

**Contaminação Bacteriana em Alface
(*Lactuca sativa* L) e Avaliação de
métodos para desinfecção.**

Larissa Lagoa Ribeiro

1995

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA DESINFECÇÃO

Larissa Lagoa Ribeiro

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia-MG

Junho- 1995

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E
AValiação DE MÉTODOS PARA DESINFECÇÃO

Larissa Lagoa Ribeiro

Ofélia Cleusa Rosante Gomes

Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

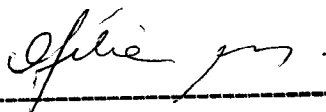
Uberlândia - MG

Junho - 1995

**CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA DESINFECÇÃO**

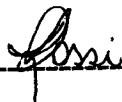
Larissa Lagoa Ribeiro

APROVADA PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 03/07



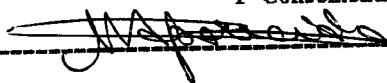
Prof. Ofélia Cleusa Rosante Gomes

Orientadora



Daise Aparecida Rossi

1º Conselheira



Maria Aparecida Martins Rodrigues

2º Conselheira

Uberlândia-MG

Junho-1995

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades, e pela maior delas, a vida.

A minha mãe Júlia, pela força, fé, carinho, amizade e paciência, neste e em todos os bons e maus momentos; e por sempre ter acreditado em mim, às vezes, mais do que eu.

Ao meu namorado Iran Parreira Jr. pela extrema dedicação e paciência, e principalmente pelo seu amor.

A minha segunda mãe, Nena, por sua fé e solidariedade.

A Daise A. Rossi, amiga e co-orientadora, pela paciência, respeito e ensinamentos, e a seu marido Edson, sempre tão compreensível e agradável.

A minha orientadora Prof^a Ofélia R. Gomes, pelo profissionalismo e paciência durante a execução deste trabalho.

A Prof^a Maria Aparecida M. Martins, pela amizade, disposição e conselhos.

A Profª Denise G. de Santana pela boa vontade e cooperação nos cálculos estatísticos.

As minhas amigas Cláudia, Fabíola, Edwiges (Tuti), Daniela Simão, Andréia, Cristina, Cybele, Fernanda e Petyana, pelo apoio na vida acadêmica e principalmente durante este trabalho.

Às funcionárias do Laboratório, Soninha e Liana pela boa vontade com que me ajudaram nas diversas etapas da realização desta pesquisa.

Aos funcionários da Universidade, Edna Burns, Wilma V. da Silva (COMUT), Maria Salete de F. Pinheiro (Setor de referências) e ao pessoal da Vigilância, pela cooperação.

A minha amiga Regina pelos gráficos e capa surpresa; a Silvana pela paciência na digitação, e ao Gerson, por sempre resolver o “mau-humor” do computador.

E a todas as pessoas que participaram e colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho

Muito Obrigada.

RESUMO

Amostras de alface (*Lactuca sativa* L.) foram coletadas em pontos de vendas da cidade de Uberlândia e analisadas para a determinação de possível contaminação por bactérias heterotróficas mesófilas, coliformes totais e fecais. Vários tratamentos foram aplicados: lavagem em água corrente por 1 minuto e imersão em soluções de hipoclorito de sódio e vinagre. O hipoclorito foi utilizado em concentrações e tempos de exposição diferentes e o vinagre em uma única concentração, variando apenas o tempo de exposição.

A contaminação inicial considerada elevada, foi reduzida a padrões aceitáveis pelo Ministério da Saúde quanto ao número de coliforme fecais, quando se utilizou o cloro a 50 e 100ppm por 30 e 10 minutos respectivamente, bem como o vinagre diluído a 2% por 10 e 30 minutos. Comparativamente, o cloro a 100ppm por 10 minutos, foi o mais eficiente de todos os tratamentos na redução dos diversos microrganismos, o vinagre por 10 minutos, teve uma redução bastante significativa no número de coliformes fecais e a lavagem em água corrente não apresentou redução satisfatória. No entanto o vinagre, como indicado acima, preserva as características físicas da hortaliça, o mesmo não ocorrendo com o cloro a 100ppm, que provoca ligeiras queimaduras e amolecimento do tecido vegetal.

ÍNDICE

1- Introdução.....	08
2-Revisão Bibliográfica.....	11
3- Material e Métodos.....	14
3.1- Coleta e Preparo das Amostras.....	14
3.2- Condução do Experimento.....	14
3.2.1- Métodos Propostos para a Desinfecção.....	15
3.2.1.1 - Lavagem em Água Corrente.....	15
3.2.1.2 - Imersão em Hipoclorito de Sódio.....	16
3.2.1.3 - Imersão em Vinagre.....	16
3.2.2 - Análises Microbiológicas.....	16
3.2.2.1 - Contagem de Bactérias Heterotróficas Mesófilas.....	16
3.2.2.2 - Número mais Provável de Coliformes Totais e Fecais.....	17
3.2.3 - Contagem e Registro dos Resultados.....	17
4- Resultados e Discussão.....	19
5 - Conclusões.....	23
6 - Referências Bibliográficas.....	24
Apêndice	

1 - INTRODUÇÃO

Alimentos em geral quando não submetidos à processos eficientes de higienização, são importantes veículos de inúmeros microrganismos, inclusive patogênicos, podendo trazer complicações ao homem, que vão de simples diarreias até processos mais sérios, às vezes fatais.

GELLI et al. (1979) sugeriram que todos os gêneros alimentícios prontos para o consumo deveriam ser objeto de exames físicos, químicos, microbiológicos e microscópicos. Citou ainda pesquisas realizadas por outros autores, os quais demonstraram que frutas e verduras poderiam fazer parte da cadeia epidemiológica de doenças microbianas e parasitárias.

TOOD (1978) apud LEITÃO (1981), analisando dados epidemiológicos de seis países, constatou que as frutas e hortaliças foram responsáveis por 7,7 e 3,3 % dos surtos de toxi-infecções de origem alimentar no Canadá e Estados Unidos da América, respectivamente. ABDELNOOR et al. (1983), relataram casos de “diarreia dos viajantes”, na cidade do México, pela ingestão de verduras folhosas, e depararam com achados semelhantes, em estudos na cidade de Beirute, Líbano.

Os fatores que colaboram para a contaminação de hortaliças, começam pelas condições de irrigação, onde na maioria das vezes a água utilizada não apresenta qualidade satisfatória. Isto foi comprovado em trabalhos realizados por CHRISTÓVÃO (1958), que relatou a ocorrência de hortas, na cidade de São Paulo,

irrigadas por esgotos ou águas poluídas por esgotos de origem humana, além do uso de fertilizantes oriundos de excreta animal, utilizados in natura ou aplicados após fermentação mal conduzida. Tal contaminação é potencializada no caso de hortaliças como a alface, diretamente em contato com o solo, meio de considerável proliferação bacteriana. LEITÃO et al. (1973), puderam constatar em solos com uma certa manipulação um maior índice de coliformes fecais do que em solos de florestas não utilizados.

BRYAN (1979) apud SAMAYOA CAMPOS (1988), sugeriu que a contaminação de hortaliças com diferentes microrganismos se dá em qualquer etapa, desde o crescimento, passando pelo corte, manuseio e transporte, até o armazenamento.

Como se sabe, bactérias do grupo coliforme são os indicadores de contaminação fecal mais utilizados em água e alimentos, principalmente devido à facilidade de isolamento e identificação, além da predominância em números relativos e tempo de sobrevivência adequados (LEITÃO, et al. 1973). O mesmo autor, chegou a sugerir a necessidade de estipulação de níveis máximos para coliformes fecais em águas utilizadas na irrigação, uma vez que, em estudos realizados por outros autores, foi encontrada uma estreita correlação entre a presença de coliformes fecais e salmonelas.

No Brasil é grande a oferta/procura de verduras, fontes naturais e acessíveis de vitaminas e outros nutrientes, em especial a alface (*Lactuca sativa* L.), hortaliça de plantio e consumo disseminado, a qual é utilizada na alimentação, sem cocção prévia, ou seja, crua.

A contaminação de alfaces é relativamente elevada. LEITÃO (1979) apud LEITÃO et al. (1981), estudando a intensidade de contaminação desta hortaliça por coliformes totais e fecais no estado de São Paulo, constatou que 75,5% das amostras examinadas apresentavam contagens de coliformes totais acima de 11000 NMP/g, ao passo que a presença de coliformes fecais foi mais reduzida, com 50,9% das amostras registrando contagens inferiores a 30NMP/g.

Pesquisas já efetuadas na área, evidenciam as sérias complicações, quanto ao aspecto de saúde pública, advindas do hábito de se consumir hortaliças sem cocção prévia ou na ausência de outros tratamentos visando a redução microbiana. Embora não ocorra normalmente a multiplicação de bactérias patogênicas na superfície das hortaliças, o período de sobrevivência é relativamente prolongado.

Além disso, hortaliças são ingredientes usuais de alguns pratos, principalmente saladas, nos quais os contaminantes bacterianos têm melhores condições de multiplicação (LEITÃO et al. 1981).

Justifica-se portanto, a preocupação e a importância de estudos para testar a eficiência de práticas sanitárias com a utilização de produtos de fácil acesso e forma de utilização à população, visando a redução bacteriana em alfaces, já que atualmente são desconhecidos métodos práticos e eficientes, que possam se tornar generalizados.

O presente trabalho teve por objetivo verificar o número de bactérias presentes (contagem padrão de heterotróficas mesófilas e número mais provável de coliformes totais e fecais), bem como a eficiência e dosagem de diferentes produtos utilizados para a redução da contaminação microbiana em alfaces.

2) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A preocupação quanto ao aspecto higiênico-sanitário de hortaliças e métodos para a redução da contaminação, considerada elevada nestes produtos, levaram à condução de trabalhos científicos em diversos países.

Alguns desses autores apenas determinaram o índice de contaminação, como LEITÃO et al. em 1973, que avaliaram a distribuição de coliformes totais e fecais em frutas, verduras, águas e solos, e observaram uma estreita relação entre grau de poluição e contaminação de solos e águas, com predominância de coliformes totais e fecais; em frutas e hortaliças o predomínio foi de coliformes totais. Em 1979, GELLI et al. analisaram verduras quanto à contaminação bacteriana e parasitológica, e constataram a presença de Escherichia coli em 74,4% das 125 amostras e ausência de Salmonella em todas; 9 amostras, num total de 36, se apresentaram positivas em testes parasitológicos.

CHRISTÓVÃO, em 1958 deparou com uma contaminação fecal intensa em alfaces e constatou a redução de 95,5% no número de Escherichia coli, com aplicação de água corrente, já no tratamento com cloro e iodo, ambos a 50 ppm, encontrou redução acentuada, embora lenta, mas não garantindo absoluta

tratamentos abaixo relacionados:

- 1) Lavagem em água corrente de boa qualidade, confirmada através de análises microbiológicas realizadas no mesmo laboratório, segundo metodologia proposta por LANARA, 1981.
- 2) Hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo em todos os tratamentos com hipoclorito) a 50 ppm por 10 minutos.
- 3) Hipoclorito de sódio a 50ppm por 30 minutos
- 4) Hipoclorito de sódio a 100ppm por 10 minutos
- 5) Hipoclorito de sódio a 100ppm por 30 minutos
- 6) Vinagre de vinho branco diluído a 2% (Castelo, Jundiaí, SP) por 10 minutos.
- 7) Vinagre de vinho branco diluído a 2% por 30 minutos.

OBS: O grupo controle não recebeu tratamento algum.

Inicialmente, as amostras foram desfolhadas e cortadas com auxílio de uma tesoura, previamente desinfetada com álcool 70° GL e homogeneizadas nas respectivas embalagens. Foram separados 8 lotes, contendo 10 gramas cada, correspondentes ao grupo controle e aos sete tratamentos propostos. Para o grupo controle, a amostra foi pesada diretamente em frasco contendo 90 ml de solução salina peptonado estéril (peptona de caseína - Biobrás, art 153-2 e cloreto de sódio grupo química, cod. 07027). Os lotes restantes foram pesados em beckers de plástico (também desinfetados com álcool 70° GL) onde foram adicionados os tratamentos propostos.

3.2.1) Métodos Propostos para a Desinfecção

3.2.1.1) Lavagem em Água Corrente

As amostras foram lavadas nos próprios beckers, em água corrente, por 1 minuto, filtradas com auxílio de gase e logo após, transferidas para 90 ml de solução

salina peptonada.

3.2.1.2) Imersão em Hipoclorito de Sódio

Anteriormente à imersão, as amostras foram lavadas em água corrente até que fosse retirada toda a matéria orgânica, e a seguir foram imersas em beckers contendo 300 ml das soluções de Hipoclorito de Sódio (tratamentos 2,3,4 e 5), quantidade esta, suficiente para que as folhas de alface ficassem totalmente submersas. Após o tempo de exposição desejado, as amostras foram filtradas em gase e transferidas para soluções salinas contendo tios-sulfato de sódio (inibidor de cloro residual), cuja quantidade foi calculada em função da dosagem de cloro utilizada.

O pH das soluções foi aferido assim que a hortaliça foi retirada do tratamento.

3.2.1.3) Imersão em Vinagre

Quando na utilização do vinagre, as amostras sofreram lavagem prévia, e após os tratamentos (6 e 7), foram filtrados em gase estéril e colocadas em água peptonada tamponada (art. nº 7228 Merck) para que a acidez do vinagre fosse diminuída e praticamente anulada. O pH também foi aferido quando a alface foi retirada da solução.

3.2.2) Análises Microbiológicas

Depois de submetidas aos diferentes tratamentos, as amostras de alface foram liquidificadas em copo de alumínio estéril durante 1 minuto, para uma homogeneização uniforme da amostra, bem como para a determinação de possível contaminação interna das folhas.

3.2.2.1) Contagem de Bactérias Heterotróficas Mesófilas

Após a homogeneização foram preparadas diluições em série de 10^{-2} a 10^{-6} , em solução salina peptonada estéril. Foram utilizadas as diluições, 10^{-5} e 10^{-6} para

o grupo controle, (devido à alta contaminação bacteriana inicial), e 10^{-4} e 10^{-5} para as amostras tratadas. Destas diluições, foi transferido em duplicata, 1 ml para placas de petri estéreis, às quais foram incorporados 15 ml de Agar Plate Count (art. n° 5463, Merck), previamente fundido e mantido em torno de 45° C; amostra e meio de cultura foram então homogeneizadas e após a solidificação, incubados em posição invertida, a 35°C/ 48 horas (APHA, 1978).

3.2.2.2) Número mais Provável de Coliformes Totais e Fecais

. Enriquecimento não seletivo

Paralelamente à semeadura em placas, foi realizado enriquecimento não seletivo em tubos de ensaio com Duhran, contendo caldo lauril sulfato de sódio (LST), art n° 0241,17, Difco. Para cada amostra (grupo controle e todos os tratamentos) foram preparadas 4 séries de 03 tubos de LST, aos quais foram adicionados 10 ml da diluição 1/10, 1ml da diluição 1/10, 1ml da diluição 1/100 e 1ml da diluição 1/1000, na primeira , segunda, terceira e quarta séries respectivamente, e então incubados em estufa a 35° C por 48 horas.

. Prova Confirmatória

Os tubos que se apresentaram positivos em LST (presença de gás no tubo de Duhran) foram repicados (1ml do caldo), em paralelo, para caldo verde bile brilhante (Merck, art. n° 5454) e caldo E.C (Difco, artigo n° 0314-01), ambos com tubo de Duhran. A série de tubos foi incubada por 48 horas a 35° C e 45° C, respectivamente (LANARA, 1981).

3.2.3) Contagem e Registro dos resultados

a) Contagem Padrão de Bactérias Heterotróficas Mesófilas:

Depois de 48 horas de incubação, foram escolhidas as placas que continham entre 30 e 300 colônias e a leitura foi realizada com auxílio de contador de colônias com lupa.

Do número encontrado nas placas em duplicata, foi obtida uma média, que, número multiplicada pela recíproca da diluição, forneceu um resultado, que foi registrado como unidade formadora de colônias por grama - UFC/g.

b) Número mais Provável de Coliformes Totais e Fecais:

Após 48 horas de incubação, foram considerados positivos os tubos contendo evidência de produção de gás. Estes foram anotados e os valores obtidos, comparados à tabela do número mais provável de coliformes. O resultado obtido foi registrado como número mais provável de coliformes por grama (NPM/g). O caldo verde brilhante foi utilizado para detectar coliformes totais e o caldo E.C para coliformes fecais.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontram-se os resultados obtidos para a contaminação inicial das amostras analisadas.

Observa-se por estes dados que a contaminação inicial por coliformes fecais (712,8 NMP/g) poder ser considerada elevada, quando comparada com o padrão da ABIA (1978) para hortaliças consumidas frescas, refrigeradas ou congeladas, sem cocção, que é de no máximo, 2×10^2 /g (200NMP/g).

Pela mesma Tabela, observa-se que a contaminação inicial média para heterotróficas mesófilas encontrada nas alfaces analisadas foi de 10^7 , considerada elevada, e pode ser resultante de diversos fatores, começando pelas condições de cultivo, irrigação, sanidade dos manipuladores, acondicionamento, transporte e comercialização. BARUFFALDI, et al. 1984, propuseram que a exposição de hortaliças às condições climáticas durante o transporte, bem como o acondicionamento destas em engradados de madeira e a exposição destes nos carregamentos, incrementaria o teor bacteriológico e parasitológico das hortaliças. Tal fato foi explorado por SAMAYOA CAMPOS, 1988, que comparou a

contaminação bacteriana em alfaces e repolhos vendidos em supermercados urbano, mercado rural e vendas urbanas, e concluiu que a contaminação nestas últimas, foi maior em relação aos outros (similarmente baixos), o que salienta a suposição de que a contaminação aumenta consideravelmente quando transportados e manipulados inadequadamente; no mercado rural, as verduras eram vendidas no próprio local de produção e os grandes supermercados teriam maior preocupação quanto ao transporte, limpeza e comercialização do que em vendas urbanas.

Nas Tabelas 2, 3, 4 e 5, encontram-se os dados individuais, por amostras, referentes aos diversos tratamentos propostos, dos quais nenhum foi capaz de eliminar totalmente a população bacteriana, mas houve reduções que variaram de acordo com o agente e/ou o tempo de exposição e ainda quanto ao tipo de microrganismos atingidos, como ilustram os gráficos 1, 2 e 3. O pH médio de ação das soluções empregadas, bem como o pH final modificado pela ação da água peptonada tamponada, e do tiosulfato de sódio respectivamente para os tratamentos com vinagre e cloro, estão especificados na tabela 6. A utilização do cloro a 100ppm por 10 min. (tratamento 4), foi o mais eficiente na redução de coliformes totais e fecais, com resultados da ordem de 64,0 e 93,9% respectivamente; já a maior redução no índice de bactérias heterotróficas mesófilas também se deu pelo mesmo agente, porém com o tempo de exposição de 30 minutos (tratamento 5), mas, sua taxa de eficiência para coliformes totais, foi a menor encontrada (21,74%).

Quando da utilização do vinagre diluído a 2% (tratamentos 6 e 7), o tempo de exposição que se mostrou mais eficiente para coliformes totais e fecais foi o de 10 minutos (tratamento 6), reduzindo-os em 49,8% e 87,2%, respectivamente; para bactérias heterotróficas mesófilas, a ação do vinagre foi mínima, reduzindo a contagem inicial para $3,8 \times 10^6$ e $4,2 \times 10^6$, respectivamente para os tratamentos 6 e 7.

Comparativamente, a lavagem em água corrente (tratamento 1), foi considerada a mais ineficiente, apresentando uma redução de 26% para coliformes totais, 54,7% para coliformes fecais, e o menor poder de redução no índice de

bactérias heterotróficas mesófilas $8,0 \times 10^6$.

Os resultados obtidos se assemelham aos de diversos autores que, em estudos com alface e outros vegetais, também encontraram prevalência de coliformes totais em relação aos fecais, bem como índices elevados dos dois grupos. CHRISTÓVÃO, em 1958, testou a eficiência germicida do cloro a 50ppm e comprovou uma redução acentuada, embora lenta; esta redução porém, não garantia a destruição absoluta dos microrganismos patogênicos. LEITÃO, 1979, constatou a presença de coliformes totais em contagens acima de 11.000 NMP/g, em 75% das amostras de alface analisadas, e coliformes fecais com contagens inferiores a 30 NMP/g em 50,9% das amostras. Em outro trabalho, LEITÃO e colaboradores, 1981, constataram contagens de heterotróficas mesófilas da ordem de $10^7 / 10^8$ /g, e uma elevada contaminação de coliformes totais em placas; a lavagem em água corrente teve poder de redução de 74% na flora bacteriana, enquanto que o vinagre a 2% de acidez e o hipoclorito de sódio acidificado a 200ppm reduziram-na, em 99,6 e 95,0 % respectivamente. BARUFFALDI et al. 1984 constataram a presença de coliformes fecais em contagens superiores a $2,0 \times 10^2$, em 75% das amostras de hortaliças analisadas.

As reduções médias obtidas para coliformes fecais, nos tratamentos 3, 4, 6 e 7 se adequam aos padrões propostos pelo Minist. da Saúde ABIA, (1978), conforme gráfico 2

Com base na Legislação Brasileira que só estipula padrões para coliformes fecais, o melhor tratamento para redução destes foi o cloro a 100 ppm por 10 minutos (tratamento 4), porém, foram observadas alterações consideráveis nas características físicas das alfaces como queimados e amolecimento dos tecidos, além de odor e sabor desagradáveis. O tratamento que não causou nenhuma alteração física, é ingrediente usual na alimentação e também demonstrou uma redução considerável na porcentagem de coliformes fecais (87,2%), abaixando as contagens destes de 712,8 para 91,17 NMP/g (dentro dos padrões do M. Saúde), foi a utilização de vinagre diluído a 2% pelo tempo de exposição de 10 minutos

(tratamento 6). O que, conjugado com a facilidade de obtenção pelo produto pode ser uma alternativa na utilização caseira de métodos de desinfecção de alfaces. Este tratamento porém, foi o que demonstrou menor redução na contagem de heterotróficas mesófilas, fato este, de importância menor, uma vez que tais bactérias não são normalmente associados a casos de toxi-infecções alimentares, e grande parte delas participam do ciclo de decomposição e regeneração da matéria orgânica nos solos (GELLI, et al. 1979).

As medidas caseiras estipuladas para os tratamentos foram: tratamentos 2 e 3, diluir em 1 litro de água 1 colher rasa de sobremesa (2,5 ml) de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e para os tratamentos 4 e 5 utilizar 1 colher de sobremesa cheia (5 ml). Para os tratamentos 6 e 7, utilizar 02 colheres de sopa cheias (20 ml) de vinagre de vinho branco em 01 litro de água.

De maneira geral, os resultados obtidos neste trabalho, concordam sob vários aspectos, com dados da literatura, embora não coincidam em números absolutos. No entanto, como sugere TAMINGA et al. 1969 apud BARUFFALDI et al. 1984 “os resultados obtidos por diferente fontes de pesquisa nem sempre podem ser comparados, principalmente quando o material analisado, a metodologia empregada e os parâmetros de estudo diferem. Porém, os resultados de cada um dos trabalhos, respeitando-se a metodologia, o material, a época e a região devem ser considerados e não podem ser invalidados”.

5 - CONCLUSÕES

A contaminação inicial em alfaces sem tratamento prévio, foi considerada elevada.

Houve redução de 1 ciclo log em contagens de bactérias heterotróficas mesófilas, nos diversos tratamentos empregados.

A maior redução no número de coliformes totais e fecais foi obtida com a utilização de cloro a 100ppm por 10 minutos e na contagem de heterotróficas mesófilas, com cloro a 100ppm por 30 minutos. Ambos causaram alterações nas características físicas da alface.

O vinagre diluído a 2%, por 10 minutos, reduziu consideravelmente o número de coliformes fecais, e preservou as características físicas da hortaliça.

A lavagem em água corrente, não teve efeito significativo na redução dos microrganismos.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDELNOOR , A.M., BATSHOUN, R., ROUMANI, B.M. The bacterial flora of fruits and vegetables in Lebanon and the effect of washing on the bacterial content. Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene, v.177, n.3/4, p.342-349, Apr., 1983.
2. APHA - Standard methods for the examination of dairu products. 14 ed. Washington: American Public Health Association, 1978.
3. Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA). Normas Básicas sobre Alimentos - Resoluções do CNNPA. VI - 270, São Paulo, 1978.
4. BARUFFALDI, R., PENNA, T.C.C., MACHOSHVILI, I.A., et al. Tratamento químico de hortaliças poluídas. Revista Saúde Pública, São Paulo, v. 18, p.225-34, 1984.

5. BRYAN, F. L. Diseases transmitted by foods contaminated by wastewater. J. Food Protection, v.40, p.45-56, 1977 apud SAMAYOA CAMPOS, M.A. Implicaciones en la transmision de las enfermedades diarreicas de los productos hortícolas de hoja verde que se consumen frescos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia , 1988. 70p. (Tese).
6. CHRISTÓVÃO, D.A. contaminação de alface (*Lactuca sativa* L.) por microrganismos de origem fecal : Estudos de métodos bacteriológicos para sua determinação , medida de sua intensidade na cidade de São Paulo e eficiência de alguns tratamentos na sua redução. São Paulo: Universidade de São Paulo. Faculdade de Higiene e Saúde, 1958. 205p. (Tese de concurso para catedrático de microbiologia e imunologia aplicada).
7. GELLI, D.S., TACHIBANA, T., OLIVEIRA, I.R., et al. condições higiênico- sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, S.P., Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 39, n.a, p-37-43, 1979.
8. HAYS, H., ELLIKER, P.R., SANDINE, W.E. Microbial destruction by low concentrations of hypochlorite and iodophor germicides in alkaline and acidified water. Applied Microbiology. v.15, n.3, p.575-581, May., 1967.
9. LANARA - Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos microbiológicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.1.

10. LEITÃO, M.F.F., MONTEIRO FILHO, E., DELAZZARI, I. et al. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface (Lactuca sativa L.). Bol. ITAL. Campinas, v.18, n.2, p.201-26, 1981.
11. LEITÃO, M.F.F., ROMEU, A.P., CRUZ, R.R. Coliformes e coliformes fecais como indicadores de contaminação. I. Presença no solo, água e vegetais. Revista Brasileira de Tecnologia. v.4, p.207-211, 1973.
12. LEITÃO, M.F.F., Salmonelas em águas fluviais e em alimentos não procurados e industrializados de origem animal e vegetal no Estado de São Paulo. São Paulo: Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 1979. 148p. (Tese-Doutorado) apud LEITÃO, M.F.F., MONTEIRO FILHO, E., DELAZZARI, I. et al. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface (Lactuca sativa L.) Bol. ITAL, Campinas, v.18. n.2, p.201-226, 1981.
13. MAGNUSON, J.A., KING JR., A. D., TOROK, T. Microflora of partially processed lettuce. Applied and Environmental Microbiology, v.56, n.12, p.3851-54, Dec., 1990.
14. RODRIGUEZ DE LECEA, J., SOTO ESTERAS, T., MARTINEZ BERMUDEZ, A. Effect of dressing on the microbiological quality of lettuce. Revista Latino-Americana de Microbiologia v.29, n.4, p.407-411, Oct-Dec., 1987.

15. SAMAYOA CAMPOS, M.A. Implicaciones en la transmision de las enfermedades diarreicas de los productos hortícolas de hoja verde que se consumen frescos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1988. 70p. (Tese).

16. TAMMINGA, S.K., BEUMER, R.R., KAMPELMACHER, E.H. The hygienic quality of vegetables in or imported into the Netherlands: a tentative survey. J. Hyg., Camb., v.80, p. 187-191, 1969 apud BARUFFALDI, R., PENNA, T.C.V., MACHOSSHVILI, I.A, et al. Tratamento químico de hortaliças poluídas. Revista Saúde Pública, São Paulo. v.18, p. 225-234, 1984.

17. TODD, E.C.D. Foodborne disease in six countries. A comparison. J. Food Protection, v.41, p.559-565, 1978 apud LEITÃO, M.F.F. et al. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface (Lactuca sativa L.). Bol. ITAL, Campinas, v.18, n.2, p.201-26, 1981.

APÊNDICE

GRÁFICO 1 - Percentual de Redução para Coliformes Totais

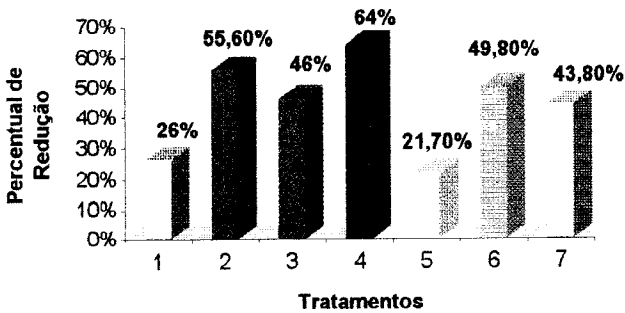


GRÁFICO 2 - Percentual de Redução para Coliformes Fecais

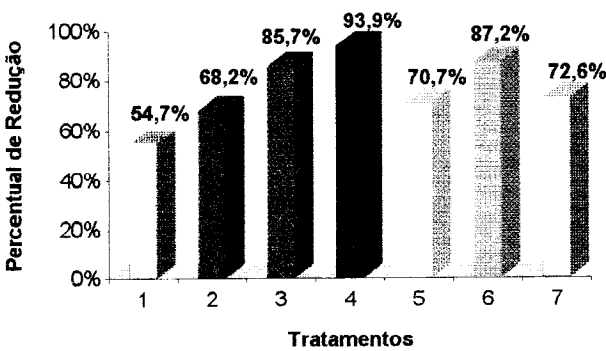
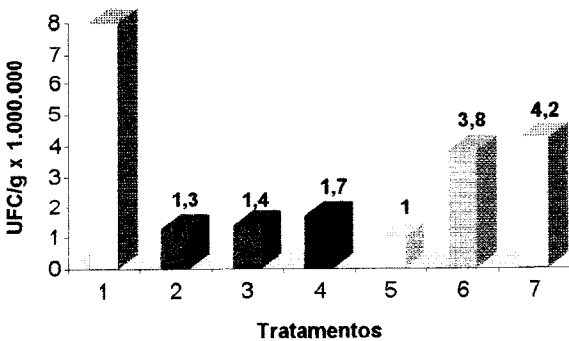


GRÁFICO 3 - Contagens Finais de Heterotróficas mesófilas



LEGENDA

- Lavagem em Água Corrente
- Cloro 50 ppm por 10 minutos
- Cloro 50 ppm por 30 minutos
- Cloro 100 ppm por 10 minutos
- Cloro 100 ppm por 30 minutos
- Vinagre a 2% por 10 minutos
- Vinagre a 2% por 30 minutos

Tabela 1 - Grupo Controle

AMOSTRA	DATA ANALISE	COLI TOTAL	COLI FECAL	CONT. GLOBAL
1	21/02	1100	1100	$2,7 \times 10^7$
2	07/03	* >1100	150	$3,7 \times 10^7$
3	13/03	"	> 1100	$5,7 \times 10^7$
4	20/03	"	93	$2,5 \times 10^7$
5	27/03	"	75	$2,3 \times 10^7$
6	05/04	"	1100	$3,5 \times 10^7$
7	10/04	"	> 1100	$4,3 \times 10^7$
8	11/04	"	"	$3,6 \times 10^7$
9	19/04	"	210	$1,5 \times 10^7$
10	24/04	"	> 1100	$4,1 \times 10^7$
$\bar{X}$		1100	$\bar{X}$ 712,8	$\bar{X}$ $3,4 \times 10^7$

Obs.:

* Para Tabela 1 e todas as outras, o resultado > 1100,0 foi estimado.

Tabela 2 - Lavagem em Água Corrente

AMOSTRA	COLI TOTAL	COLI FECAL	CONT. GLOBAL
1	75	75	$2,2 \times 10^7$
2	43	43	$8,9 \times 10^6$
3	1100	150	$1,1 \times 10^7$
4	240	93	$5,2 \times 10^6$
5	>1100	43	$6,0 \times 10^6$
6	1100	240	$3,5 \times 10^5$
7	>1100	>1100	$6,0 \times 10^6$
8	"	460	$1,1 \times 10^7$
9	"	43	$1,3 \times 10^7$
10	"	43	$1,1 \times 10^6$
$\bar{X}_p$	850,8	322,97	$0,8 \times 10^7$

Tabela 3 - Cloro a 50ppm/ 10 e 30 minutos

AMOSTRA	CLORO A 50 ppm / 10 min			CLORO A 50 ppm / 30 min		
	(CT)	(CF)	(CG)	(CT)	(CF)	(CG)
1	> 1100	150	$1,1 \times 10^7$	75,0	43,0	$1,3 \times 10^7$
2	9,1	9,1	$2,4 \times 10^6$	> 1100,0	43,0	$3,9 \times 10^6$
3	110,0	110,0	$5,6 \times 10^5$	460,0	460,0	$1,6 \times 10^6$
4	93	21	$5,1 \times 10^5$	150,0	93,0	$1,5 \times 10^5$
5	75	9,1	$1,8 \times 10^5$	93,0	43,0	$8,4 \times 10^5$
6	93	15	$3,1 \times 10^5$	460,0	3,6	$1,5 \times 10^4$
7	210	43	$8,2 \times 10^5$	> 1100,0	93,0	$7,7 \times 10^5$
8	> 1100	150	$9,1 \times 10^5$	"	43,0	$1,2 \times 10^6$
9	"	6,1	$8,8 \times 10^5$	"	3,6	$7,9 \times 10^5$
10	1100	3,6	$5,1 \times 10^5$	240,0	0,91	$1,0 \times 10^6$
$\overline{X_p}$	499,01	226,28	$0,13 \times 10^7$	587,8	101,98	$0,14 \times 10^7$

Tabela 4 - Cloro a 100ppm / 10 e 30 minutos

AMOSTRA	CLORO A 100 ppm / 10 min			CLORO A 100 ppm / 30 min		
	(CT)	(CF)	(CG)	(CT)	(CF)	(CG)
1	290,0	210,0	$9,1 \times 10^6$	210,0	75,0	$7,3 \times 10^6$
2	3,6	2,3	$2,1 \times 10^6$	1100,0	9,1	$1,6 \times 10^6$
3	240,0	240,0	$2,3 \times 10^6$	"	1100,0	$4,7 \times 10^5$
4	"	"	$4,1 \times 10^5$	460,0	150,0	$2,8 \times 10^5$
5	"	9,1	$3,6 \times 10^5$	240,0	7,3	$2,5 \times 10^5$
6	460,0	"	$3,5 \times 10^4$	> 1110,0	9,1	$1,0 \times 10^5$
7	53,0	"	$1,5 \times 10^6$	"	93,0	$5,6 \times 10^5$
8	> 1100,0	150,0	$6,2 \times 10^5$	"	23,0	$5,2 \times 10^5$
9	1100,0	0,91	$3,9 \times 10^5$	1100,0	15,0	$3,9 \times 10^5$
10	240,0	"	$5,3 \times 10^5$	"	3,0	$3,1 \times 10^5$
$\overline{X_p}$	396,66	43,263	$0,17 \times 10^7$	861,0	208,63	$0,10 \times 10^7$

Tabela 5 - Vinagre à 2%/ 10 e 30 minutos

AMOSTRA	VINAGRE DILUIDO A 2% / 10 min			VINAGRE DILUIDO A 2% / 30 min		
	(CT)	(CF)	(CG)	(CT)	(CF)	(CG)
1	75,0	9,1	$6,4 \times 10^6$	3,6	3,6	$3,7 \times 10^6$
2	9,1	9,1	$8,2 \times 10^6$	240,0	9,1	$2,6 \times 10^6$
3	460,0	150,0	$7,2 \times 10^6$	240,0	93,0	$3,7 \times 10^6$
4	93,0	23,0	$3,1 \times 10^6$	43,0	23,0	$6,9 \times 10^5$
5	21,0	15,0	$1,0 \times 10^6$	150,0	75,0	$1,0 \times 10^6$
6	460,0	93,0	$1,0 \times 10^4$	1100,0	43,0	$2,0 \times 10^4$
7	> 1100,0	150,0	$2,2 \times 10^6$	1100,0	9,1	$1,6 \times 10^7$
8	"	150,0	$3,9 \times 10^6$	> 1100,0	> 1100,0	$3,9 \times 10^6$
9	"	150,0	$9,1 \times 10^6$	1100,0	15	$1,5 \times 10^6$
10	"	9,1	$1,8 \times 10^6$	1100,0	3,6	$3,1 \times 10^6$
$\overline{\overline{X_p}}$	551,81	91,71	$0,38 \times 10^7$	617,66	194,97	$0,42 \times 10^7$

Tabela 6 - pH inicial (pH de ação) e final

pH Média

TRATAMENTO	pH INICIAL	pH FINAL
Cloro à 50ppm/10min	10,62	6,54
Cloro à 50ppm/30min	10,42	6,46
Cloro à 100ppm/10min	10,98	6,50
Cloro à 100ppm/30min	10,87	6,57
Vinagre à 10 min	3,4	7,25
Vinagre à 30 min	3,47	7,2