

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E ESTUDO DA EFICIÊNCIA DA SANITIZAÇÃO
PARA A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACES (LACTUCA SATIVA L.)**

**MICROBIOLOGICAL EVALUATION AND STUDY OF SANITATION EFFICIENCY FOR
THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF LETTUCES (LACTUCA SATIVA L.)**

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y ESTUDIO DE LA EFICIENCIA SANITARIA
PARA LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHUGAS (LACTUCA SATIVA L.)**

 <https://doi.org/10.56238/arev7n9-012>

Data de submissão: 17/08/2025

Data de publicação: 17/09/2025

Camille Rocha Maciel

Graduação em Tecnologia em Alimentos
Instituição: Universidade do Estado do Pará
E-mail: macielcamille15@gmail.com

Cristiany Lorrany do Egito Magalhães

Graduação em Tecnologia em Alimentos
Instituição: Universidade do Estado do Pará
E-mail: lorrannymagalhaes2@gmail.com

Tonye Gil Matos Waughon

Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituição: Universidade do Estado do Pará
E-mail: tonye.waughon@uepa.br

Elaine Lopes Figueiredo

Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituição: Universidade do Estado do Pará
E-mail: elaine.figueiredo@uepa.br

RESUMO

Hortaliças in natura são amplamente recomendadas como parte da alimentação diária. Porém, quando não tratadas corretamente, tornam-se fonte potencial de microrganismos. Este trabalho objetivou avaliar a eficiência de dois sanitizantes químicos na eliminação e/ou redução da carga microbiana de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em alfaves comercializadas em estabelecimentos de Soure e Salvaterra, na Ilha no Marajó. Inicialmente, fez-se o diagnóstico microbiológico das alfaves comercializadas em quatro (4) estabelecimentos, a fim de verificar os níveis de contaminação por essas bactérias, e selecionar o estabelecimento com as amostras mais contaminadas para submeter à sanitização. Para a sanitização da hortaliça, foram utilizados os sanitizantes: hipoclorito de sódio a 8 mL.L⁻¹ e dicloroisocianurato de sódio a 200 mg.L⁻¹. As hortaliças foram distribuídas ao acaso em três porções de 100 g para formarem três grupos: T0 (grupo controle, sem sanitização), T5 e T15 (tratamento com 5 e 15 minutos de imersão nos sanitizantes, respectivamente). Os resultados obtidos com o diagnóstico microbiológico mostraram que todas as amostras de alface apresentaram contagens elevadas de *Escherichia coli* ($6,9 \times 10^7$ UFC.g⁻¹) e de *Staphylococcus aureus* ($1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹). Os resultados da eficiência dos sanitizantes mostraram que o tempo de tratamento da sanitização e o tipo de sanitizante apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre os microrganismos. O Grupo T0

apresentou os maiores valores de Log de UFC.g-1, enquanto que o Grupo T15 apresentou os menores valores. O intervalo de 0 – 15 min de tratamento de sanitização apresentou os maiores números de redução decimal - NRD da carga microbiana para todos os sanitizantes testados, quando comparado com o outro intervalo de tempo 0 – 5 min. Nos dois intervalos de tempos de tratamento, o dicloroisocianurato de sódio foi o sanitizante que mais diminuiu a carga microbiana, possuindo assim os maiores valores de NRD para as duas bactérias. Desta forma, por intermédio do estudo de diferentes sanitizantes químicos na redução da carga microbiana, observou-se que o sanitizante mais eficiente foi o dicloroisocianurato de sódio e o melhor tempo de contato foi o de 5 minutos.

Palavras-chave: Alface. Qualidade. Sanitização. Cloro.

ABSTRACT

Fresh vegetables are widely recommended as part of the daily diet. However, when not treated properly, they become a potential source of microorganisms. This study aimed to evaluate the effectiveness of two chemical sanitizers in eliminating and/or reducing the microbial load of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in lettuce sold in establishments in Soure and Salvaterra, on Marajó Island. Initially, a microbiological diagnosis of lettuce sold in four (4) establishments was performed to verify the levels of contamination by these bacteria and select the establishment with the most contaminated samples for sanitization. The following sanitizers were used to sanitize the vegetables: sodium hypochlorite (8 mL L-1) and sodium dichloroisocyanurate (200 mg L-1). The vegetables were randomly distributed into three 100 g portions to form three groups: T0 (control group, without sanitization), T5 and T15 (treatment with 5 and 15 minutes of immersion in the sanitizers, respectively). The results obtained from the microbiological diagnosis showed that all lettuce samples had high counts of *Escherichia coli* (6.9×10^7 CFU.g-1) and *Staphylococcus aureus* (1.0×10^6 CFU.g-1). The sanitizer efficiency results showed that the sanitization treatment time and the type of sanitizer had a significant effect ($p < 0.05$) on the microorganisms. Group T0 presented the highest Log CFU.g-1 values, while Group T15 presented the lowest values. The 0–15 min sanitization treatment interval presented the highest decimal reduction (DRL) numbers of the microbial load for all sanitizers tested, when compared to the other time interval of 0–5 min. In both treatment time intervals, sodium dichloroisocyanurate was the sanitizer that most reduced microbial load, thus having the highest DRL values for both bacteria. Thus, through the study of different chemical sanitizers in reducing microbial load, it was observed that sodium dichloroisocyanurate was the most effective sanitizer, and the best contact time was 5 minutes.

Keywords: Lettuce. Quality. Sanitization. Chlorine.

RESUMEN

Las verduras frescas son ampliamente recomendadas como parte de la dieta diaria. Sin embargo, cuando no se tratan adecuadamente, se convierten en una fuente potencial de microorganismos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de dos sanitizantes químicos para eliminar y/o reducir la carga microbiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en lechuga vendida en establecimientos de Soure y Salvaterra, en la isla de Marajó. Inicialmente, se realizó un diagnóstico microbiológico en lechuga vendida en cuatro (4) establecimientos para determinar los niveles de contaminación por estas bacterias y seleccionar el establecimiento con las muestras más contaminadas para la sanitización. Los siguientes sanitizantes se utilizaron para sanitizar las verduras: hipoclorito de sodio a 8 mL.L-1 y dicloroisocianurato de sodio a 200 mg.L-1. Las verduras se distribuyeron aleatoriamente en tres porciones de 100 g para formar tres grupos: T0 (grupo control, sin sanitización), T5 y T15 (tratamiento con 5 y 15 minutos de inmersión en los sanitizantes, respectivamente). Los resultados obtenidos del diagnóstico microbiológico mostraron que todas las muestras de lechuga

presentaron recuentos altos de *Escherichia coli* ($6,9 \times 10^7$ UFC.g-1) y *Staphylococcus aureus* ($1,0 \times 10^6$ UFC.g-1). Los resultados de la eficiencia del sanitizante mostraron que el tiempo de tratamiento de sanitización y el tipo de sanitizante tuvieron un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre los microorganismos. El grupo T0 presentó los valores más altos de Log UFC.g-1, mientras que el grupo T15 presentó los valores más bajos. El intervalo de tratamiento de sanitización de 0 a 15 min mostró los valores más altos de reducción decimal (DRL) de la carga microbiana para todos los sanitizantes probados, en comparación con el otro intervalo de tiempo de 0 a 5 min. En ambos intervalos de tratamiento, el dicloroisocianurato de sodio fue el sanitizante que más redujo la carga microbiana, presentando así los valores más altos de DRL para ambas bacterias. Así, mediante el estudio de diferentes desinfectantes químicos para la reducción de la carga microbiana, se observó que el dicloroisocianurato de sodio fue el desinfectante más eficaz, con un tiempo de contacto óptimo de 5 minutos.

Palabras clave: Lechuga. Calidad. Sanitización. Cloro.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, vem-se observando mudanças no hábito alimentar da população mundial, no que se refere a uma tendência do consumo de hortaliças preferencialmente in natura. Isto se deve principalmente pela busca de uma alimentação mais saudável e devido a estas possuírem sabor agradável e serem de boa aceitação. As hortaliças são de grande importância na dieta alimentar uma vez que fornecem uma considerável quantidade de nutrientes para o desenvolvimento e regulação orgânica do corpo humano. São fontes de vitaminas A, C e B3, minerais (cálcio e fósforo) e fibras (Shinohara, 2014).

Originária da região do Mediterrâneo, a alface (*Lactuca sativa*) é uma das hortaliças mais consumidas no território brasileiro e mundial, classificada como um alimento importante para toda a sociedade, sendo grande fonte de vitaminas, como A, B1, B2 e B5, além do potássio, sódio, cálcio, fósforo, ferro, silício, magnésio, flúor e ainda apresenta propriedades medicinais: laxante, diurética, depurativa, calmante, mineralizante, desintoxicante entre outros (Silva et al., 2016).

Ainda que sejam recomendadas o consumo das hortaliças para a população em geral, elas representam um meio para o crescimento de diversos microrganismos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's). Isso acontece porque a maioria são consumidas in natura, o que aumenta o risco para o consumidor (Moreira et al., 2018), considerando que infelizmente muitos não possuem o hábito da higienização da forma correta para a diminuição de sua carga microbiana (Ferreira et al., 2018).

As condições de cultivo, armazenamento, transporte e distribuição até chegar ao consumidor final, associadas às práticas do uso de adubo orgânico, e a utilização de águas contaminadas para irrigação e condições de higiene, são condições que favorecem a transmissão de agentes patogênicos ao homem, principalmente quando o produto é consumido crus (Shinohara, 2014).

Embora os vírus sejam os agentes mais frequentes de doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's), as bactérias são as responsáveis pelos casos mais graves, podendo resultar em hospitalizações e até mesmo a óbitos (Fung et al., 2018). Podem-se destacar duas espécies bacterianas mais frequentes associadas a DTA's, pertencentes à família Enterobacteriaceae, a *Salmonella* spp., e a *Escherichia coli*, além de outras bactérias como *Staphylococcus* e *Clostridium* também são comumente incluídas (Beltrão, 2019; Nunes-Carvalho, 2020).

A higienização é essencial para assegurar a qualidade microbiológica de alfaces (Azevedo Filho, 2017). Desse modo, observa-se a necessidade de realizar estudos que investiguem a qualidade microbiológica dos vegetais folhosos, uma vez que na maioria das vezes os consumidores fazem a lavagem somente com água antes do consumo. Esse método pode não eliminar os patógenos e

consequentemente aumentar os riscos de aquisição de DTA. Desta forma, este trabalho objetiva avaliar a eficiência de dois tipos de sanitizantes químicos na eliminação e/ou redução da carga microbiana de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, em alfaces convencionais comercializadas na Ilha do Marajó, Pará.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ALFACE

A alface tem como centro de origem a Ásia, sendo cultivada há milênios de anos, e é uma das hortaliças mais populares e consumidas no mundo, rica em minerais e vitaminas, muito utilizada de forma in natura, principalmente, em saladas (Sediyama et al., 2016). No Brasil, a alface se expande amplamente por seu cultivo e valor nutricional, tendo em vista seu sistema de cultivação hidropônica e convencional (ABCSEM, 2021).

A alface (*Lactuca sativa*) vem agregando um grande espaço na culinária e na dieta humana, sendo amplamente consumida e reconhecida por seu sabor, versatilidade culinária e benefícios nutricionais que, embora discreta, apresenta uma importante contribuição para a saúde humana, é um alimento de baixo valor calórico, composto majoritariamente por água (cerca de 95%), tornando-se uma boa opção para a dieta diária de pessoas que desejam perder peso (Aquino et al., 2007).

Considerada uma hortaliça folhosa de grande relevância para a alimentação e a cultura no mundo, a alface vem adaptando diferentes variedade entre climas e tipos de solo. Com o passar dos anos, a hortaliça se consolidou como uma das culturas mais amplas, visto que, é cultivada e consumida globalmente, exercendo um papel central na nutrição, gastronomia e na economia agrícola. A ampla variedade de alfaces existentes, é hoje, resultado que reflete diretamente no processo histórico de domesticação e disseminação de plantas globalmente. (FAOSTAT, 2022).

Sua qualidade nutricional varia significativamente dependendo da forma de cultivo que é utilizada, de modo que, a forma de manejo, condições ambientais, disponibilidade de nutrientes e práticas agrícolas, podem afetar gradativamente o desenvolvimento da hortaliça e sua composição química. A qualidade nutricional das alfaces, é importante, pois depende de cada sistema de produção, uma vez que o fator primordial no cultivo da alface é o fornecimento adequado de nutrientes. Além de fibras, que auxiliam na digestão e promovem saciedade, a alface é rica em minerais e vitaminas, sendo fundamental para a saúde do consumidor, embora não seja muito energética, a alface complementa uma dieta equilibrada e saudável (Martins, 2016).

Além de seu valor econômico e nutricional, o cultivo da alface tem um grande impacto social na geração de empregos diretos e indiretos, por conta da alta demanda de mão de obra desde o cultivo

até a comercialização. Essa hortaliça é familiarizada ao clima subtropical e uma das razões que dificultam o manejo é o uso da água, pois sua falta de controle, mesmo em breves períodos de tempo, pode afetar o seu desenvolvimento, prolongando o ciclo e alterando a qualidade comercial do produto (Henz; Suinaga, 2009).

2.1.1 Aspectos Microbiológicos da Alface

Uma vez que a alface não passa por nenhum tratamento térmico antes de seu consumo, a higienização inadequada da mesma, à torna uma porta de entrada para microrganismos patogênicos e/ou deterioradores. Essa hortaliça folhosa considerada como uma grande fonte de contaminação microbiológica, quando submetida a manipulação e preparo incorretos antes de seu consumo (Barasuo et al., 2021).

A alface possui uma microbiota natural de microrganismos que crescem no ambiente em que é plantada, e geralmente essa microbiota contém bactérias que não causam doenças, como algumas espécies de *Lactobacillus* e *Pseudomonas*, os quais podem estar presentes nas folhas e nos caules. Contudo, se a higienização não for realizada adequadamente, outros tipos de microrganismos podem se multiplicar (Brasil, 2018). Patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* são os microrganismos mais comumente associados à contaminação de hortaliças, especialmente a alface, e sua presença representa um risco para à saúde do consumidor (Perroto et al., 2021).

A qualidade da água utilizada durante o cultivo é uma das causas que influenciam na contaminação desta hortaliça. A irrigação com água contaminada, é uma das formas mais comuns para a introdução de coliformes fecais. Ademais, o solo representa uma outra fonte de contaminação, sobretudo quando há a utilização de fertilizantes orgânicos, como estercos. Durante o processo de colheita, transporte e armazenamento, o manuseio inadequado pode introduzir ou expandir a propagação microbiana, principalmente se a alface estiver em contato com superfícies não higienizadas (Silva et al., 2017; Brasil, 2018).

A manipulação e o manejo correto são cruciais para diminuir a carga microbiana dessa hortaliça, podendo assim reduzir a incidência de doenças transmitidas por alimentos. Ademais o processo de lavagem e higienização desse vegetal com água de boa qualidade, aliado ao uso de soluções sanitizantes, contribuem para a obtenção de produtos microbiologicamente mais seguros (De Alencar Costa et al. 2012; Uchoa et al. 2015).

2.2 SANITIZAÇÃO

A sanitização é um método que envolve a redução ou eliminação da carga microbiana presente na superfície de produtos alimentícios. O objetivo principal da sanitização é garantir a qualidade e a segurança dos alimentos, diminuindo os riscos de contaminação através de patógenos como bactérias, fungos e vírus que podem causar doenças quando consumidas. Além da remoção de microrganismos patogênicos, a sanitização ajuda a prolongar a vida útil dos alimentos, já que reduz a carga microbiana que poderia acelerar a deterioração do produto ao longo do tempo (Mendes, 2016).

Para hortaliças, a sanitização é o tratamento do produto limpo por um processo eficaz em destruir ou reduzir o número dos microrganismos patogênicos, sem afetar a qualidade ou segurança do produto para o consumidor. Para a realização correta da sanitização deve-se selecionar e retirar as folhas danificadas, desfolhá-las e lavá-las folha por folha, em água corrente. A desinfecção deve ser realizada imergindo as hortaliças em solução sanitizante e em seguida enxaguá-las em água corrente potável, e colocá-las em recipientes que possibilitem a drenagem da água (Lima; Santos, 2017).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2004), afirma que a sanitização em alimentos, principalmente em produtos como hortaliças, vegetais e frutas, devem seguir padrões rigorosos para a eliminação de agentes contaminantes.

A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC 695, de 13/05/2022 dispõe sobre os requisitos de produto saneante destinado à desinfecção de hortifrutícolas (Brasil, 2022), e de acordo com esta resolução, na formulação de desinfetante para hortifrutícolas, são permitidos os princípios ativos: ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio, hipoclorito de cálcio, e hipoclorito de sódio. E os produtos destinados à desinfecção desses alimentos, devem comprovar sua eficácia frente aos microrganismos *Escherichia coli* e *Enterococcus faecium*.

2.2.1 Dicloroisocianurato de Sódio

O dicloroisocianurato de sódio é um pó ou granulado branco, de peso molecular 256, contendo de 55 a 60 % de cloro disponível. Possui fórmula molecular $C_3Cl_2N_3NaO_3$, com solubilidade de 25 g/100 g de água, a 25 °C. Sua atividade bactericida não é afetada na faixa de pH 6 a 10. O princípio ativo do dicloro (NaDCC) é acídico, portanto, tende a baixar o pH inicial da água, ao contrário do hipoclorito que, por ser alcalino, tende a aumentar o pH da água. Quando se prepara uma solução de NaDCC, uma grande parte do cloro disponível fica livre, o restante fica combinado sob forma de mono ou dicloroisocianurato. À medida que o cloro livre for sendo consumido por microrganismos, materiais orgânicos ou nitrogenados, o ácido hipocloroso é liberado, compensando a perda de cloro (Avanzi Química, 2024; Rocha et al., 2014).

Este sanitizante existe no mercado na forma de comprimido efervescente em diversos tamanhos. O tamanho do comprimido a ser utilizado é em função do volume da solução sanitizante a ser preparada e da concentração de cloro residual livre que se deseja, o que evita erros na dosagem do teor de matéria ativa e na perda do produto pelo consumo em excesso (Lima; Santos, 2017). Uma grande vantagem é que, para seu uso no dia-a-dia, o pH da sua solução a 1 %, varia de 6,0 a 8,0, enquanto que o pH de outros derivados clorados como o hipoclorito de sódio e/ou de cálcio varia de 11,0 a 12,5, que é cáustico (Avanzi Química, 2024). Por atender a um processo de fabricação específico para uso em alimentos, o dicloroisocianurato de sódio (NaDCC) não libera metais pesados e trihalometanos (compostos carcinogênicos), quando hidrolisado. Assim, a substituição dos compostos clorados inorgânicos, como o hipoclorito de sódio, pelo NaDCC, para uso em alimentos já está consolidada, desde a década de 90 nos Estados Unidos e Europa (Reis et al., 2008).

É um ácido hipocloroso que atua contra bactérias, vírus, e esporos devido a sua composição oxidativa de componentes celulares, alteração da permeabilidade da membrana celular e inativação de enzimas essenciais (Rocha et al., 2014).

Segundo a RDC nº 695, de 13/05/2022 e a Organização Mundial da Saúde (OMS), o dicloroisocianurato de sódio se inclui na lista de produtos recomendados para a desinfecção de hortaliças (Brasil, 2022).

2.2.2 Hipoclorito de Sódio

Tanto os compostos clorados inorgânicos quanto os clorados orgânicos podem participar de formulações com substâncias detergentes e sanitizantes, desde que haja compatibilidade entre eles, ou seja, não haja inativação ou redução da eficiência dos princípios ativos. Estas formulações originam os detergentes-sanitizantes à base de cloro (Aquino; Germano; Germano, 2003).

Com registros do Ministério da Saúde, o hipoclorito de sódio é o mais utilizado por sua aplicação fácil, rápida ação e dissociação completa em água. É amplamente utilizado na sanitização de frutas, legumes, verduras e hortaliças devido a capacidade de eliminar microrganismo como bactérias, fungos e alguns vírus (Rosa; Neumann, 2018).

De acordo com a RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007, que regulamenta a utilização do hipoclorito de sódio como sanitizante de alimentos, desde que a solução do cloro ativo esteja na concentração de 100 a 250 ppm e o tempo de contato indicado pelo fabricante seja rigorosamente respeitado e ao fim seja realizado um enxágue com água potável para a remoção de qualquer resíduo químico. A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC 695, de 13/05/2022, também aprova e

regulamenta a utilização deste sanitizante na diminuição e/ou eliminação da carga microbiana em hortaliças.

O hipoclorito é um dos sanitizantes empregados com mais sucesso nas indústrias de alimentos. São compostos eficientes e de baixo custo, tendo larga aplicação para o controle bacteriológico em indústrias de frutas e hortaliças, já que os compostos clorados provocam a oxidação das proteínas das membranas da bacterianas, e assim resultando na morte celular (Capita et al., 2019; Guo et al., 2020).

Fatores como a concentração de cloro ativo da solução e o tempo de ação do sanitizante, são condições relevantes para determinar a eficácia do efeito antimicrobiano do produto. A ação do cloro na sanitização de vegetais está relacionada à sua alta capacidade oxidativa de reagir com as proteínas da membrana das células microbianas, formando o composto N-cloro, interferindo no transporte de nutrientes para a célula e promovendo a morte celular (Possamai, 2014).

No âmbito doméstico, a higienização de hortaliças e frutas para consumo pode ser realizada por imersão em solução de cloro preparada a partir de água sanitária comercial. O hipoclorito de sódio é o princípio ativo da água sanitária, produto que possui de 2 a 2,5 % de teor de matéria ativa. Possui rápida ação bactericida, fácil aplicação e completa dissociação em água. É amplamente utilizado nas concentrações entre 50 – 200 mg.L-1, e tempo de exposição ao produto de 3 a 20 minutos na sanitização de frutas e hortaliças (Possamai, 2014).

Ressalta-se que o hipoclorito de sódio é líquido e o manuseio do produto requer cuidados especiais para evitar perdas pelo vazamento na tampa do frasco, pelo uso em excesso e no contato da pele com o produto, em função do pH de suas soluções.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACES (LACTUCA SATIVA L.)

Para a realização desta pesquisa, inicialmente foi feita a avaliação microbiológica de alfaces convencionais comercializadas em quatro estabelecimentos (duas feiras livres e dois supermercados), a fim de fazer um prévio levantamento sobre as condições microbiológicas e de higiene dessas hortaliças. Foram coletadas duas amostras no município de Salvaterra e outras duas amostras no município de Soure, ambas localizadas na Ilha do Marajó. A escolha desses pontos de coleta objetivou abranger diferentes tipos de comercialização e manuseio das hortaliças.

Porções de 100 g de amostras foram coletadas separadamente e assepticamente em cada estabelecimento. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, colocadas em caixas

de material isotérmico contendo gelo, identificadas, e enviadas para o Laboratório de Microbiologia, do Campus de Salvaterra, da Universidade do Estado do Pará.

As análises microbiológicas realizadas foram: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, de acordo com a Instrução Normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018 do MAPA (BRASIL, 2018), e a Instrução Normativa nº 161, 1 de julho de 2022 (BRASIL, 2022). As determinações microbiológicas foram realizadas em duplicata e seguiram as metodologias descritas Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods e FDA, e a Resolução de Diretoria Colegiada – RDC, nº 724, de 1 de julho de 2022, que dispõe sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos, e de acordo com a Instrução Normativa nº 161, 1 de julho de 2022, que estabelece a Lista de Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2022).

As determinações de *Escherichia coli* foram realizadas pela técnica dos tubos múltiplos (10-1, 1 e 10). Empregou-se, como meio presuntivo, o Caldo Lauril Sulfato Triptose, com incubação a 35 °C, por 24 - 48 horas. Após leitura, os tubos positivos foram repicados para Caldo Verde Brilhante bile, a 2 % de lactose, para indicação da presença de Coliformes Totais, e repicados para Caldo E.C., visando à indicação de Coliformes Termotolerantes.

A determinação *Staphylococcus aureus* de foi realizada pela técnica do Petrifilm específico para esta bactéria, seguida da incubação sob temperatura de 35 °C, por 24 h – 48 h.

A partir dos resultados obtidos com essas análises, pretendeu-se selecionar o estabelecimento com a amostra mais contaminada pelas duas bactérias, para submeter às etapas subsequentes desta pesquisa, avaliação da eficiência da sanitização.

3.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES SANITIZANTES

A fim de efetuar e avaliar a sanitização das folhas de alface foi utilizado dois tipos de sanitizantes: hipoclorito de sódio e dicloroisocianurato de sódio. A escolha dos sanitizantes se deu por serem de fácil obtenção, por possuírem utilidade doméstica e na indústria, e por suas características bactericidas, devido à presença de cloro ativo nos sanitizantes.

Todas as soluções sanitizantes avaliadas foram preparadas a partir do produto comercial concentrado. O hipoclorito de sódio, encontrado na forma líquida é bastante utilizado para sanitização de alimentos e purificação da água destinada ao consumo humano, e o dicloroisocianurato de sódio é encontrado na forma sólida em pequenos grãos de coloração branca.

A solução sanitizante com dicloroisocianurato de sódio foi preparada na concentração de 200 mg. L-1, conforme recomendado pela ANVISA (Brasil, 2004). E as soluções com o hipoclorito de sódio foram preparadas na concentração de 8 mL. L-1.

As marcas dos sanitizantes utilizados foram: Lafepe para o hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo (distribuído pelos postos de saúde), e Sumaveg para o dicloroisocianurato de sódio a 3,5% de cloro ativo. Cabe ressaltar que os sanitizantes utilizados possuem registro do Ministério da Saúde e estavam dentro do prazo de validade.

3.3 SANITIZAÇÃO DA ALFACE

A partir dos resultados obtidos com o diagnóstico microbiológico inicial das amostras de alface, escolheu-se o estabelecimento que possuiu as amostras com maior contagem microbiana, para realizar o processo de sanitização.

Para a coleta das amostras de alface, porções de 300 g foram coletadas assepticamente e acondicionadas em sacos plásticos estéreis, colocadas em caixas de material isotérmico contendo gelo, identificadas, e enviadas para o Laboratório de Microbiologia, do Campus XIX - Salvaterra, da Universidade do Estado do Pará - UEPA.

No laboratório, as folhas foram retiradas assepticamente dos sacos plásticos, e lavadas em água corrente para remoção do excesso de sujidades e excesso da matéria orgânica. Em seguida, as hortaliças foram distribuídas ao acaso em três porções de 100 g para formarem três grupos: T0, T5 e T15 como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Grupos de amostras de alface para o tratamento da sanitização.

Grupos	Tempo de Tratamento da sanitização (min)
T0 (Grupo Controle)	0
T5	5
T15	15

Fonte: Autores

As amostras que pertenceram ao Grupo T0, não foram submetidas à sanitização, sendo realizada nas mesmas somente a lavagem em água corrente.

Para a sanitização (Grupos T5 e T15), as folhas de alface foram imersas na solução sanitizante, em recipiente plástico, estéril, sem agitação, simulando o preparo doméstico, pelos tempos de contato estabelecidos para cada tratamento (5 e 15 minutos).

Decorrido o tempo de imersão estabelecido para cada tratamento, as amostras de alface sanitizadas foram enxaguadas a 5 °C, nas soluções do sanitizante utilizado, mas em concentrações mais baixas que na sanitização. Para o dicloroisocianurato de sódio foi utilizado 5 mg. L⁻¹ por 1 minuto, e para o hipoclorito de sódio 2 mL. L⁻¹ por 1 minuto, como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Sanitização da amostra de alface.

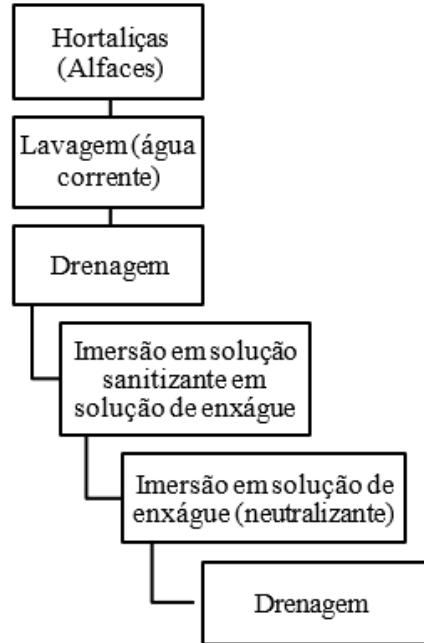


Fonte: Autores.

Em seguida, a etapa de drenagem foi realizada em caixas de polietileno de alta densidade perfurada, durante 1 minuto, com leves movimentos para facilitar a retirada do excesso de água.

A Figura 2 a seguir apresenta o fluxograma do procedimento utilizado para a sanitização das amostras de alface.

Figura 2 – Fluxograma da sanitização da alface.



Fonte: Autores.

3.4 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA SANITIZAÇÃO SOBRE AS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

Após a etapa de drenagem, foram pesadas vinte e cinco gramas (25 g) de cada porção de alface, e a mesma foi transferida para um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada para a realização de análises microbiológicas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

As análises foram realizadas em duplicita e da mesma forma descrita anteriormente, seguindo as metodologias descritas Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods e FDA, e a Resolução de Diretoria Colegiada – RDC, nº 724, de 1 de julho de 2022, que dispõe sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos, e de acordo com a Instrução Normativa nº 161, 1 de julho de 2022, que estabelece a Lista de Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2022).

A eficiência dos sanitizantes foi avaliada pelo método nº 649, teste de suspensão, proposto pela Association of Official Analysts Chemists (AOAC) com modificações (Andrade; Pnto; Lima, 2008). Os resultados foram expressos em números de redução decimais (NRD), utilizando a Equação 1 para determinar o número de UFC.g-1.

Para o cálculo, foi utilizada a seguinte equação:

$$NRD = \log_{10} NA - \log_{10} NS$$

Onde:

NA = número de células microbianas/g nas amostras,

NS = número de células microbianas sobreviventes/g nas amostras após a ação dos sanitizantes.

3.5 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Para a avaliação estatística dos resultados, foi realizado um planejamento fatorial, com três níveis para o fator tempo e dois níveis para os sanitizantes, com três repetições por tratamento, conforme a Tabela 2. Os dados foram analisados no programa estatístico Statistica.

Tabela 2 - Delineamento estatístico

Tratamentos	Sanitizantes	Tempo (min)
1	Hipoclorito de Sódio	0
2	Hipoclorito de Sódio	5
3	Hipoclorito de Sódio	15
4	Dicloroisocianurato de Sódio	0
5	Dicloroisocianurato de Sódio	5
6	Dicloroisocianurato de Sódio	15

Fonte: Autores.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADO DO DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE ALFACE (LACTUCA SATIVA L.)

Os resultados médios das análises microbiológicas das 4 amostras de alface coletadas nos 4 diferentes estabelecimentos nos dois municípios (Soure e Salvaterra) localizados na Ilha do Marajó estão apresentados na Tabela 3. De acordo com os resultados obtidos, observa-se que todos os estabelecimentos apresentaram amostras de alfaces contaminadas pelas duas bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e a carga microbiana variou entre os estabelecimentos, onde os valores mais elevados de *E. coli* foram identificados nas amostras provenientes do estabelecimento E4 ($6,9 \times 10^7$ UFC.g⁻¹), enquanto que os menores foram registrados no E3 ($1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹). Quanto a *S. aureus*, os valores mais elevados também foram encontrados nos estabelecimentos E3 e E4 (ambos $1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹), e o menor valor foi detectado no E2 ($1,1 \times 10^5$ UFC.g⁻¹).

Tabela 3 – Média dos resultados das análises microbiológicas das amostras de alface coletadas nos estabelecimentos localizados na Ilha do Marajó.

Estabelecimentos	Análises Microbiológicas	
	<i>Escherichia coli</i> (UFC.g ⁻¹)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC.g ⁻¹)
E1	$1,1 \times 10^7$	$2,0 \times 10^5$
E2	$1,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$
E3	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
E4	$6,9 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$

*UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

Fonte: Autores.

O resultado obtido é indicativo de cultivo e/ou colheita inadequadas, além de práticas incorretas de higiene e manipulação adotadas ao longo da cadeia produtiva, se tornando abrangente desde o cultivo até a etapa de comercialização. A presença simultânea de contaminação de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em todas as amostras analisadas indicam riscos significativos, visto que, tais microrganismos são indicadores clássicos de contaminação fecal e de manipulação inadequada.

A Instrução Normativa – IN 161, de 01/07/2022 (Brasil, 2022) estabelece que hortaliças in natura, inteiras e selecionas ou não, devem apresentar limite máximo de 102 UFC/g de *Escherichia coli*. Assim, pode-se dizer que todas as amostras de alface de todos os estabelecimentos avaliados encontram-se acima do limite estabelecido pela legislação vigente. A Instrução Normativa não estabelece níveis de *Staphylococcus aureus*, porém, a elevada contagem de colônias microbiana, pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatória. Os resultados sugerem também que os manipuladores podem ter sido responsáveis pela contaminação das alfaces durante as etapas de cultivo, colheita e/ou manipulação na comercialização das mesmas. Isso ressalta a importância da

implementação de Boas Práticas Agrícolas e de Manipulação, além da necessidade de educação sanitária para produtores, comerciantes e consumidores.

Ao avaliar a qualidade microbiológica de alfaces comercializadas em Castanhal-Pará, Lima et al. (2020) verificaram níveis de 107 UFC/g de *Escherichia coli*. Do Nascimento e Alencar (2014); e Kuba (2016) analisaram amostras de alfaces, e também verificaram contaminação das amostras por *Escherichia coli* e em níveis acima do permitido pela IN vigente.

O estabelecimento que apresentou as maiores contagens microbiológicas para as bactérias foi o E4, sendo este o estabelecimento escolhido para a etapa posterior desta pesquisa.

4.2 RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE SANITIZANTES SOBRE AS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

A Tabela 4 apresenta a média dos resultados do Logaritmo de UFC.g-1 do número de células bacterianas sobreviventes após a sanitização de amostras de alface utilizando dois sanitizantes (dicloroisocianurato de sódio e hipoclorito de sódio), em três tempos de tratamento (0, 5 e 15 minutos).

Tabela 4 – Média dos resultados do Logaritmo de UFC.g-1 do número de células bacterianas sobreviventes após a sanitização nas amostras de alface.

Sanitizante	Bactéria (Log UFC*.g ⁻¹)	Tempo de Tratamento (min)		
		0	5	15
Hipoclorito de sódio	<i>Escherichia coli</i>	7,40	1,07	1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,90	1,34	1,40
Dicloroisocianurato de sódio	<i>Escherichia coli</i>	7,40	1,06	1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,90	1,31	1,21

*UFC: unidade formadora de colônia.

Fonte: Autores.

Como mostra a tabela, o número de células sobreviventes das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* diminuiu com a sanitização e com os tempos de tratamentos.

Os dois sanitizantes utilizados na presente pesquisa, apresentaram eficiência na redução do número de células microbianas de Log de UFC.g-1, com efeito significativo ($p < 0,05$) para as duas bactérias avaliadas.

Para o hipoclorito de sódio, notou-se uma queda significativa na contagem de *Escherichia coli*, de 7,40 log UFC.g-1 no tempo 0 para 1,07 log UFC.g-1 após a duração de 5 minutos de tratamento, e 1,00 log UFC.g-1 aos 15 minutos. Verificou-se um desempenho semelhante para *Staphylococcus*

aureus, cuja contagem inicial de 6,90 log UFC.g-1 foi reduzida para 1,34 e 1,40 log UFC.g-1 aos 5 e 15 minutos, respectivamente.

Para o dicloroisocianurato de sódio, a aplicação foi eficiente na redução das contagens de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* nas amostras de alface. Para *E. coli*, observou-se uma redução de 7,40 para 1,06 log UFC.g-1 depois do tempo de tratamento de 5 minutos, e para 1,00 log UFC.g-1 em 15 minutos. Já para *S. aureus*, os números passaram de 6,90 log UFC.g-1 no tempo 0 para 1,31 log UFC.g-1 no tempo de 5 minutos, e 1,21 log UFC.g-1 aos 15 minutos de tratamento.

Pode-se analisar que tanto o hipoclorito de sódio quanto o dicloroisocianurato de sódio apresentaram elevada eficácia na redução da carga bacteriana nas alfaces submetidas à sanitização. Logo, as contagens iniciais de microrganismos indicaram elevadas contaminações como a *Escherichia coli*, que apresentou 7,40 Log UFC.g-1 antes da aplicação dos sanitizantes. Com o aumento do tempo de exposição para 5 e 15 minutos, pode ser observado uma redução expressiva nas contagens microbianas, alcançando números como 1,07 e 1,00 Log UFC.g-1. Esses resultados revelam que o tempo de contato é um fator determinante para a eficiência do sanitizante potencializando a ação dos compostos ativos, alterando a permeabilidade da parede celular e ocasionando danos estruturais e funcionais aos microrganismos segundo Capita et al. (2019) e Guo et al. (2020).

A aplicação das duas soluções sanitizantes não eliminou em 100 % a carga microbiana nas amostras de alface. Porém, diminuiu consideravelmente as contaminações bacterianas. A Instrução Normativa 161, de 01/07/2022 (Brasil, 2022) estabelece que hortaliças sanitizadas, inteiras, selecionadas ou não, devem apresentar limite máximo de 10 UFC/g de *Escherichia coli*. Assim, pode-se dizer que as amostras de alface encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela IN vigente. Esta IN não determina limites mínimos e máximos para *Staphylococcus aureus*, porém, pode-se verificar também uma redução considerável na contagem desta bactéria.

O tempo de tratamento de sanitização utilizado também apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a diminuição do número de Log de UFC.g-1 de células de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O Grupo T0 (Grupo Controle), em que as amostras de alface não foram submetidas à sanitização, apresentaram os maiores valores de Log de UFC.g-1. Os grupos T5 e T15 apresentaram os menores valores de Log de UFC.g-1, o que comprova que os tempos de imersão das amostras de alface nos agentes químicos possuíram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre a contagem dos microrganismos.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) entre os sanitizantes hipoclorito de sódio e dicloroisocianurato de sódio, sobre a diminuição da contagem das bactérias.

Também não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) entre os tempos de exposição (5 e 15 minutos) da sanitização.

Ao avaliar a eficiência da sanitização de alfaces comercializadas em Castanhál, no Pará, Lima et al. (2020) constataram que o tempo de tratamento da sanitização e o tipo de sanitizante apresentaram efeito significativo sobre a contagem dos microrganismos após a sanitização.

A Tabela 5 apresenta as médias dos resultados do Número de Reduções Decimais (NRD) das células microbianas sobreviventes após os intervalos de tempo dos tratamentos com os sanitizantes das amostras de alface.

Tabela 5 – Média dos resultados do Número de Reduções Decimais (NRD) das células microbianas sobreviventes após os intervalos de tempo dos tratamentos com os sanitizantes.

Sanitizante	Intervalo de Tempo de Tratamento (min)	Número de Reduções Decimais (NRD)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Hipoclorito de Sódio	0 – 5	6,33	6,40
	0 – 15	5,56	5,50
Dicloroisocianurato de Sódio	0 – 5	6,34	6,40
	0 – 15	5,59	5,69

Fonte: Autores.

Como se pode observar na Tabela 5, os dois sanitizantes testados mostraram eficiência no número de redução decimal (NRD) de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com efeito significativo ($p < 0,05$). De modo similar, os tempos de tratamentos dos sanitizantes também apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o NRD.

Dentre os sanitizantes estudados, no que se refere a relação de custo/benefício, os dois sanitizantes utilizados são facilmente acessíveis e de baixo custo, sendo que, o hipoclorito de sódio torna-se mais viável por ser distribuído de forma gratuita em postos de saúde, podendo ser utilizado tanto no tratamento da água quanto na sanitização dos alimentos.

Ao estudarem a eficiência do hipoclorito de sódio frente à algumas bactérias, Nascimento Filho et al. (2002), verificaram que o hipoclorito de sódio teve excelente resultado como sanitizante, uma vez que conseguiu no tempo de 10 min uma redução do número de coliformes totais e eliminação total de *Escherichia coli*. Lund et al. (2005), também observaram em seu estudo que o hipoclorito se mostrou mais eficiente, reduzindo a contaminação pela bactéria *Escherichia coli*.

Ao comparar os dois intervalos de tempo de tratamento com os sanitizantes (de 0 - 5 min e 0 – 15 min de imersão), pode-se constatar que os dois intervalos não apresentaram diferença significativa entre si, para os dois sanitizantes testados.

Oliveira (2005), ao avaliar a eficácia dos sanitizantes na redução da população de aeróbios mesófilos e coliformes totais, depois de submeter à lavagem em água corrente, evidenciou que o tratamento menos eficaz foi da solução com vinagre a 2 %. Adami e Dutra (2011) afirmaram em sua pesquisa que o vinagre não deve ser utilizado como sanitizante, na concentração de 125 mL/L por 15 min, pois não reduziu de forma significativa o número de micro-organismos.

Em pesquisa realizada por José (2009), a solução de dicloroisocianurato de sódio a 200 mg.L⁻¹ promoveu a redução de cerca de 2 Log UFC.g-1 na população de mesófilos aeróbios em salsa minimamente processada. Nesta mesma pesquisa, os tratamentos com este sanitizante a 50 e 200 mg.L⁻¹ promoveram reduções de aeróbios mesófilos de 0,7 e 1,4 Log UFC.g-1, respectivamente na contaminação de morangos.

Oliveira (2005), constatou que a sanitização com uma solução a 50 ppm de dicloroisocianurato de sódio por 15 minutos, mostrou-se eficaz na eliminação de micro-organismos indicadores das condições higiênico-sanitárias (coliformes termotolerantes e totais). O tratamento com 200 ppm deste sanitizante por 15 min, testado por Silva et al. (2021), promoveu uma média de 3,69 reduções decimais na população de *E. coli* comum e 2,57 reduções decimais na população de *E. coli* O157:H7.

5 CONCLUSÃO

Os resultados alcançados nas análises microbiológicas inicialmente mostraram altos níveis de contaminação nas amostras analisadas, com ênfase para os estabelecimentos E3 e E4, onde os valores ultrapassaram os limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 161/2022, indicando práticas higiênico-sanitárias insatisfatórias ao longo da cadeia de produção, manipulação e comercialização de alfaces.

A utilização dos sanitizantes evidenciou uma eficácia importante ($p < 0,05$) na diminuição das contagens microbianas das duas bactérias analisadas, nos dois tempos de contato (5 e 15 minutos). Constatou-se que tanto o dicloroisocianurato de sódio como o hipoclorito de sódio apresentaram reduções significativas nos valores de Log UFC.g-1, alcançando os limites seguros determinados para o consumo humano.

Como os dois intervalos de tempo dos tratamentos com os sanitizantes apresentaram efeitos satisfatórios na redução da carga microbiana, o tempo para imersão em solução sanitizante mais indicado é o de 5 minutos de contato, minimizando assim a possibilidade do alimento reter resíduos químicos oriundos das soluções sanitizantes que possam vir a causar algum dano à saúde do consumidor.

Ainda que nenhum dos dois sanitizantes utilizados tenha eliminado totalitariamente a carga microbiana, os resultados mostram sua eficiência na promoção da segurança microbiológica das alfaces.

A sanitização é uma etapa crucial para assegurar a segurança microbiológica de hortaliças consumidas cruas. Ressalta-se ainda a necessidade de ações educativas voltadas aos produtores, comerciantes e consumidores, assim como a importância da fiscalização sanitária nos estabelecimentos. Além disso, recomenda-se a continuação de estudos nessa área, objetivando o aprimoramento das técnicas de higienização em produtos hortícolas.

REFERÊNCIAS

ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. Posicionamento ambiental. Associação Brasileira do Comércio de Mudas e Sementes (2021). Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/estatisticas>.

ADAMI, Angélica Aparecida Vieira; DE LIMA DUTRA, Mariana Borges. Análise da eficácia do vinagre como sanitizante na alface (*Lactuca sativa*, L.). Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health ISSN, v. 2178, p. 2091, 2011.

AGRIANUAL 2020: Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2009.

AQUINO, S.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Princípios Gerais de Higienização. In: GERMANO, Pedro Manuel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2. ed. São Paulo: Varela, 2003. Cap. 26, p. 431.

AQUINO, L. A.; PUIATTI, M.; ABAURRE, M. E. O.; CECON, P. R.; PEREIRA, P. R. G.; PEREIRA, F. H. F.; CASTRO, M. R. S. Produção de biomassa, acúmulo de nitrato, teores e exportação de macronutrientes da alface sob sombreamento. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 25, n. 3, p. 381-386, 2007.

AZEVEDO FILHO, J. A. A cultura da alface. In: COLARICCIO, A.; CHAVES, A. L. R. Aspectos Fitossanitários da Cultura da Alface. Boletim Técnico Instituto Biológico São Paulo. Disponível m: <http://www.biologico.sp.gov.br>. 2017.

BARASUO, T. R.; VALIATTI, T. B.; CAMILO, J. F.S.; SOBRAL, F. D. O. S.; ROMÃO, N. F. Avaliação das condições higiênico-sanitárias da alface *Lactuca Sativa L.* do tipo orgânico e hidropônico comercializada em supermercados do Município de JI-Paraná-RO. Revista Saúde e Desenvolvimento, v. 15, n. 21, p. 44-53, 2021. Disponível em: <https://www.revistasuninter.com/revistasaudade/index.php/saudeDesenvolvimento/article/view/1123>. Acesso em 16 set. 2022.

BELTRÃO, J.C.C. Avaliação da qualidade microbiológica de saladas de hortaliças cruas prontas ao consumo e identificação do perfil de resistência a antibióticos das enterobactérias isoladas. 2019. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC 695, de 13/05/2022. Dispõe sobre os requisitos de produto saneante destinado à desinfecção de hortifrutícolas.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Instrução Normativa- IN nº161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 724, DE 1º DE JULHO DE 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. Dispõe sobre os requisitos para substâncias saneantes utilizadas na desinfecção de superfícies que entram em contato com alimentos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 1 mar. 2007. Disponível em: <https://www.in.gov.br>. Acesso em: 15 nov. 2024.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Brasília: MS, 2018. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apre sentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2021.

CAPITA, R., FERNÁNDEZ-PEREZ, S., BUZÓN-DURÁN, L., ALONSO-CALLEJA, C. Effect of sodium hypochlorite and benzalkonium chloride on the structural parameters of the biofilms formed by ten *Salmonella* entericaserotypes. *Pathogens*, v. 8, n. 3, p. 154, 17 set. 2019.

DE ALENCAR COSTA, Evelin et al. Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa* L.) convencionais e orgânicas e a eficiência de dois processos de higienização. *Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição*, v. 23, n. 3, 2012.

DO NASCIMENTO, Ermeton Duarte; ALENCAR, Feliphe Lacerda Souza. Eficiência antimicrobiana e antiparasitária de desinfetantes na higienização de hortaliças na cidade de Natal-RN. *Ciência e Natura*, v. 36, n. 2, p. 92-106, 2014. <https://doi.org/10.5902/2179460X12755>

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022.

FERREIRA, M. B.; NESPOLO, C. R.; BRASIL, C. C. B.; BORDIN, L. C. ; TEIXEIRA, B.K.; MODEL, B. P.; PINHEIRO, F. C. Avaliação microbiológica de hortaliças folhosas na região Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Horticultura Argentina.*, Buenos Aires, v. 37, n. 93, p. 23-35, 2018. Disponível em: <https://www.horticulturaar.com.ar/es/pdf/245/avaliacao-microbiologica-de-hortalicas>.

FUNG, F., WANG, H., & MENON, S. (2018). Food safety in the 21st century. *Biomedical Journal*. 41,88-95 doi: 10.1016/j.bj.2018.03.003.

GUO, L., SUN, Y., ZHU, Y., WANG, B., XU, L., HUANG, M., LI, Y., SUN, J. The antibacterial mechanism of ultrasound in combination with sodium hypochlorite in the control of *Escherichia coli*. *Food Research International*, v. 129, p. 108887, mar. 2020.

HENZ, G. P.; SUINAGA. F.; Tipo de Alfaces cultivados no Brasil. Embrapa Hortaliças, 2009. p. 7. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico), Brasília, 2009. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/> /publicacao/783588/tipos-de-alface- cultivados-no-brasil.

JOSÉ, J. F. B. S. Sanitização por ultrassom e agentes químicos no processamento mínimo de hortaliças [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2009. 102p.

KUBA, C. A. Análise bacteriológica de hortaliças em três sistemas de cultivo em Presidente Prudente – SP [dissertação]. Presidente Prudente: Universidade do Oeste Paulista; 2016. 37p.

LIMA, L. M. C.; SANTOS, R. S.; FIGUEIREDO, E. L.; WAUGHON, T. G. M. Estudo da eficiência de diferentes sanitizantes em alfaces (*Lactuca sativa L.*) comercializadas em estabelecimentos em Castanhal, Pará. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. Francisco Beltrão, v. 14, n. 01: p. 3161-3177, jan./jun. 2020.

LIMA, L. M. C.; SANTOS, R. S. Diagnóstico microbiológico e estudo da eficiência de diferentes sanitizantes em alfaces (*Lactuca sativa L.*) comercializadas em estabelecimentos no município de Castanhal-Pará. Trabalho de Conclusão de Curso. 2017.

LUND, D. G., et al. Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. Ciência Rural, v. 35, n. 6, p. 1431-1435, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600032>

MACÊDO, JORGE ANTÔNIO BARROS DE ET AL. Formação de trihalometanos em soluções sanitizantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias de alimentação. Revista Técnica da Sanepar, Paraná, v. 17, n. 17, p.31-48, 2002. Disponível em: <<http://www.sanepar.com.br/sanepar/sanare/v17/FORMACAODETRIHALOMETANOS.htm>>. Acesso em: 09 nov. 2024.

MARTINS, L. M.; Cultivares de Alface produzidas em três sistemas de produção. 2016. 71p. dissertação (mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias pela Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Sete Lagoas MG, 2016.

MENDES, T. D. Comparação da eficácia microbiológica do hipoclorito de sódio e ácido acético em hortaliças, Pindamonhangaba: FUNVIC, 2016.

MOREIRA, C. C; COSTA, K.; DUARTE, A. C., SERRA-FREIRE, N. M; NORBERG, A. N. Avaliação microbiológica e parasitológica de hortaliças comercializadas na Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. Revista Uniabeu., v. 10, n. 26, p. 234-243, 2018.

NASCIMENTO, H. M.; DELGADO, D. A.; BARBARIC, I. F. Avaliação da aplicação de agentes sanitizantes como controladores do crescimento microbiano na indústria alimentícia. Revista Ceciliiana, Santos, v. 2, n. 1, p.11-13, 04 jun. 2010. Disponível em: <http://sites.unisanta.br/revistaceciliiana/edicao_03/1-2010-11-13.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2024.

NASCIMENTO FILHO, A. R. et al. Sanitização de saladas in natura oferecidas em restaurantes self-service de São Luís-MA. Higiene Alimentar, v. 16, n. 16, p. 92-3, 2002.

NUNES-CARVALHO, M., JAYME, M., CARMO, F., PYRRHO, A., LEITE, S., & ARAUJO, F. (2020). Influence of different sources of contamination on the microbiological quality of lettuce in the Teresópolis region, RJ, Brazil. Engenharia Sanitaria e Ambiental, 25, 229-235. doi: 10.1590/s1413-41522020144815.

OLIVEIRA, V. A. A qualidade de hortaliças minimamente processadas: o efeito da sanitização antes e após o corte [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2005. 73p.

PERRITO, D.L., VARGAS, B.K., JACOCIUNAS, L.V., & WEHMEYER, C.O.T. (2021) Microrganismos causadores de DTAs: um olhar pautado na legislação. Porto Alegre, Brasil: Câmara do Livro.

POSSAMAI, A. Processamento de vegetais minimamente processados: uma abordagem sobre a higienização e os sanitizantes nela utilizados. 2014. 58 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/116233/000964530.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 05 nov. 2024.

QUÍMICA, Avanzi. Dicloroisocianurato: Guia Completo sobre Uso, Aplicações e Cuidados, 2024. Disponível em: <https://avanziqimica.com.br/blog/blog/cuidados-produtos-quimicos/dicloroisocianurato-guia-completo-sobre-uso-aplicacoes-e-cuidados>. Acesso em: 07 ago. 2025.

REIS, K. C.; et al. Efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morango cv. Oso grande. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 32, n. 1, p.196-202, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n1/a29v32n1.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

ROCHA, A. N. F.; SOARES, R. P.; BESERRA, M. L. S. A cruas em Restaurante de Teresina, Piauí. Centro Universitário Interdisciplinar, Teresina, v.7, n.2, p. 11-17, 2014.

ROSA, TANIA REGINA DE OLIVEIRA; NEUMANN, PRISCILA SOHN. Ácidos orgânicos de cadeia curta: eficácia no controle higiênico sanitário usado como sanitizantes de frutas e hortaliças. 2018.

SEDIYAMA, M.A.N.; MAGALHÃES I.P.B.; VIDIGAL, S.M. et al. Uso de Fertilizante orgânicos no cultivo de alface americana (*Lactuca sativa L.*) 'Kaiser'. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável, Viçosa, v.6, n.2, p.66-74, 2016.

SILVA, A. A. V. et al. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de sururu (*Mytella charruana*) e alface (*Lactuca sativa*) comercializados em um mercado público de Maceió-AL. Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences, v. 36, n. 4, 2016.

SILVA, S. et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017. 560p.

SHINOHARA, N. K. S. et al. v. 06, nº 1, p. 102-112, JAN-JUN, 2014. Revista Eletrônica "Diálogos Acadêmicos" (ISSN: 0486-6266) <http://www.uniesp.edu.br/fnsa/revista> avaliação da qualidade microbiológica de alfaces (*lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do recife, brasil.

UCHOA, FRANCISCO NATANIEL MACEDO ET AL. Avaliação da sanitização de hortaliças em uma unidade de alimentação e nutrição em Fortaleza-Ceará. Revista Intertox ecoadvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade, Ceará, 2015, v. 8, n. 2, p. 26-37, 2015.