



Caracterização microbiológica e físico-química de Acelga e Alface americana Minimamente processadas

Franciely da Silva Santos¹, Beatriz Thuanny de Oliveira², Maria Janielle de Campos Souza³, Julianna Freire de Souza⁴

¹ Aluna do curso Técnico em Alimentos, Bolsita PIBIC/CNPQ, - IFS. e-mail: franciely.ufs@gmail.com

² Bolsita Voluntária PIBIC/CNPQ do curso de Alimentos - IFS. e-mail: thuanny.beatriz@gmail.com

³ Bolsita Voluntária PIBIC/CNPQ do curso de Análises e Processos Químicos - IFS. email: janielle_souza@hotmail.com

⁴ Doutoranda em Agronomia-Produção vegetal, UNESP/Jaboticabal, Professora - IFS. email: juliannafreire@hotmail.com

Resumo: A alimentação saudável é fator determinante para a qualidade de vida do ser humano. Apesar de se preocuparem com este fato, muitas pessoas nem sempre se interessam pela sanitização adequada dos alimentos, principalmente aqueles adquiridos em feiras livres. O objetivo do presente trabalho foi observar a ação microbiológica na alface (*Lactuca sativa L.*) e na acelga (*Beta vulgaris*) antes e após a sanitização, assim como suas características físico-químicas. Foram realizadas as seguintes operações: lavagem, seleção, corte, sanitização (200 mg/L de cloro ativo), enxague (100 mg/L de cloro ativo), centrifugação e embalagem para a obtenção de alface americana, acelga e a mistura dessas duas hortaliças para formar uma salada.

Foram realizadas análises microbiológicas de enumeração de coliformes totais e termotolerantes, contagem total de bactérias aeróbicas mesófilas e contagem total de bolores e leveduras. E como parâmetros físico-químicos foram avaliados acidez total titulável, pH. A sanitização influenciou parcialmente nas características microbiológicas avaliadas de uma forma positiva, pois em certos grupos foi possível observar a diminuição de até 2 ciclos logaritmos. Assim como também acidez total titulável e no pH.

Palavras-chave: processamento mínimo, salada mista, segurança alimentar

1. INTRODUÇÃO

O mercado de produtos hortícolas frescos tem crescido de maneira significativa, destacando-se o segmento de produtos lavados, descascados, cortados ou fatiados, embalados cru e armazenados sob refrigeração, conhecidos como minimamente processados (BERBARI et al., 2001).

Nos últimos anos, os consumidores buscam o consumo de frutas frescas e seus produtos, como forma de obter uma dieta saudável com alto valor nutritivo, excelente qualidade sensorial, pouco processado, e estando ainda prontos para o consumo (CARDOSO et al, 2010) .

A alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo considerada uma cultura hortícola de grande consumo. Devido ao seu baixo valor calórico qualifica-se para diversas dietas, o que favorece grandemente o seu consumo de uma maneira geral, constituindo-se em componente imprescindível das saladas dos brasileiros (SANTANA et al., 2006).

Segundo Perez *et al.* (2008) os produtos minimamente processados mais vendidos são: “mix” de salada (20%), cenoura (16%), brócolis (15%), alface (14%) e couve (12%), com 77% das vendas, além de produtos como couve flor (9%), rúcula (5%), mandioca (4%), abobora (2%) e espinafre (2%). Observa-se então, que a salada mista ou mix de salada vem ganhando espaço no mercado, por apresentar vantagens como: a qualidade visual, sabor e nutricional, devido a diversificação de cores ou cortes diferenciados e variedades de hortaliças.

O processamento mínimo contribui para agregar valor a estes produtos e reduzir a mão de obra de seu preparo em restaurantes, hotéis ou lanchonetes e o lixo em áreas metropolitanas (OHLSSON, 1994; WATADA et al., 1996). Quando preparados em um único local, o volume de lixo acumulado pode ser facilmente canalizado para outros fins, como a fabricação de ração animal.

Os produtos minimamente processados são mais perecíveis do que os in natura (BRACKETT, 1987). A injúria que ocorre nos tecidos, em função da manipulação e cortes, pode diminuir a qualidade



e o tempo de vida útil do produto, por acelerar mudanças degradativas durante a senescência (WILEY, 1994; MARTÍN-DIANA et al., 2007).

Além disso, o manuseio favorece a contaminação por micro-organismos, e a liberação de exsudato celular disponibiliza nutrientes para a atividade microbiana. Portanto, a segurança microbiológica de produtos minimamente processados precisa ser garantida em adição à manutenção da qualidade sensorial e nutricional (MARTIN-DIANA et al., 2007)

Além da qualidade sensorial, a qualidade microbiológica e a segurança das hortaliças frescas minimamente processadas precisam ser garantidas e são dependentes da microbiota presente na matéria-prima, da contaminação em cada etapa do processo e das condições de manutenção do produto, que podem permitir o crescimento microbiano. O manuseio impróprio e os equipamentos não sanitizados contribuem para o aumento da população de microrganismos nas hortaliças, aumentando os riscos de patógenos e deterioradores nesses produtos (BOLIN, 1977).

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a importância da sanitização sobre a alface americana (*Lactuca sativa* L.) e a acelga (*Beta vulgaris*, var. *cycla*) minimamente processadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

As hortaliças utilizadas para o desenvolvimento desse trabalho (alface americana e acelga) foram obtidas no CEASA-SE e transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA/IFS) e mantido em temperatura de 5°C até o início do processamento mínimo.

2.2 Amostras Trabalhadas

Neste trabalho foram analisadas 6 amostras separadas em 2 grupos: amostras não- sanitizadas (Controle) e sanitizadas. O grupo das amostras não- sanitizadas foram formadas por três amostras: A1 (alface), A2 (acelga) e A3 (50% de alface e 50% de acelga). O grupo das amostras sanitizadas foi denominado de: B1 (Alface), B2 (Acelga) e B3 (50% de alface e 50% de acelga). Em cada saco hermético foi pesado 25 gramas das amostras.

2.3 Processamento mínimo

O processamento mínimo consistiu das etapas de seleção, pré-lavagem, corte, sanitização, enxague, centrifugação e empacotamento (FIGURA1). Após o resfriamento rápido, foi realizada a limpeza das hortaliças em água corrente. Na seleção, rejeitaram-se os produtos aparentemente danificados e então, deu-se sequência ao processamento de cada hortaliça individualmente, respeitando a seguinte ordem: alface americana e acelga.

O corte inicial de cada folha foi no sentido longitudinal e em seguida feito o corte transversal. A sanitização e o enxágüe, foram feitos utilizando-se cloro ativo próprio para higienização de hortaliças, em concentrações de 200 e 50 mg L⁻¹, respectivamente. A hortaliça foi submersa na solução sanitizante por um período de 10 minutos.

E em seguida as amostras foram acondicionadas em sacos herméticos até iniciar as análises microbiológicas e físico-químicas.

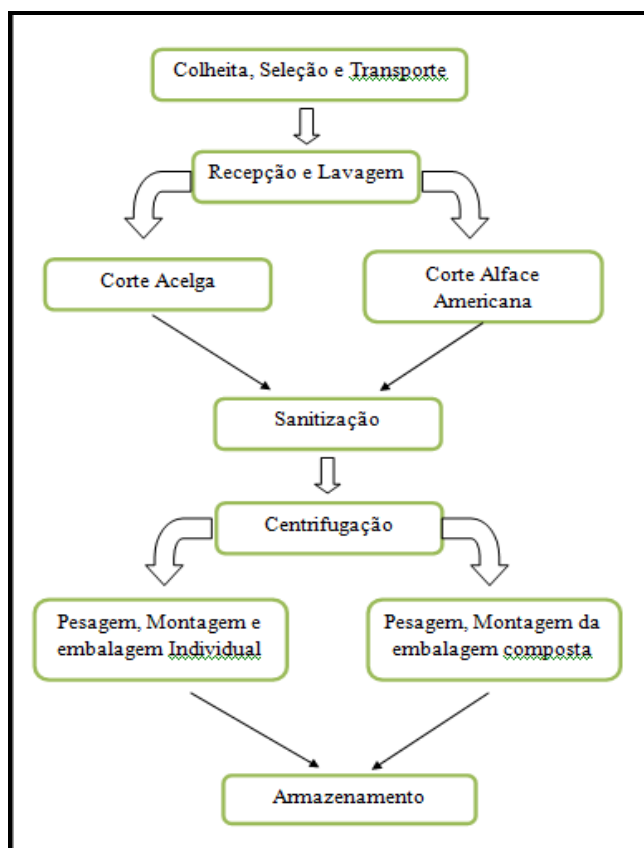


Figura1: Fluxograma das etapas do processamento mínimo

2.4 Análises Realizadas

2.4.1 Análises Físico- Químicas

Os parâmetros físico-químicos das hortaliças foram desenvolvidos em triplicata seguindo as metodologias do Instituto Adolpho Lutz (2005).

- **Acidez Total Titulável**

A acidez do produto foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N até pH 8,1 em 50 ml de solução obtida pela homogeneização de 5,0g da amostra em água destilada com resultados expressos em % de ácido cítrico por 100g .

- **pH**

O pH foi determinado em pHmetro digital da marca PG1800 devidamente calibrado com solução tampão de pH 4,0 e 7,0, em 50 ml de solução obtida pela homogeneização e filtragem de 5 g da amostra em água destilada.

2.4.2 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram feitas em triplicata seguindo a metodologia descrita em American Public Health Association (APHA, 2001).

Vinte e cinco gramas da amostra foram adicionadas em 225 mL de caldo lactosado e homogeneizadas. Em seguida foram preparadas diluições decimais seriadas até 10^{-3} em caldo lactosado.



As amostras foram submetidas às seguintes análises microbiológicas: contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, enumeração de coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras.

- **Bactérias Aeróbicas Mesófilas**

A contagem total de microrganismos mesófilos foi realizada pela técnica de Pour Plate, ou seja, foi semeado 1 ml do inoculo em placa de petri esteril em seguida foi adicionada ágar padrão para contagem (PCA), homogeneizado e esperado solidificar para ser incubadas a 35 °C durante 48 h.

- **Contagem de Bolores e Leveduras**

A contagem de bolores e leveduras foi semeado 0,1 ml das diluições em placas de petri previamente preparadas com ágar batata dextrose (PDA), feito o espalhamento do inoculo com a alça de drigalski e incubadas a 25 °C durante 3-5 dias.

- **Enumeração de Coliformes Termotolerantes**

A cada diluição foi adicionado 1 ml do inoculo em caldo lactosado e incubado a 35 °C durante 48 h. Depois da incubação foi separados os tubos positivos e feito a transferência do inoculo para o tubo com Caldo Ec com o auxilio da alça. Foram incubados a 45 °C durante 24 h e feito a seleção dos tubos positivos para leitura. O resultado é expresso em Número Mais Provável (NMP.g-1).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os resultados das análises microbiológicas obtidos neste trabalho para Contagem de bactérias aeróbicas mesófilos.

TABELA 1: Resultado obtido para bactérias aeróbicas mesófilas

Amostras	Bactérias aeróbicas mesófilas (UFC/g)
A1	Incontável
A2	Incontável
A3	Incontável
B1	1,68 x 10 ⁴
B2	2,04 x 10 ³
B3	1,21 x 10 ⁴

É possível afirmar que com a sanitização foi possível diminuir consideravelmente a população de bactérias mesófilas tanto na alface americana (B1) e na Acelga (B2) como também na salada mista (B3) composta por essas hortaliças.

Segundo Paula (2003), das 30 amostras de alfaces de restaurantes *self-service* de Niterói, 16 apresentavam acima de 10⁷ UFC/g para o grupo mesófilos. O elevado grau de contaminação por mesófilos aeróbios evidenciados, embora não possa ser associado como risco à saúde do consumidor, uma vez que não foram identificadas as espécies, indica que tais alimentos não suportariam um tempo de armazenamento longo podendo acarretar prejuízo econômico.

A sanitização com um agente sanitizante próprio para alimentos não foi suficiente para a eliminação total das bactérias aeróbicas mesófilas nas amostras, embora tenha resultado numa redução considerável em relação às amostras *in natura*.



De acordo com Franco e Landgraf (2006), a presença desses microrganismos em contagens elevadas é indicativa de matéria-prima contaminada ou procedimentos insatisfatórios de higienização. Entretanto, a legislação brasileira não define um valor máximo para estes micro-organismos.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados das análises microbiológicas obtidos neste trabalho para Contagem total de bolores e leveduras.

TABELA 2: Resultados obtidos para Bolores e leveduras

Amostra	Bolores e Leveduras (UFC/g)
A1	$9,7 \times 10^2$
A2	Incontável
A3	$2,31 \times 10^3$
B1	$1,38 \times 10^2$
B2	$1,31 \times 10^2$
B3	0

A importância da sanitização é confirmada em todas as amostras principalmente na acelga (A2; B2) que *in natura* apresentou-se incontável e após a sanitização esse valor diminuiu consideravelmente para $1,31 \times 10^2$.

Santos (2010) encontrou, em sua amostra de alface convencional comercializada no município de Botucatu-sp, o valor de $8,4 \times 10^7$ *in natura*, valor este que se apresenta bem superior ao que foi analisado na amostra A1 em torno de 5 ciclos logarítmicos. Essa diferença pode ser explicada através da diferença de solo e água que foi utilizada na irrigação da hortaliça.

Na Tabela 3 e 4 encontram-se os resultados das análises microbiológicas obtidos neste trabalho para Enumeração de Coliformes Totais e Termotolerantes.

TABELA 3: Resultados de Coliformes Totais encontrados

Amostra	Coliformes Totais (NMP/g)
A1	$1,1 \times 10^3$
A2	$1,5 \times 10^2$
A3	2×10^1
B1	$4,6 \times 10^2$
B2	$4,3 \times 10^1$
B3	$1,5 \times 10^1$

A determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes mostraram que nas amostras que não foram sanitizadas (A1, A2, A3) praticamente todas as amostras apresentam um alto nível de contaminação. Apesar da legislação não possuir um padrão para coliformes totais em alface, as análises foram efetuadas para um conhecimento do número desses microrganismos, ou seja, saber a respeito da qualidade da alface que chega ao consumidor.



TABELA 4: Resultado encontrado para Coliformes Termotolerantes

Amostra	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)
A1	$2,4 \times 10^2$
A2	<3,0
A3	7,4
B1	$2,3 \times 10^1$
B2	<3,0
B3	<3,0

Quando se considera os indicadores microbianos mencionados (Coliformes e *Salmonella*) na, apenas a amostra A1 (para Coliformes) está no limite máximo estabelecido pela a ANVISA, as demais estão abaixo desse valor, permitindo assim a aprovação para consumo (Brasil, 2001).

A detecção de coliformes termotolerantes acima do limite tolerável, além da presença de parasitas patogênicos ao homem, indica que as hortaliças estudadas encontravam-se inadequadas para o consumo. Guimarães *et al.* (2003) encontraram, para amostras de alfaces, coletadas em supermercados, contagem média global de coliformes fecais igual a $3,2 \times 10^5$ NMP/mL. Em estudo, Paula *et al.* (2003) encontraram 16 amostras contaminadas com coliformes fecais em um montante de 30 amostras de alfaces e 16 mesófilos acima de 10^7 UFC/g.

Os resultados das análises físico-químicos encontrados no na Alface americana e na Acelga estão representados a seguir, nas Tabelas 6 e 7.

TABELA 6: Resultados do parâmetro pH

Amostra	pH
A1	6,20
A2	6,25
B1	6,41
B2	6,28

Souza (2010) observou que a acelga apresentando valor de pH de aproximadamente 6,35 mesmo após 15 dias de armazenamento. O valor encontrado por Freire, não difere muito do valor obtido para a acelga não - sanitizada e sanitizada. Esse pH é ideal para o desenvolvimento de diversos grupos de microrganismo. Aumentos de pH têm sido relatados para vários produtos inteiros ou que foram submetidos ao processamento mínimo. (IZUMI *et al.*; 1996; CARNELOSSI, 2000; SIGRIST, 2002).



TABELA 7: Resultado da Acidez Titulável expressa em Ácido cítrico/100g

Acidez Titulável	Ácido cítrico/ 100g
A1	0,03
A2	0,05
B1	0,05
B2	0,05

Para o teor de ácido cítrico encontrados na acelga e alface sanitizados para os não sanitizados não existe grandes diferenças. Esses teores poderiam ser modificados a partir de alguns dias de armazenamento, pois diversos fatores, como respiração, microrganismos e etc. alteram essas concentrações para mais ou para menos.

6. CONCLUSÕES

Observou-se no presente estudo que as hortaliças que passaram pelo processo de sanitização apresentaram redução na taxa de contaminantes e que o armazenamento conjunto (em forma de salada) não afetou este parâmetro.

Conclui-se desta forma que, o sanitizante influencia de forma satisfatória na redução da microbiota e as também nas características físico-químicas tanto da acelga quanto da alface, sendo mais intenso nesta primeira.

AGRADECIMENTOS

Instituto Federal de Sergipe/ *Campus* Aracaju

REFERÊNCIAS

APHA. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, 2001. p.515-516.

BERBARI, S.A.G.; PASCHOALINO, J.E.; SILVEIRA, N.F.A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p. 197-201, maio/ago.2001.

BOLIN, H.R.; STAFFORD, A.E.; KING JR., A.D.; HUXSOLL, C.C. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1319-1321, 1977.

BRACKETT, R. E. Antimicrobial effect of chlorine on *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v. 50, n. 12, p. 999-1003, 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. **Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em: 06 jun. 2012.

CARDOSO, W.S.; PINHEIRO, F.A.; PEREZ, R.; PATELLI, T.; FARIA, E.R. Desenvolvimento de uma salada de frutas: da pesquisa de mercado à tecnologia de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.30 no.2 Campinas Apr./June 2010.



CARNELOSSI, M. A. G. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. *Acephala*) minimamente processadas**. 2000. 81 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: _____. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 13-23.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo, 1985.

GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; FIGUEIREDO, H.C.P.; COSTA, G.M.; RODRIGUES, L.S. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 5, p. 132-135, 2003.

MATIN-DIANA, A. B. et al. Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 4, p. 210-218, 2007.

OHLSSON, T. Minimal processing – preservation methods of the future: an overview. **Trends in Food Science and Technology**, v.5, n.11, p.341-344, 1994.

PAULA, P.; RODRIGUES, P.S.S.; TORTORA, J.C.O.; UCHÔA, C.M.A.; FARAGE, S. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36(4): 535-537, jul-ago, 2003.

PEREZ R; RAMOS AM; BINOTI ML; SOUSA PHM; MACHADO GM; CRUZ IB. 2008. Perfil dos consumidores de hortaliças minimamente processadas de Belo Horizonte. **Horticultura Brasileira** 26: 441-446.

SANTANA, L.R.; CARVALHO, R.D.S.; LEITE, C.C.; ALCÂNTARA, L.M.; OLIVEIRA, T.W.S.; RODRIGUES, B.M. QUALIDADE FÍSICA, MICROBIOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE ALFACES (*Lactuca sativa*) de DIFERENTES SISTEMAS de CULTIVO. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2): 264-269, abr.-jun. 2006.

SANTOS, C.M.G.; BRAGA, C.L.; VIEIRA, M.R.S.; CERQUEIRA, R.C.; BRAUER, R.L.; LIMA, G.P.P. Qualidade da alface comercializada no município de Botucatu - SP. **Rev. Iber. Tecnología Postcosecha**, Vol 11(1): 67-74, 2010.

SIGRIST, J. M. **Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processadas**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Ciências Agrárias. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.

SOUZA, J. F. **Alterações bioquímicas e fisiológicas de salada mista minimamente processada composta por alface americana, alface roxa e acelga**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, 2010.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, n.2, p.115-125, Nov. 1996.