

## Avaliação da eficácia da água sanitária na sanitização de alfaces (*Lactuca sativa*)

### Evaluation of the efficacy of sodium hypochlorite in sanitization of lettuce (*Lactuca sativa*)

RIALA6/1433

Hugo de Sousa SANTOS<sup>1</sup>, Maria Christina Sanches MURATORI<sup>2</sup>, Ana Luísa Alves MARQUES<sup>3</sup>, Verbena Carvalho ALVES<sup>3</sup>, Francisco das Chagas CARDOSO FILHO<sup>4</sup>, Amilton Paulo Raposo COSTA<sup>2</sup>, Maria Marlúcia Gomes PEREIRA<sup>2</sup>, Carlos Alberto da Rocha ROSA<sup>5</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>2</sup>Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí. Campus de Socopo, CEP 64049-350, Teresina, PI. E-mail: chrismuratori@uol.com.br.

<sup>1</sup>Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos (NUEPPA), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

<sup>3</sup>Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

<sup>4</sup>Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

<sup>5</sup>Núcleo de Micotoxicologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Recebido: 10.11.2010 - Aceito para publicação: 17.01.2012

#### RESUMO

Neste estudo, foi avaliado se a forma doméstica de utilização da água sanitária é eficiente para higienizar as alfaces (*Lactuca sativa*). Para tanto, foram analisadas 28 amostras de alfaces adquiridas diretamente em um supermercado no município de Teresina, PI. As amostras foram lavadas em água corrente e, na sequência, apanhadas ao acaso para formar quatro grupos, os quais foram utilizados nos diferentes tempos de tratamentos por imersão em solução de água sanitária com 200 ppm de cloro ativo: zero (controle), 15, 30 e 45 minutos. Após o tratamento, foram realizadas as análises microbiológicas: enumeração de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (EC); contagem de bactérias heterotróficas mesófilas (CBH) e de fungos (F). A solução de água sanitária com 200 ppm de cloro ativo reduziu a carga microbiana inicial de bactérias heterotróficas, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* após 15 minutos de imersão, entretanto não foi eficiente para diminuir a carga de coliformes totais, fungos filamentosos e leveduras. Concluiu-se que a forma doméstica de utilização da água sanitária, recomendada em cartilhas distribuídas aos consumidores brasileiros, não é eficiente para higienizar as alfaces contaminadas com coliformes, fungos e/ou *Escherichia coli*.

**Palavras-chave.** coliformes, verduras, leveduras, higiene, qualidade.

#### ABSTRACT

In this work it was evaluated if the domestic use of bleach is effective to rightly sanitize lettuce leaves (*Lactuca sativa*). Aiming this, it was analyzed twenty-eight samples of refrigerated lettuce obtained directly in a supermarket in the city of Teresina, State of Piauí. The samples were washed in flowing water and, subsequently, picked randomly to form four groups to be used in the immersion time treatment in bleach solution in 200 ppm of active chlorine: zero (control), 15, 30 and 45 minutes. Then, the microbiological analyses were made: enumeration of total coliforms, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* (EC); counting of mesophilic heterotrophic bacteria (HBC) and fungi (F). The bleach solution in 200 ppm of active chlorine reduces the initial microbial load of heterotrophic bacteria, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* in lettuce leaves after 15 minutes of immersion. However, it was not effective to reduce the amount of total coliforms, filamentous fungi and yeasts. Therefore, the domestic use of bleach, recommended by charts distributed to Brazilian consumers, is not effective to rightly sanitize lettuce leaves infected by coliforms, fungi and *Escherichia coli*.

**Keywords.** coliforms, vegetables, yeast, hygiene, quality.

## INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é considerada a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo considerada uma cultura hortícola de grande consumo. Devido a seu baixo valor calórico, está presente em diversas dietas, o que favorece bastante seu consumo de maneira geral, constituindo-se em componente imprescindível nas saladas dos brasileiros<sup>1</sup>.

Recomenda-se o consumo diário de hortaliças, pois fornecem inúmeros benefícios ao organismo e colaboram para o desenvolvimento e a regulação orgânica do corpo, devido ao elevado teor de vitaminas e minerais. A alface destaca-se por fornecer principalmente carotenoides, que no organismo são precursores de vitamina A, e pelo seu teor significativo de fibras, que contribui para a prevenção de desordens intestinais<sup>2</sup>.

Apesar do aumento do consumo de hortaliças devido à preocupação com a saúde e o interesse por uma vida mais saudável<sup>3</sup>, principalmente as hortaliças folhosas constituem fonte potencial de micro-organismos patogênicos, contribuindo para a elevação do número de casos de doenças veiculadas por alimentos<sup>4</sup>. Frank e Takeushi<sup>5</sup> alertam que vegetais frescos, especialmente alface, foram identificados como veículos de bactérias patogênicas relevantes para a saúde pública, tais como *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *E.coli* enteropatogênica, *E.coli* enterotoxigênica e *E.coli* enterohemorrágica (por exemplo, *E.coli* O157:H7), além de protozoários, parasitas e vírus da hepatite A<sup>6</sup>.

A contaminação da alface é um fator limitante para sua comercialização, sendo diversas as causas que podem levar à presença de elevada carga microbiana nesse produto, tais como condições sanitárias desfavoráveis nas áreas rurais e urbanas, que favorecem a ocorrência de contaminação e transformam os vegetais em veículos de transmissão de patógenos<sup>7</sup>. Desse modo, pode-se afirmar que os riscos microbianos que afetam a segurança dos alimentos podem estar presentes em qualquer ponto da cadeia produtiva, como o cultivo, a colheita, a lavagem, o armazenamento, o transporte, a comercialização e, finalmente, a mesa do consumidor<sup>8</sup>. Outros fatores importantes que podem também representar uma grande fonte de contaminação e disseminação de micro-organismos nesse alimento são a prática do uso de adubo orgânico, a utilização de águas contaminadas para irrigação, o transporte feito

em engradados abertos e a falta de higiene pessoal no momento da manipulação dos alimentos<sup>9</sup>. As alfaces *in natura* são amplamente consumidas em residências; desta forma, é importante buscar meios para reduzir a contaminação microbiana inicial. A lavagem em água corrente de boa qualidade pode reduzir em até 90% a carga microbiana dos vegetais<sup>10</sup>, porém não é suficiente para manter a contaminação em níveis seguros, sendo essencial a aplicação de uma etapa de sanitização com agentes antimicrobianos<sup>11</sup>. A prática de sanitização deve ser usada como complementação das Boas Práticas de Produção (BPP) para reduzir a níveis seguros a presença de micro-organismos patogênicos no alimento<sup>12</sup>, sendo que em hortaliças este processo é considerado uma etapa crítica na segurança do consumo<sup>13</sup>.

Entende-se como água sanitária as soluções aquosas à base de hipoclorito de sódio ou cálcio, que apresentam teor de cloro ativo entre 2,0 a 2,5% p/p e que podem conter apenas hidróxido de sódio ou cálcio, cloreto de sódio ou cálcio e carbonato de sódio ou cálcio como estabilizante. Deve ser fabricada com água potável, sem adição de corantes, fragrâncias, sequestrantes, tensoativos ou quaisquer outras substâncias. Pode ter ação como alvejante e de desinfetante de uso geral<sup>14</sup>, sendo que os compostos à base de cloro são biocidas de amplo espectro de ação, que reagem com as proteínas da membrana das células microbianas, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de componentes celulares<sup>15</sup>. Por ser um produto de baixo custo, eficiente e com ampla aplicação popular, a água sanitária é o sanitizante mais utilizado para higienização de alimentos em residências.

A legislação recomenda que o tempo de contato para desinfecção de ambientes e superfícies inanimadas é no mínimo 10 minutos<sup>14</sup>, porém não menciona o período necessário para desinfecção de alimentos.

Baruffaldi et al.<sup>16</sup> avaliaram que o tratamento químico, com solução de hipoclorito de sódio de 40 ppm de cloro livre, de folhas de alface por um período de exposição de 10 minutos mostrou-se eficaz do ponto de vista parasitológico. Fontana<sup>17</sup> recomenda que 15 minutos em soluções de hipoclorito a 50 a 200 ppm são suficientes para obtenção dos efeitos sanitizantes para coliformes.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) recomenda, em cartilhas para manipuladores de alimentos, que, após lavagem em água corrente, as folhas de alfaces permaneçam imersas em solução de água

clorada a 200 ppm (uma colher de sopa para um litro de água) por 10 minutos para que possam ser consumidas com segurança<sup>18</sup>.

As indicações de desinfecção de alfaces em água sanitária devem ser estudadas para comprovar a eficácia das recomendações institucionais em rotinas caseiras. Deste modo, este trabalho objetivou avaliar se a forma doméstica de utilização da água sanitária é eficiente para higienizar adequadamente as alfaces.

## MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro a junho de 2008, foram analisadas 28 amostras de alfaces (*Lactuca sativa*), refrigeradas, adquiridas diretamente em um supermercado no município de Teresina-PI, o qual foi escolhido por fornecer verduras em condições aparentemente adequadas de higiene. Semanalmente, foi adquirida uma amostra de alface crespa, coletada do balcão refrigerado do supermercado e acondicionada em saco plástico de primeiro uso, sendo em seguida encaminhada ao Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo de Ensino, Pesquisas e Processamento de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí.

As amostras de alface foram retiradas dos sacos plásticos, e as folhas, removidas do talo para lavagem em água corrente. Na sequência, as folhas foram distribuídas ao acaso para formarem quatro grupos, utilizados para avaliar diferentes tempos de imersão em solução de água sanitária a 200 ppm de cloro ativo (uma colher de sobremesa, que corresponde a 8,0 mL, para 1,0 L de água), conforme recomendado pela Anvisa<sup>18</sup>. A marca de água sanitária utilizada apresentava registro no Ministério da Saúde, estava dentro do prazo de validade e trazia informação no rótulo sobre concentração entre 2,0 e

2,5% de cloro livre<sup>14</sup>. Para efeito de cálculos, neste estudo, considerou-se que a água sanitária utilizada continha 2,0% de cloro ativo.

O projeto foi desenvolvido em sistema fatorial 4x7 (quatro tempos de imersão em solução de água sanitária com sete repetições), formado por períodos de imersão das folhas de alfaces em zero (grupo controle, T0), 15, 30 e 45 minutos (T1, T2, T3) em solução de água sanitária.

As folhas de alface ficaram completamente imersas na solução com água sanitária em recipientes plásticos, sem agitação, simulando o preparo doméstico, pelo tempo de contato estabelecido para cada tratamento (zero-controle, 15, 30 e 45 minutos de imersão). Decorrido o tempo de contato estabelecido para cada tratamento, foram feitas as seguintes análises microbiológicas recomendadas pela legislação vigente<sup>19</sup>: enumeração de coliformes totais (a 35 °C), de coliformes termotolerantes (a 45 °C) e de *Escherichia coli* (EC) pelo método dos tubos múltiplos<sup>20</sup>; contagem de bactérias heterotróficas mesófilas, conforme recomenda Mourton<sup>21</sup>, e de fungos em placas Petrifilm YM, segundo as instruções do fabricante.

Após a obtenção dos resultados, os valores das contagens foram transformados em log<sub>10</sub>, correlacionados e submetidos a análise de variância e aplicação do teste de SNK para comparação das médias utilizando o Pacote Estatístico Sigma Stat<sup>22</sup>. O nível de significância utilizado em todos os testes foi p < 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados observados indicaram que imergir as folhas de alfaces por 15 minutos em solução de água sanitária a 200 ppm é suficiente para reduzir significativamente (p < 0,05) a carga de bactérias heterotróficas, de coliformes termotolerantes e de

**Tabela 1.** Resultados médios e desvio padrão das análises microbiológicas em amostras de alfaces comercializadas em Teresina-PI, submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de cloro a 200 ppm

Tempo de imersão	Bactérias heterotróficas mesófilas (UFC/g)	Fungos filamentosos e leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)
0,0 minuto (controle -T0)	5,49 <sup>a</sup> ± 0,54	3,91 <sup>a</sup> ± 0,86	3,08 <sup>a</sup> ± 0,56	1,27 <sup>a</sup> ± 0,91	0,88 <sup>a</sup> ± 0,94
15 minutos (T1)	4,04 <sup>b</sup> ± 0,89	2,08 <sup>a</sup> ± 0,25	2,25 <sup>a</sup> ± 1,12	0,73 <sup>b</sup> ± 0,70	0,20 <sup>b</sup> ± 0,37
30 minutos (T2)	3,69 <sup>b</sup> ± 1,14	1,94 <sup>a</sup> ± 1,10	1,68 <sup>a</sup> ± 0,80	0,53 <sup>b</sup> ± 0,56	0,30 <sup>b</sup> ± 0,34
45 minutos (T3)	3,88 <sup>b</sup> ± 0,73	2,49 <sup>a</sup> ± 0,53	2,32 <sup>a</sup> ± 0,81	0,79 <sup>b</sup> ± 0,80	0,43 <sup>b</sup> ± 0,57

<sup>a, b</sup> = letras iguais, resultados semelhantes na mesma coluna; UFC/g = unidade formadora de colônia; NMP/g = número mais provável; ppm = partes por milhão

*Escherichia coli*. Entretanto, os tratamentos avaliados não foram eficazes para reduzir a população inicial de coliformes totais, de fungos filamentosos e leveduras. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tempos de imersão T1, T2 ou T3, e, portanto, aumentar o tempo de contato com a solução de água sanitária não reduziu significativamente as cargas microbianas presentes nas alfaces (Tabela 1).

Foi possível observar a redução de até dois ciclos logarítmicos nos resultados microbiológicos das amostras de alface que ficaram imersas em solução de água clorada a 200 ppm de cloro ativo (Tabela 1), diferentemente de outros estudos<sup>11,12,15,24,25</sup>, os quais verificaram que a água sanitária não foi eficaz para inativar completamente a carga microbiana presente nos vegetais analisados.

López-Gálvez et al.<sup>25</sup> argumentam que a baixa eficiência do hipoclorito pode estar relacionada à localização das células bacterianas, que podem estar protegidas nos estômatos teciduais das folhas de alface, o que talvez dificulte a exposição ao sanitizante. Deste modo, apesar de lavadas e sanitizadas com solução de água sanitária, as alfaces poderiam ainda veicular micro-organismos e, dessa forma, representariam um veículo de transmissão de doenças<sup>4,5,12</sup>.

De modo geral, as alfaces comercializadas em Teresina são fornecidas por agricultores locais e hortas comunitárias e são cultivadas diretamente no solo, condições que favorecem a ocorrência de contaminações e, por consequência, a transmissão de patógenos<sup>7,9</sup>. Além disso, a contaminação observada nas alfaces também pode ser decorrente da manipulação pós-colheita<sup>8</sup>.

Segundo Beuchat et al.<sup>10</sup>, a lavagem das folhas de alface reduz mecanicamente até 90% da carga microbiana presente. Porém, neste experimento, antes de serem imersas na solução de água sanitária a 200 ppm de cloro ativo, por tempo variado, as folhas de alface foram lavadas em água corrente e, ainda assim, apresentaram contagens de bactérias heterotróficas de 5,49 UFC/g em  $\log_{10}$ , verificada no grupo controle (T0). A utilização de sanitizante conforme recomendam alguns autores<sup>11,13,18,23</sup> não foi suficiente para reduzir a contaminação de alfaces por bactérias. Embora não tenha sido pesquisada a presença de *Salmonella* spp., foi encontrada *E. coli*, que também é uma enterobactéria, a qual, dependendo do sorotipo, pode causar doenças transmitidas por alimentos.

Devido a informações nutricionais e à globalização, recentemente, os habitantes de Teresina passaram a utilizar mais vegetais em suas dietas diárias,

que, segundo Oliveira e Marchini<sup>2</sup>, são fontes de fibras e proporcionam vida saudável<sup>3</sup>. Os teresinenses consomem com frequência alface crua em suas refeições diárias, principalmente na forma de saladas. Esta forma de consumo é semelhante à relatado por Fernandes et al.<sup>1</sup> nas demais regiões brasileiras. Diante disso, a eficiência dos processos de sanitização torna-se importante para garantir a segurança dos consumidores.

## CONCLUSÃO

A utilização de solução de água sanitária com 200 ppm de cloro ativo reduziu a carga microbiana inicial de bactérias heterotróficas mesófilas, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* presente em folhas de alfaces após 15 minutos de imersão. No entanto, este mesmo tratamento não foi eficaz para coliformes totais e fungos. Os dados sugerem que a forma doméstica de utilização da água sanitária, recomendada pelas cartilhas distribuídas para consumidores brasileiros, não é eficiente para higienizar adequadamente, isto é, reduzir a carga de micro-organismos a níveis mínimos e seguros para alfaces consumidas *in natura*.

## AGRADECIMENTOS

Ao Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da UFPI, pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Fernandes AA, Martinez HEP, Pereira PRG, Fonseca MCM. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. *Horticult Bras*. 2002;20(2):195-200.
2. Oliveira JED, Marchini JS. Ciências nutricionais. São Paulo: Sarvier; 1998.
3. Rosa CCB, Martins MLL, Folly MM. Avaliação microbiológica de hortaliças provenientes de hortas comunitárias de Campos dos Goytacazes, RJ. *Hig Aliment*. 2007;19(134):75-80.
4. Buck JW, Walcott RR, Beuchat LR. Recent trends in microbiological safety on fruits and vegetables. *Plant Manag Network*. 2003 [acesso 20 out 2010]. Disponível em: [http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Documents/2003/MicrobiologicalSafety.pdf].
5. Frank JF, Takeushi K. Direct observation of *Escherichia coli* O157:H7 inactivation on lettuce leaf using confocal scanning laser microscopy. In: Tuijtelars et al., organizadores. Food microbiology and food safety into the next millenium. Proceedings of 17<sup>th</sup> International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH), Veldhoven, Holanda. Set 1999, p. 795-7.

6. Nascimento MS, Silva N, Okazaki MM. Avaliação comparativa da eficácia de cloro, vinagre, ácido acético e ácido peracético na redução da população de micro-organismos aeróbios mesófilos em verduras e frutas. *Rev Net-DTA Online*. 2003;3(6):224-30.
7. Rodrigues CS. Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF. [trabalho de conclusão de curso]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2007.
8. Ranthum MA. Subnotificação e alta incidência de doenças veiculadas por alimentos e seus fatores de risco: causas e consequências no município de Ponta Grossa-PR. [dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro (RJ): Escola Nacional de Saúde Pública; 2002.
9. Pacheco MASR, Fonseca YSK, Dias HGG, Cândido VLP, Gomes AHS, Armelin IM, et al. Condições higiênicas-sanitárias de verduras e legumes comercializados no CEAGESP de Sorocaba-SP. *Hig Aliment*. 2002;16(101):50-5.
10. Beuchat LR, Farber JM, Garret FH, Harris IJ, Parish ME, Suslow TV, et al. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruit and vegetables. *J Food Protect*. 2001;64(7):1079-84.
11. Nascimento MS, Silva N. Tratamentos químicos na sanitização de morango (*Fragaria vesca* L.). *Braz J Food Technol*. 2010;13(1):11-7.
12. Nascimento AR, Filho Mouchreck JE, Bayma AB, Marques CMP. Sanitização de saladas *in natura* oferecidas em restaurantes *self-service* de São Luís-MA. *Hig Aliment*. 2002;16(16):92-3.
13. Santos YTO. Qualidade sanitária das hortaliças em um distrito sanitário de Salvador-BA e eficiência das soluções antimicrobianas sobre linhagens de *Escherichia coli*. [dissertação de mestrado]. Salvador (BA):Universidade Federal da Bahia; 2007.
14. 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.
15. Vanetti MCD. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. Encontro Nacional sobre Processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2. 2000, Viçosa. Palestras... Viçosa: UFV; 2000. p. 44-51.
16. Baruffaldi R, Penna TCV, Machoshvili IA, Abe LE. Tratamento químico de hortaliças poluídas. *Rev Saúde Pública*. 1984;18(3):225-34.
17. Fontana N. Atividade antimicrobiana de desinfetantes utilizados na sanitização de alface. [trabalho de conclusão de curso]. Santa Maria: Centro Universitário Franciscano/Unifra; 2006.
18. 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, 16 set 2004.
19. 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.
20. Kornacki JL, Johnson JL. Enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Downes FP, Ito K. *Compendium of Methods Microbiological Examination of Foods*. Washington: American Public Health Association; 2001. p. 652.
21. Mourton RD. Aerobic plate count. In: Downes FP, Ito K. *Compendium of Methods Microbiological Examination of Foods*. Washington: American Public Health Association; 2001. p. 652.
22. Sigma Stat for windows version 1.0. Jandel Corporation, 1994.
23. Lund DG, Petrini LA, Aleixo JAG, Rombaldi CG. Uso de sanitizantes: redução da carga microbiana em mandioca minimamente processada. *Ciênc Rural*. 2005;35(6):1431-5.
24. Srebernich SM. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(4):744-50.
25. 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 Microbiol*. 2010;27(2):199-204.