariko Ueno

Orientadora

DEDICATÓRIA

Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas aos meus pais, Isaias e Leidenelia, pelos cuidados e dedicações diárias, e pela força e esperança para seguir em frente e conquistar o meu sonho.

AGRADECIMENTOS

A toda minha família, por serem a minha estrutura.

A todos os professores do curso de Nutrição que contribuíram para minha formação e para o meu desenvolvimento profissional, por me mostrarem a grande importância do profissional Nutricionista compreender a microbiologia dos alimentos. Agradeço em especial à Profa. Dra. Mariko Ueno, com quem partilhei o que era broto daquilo que veio a ser esse estudo, pela paciência e incentivo que tornaram possível a conclusão.

A Cristiane e Maitê, pelo auxílio durante a prática deste estudo, realizado no Laboratório de Microbiologia do Campus Bom Conselho, da Universidade de Taubaté.

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar o tempo de vida útil de folhas de alface desinfetadas através de duas formas de armazenamento. Modo a identificar qual método consegue manter ao longo do tempo de armazenamento as melhores condições de consumo. Analisadas através de parâmetros sensoriais, todas folhas apresentaram redução quanto seu aspecto ao longo do tempo de armazenamento, mas a caixa armazenada apenas com as folhas de alface apresentou menor senescência durante cinco dias. As contagens totais de bactérias mesófilas foram realizadas em dois momentos (dia 0 e 3) deste estudo, as folhas de alface armazenada com papel toalha apresentou-se valores de UFC/g menores em relação as folhas de alface armazenadas sem papel toalha, no primeiro dia apresentou-se $5,3 \times 10^2$ UFC/g, 5 ciclos de logaritmos a menos das folhas armazenadas sem papel toalha, enquanto no terceiro dia apresentou um crescimento de $7,8 \times 10^3$ UFC/g, permanecendo menor.

Palavras-chaves: *Lactuca sativa* L. Sanitização de alfaces. Armazenamento.

ABSTRACT

In this work, has objective to survey the time of useful life of leaves of lettuce disinfected through two forms of storage. Way to be proved which method obtains keeps throughout the storage time, the better conditions of consumption. Analyzed through sensorial parameters, all the lettuce leaves had presented reduction in their aspect throughout the storage time, but the stored box only with lettuce leaves, have shown less senescence through five days. The total counting of mesophilics bacteria were accomplished at two moments of this study (0 and 3, day's), the lettuce leaves had storage with absorbent paper present lessed values of UFC/g in respect to leaves of lettuce stored without absorbent paper, on the first day it was shown 5.3×10^2 UFC / g, 5 cycles of logarithms less than the leaves stored without paper towels, while on the third day showed a growth of 7.8×10^3 UFC / g, remaining smaller.

Keywords: *Lactuca Sativa Lettuce*. Lettuce sanitization. Storage.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Parâmetros de avaliação sensorial da alface.....	29
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Variedades de alfaces comercializadas no CEAGESP no ano de 2017	15
Tabela 2.	Microrregiões que ofertaram alfaces no ano de 2018.....	16
Tabela 3.	Avaliação sensorial das folhas armazenadas sem papel.....	30
Tabela 4.	Avaliação sensorial das folhas armazenadas com papel.....	30
Tabela 5.	Avaliação sensorial das folhas armazenadas sem desinfecção	30
Tabela 6.	Resultados da análise dos micro-organismos aeróbios mesófilos, pesquisado na alface (<i>Lactuca sativa</i>)	34

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1.	Folhas de Alface imersas na solução de hipoclorito de sódio.....	25
Figura 2.	Folhas de alface em centrifuga manual	25
Figura 3.	Armazenamento das folhas de alface	26
Figura 4.	Diluição inicial de 10:1 (10^{-1})	27
Figura 5.	Placas de Petri homogeneizadas com ágar nutriente em duplicatas	28
Figura 6.	Esquema de análise para contagem total bactérias mesófilas ...	28
Figura 7.	3º dia de armazenamento das folhas de alface desinfetadas com início de alterações	31
Figura 8.	4º dia de armazenamento das folhas sem desinfecção	32
Figura 9.	Folhas desinfetadas com caules moderados e severos	33
Figura 10.	Contagem total bactérias mesófilas. Dia 3º Crescimento sem papel (10 A). Dia 3º Crescimento com papel (10 B)	35

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo Geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	Hortaliças.....	14
3.2	Produção de alface.....	14
3.3	Desperdícios de alimentos.....	16
3.4	Consumo de hortaliças no Brasil.....	17
3.5	Higienização de hortaliças.....	18
3.6	Armazenamento das hortaliças.....	19
3.7	Avaliação microbiológica de folhas de alface.....	20
3.8	Avaliação sensorial de hortaliças.....	22
4.	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Material.....	24
4.2	Limpeza das folhas de alface crespa.....	24
4.3	Desinfecção das folhas de alface crespa.....	25
4.4	Contagem de bactérias.....	27
4.4.1	Contagem total de bactérias mesófilas.....	27
4.5	Avaliação visual.....	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	Avaliação sensorial das folhas de alface.....	30
5.1.1	Aroma das folhas de alface.....	31
5.1.2	Escurecimento das folhas e do caule da alface.....	31
5.1.3	Texturas das folhas de alface.....	33
5.1.4	Qualidade visual geral das folhas de alface.....	34
5.2	Contagem de bactérias mesófilas.....	34
6	CONCLUSÃO	387
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

A alimentação saudável influencia de forma significativa na prevenção e na reabilitação de doenças, e o consumo de hortaliças se torna relevante, sobretudo, por seu conteúdo rico em fibras.^{1,2}

Porém as hortaliças são alimentos de fácil contaminação, a produção já é um meio de veículo para as bactérias se deslocarem e reproduzirem, seja pelo solo, água ou transporte. Pode ocorrer antes e após a colheita.³

De acordo com Silva, Medeiros e Pires (2015) após análise de 24 amostras de hortaliças correspondendo a dois tratamentos: posterior a lavagem em água corrente e após desinfecção com cloro, observou-se redução superior a 35% na carga microbiana da alface.

A recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, com base na Resolução-RDC 216/2004⁴, é que os alimentos como frutas, legumes e hortaliças devem ser corretamente higienizados antes do consumo.

As folhas geralmente são consumidas cruas, principalmente a alface, tornando susceptíveis às contaminações microbiológicas, pois não passam por tratamento térmico. Sendo assim, para que não sejam consumidas sem nenhum tratamento, se torna importante a prática da higienização com sanitizantes, um produto que reduz o número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde.^{1,5}

Independente da solução destinada a higienização de alimentos, deve ser capaz de eliminar as bactérias e que não faça mal à saúde e conserve sua qualidade nutricional.⁶

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Realizar higienização de hortaliças e armazenar em refrigeração, avaliar sensorialmente e microbiologicamente durante a vida de prateleira.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar dois métodos de conservação de alface após desinfecção

Avaliação dos aspectos visuais das folhas como escurecimento do caule, avaliar a textura e o aroma.

Contagem de bactérias mesófilas durante a vida-de-prateleira após a desinfecção de hortaliças.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hortaliças

As hortaliças folhosas no Brasil como alface por exemplo, apresentam uma verdadeira riqueza de variedade, cor e sabor, tais como: crespa, americana, lisa, mimosa, roxa, romana e mini, algumas mais conhecidas em diferentes regiões e outras de consumo mais regional.⁷

As fibras presentes nas hortaliças possuem funções importantes no trato gastrointestinal e na redução do risco de constipação. Contribuem para o aumento da capacidade de retenção hídrica, aumentando o volume fecal, assim diminuindo o tempo de trânsito do intestino. O consumo adequado é um fator protetor para a saúde intestinal.^{1,2}

3.2 Produção de alface

A produção de alface é de grande importância socioeconômica. Além de substancialmente nutritivas, geram emprego e renda em todos os elos de sua cadeia produtiva. São plantas exigentes em mão de obra desde o preparo do solo até a comercialização, possuem ciclo curto, o que permite vários cultivos durante o ano.⁸

Os canteiros do cultivo se renovam de dois em dois meses, e as sementes são desenvolvidas para ser mais resistentes, a fim de se adaptar ao clima tropical do Brasil. As safras são boas devido as condições climáticas favoráveis, quando não tem excesso de chuvas e nem de calor. Com isso o cultivo de hortaliças faz parte de muitas agriculturas familiares.⁷

As hortaliças folhosas são produzidas em todas as regiões brasileiras, sobressaindo as regiões sudeste e sul, que concentram a maior parte da produção que é de 84%. Os principais Estados que lideram a produção de hortaliças folhosas é São Paulo, seguida pelo Rio de Janeiro.⁸

Dados da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP, 2017) mostraram que a alface foi o 18º produto mais comercializado no ano de 2017, sendo um volume de 49.435,50 toneladas, e as variedades mais comercializadas neste período foram:

Tabela 1. Variedades de alfaces comercializadas no CEAGESP no ano de 2017

VARIEDADE	%
Americana	47%
Crespa	38,5%
Mimosa	5,9%
Lisa	4,28%
Romana	1%

Fonte: CEAGESP⁹

As cinco principais microrregiões do Brasil que ofertaram alfaces para as CEASAS em agosto de 2018:

Tabela 2. As cinco primeiras microrregiões que ofertaram alfaces no ano de 2018

MICRORREGIÕES	OFERTA (Kg)
Piedade-SP	1.919.524 Kg
Itapecerica da Serra-SP	388.996 kg
Ibiapaba-CE	368.020 kg
Serrana-RJ	311.129 kg
Vitória de Santo Antão-PE	208.736 kg

Fonte: CONAB¹⁰

De acordo com o boletim hortigranjeiro da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), considerou os volumes de alface no período de julho de 2018 a agosto do mesmo ano, no CEAGESP em torno de 2.500 toneladas, e em setembro de 2018 houve uma expansão para 3.500 toneladas (CONAB, 2018).

3.3 Desperdícios de alimentos

A Organização das Nações Unidas (ONU) para a Alimentação e a Agricultura, relata que a quantidade do desperdício de alimento no mundo é alta, sendo que um terço de todos os alimentos produzidos são desperdiçados, mesmo que esteja em situações adequadas para o consumo, chega a representar cerca de 1,3 bilhão de toneladas de alimentos desperdiçados todos os anos.¹²

Zaro et al. (2018) realizaram uma coleta de dados com 214 residências, em um bairro de Caxias do Sul/RS, referente ao descarte de resíduos alimentares, 42,1% dos indivíduos entrevistados afirmaram que os desperdícios de alimentos ocorrem no âmbito domiciliar.

É necessário que os consumidores planejem as suas compras, adquirindo o que será realmente consumido, aprender receitas inovadoras para o aproveitamento

de partes de alimentos que geralmente não são usadas, são medidas simples que fazem diferença, evitando assim o desperdício em suas residências.¹⁴

Desde a cadeia produtiva à distribuição dos alimentos é necessário o uso da água, terra, adubos minerais, pesticidas em muitos casos, energia elétrica e combustíveis fósseis. O alimento que vai para o lixo, enterra junto com ele todos esses recursos que foram utilizados durante o processo de produção, causando impactos ambientais na atmosfera e na biodiversidade.⁸

3.4 Consumo de hortaliças no Brasil

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) um em cada quatro brasileiros consomem a quantidade ideal recomendada de hortaliças, o que representa a ingestão diária de pelo menos 400 gramas de frutas e hortaliças, aproximadamente cinco porções diárias.¹

O padrão da alimentação está mudando rapidamente na grande maioria dos países, e as principais mudanças envolvem a substituição de uma alimentação saudável (arroz, feijão, mandioca, batata, legumes, verduras e outros) para alimentos industrializados, prontos para consumo. Essas transformações, observadas com grande intensidade no país, determinam, entre outras consequências, o desequilíbrio na oferta de nutrientes e a ingestão excessiva de calorias.¹

Segundo Canella et al. (2018) a quantidade de hortaliças e de alimentos ultra processados referente à aquisição domiciliar aumenta com a elevação da renda e difere entre as regiões, para o consumo de hortaliças é maior nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, o que não deixa de existir uma concentração de alimentos ultra processados, nas regiões Sul e Sudeste.

Os indivíduos que consomem hortaliças, preferem a forma de preparação crua. As variedades de hortaliças tornam vasta as preparações na culinária, mas nem por isso seu consumo permanece desejado e frequente em grande parte do país.¹

3.5 Higienização de hortaliças

Os alimentos quando se apresentam inseguros, não são adequados para o consumo. São diversos os fatores que podem levar à insegurança dos alimentos, como toxinas de ocorrência natural, água contaminada na produção, uso irregulares de pesticidas e resíduos de medicamentos. Também podem se tornar inseguro quando ocorre condições de armazenamentos erradas, temperaturas, assim como o manipulador que deve-se apresentar uma higiene pessoal para execução das tarefas, os utensílios e superfícies que entraram em contato com os alimentos. A manipulação e higienização doméstica é um fator relevante para preservar a qualidade microbiológica do alimento.^{12,16}

As verduras podem estar contaminadas por micro-organismos, sendo muito importante a higienização adequada antes de serem consumidas. A higienização compreende duas etapas: a limpeza e a desinfecção.^{1,5}

A higienização de hortaliças, como a alface deve ser realizada com água potável e com produtos sanitizantes específicos para uso em alimentos, regularizados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001), atendendo as instruções recomendadas pelo fabricante.⁵

3.6 Armazenamento das hortaliças

A refrigeração no armazenamento é um dos fatores que influenciam diretamente na conservação das hortaliças, quanto maior a temperatura do refrigerador menor será a vida útil, porque a velocidade das reações bioquímicas e do desenvolvimento de infecções e infestações é aumentada. A elevação da temperatura acelera o desenvolvimento e reprodução dos micro-organismos causando um aumento exponencial da respiração, que é o principal indicador do funcionamento metabólico vegetal.¹⁸.

A temperatura de frutas, verduras e legumes higienizados, fracionados ou descascados deve-se permanecer no máximo de 5°C, segundo a Portaria CVS nº 05, de 09 de abril de 2013.

A alface é uma hortaliça que apresenta uma característica de murchar facilmente, com sua capacidade de perder água, o que interfere em seu aspecto de frescor por longo tempo. A umidade relativa durante o armazenamento deste produto refrigerado deve ser superior a 95%.¹⁸

O escurecimento também é uma das características de hortaliças, quando apresentado nas bordas das folhas está diretamente associado à ação do oxigênio, catalisação da enzima polifenoloxidase, substrato tirosina, compostos fenólicos (monofenol e o o-difenol), isso ocorre quando há uma ruptura da célula, proveniente de cortes e folhas amassadas, causando a produção de substâncias de coloração escura nos produtos. Uma das formas mais comum de controlar o escurecimento, é inativar as enzimas com o calor, através do método de branqueamento em temperaturas de 70° a 100°C por 1 a 5 minutos, remoção de oxigênio através da

utilização de recipientes hermético. A temperatura baixa através do congelamento não inativa as reações, apenas diminui a velocidade da ação enzimática.^{20,21}

3.7 Avaliação microbiológica de folhas de alface

Foi registrado no Brasil, entre os anos de 2000 a 2017, o número de 12.503 surtos de doenças transmitidas por meio dos alimentos, sendo que 236.403 pessoas estiveram expostas e uma consequência de 182 óbitos. Dos casos notificados 2.593 tiveram a identificação do agente etiológico, sendo as bactérias o maior destaque, 92,2%, dessas bactérias cepas de *Salmonella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e coliformes apresentaram maior frequência.²²

A contaminação nos alimentos pode ter origem logo no início de sua cadeia produtiva, no caso das hortaliças pode ocorrer na irrigação, com a utilização de água de má qualidade, assim as chances de trazer sérias complicações à saúde dos consumidores. Foi observado a presença do grupo coliformes e da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* tanto na água de irrigação como nos próprios alimentos irrigados. A maioria dos agricultores trabalham com o método tradicional de cultivo, que é diretamente no solo, onde pode conter água contaminada, adubos originários de fezes de animais, entre outros que podem levar a presença de bactérias. Por isso, é crucial o controle higiênico-sanitário dos alimentos, contribuindo com a prevenção de doenças de origem alimentar.^{3,23}

Em uma análise realizado por Gomes (2015) em 20 amostras de alfaces, sem higienização, adquiridas em diferentes pontos de venda, como feiras livres e supermercados, constatou-se os seguintes resultados: em nenhuma das amostras

observou a presença de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* esteve presente em 63% e *Escherichia coli*, foram identificadas em 37% das amostras.

Araújo (2014) verificou em estabelecimentos comerciais e residências, a presença de bactérias mesófilas nas hortaliças sem higienização, de 10 (100%) unidades, 6 (60%) apresentaram valores estimados de 65.000 UFC/g em estabelecimentos. Em residências 01 (10%) unidade deu valor estimado de aproximadamente 65.000 UFC/g. As quantidades das preparações são maiores em estabelecimentos comerciais, o que pode contribuir diretamente com o crescimento de bactérias.

Ferreira et al. (2016) analisaram 12 unidades de alfaces, sem higieniza-las, e constatou que estavam inseguras para o consumo humano, devido à presença de *Salmonella* sp. e também por estarem fora das conformidades segundo a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, provavelmente decorrente as falhas de manipulações, sanitização e, até mesmo, contaminação cruzada.

Para a higienização das folhas de alface Silva, Medeiros e Pires (2015) utilizaram soluções como água sanitária 40 ppm, vinagre 200 ppm e ácido peracético 120 ppm, observou a capacidade de reduzir cargas bacterianas através de todas soluções, mas ressalta que o uso de vinagre a 200 ppm, reduziu consideravelmente a contaminação por bactérias, considerando um método seguro e de baixo custo.

O hipoclorito de sódio foi considerado por Mendes et al. (2016) e Adami et al. (2011) a solução mais eficaz, na sanitização de hortaliças onde apresentou ausência de *coliformes* totais e *coliformes* fecais. O uso de ácido acético como solução, apresentou baixo desempenho na sanitização de hortaliças, onde bactérias aeróbias mesófilas, foram resistentes quando submetidas a esse tratamento, sem redução significativa do número de UFC/g.

Chaves (2016) também considerou o hipoclorito de sódio mais eficiente para a sanitização das hortaliças folhosas, comparando ao vinagre que não foi eficaz, permanecendo níveis altos de células de coliformes termotolerantes.

Os produtos mais utilizados em residências para a higienização, são os compostos clorados. Existe no mercado outras opções de sanitizantes como ácido láctico, cítrico e ácido acético que são eficazes, mas devem ser analisados. Independente do sanitizante, todos devem garantir a redução da contagem microbiana nos alimentos, deixando-os em condições para o consumo, sem riscos à saúde pública, preservando as características sensoriais e nutricionais.⁶

3.8 Avaliação sensorial de hortaliças

O controle sensorial envolve algumas observações como a cores, odores e texturas. Essas observações são relevantes para a identificação de produtos que apresentem alguma alteração, seja ele microbiológico ou químico.¹⁹

As características sensoriais por consumidores são avaliadas pela seguinte ordem: aparência, aroma/odor, textura e sabor. As aparências estão relacionadas com a cor, caracterizada com indícios de deterioração e escurecimento. O odor é detectado através dos compostos voláteis quando aspirados pelo nariz e percebidos pelo sistema olfatório. Uma das percepções relacionadas a textura pode ser a fibrosidade presente ou isenta no alimento.³⁰

Sanches (2017) avaliou três cultivares de alface, em um período de doze dias. A textura, escurecimento das folhas foram os parâmetros que mais afetaram a perda de qualidade das alfaces, no sexto dia apresentaram um comprometimento ao consumo, sendo caracterizadas como moderadamente flácidas para textura e

moderadamente escuras para coloração. A perda da qualidade geral das folhas se comprometeu aos doze dias de avaliação, sendo assim limitado para o consumo humano, o que é uma ocorrência esperada, uma vez que a qualidade não pode ser melhorada, apenas mantida.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Este estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, no período de fevereiro a maio de 2019. Para o desenvolvimento, foram utilizados seis pés de alfaces variedade *crispa* (*Lactuca sativa var. crispa*), adquiridos em uma rede de supermercado, 30 minutos antes do início do estudo. O hipoclorito de sódio e o papel toalha, foram adquiridos, também, em um supermercado da região, quatro caixas plásticas e uma centrifuga manual para saladas foram compradas em lojas populares. Materiais como Ágar nutriente, cloreto de sódio, água destilada, proveta, pipeta, alcoômetro, foram utilizados do laboratório.

4.2 Limpeza das folhas de alface crispa

Após a aquisição, as folhas de alface foram levadas diretamente para o laboratório, em sacolas plásticas. Todos os utensílios que entraram em contato com as folhas foram desinfetados com água sanitária.

As folhas externas de quatro pés de alfaces que apresentaram defeitos, danos e/ou necroses, amassadas, rasgadas ou com escurecimentos das extremidades foram eliminadas durante a limpeza em água corrente, em seguida as folhas perfeitas foram destacadas manualmente e lavadas uma a uma, esse processo se repetiu por duas vezes.

4.3 Desinfecção das folhas de alface crespa

Em uma caixa (dimensões: 33 a 23 x 14cm), a solução de desinfecção foi preparada a partir de solução de hipoclorito de sódio em concentração de 2,5%p/p. Foi realizado a diluição em 1:100 em 7 litros de água potável.

A solução de hipoclorito de sódio foi homogeneizada e foram mergulhadas as folhas de alface, que ficaram imersas durante 15 minutos (figura 1)



Figura 1 - Folhas de Alface imersas na solução de hipoclorito de sódio

Após 15 minutos, as folhas foram retiradas da solução com pinças esterilizadas, uma a uma e transferidas para uma caixa de polipropileno com água para serem enxaguadas.

Com pinças as folhas de alface foram transferidas para a centrífuga manual de salada da marca Plasútil®, conforme figura 2.



Figura 2 - Folhas de alface em centrífuga manual

Após a centrifugação manual por 30 segundos para eliminar o excesso de água, as folhas foram separadas em caixas plásticas (37 x 21 x 10cm). Em uma caixa (figura 3-A) as folhas de alface foram colocadas apenas com camadas uma sobre as outras. Na (figura 3-B) as folhas de alface foram intercaladas com folha de papel toalha, apresentando em média 6 folhas de alface em cada camada.



Figura 3 - A



Figura 3 - B

Em uma terceira caixa (figura 3-C), folhas de alface sem desinfecção foram colocadas uma sobre as outras formando camadas.



Figura 3 - C

As caixas (a, b e c) foram fechadas com suas travas herméticas e armazenadas sob refrigeração em geladeira, na primeira e segunda prateleira, em temperatura de 5°C, durante 5 dias para análise visual e contagem de bactérias mesófilas de 3 dias.

4.4 Contagem de bactérias

4.4.1 Contagem total de bactérias mesófilas

A contagem total de bactérias mesófilas foi realizada por meio da técnica de Pour Plate. Vinte e cinco gramas da amostra foram pesados na balança digital modelo CBRN01538, (Commerce Brasil®) e transferidos para um frasco de homogeneização previamente esterilizado. A amostra foi homogeneizada com 225 ml de solução fisiológica 0,9%, sendo esta a diluição inicial de 1:10 (10^{-1}).



Figura 4 - Diluição inicial de 10:1 (10^{-1})

Para a preparação da segunda diluição (10^{-2}), foi transferido 1 ml da diluição 10^{-1} para 9 ml de solução fisiológica 0,9%. Foi transferido 1,0 ml das duas últimas diluições para placas de Petri e homogeneizadas com 25 ml de ágar nutriente, em duplicata. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas na estufa de cultura modelo 002CB (Fanem®) (Silva et al., 2007).

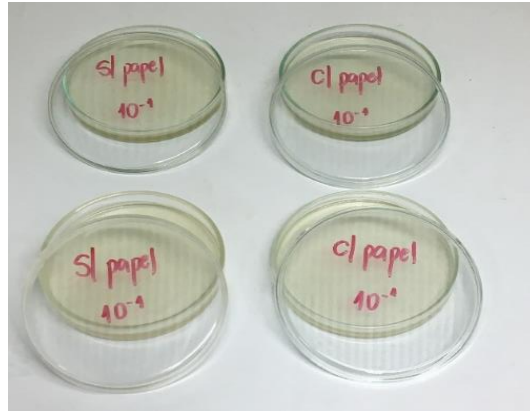


Figura 5 - Placas de Petri homogeneizadas com ágar nutriente em duplicatas

Após 24 horas incubadas na estufa, cada placa foi retirada da estufa de cultura e contadas as colônias no Contador de Colônias modelo CP 600 Plus, (Phoenix®).

A Figura 6 apresenta o esquema de análise para contagem total de bactérias mesófilas (adaptado de SILVA et al., 2007).

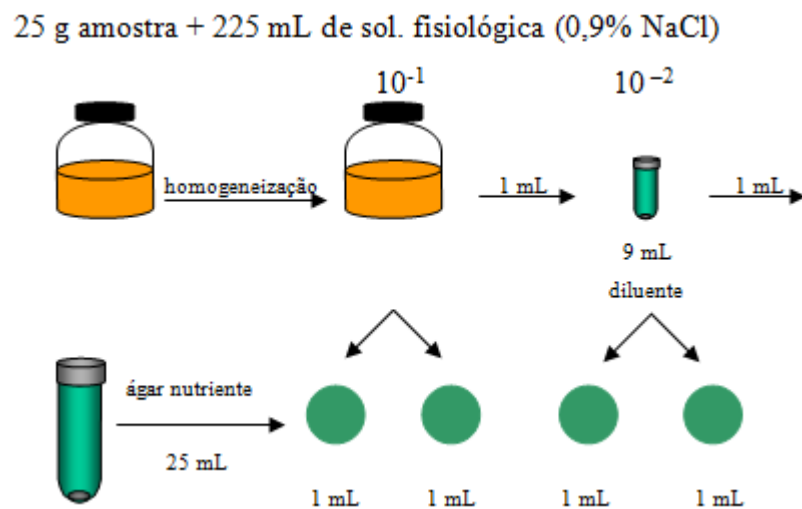


Figura 6. Esquema de análise para contagem total bactérias mesófilas (adaptado de SILVA et al., 2007).

4.5 Avaliação visual

As folhas de alface foram avaliadas do 1º ao 5º dia de experimento. Os parâmetros de avaliação foram baseados quanto às suas características sensoriais,

analisados o aroma, escurecimento das folhas, escurecimento do caule, textura e qualidade geral em relação ao tempo de armazenamento. As características de cada parâmetro foram classificadas por números, de 5 a 1 (quadro 1). Quanto maior o número, maior a qualidade do produto. Os mesmos parâmetros foram aplicados diariamente até o 5º e último dia da avaliação.

Quadro 1. Parâmetros de avaliação sensorial da alface, Silva, LK (2019)

Aroma	<ul style="list-style-type: none"> 5. Fresco/excelente 4. Muito bom, sem alterações 3. Bom 2. Razoável - início de odores não característicos 1. Nenhum/não típico, odores fortes não característicos
Escurecimento das folhas	<ul style="list-style-type: none"> 5. Nenhum 4. Leve 3. Moderado 2. Severo 1. Extremo
Escurecimento do caule	<ul style="list-style-type: none"> 5. Nenhum 4. Leve 3. Moderado 2. Severo 1. Extremo
Textura	<ul style="list-style-type: none"> 5. Excelente/crocante/fresca 4. Muito boa 3. Ligeiramente flácida 2. Moderadamente flácida 1. Pobre/flácida
Qualidade geral	<ul style="list-style-type: none"> 5. Excelente, livre de defeitos 4. Boa, pequenos defeitos 3. Defeitos médios. Não limitada para consumo 2. Pobre, defeitos excessivos. Limitada para consumo. 1. Extremamente pobre. Não utilizável.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação sensorial das folhas de alface

As tabelas abaixo representam as alterações visuais ao longo do tempo de armazenamento. Notas acima de 4 representam as alfaces com melhores condições de consumo, segundo o parâmetro.

Tabela 3. Avaliação sensorial das folhas desinfetadas e armazenadas sem papel

Dias	1	2	3	4	5
Aroma	5	4	4	3	2
Escurecimento das folhas	5	5	4	3	2
Escurecimento do caule	5	5	4	3	2
Textura	5	5	3	2	2
Qualidade geral	5	5	4	2	1

Tabela 4. Avaliação sensorial das folhas desinfetadas e armazenadas com papel

Dias	1	2	3	4	5
Aroma	5	4	4	3	2
Escurecimento das folhas	5	4	4	3	2
Escurecimento do caule	5	5	4	2	2
Textura	5	3	2	1	1
Qualidade geral	5	5	4	2	1

Tabela 5. Avaliação sensorial das folhas sem desinfecção e armazenadas sem papel

Dias	1	2	3	4	5
Aroma	5	4	4	1	1
Escurecimento das folhas	5	5	3	1	1
Escurecimento do caule	5	4	3	1	1
Textura	5	5	4	4	3
Qualidade geral	5	4	3	1	1

5.1.1 Aroma das folhas de alface

O aroma das folhas desinfetadas apresentou um bom estado até o 4º dia de estudo, já no 5º dia evidenciou odores não característicos, diferente das folhas sem desinfecção, limitada no 4º dia com odores fortes e não característicos. Paulo et al. (2017) considerou em seu estudo alteração do aroma das folhas de alface desinfetadas no quinto dia de avaliação após o armazenamento. Martínez, Parra e Fernandez (2018) comparou o armazenamento em duas temperaturas, e o aroma das folhas de alface apresentou uma qualidade melhor quando armazenada em 8 dias em temperatura de 1°C.

5.1.2 Escurecimento das folhas e do caule da alface

As folhas de alface que apresentaram maior velocidade enzimática em seu escurecimento e em seu caule central foram as folhas sem desinfecção, ambos escurecimentos moderados foram observados no 3º dia (figura 7), sendo caracterizada com defeitos médios, o que difere das folhas de alface desinfetadas, armazenadas sem papel toalha e com papel toalha, que se apresentou estáveis, sem alterações físicas que as limitassem o consumo.



Figura 7 - 3º dia de armazenamento das folhas de alface sem desinfecção com início de alterações

No 4º dia, identificou-se nas folhas sem desinfecção (figura 8) escurecimentos intensos tornando-se inadequadas para o consumo. Paulo et al. (2017) também encontraram resultados semelhantes, as folhas de alface apresentaram áreas escuras no quarto dia, sendo descartadas, situação semelhante observada no estudo de Martínez, Parra e Fernandez (2018), folhas de alface sem desinfecção apresentou maior incidência de escurecimento nas bordas.



Figura 8 - 4º dia de armazenamento das folhas sem desinfecção, limitada para o consumo

No mesmo dia as folhas desinfetadas (figuras 9) sofreram alterações, com o armazenamento sem papel apresentaram escurecimento moderadas, e as folhas armazenadas com papel ficaram mais prejudicadas, com escurecimentos severos em seus caules.



Figura 9 - A



Figura 9 - B

Figura 9. 4º dia de armazenamento das folhas desinfectadas com caules moderados (9 -A).
4º dia de armazenamento das folhas desinfectadas com caules severos (9 - B)

Todas as folhas de alface avaliadas no 5º dia do estudo, foram consideradas impróprias, com escurecimentos severos à extremos.

5.1.3 Texturas das folhas de alface

As folhas de alface que mostraram maior resistência em relação a este parâmetro foram as folhas sem desinfecção, reduzindo a qualidade somente no 5º e último dia de avaliação visual, caracterizada como moderadamente flácida, o que não limitaria para o consumo, diferindo das folhas desinfectadas.

Observou-se que as folhas desinfectadas e armazenadas com papel toalha apresentaram redução inicial de textura no 2º dia, já no 4º dia estavam bastante prejudicadas, com aparência pobre/flácida. Neste mesmo dia, as folhas armazenadas sem papel estavam em condições estáveis, moderadamente flácidas, sem limitações para o consumo.

5.1.4 Qualidade visual geral das folhas de alface

No terceiro dia de armazenamento, as amostras das folhas de alface desinfetadas e armazenadas com papel e as não desinfetadas, apresentaram valores semelhantes em sua qualidade geral, com defeitos médios, não limitada para o consumo. As folhas armazenadas sem papel permaneceram em boa qualidade, apresentando pequenos defeitos.

No quarto dia de análise, as três caixas encontravam-se em situações prejudicadas, com defeitos excessivos, limitadas e não utilizáveis para o consumo, apesar de alguns parâmetros como textura estarem em ótimas condições nas folhas não desinfetadas, apresentou escurecimentos enzimáticos e aromas não característicos. Martínez, Parra e Fernandez (2018), consideraram melhor qualidade visual em suas folhas quando armazenadas a 1°C.

5.2 Contagem de bactérias mesófilas

Tabela 6. Resultados da análise dos micro-organismos aeróbios mesófilos, pesquisado na alface (*Lactuca sativa*).

Armazenamento	Dia 0 (ufc/g produto)	Dia 3 (ufc/g produto)
Sem papel	$1,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^3$
Com papel	$5,3 \times 10^2$	$7,8 \times 10^3$

A tabela acima está representando as análises microbiológicas das folhas de alface. As folhas de alface armazenadas sem papel, apresentou um crescimento maior em relação as amostras armazenadas com papel, nos dois momentos da contagem de bactérias mesófilas inicial (dia 0 e dia 3), porém, ambas ultrapassaram

os limites aceitáveis em uma amostra. Segundo a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001), indica como padrão microbiológico para hortaliças, legumes e similares para o consumo a contagem inicial de 5×10^2 UFC/g, de bactérias mesófilas por grama de produto.

Pode-se observar que na avaliação do dia 3 o crescimento de bactérias manteve-se alta, e apresentou valores semelhantes, folhas de alface armazenadas sem papel $8,0 \times 10^3$ UFC/g (figura 10) e folhas de alface armazenadas com papel $7,8 \times 10^3$ UFC/g. Ao comparar os resultados com outros trabalhos realizados, constatou-se que Bachelli (2010) encontrou valor inicial de $1,7 \times 10^3$ UFC/g no dia 0 de armazenamento e $9,7 \times 10^3$ UFC/g no 3 dia, um aumento de 2 ciclos de logarítmicos, apresentando um resultado inferior comparado com outras soluções sanitizantes. Calil et al. (2013) observaram valores elevados na contagem de bactérias mesófilas, o menor valor encontrado foi 1×10^3 UFC/g.

A alta contagem de bactérias mesófilas indica um processo insatisfatório, sob o ponto de vista sanitário.

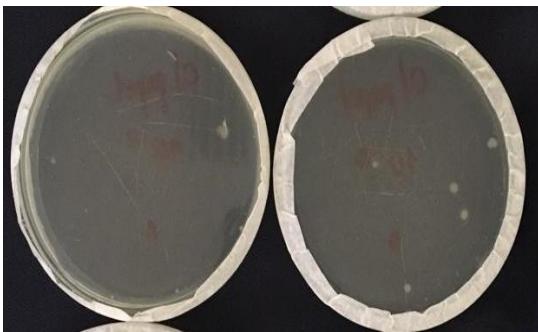


Figura 10 – A



Figura 10 - B

Figura 10 - Contagem total bactérias mesófilas. Dia 3º Crescimento sem papel (10 - A). Dia 3º Crescimento com papel (10 - B)

Provavelmente a presença de bactérias mesófilas nas folhas de alface armazenadas sem papel foram de corrente de uma folha de alface para outra, contato que não ocorreu com o armazenamento com papel, as folhas de papel toalha no dia 0 pode ter funcionado como uma barreira protetora para a translocação de bactérias, já no 3 dia o papel toalha absorveu água, proporcionando um ambiente propício para o crescimento de bactérias mesófilas.

De acordo com a Portaria CVS nº 05, de 9 de abril de 2013, frutas, verduras e legumes higienizados apresentam um prazo de validade de 3 dias sob refrigeração, em temperatura máximo de 5° C, mas observou-se neste estudo que em 3 dias observou-se valores altos de bactérias mesófilas.

6 CONCLUSÃO

Considerando toda a bibliografia estudada e com a pesquisa realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, no primeiro semestre de 2019, para realização deste trabalho, verificou e evidenciou a importância de se realizar a Avaliação da Qualidade Sensorial da Alface e, principalmente, da contagem de bactérias Mesófilas após a desinfecção da alface.

E, ainda, a conservação adequada resulta em modificações que melhoram condições sensoriais dos alimentos, além de aumentar a estabilidade e sua vida de prateleira, promovendo segurança alimentar.

A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que o início da senescência das folhas de alface, armazenada em caixa A em temperatura de 5°C, após a desinfecção, as características como textura, escurecimento e aroma não característicos, ocorreu após o terceiro dia.

O armazenamento sem papel retardou o escurecimento e modificação da textura das folhas, apesar de apresentar valores significativos de bactérias mesófilas.

Este trabalho teve grande contribuição para coleta dos dados e de informações que ampliaram o conhecimento e demonstraram a importância da microbiologia dos alimentos para os profissionais de nutrição.

Por fim, a percepção é positiva sobre o estudo realizado, considerando a importância da desinfecção dos alimentos, principalmente, dos alimentos consumidos de forma crua e como isso tem interferência direta na saúde dos consumidores, o que torna o profissional de nutrição, também, responsável pela promoção e educação da população em consumir alimentos saudáveis, bem como, orientar em como manusear e consumir os alimentos para garantir a saúde.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil, Ministério da Saúde. *Guia alimentar para a população brasileira*. 2014 Brasília: Editora MS.
2. Krause. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia - 13ª ed. 2013 - Sylvia Escott-stump, Kathleen L. Mahan, Janice L. Raymond.
3. Silva WL, Medeiros. R.A.B; Pires. E.F. Eficiência do cloro para sanitização de hortaliças. 5º Simpósio de segurança alimentar, [Internet].2015; 5. Rio Grande do Sul.
4. Brasil, Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução nº 216/2004. Regulamento técnico de boas práticas para serviço de alimentação.
5. Brasil, Centro de Vigilância Sanitária. Portaria CVS nº 05, de 9 de Abril de 2013. Regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/PORTARIA%20CVS-5_090413.pdf. Acesso em: novembro de 2018.
6. José FJ. Estratégias alternativas na higienização de frutas e hortaliças. Rev. de Ciências Agrárias; [Internet]. 2017. Disponível em Scielo: <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v40n3/v40n3a15.pdf>
7. FAEMG. Crocância verde conquista mercado [Internet] 2015. Belo Horizonte. Disponível em: <http://www.faemg.org.br/Noticia.aspx?Code=7978&Portal=1&PortalNews=1&ParentCode=139&ParentPath=None&ContentVersion=R>
8. Vilela N; Luengo RA. In Embrapa Pós-Colheita de hortaliças. 1ª ed. Brasília, DF, 2011

9. CEAGESP, 2017. São Paulo. Alface Americana. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/alface-americana/>.
10. CONAB. Boletim hortigranjeiro, v.4, n.10; 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/hortigranjeiros-prohort/boletimhortigranjeiro>.
11. CONAB. Boletim hortigranjeiro, v.4, n.9; 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/hortigranjeiros-prohort/boletimhortigranjeiro>.
12. FAO. Global Food Losses And Food Waste; 2011. Disponível: <http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf>.
13. Silva GT et al. Cartilha técnica. Manipulação, higienização e sanitização doméstica de frutas e hortaliças visando o aumento de vida útil. Boletim Técnico IFTM; 2016.
14. Zaro M et al. Consumo e descarte de resíduos alimentares no município de Caxias do Sul/ RS. Revista de Educação Ciência e Tecnologia, Canoas;2018. Disponível em: <https://periodicos.ifrs.edu.br/index.php/tear/article/view/2586>
15. EMBRAPA. “Perdas e desperdício de Alimentos Reduzem Sustentabilidade”; 2016, Disponível em <https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/noticia/17505400/perdas-e-desperdicio-de-alimentos-reduzem-sustentabilidade>.
16. Canella, DS, Louzada MLC, Claro RM, Costa JC, Bandoni DH, Levy RB, et al. Consumo de hortaliças e sua relação com os alimentos ultraprocessados no Brasil. Rev Saúde Pública. 2018;52:50.
17. Silva FA, Lima AC, Queiroz JJ, et al. Análise bacteriológica das águas de irrigação e horticulturas. Rev. Ambient. Água. [Internet];2015. Disponível em Scielo:<http://www.scielo.br/pdf/ambiagua/v11n2/1980-993X-ambiagua-11-02-00428.pdf>

18. Brasil, Agência nacional de vigilância sanitária – ANVISA. Resolução RDC –12 de 2 de janeiro de 2001 – D.O.U. de 10/01/2001.
19. Luengo R. Calbo, A. In: Embrapa Pós-Colheita de hortaliças. 1ª ed. Brasília, DF;2011.
20. Silva Jr. EA. Manual de controle higiênico sanitário em serviço de alimentação. 7. ed. São Paulo: editora Varela;2014.
21. Moretti et al. In: Embrapa Pós-Colheita de hortaliças. 1ª ed. Brasília, DF, 2011.
22. Melo Filho AB; Vasconcelos MA. Química de Alimentos. 1ª ed. Recife; 2011.
22. Brasil, Ministério da Saúde. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2018. Disponível de: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/ApresentacaoSurtos-DTA-2018.pdf>.
23. Queiroz JJ et al. Realidade bacteriológica de hortaliças: Um risco à saúde. Caruaru;2016.
24. Gomes, TS. Pesquisa de *Salmonella spp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em amostras de alface e água de coco comercializadas em Campina Grande – PB; 2015.
25. Araújo, FJ. Análise Microbiológica de Alimentos Folhosos Preparados em Restaurantes e em Residências; 2014.
26. Ferreira et al. Análise de *Coliformes termotolerantes* e *Salmonella sp*. Em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo-Horizonte-MG. HU Revista, Juiz de Fora; 2016. Disponível em: <http://ojs2.ufjf.emnuvens.com.br/hurevista/article/view/2588/907>.

- 27 Mendes DT et al. Comparação da eficácia microbiológica do hipoclorito de sódio e ácido acético em hortaliças. Pindamonhangaba, Funvic Faculdade de Pindamonhangaba; 2016.
- 28 Adami, AA et al. Análise da eficácia do vinagre como sanitizante na alface (*Lactuca Sativa*, L.), 2011. Rev. Eletrônica. Acervo Saúde/ Electronic Journal Collection Health ISSN 2178-2091.
- 29 Chaves SQ. Avaliação de métodos para higienização de alface. I Congresso Brasileiro de Epidemiologia [tese online] 2016. São Paulo. Universidade do Estado da Bahia; 2016.9p.
- 30 Deliza R. Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças / Marcos David Ferreira, editor técnico. – Brasília, DF: Embrapa, 2017.284 p.
- 31 Sanches AG et al. Avaliação da qualidade de alfaces minimamente processadas cultivadas em sistema hidropônico. Rev. Trópica Ciências Agrárias e Biológicas. [Internet]; 2017. Disponível em: <http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/view/3457>.
- 32 Silva N. Junqueira VCA. Silveira NFA. Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3 ed. São Paulo: Varela; 2007. 536p.
- 33 Silva, Letícia Katiene. Evaluation os Sensory Quality of Lettuce (*Lactuca sativa*) and count of Mesophilic bactéria after disinfection. Universidade de Taubaté; 2019, p.42.

- 34 Paulo IA et al. Estudo sensorial e físico-químico de vegetais armazenados em refrigeração com monitoramento de parâmetros. [tese online] São Paulo. Autarquia Associada à Universidade de São Paulo; 2017. Disponível em:<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/iccesumar/article/view/5604>.
- 35 Martínez JA, Parra MA, Fernández JA and Artés. Sensory changes and microbial development on minimally processed lettuce. *Acta Horti*; 2018. 1194, 1155-1160 Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic>
- 36 Soares CD. Qualidade de escarola minimamente processadas em função de métodos de conservação/ Carlos Dornelles Ferreira Soares. [tese online] Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2016. 141 p.:il.
- 37 Bachelli, ML. Sanitização para alface minimamente processada em comparação ao hipoclorito de sódio [tese online]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2010.
- 38 Calil, EM et al. Qualidade microbiológica de saladas oferecidas em restaurantes tipo self-service. *Atas de saúde ambiental*. Volume 1, número 1 Set./Dez; 2013