Reutilização de solução sanitizante na preparação de REPOLHO ROXO (Brassicaceae) para o consumo humano

Bruna Gomes da Silva (IC) [1*], Jonas Alves Vieira (PQ) [1]. brunnagomes321@outlook.com

[1]Universidade Estadual de Goiás - Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo. BR 153, Nº 3105 Anápolis. Caixa Postal 459, CEP 75132400.

Resumo: O preparo e manuseio correto das hortaliças constituem uma das etapas mais importantes para diminuir a incidência de doenças, transmitidas através desses alimentos (DTA), o que requer uma higienização correta. Em escala industrial quantidade de reagente sanitizante e de água é considerada bastante elevada, sendo a mesma utilizada uma única vez e, em seguida descartada. No presente trabalho buscou-se avaliar a possibilidade de reutilizar a solução sanitizante na lavagem de novas remeças de amostra de repolho roxo. Foi utilizado sistema em fluxo contínuo, para identificar a presença de micro-organismos nas amostras como monitorar a proliferação dos mesmo e a eficiência da solução sanitizante, na higienização das referidas amostras. Inicialmente o processo de sanitização foi otimizado utilizando Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). O teor de cloro presente no material foi determinado por iodometria com objetivo de verificar a viabilidade referente a reutilização da solução sanitizante. Constatou-se que o sanitizante dicloroisocianurato de sódio apresentou resultados positivos, quanto à eliminação das bactérias presentes nas amostras de repolho roxo, apresentando grande potencial na sanitização de alimentos em cozinhas indústrias. A reutilização da solução sanitizante foi eficiente na sanitização de quatro remessas de amostras consecutivas, representando economia significativa de reagente sanitizante e de água.

Palavras-chave: amostra. bactérias. lavagem. sanitizante. reutilização.

Introdução

Hortaliças são potenciais veiculadores de micro-organismos que podem estar associados a infecções alimentares e, consequentemente, a doenças transmitidas por alimentos (DTA). Inúmeras são as causas para a presença de elevada carga microbiana nesse tipo de alimento, entre as quais estão as técnicas de cultivo, armazenamento, transporte e distribuição para consumo, a prática do uso de adubo orgânico, a utilização de águas contaminadas para irrigação, o transporte feito em engradados abertos e as condições de higiene no manuseio e preparo das refeições, principalmente quando tais alimentos são consumidos crus (PACHECO *et. al.*, 2002).

Dentre essas hortaliças encontra-se o repolho roxo (*Brassicaoleracea L. var.capitata L.f.rubra*) pertence á família *Brassicaceae*, sendo um vegetal nativo da

região do Mediterrâneo e do sudoeste da Europa, mas cresce em diversas regiões do mundo (ARAPITSAS e TURNER, 2008). No Brasil, a produção está localizada predominantemente em pequenas áreas do Sul e Sudeste (JUNIOR et. al., 2012).

O bom manuseio e preparo correto desse vegetal para o consumo humano é crucial, para reduzir a carga microbiana neste tipo de produto e por consequência, diminuir a incidência de doenças transmitidas através de alimentos. Sendo assim, deve-se utilizar água de boa qualidade, bem como fazer a higienização e sanitização das hortaliças e dos equipamentos e utensílios, de forma a evitar contaminação cruzada e aumentar a segurança microbiológica dos alimentos. (SUSLOW, 1997; ANTONIOLLI *et. al.*, 2005).

A higienização e sanitização do repolho roxo, pode ser dadas através da água, porém essa está cada vez mais escassa, dispondo de uma demanda crescente tanto pelo aumento da população como sua aplicação e poluições. Assim emprega-se a sanitização no processo de higienização das ortaliças, para a eliminação micro-organismos. Sua efetividade depende das características físicas e químicas do vegetal, do tipo de micro-organismo alvo, do tempo de contato, da concentração e temperatura de solução (SAPERS & SIMMONS, 1998).

Um bom sanitizante tem que preencher alguns requisitos como: não ser corrosivo aos materiais encontrados na indústria, não ser tóxico nem irritante para os manipuladores, ser econômico, ter uma ação rápida e ser suficientemente estável para armazenamento (HAYES, 1993). O cloro nas suas várias formas é o sanitizante mais utilizado em alimentos (SANTOS, 2003), principalmente o hipoclorito de sódio, em função de sua rápida ação, fácil aplicação e completa dissociação em água (ANTONIOLLI, *et. al.*, 2005).

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados com o apoio dos laboratórios de Química do Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas - Henrique Santillo da Universidade Estadual de Goiás, para detecção e monitoramento do crescimento da bactéria *Escherichia coli (E.coli)* na amostra em análise.

A coleta das amostras de repolho roxo ocorreu no CEASA em Anápolis-GO. Os mesmos foram levados ao laboratório para o tratamento da amostra sendo lavados em água corrente, um a um, retirou-se as matérias orgânicas presentes.

Essa água de lavagem foi armazenada para comprovação da existência de bactérias na amostra coletada.

Determinou-se o teor de cloro ativo da solução sanitizante, no início e após cada etapa de sanitização de amostra de repolho roxo, tendo como objetivo, avaliar se a concentração de cloro na solução encontrava-se na faixa adequada, conforme a legislação da ANVISA, cuja faixa de concentração é de 150 - 200 mg. $^{L-1}$.

Após a primeira etapa de limpeza das amostras repolho roxo, a higienização foi efetuada com solução sanitizante com proporção de 60 mL de cloro com teor de 2,0 a 2,5% em 1 L de água durante 10 minutos, essa solução foi armazenada para verificação da eliminação das bactérias presentes na amostra, podendo ser reutilizada enquanto apresentar resultados satisfatórios.

Para verificar a existência de bactérias presentes na amostra e na solução sanitizante, pós-lavagem da amostra com solução sanitizante, utilizou-se um meio de cultura liquido denominado de mínimo, preparado conforme descrito a seguir: 7g de K_2HPO_4, 3g de KH_2PO_4, 1g de $(NH_4)_2SO_4$, 0,1g de $MgSO_4$. $7H_2O$ e 0,5 g de citrato de sódio. Adicionou-se esses reagentes em 800 mL de agua e ajustou pH em 7,20, ferver a solução a 70°C e Resfriou-se, posteriormente adicionou-se 200 mL de solução previamente fervida contendo 20g de glicose.

Tipos de amostras geradas e analisadas:

Amostra A ---------- alíquota da primeira lavagem sem a presença de solução sanitizante, adicionou-se 1mL de amostra em 5 mL de meio de cultura líquido.

Amostra B ---------- alíquota da solução sanitizante após lavagem dos repolhos roxos, adicionou-se 1mL de amostra em 5 mL do meio de cultura líquido.

Amostra C ---------- alíquota do meio de cultura liquido 5mL, usado como branco.

Amostra D ---------- alíquota da bactéria referência, adicionou-se 1mL de bactéria de (*E.coli*) em 5mL do meio de cultura liquido, usada como referência.

As amostras foram levadas ao banho-maria em uma temperatura de 37°C, condições adequadas para favorecer o crescimento das bactérias. Amostra A, foi necessária para comprovação da presença de bactéria nas amostras de repolho roxo recém-colhido, a amostra B comprovou-se a eficácia da solução sanitizante em eliminar as bactérias presentes no repolho roxo, à amostra C determinou-se que o meio de cultura não foi contaminado durante o preparo confirmando assim não

oferecer interferência à análise, a amostra D foi para determinação visual da presença ou ausência de bactérias nas demais amostras.

Para o monitoramento do crescimento das bactérias, empregou-se um sistema em fluxo contínuo (Figura 1). É importante destacar que se trata de um sistema fechado, condição fundamental para análise química envolvendo bactérias, tendo como principal objetivo, evitar ou minimizar a contaminação do laboratório com as referidas bactérias.

O crescimento das bactérias inoculadas no meio de cultura liquida, é avaliado empregando-se o sistema em fluxo (Figura 1), que possibilita monitorar a concentração de CO_2 produzida pelos micro-organismos ao longo do tempo. O crescimento dos micro-organismos é observado em função da concentração de CO_2, produzido pelos mesmos.

Os testes foram realizados bombeando-se cada solução continuamente, passando pela câmera de difusão onde o gás carbônico produzido pelos micro-organismos, permeia a membrana de politetrafluoretileno, intercalando-se em um fluido aceptor (água deionizada), que interagem com a água sofrendo ionização, cuja concentração iônica é determinada por condutimetria.

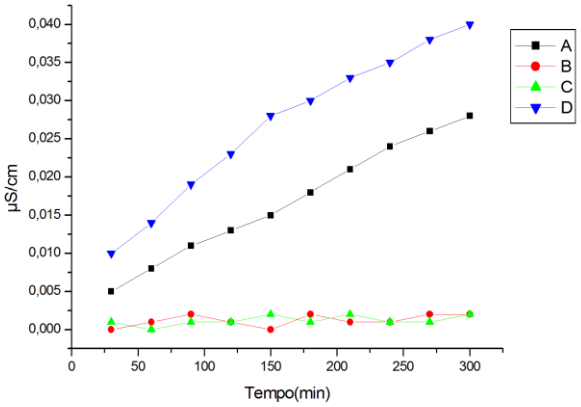
Figura 1. Configuração do sistema por injeção em fluxo usado nas análises.

Fonte: Autoria Própria

Resultados e Discussão

As análises das amostras A, B, C e D, descritas na metodologia, foram efetuadas em um intervalo de 5 horas, sendo cada análise realizada em um intervalo de 30 minutos para melhor determinação do crescimento das bactérias presentes na amostra. Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos, segue-se o gráfico representado na Figura abaixo.

Figura 2 - Avaliação no tempo de inoculação e crescimento de bactérias



Pode-se observar que o crescimento da bactéria se mostrou positivo nas amostras A e D, o que comprova que a amostra de repolho roxo coletada, estavam contaminados com bactérias. A amostra D possui teor maior de bactéria (solução de referência), presente em solução para comprovação por método visual. É possível também analisar que as amostras B e C se mantiveram constantes o que comprova que o meio de cultura não estava contaminado e que a solução sanitizante utilizada na lavagem das amostras, se mostrou efetiva eliminando assim, as bactérias presentes anteriormente nas amostras de repolho roxo.

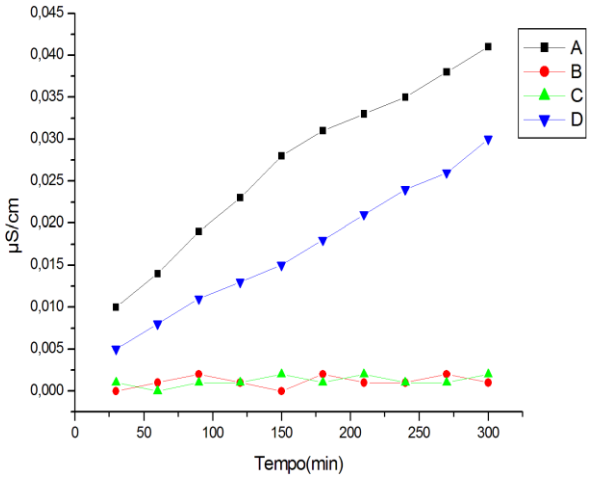
É possível determinar a presença de bactérias também por turbidez da solução, esse processo visual é eficaz apenas para confirmar se a presença é positiva ou negativa por isso faz-se necessário o uso do sistema em fluxo para melhor determinação a presença bactérias nas amostras. Na figura 3 abaixo esta exposto às amostras A e C, na qual a amostra com aparência leitosa trata-se da amostra A, que como pode ser observado constatou presença de bactérias comprovando assim a contaminação na referida amostra. Na amostra C na qual é de aparência incolor pode ser observado que não ocorreu proliferação das bactérias, demonstrando assim, a eficácia da solução sanitizante na lavagem de amostra de repolho roxo.

Figura 3- Amostras referentes à avalição da presença de bactérias antes e depois da lavagem com solução sanitizante.

Fonte: Autoria Própria

Novamente as amostras foram coletadas e foi reutilizada a solução sanitizante inicial, totalizando assim duas lavagens com a mesma solução sanitizante. As amostras A, B, C e D, repetiu-se o mesmo procedimento da primeira lavagem, cujos os resultados encontra-se descritos na Figura 4.

Figura 4- Avaliação do tempo de inoculação e crescimento de bactérias da segunda lavagem

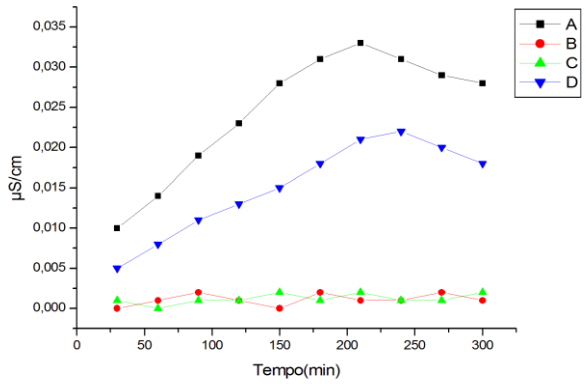


Os resultados obtidos comprovam novamente que a amostra estava contaminada com bactérias que podem ser prejudiciais a saúde humana, pois como pode ser observado no gráfico acima (Figura 4) o sinal obtido apresentou grande índice de crescimento o que comprova a presença de bactérias no meio, uma vez que a presença de bactérias inoculadas produzem CO_2 sendo o mesmo detectado pelo sistema em fluxo. O comparativo de crescimento da bactéria presente no repolho roxo, pode ser observado através da correlação com o desenvolvimento da bactéria na solução de referência, comprovando assim que os valores obtidos seguem a tendência do crescimento bacteriológico. O meio de cultura líquido se

mostrou livre de contaminação, uma vez que não houve variação no sinal obtido pelo sistema em fluxo, significando assim que a ausência de bactérias torna o sinal constante. Pode-se afirmar também que a solução sanitizante apresentou-se eficaz na eliminação de bactérias mesmo sendo reutilizada, totalizando assim duas lavagens com a mesma solução sanitizante inicial.

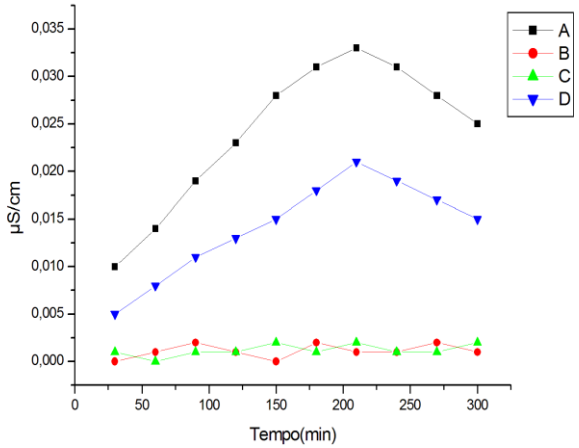
A solução sanitizante foi novamente reutilizada totalizando assim três lavagens sucessivas com a mesma solução, os resultados obtidos encontram-se representados nos gráficos na Figura 5.

Figura 5- Avaliação no tempo de inoculação e crescimento de bactérias da terceira lavagem



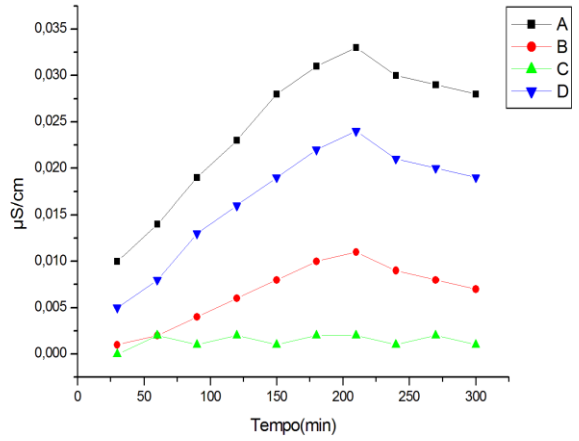
Como pode ser observado nos gráficos, novamente a amostra apresentou contaminação por bactérias, solução D, a solução da amostra com sanitizante C, e o meio de cultura usado como branco, apresentaram valores constantes comprovando assim a eficiência da solução sanitizante e a não contaminação do meio de cultura. Assim pode-se assegurar que a solução sanitizante manteve-se eficaz na eliminação de bactérias. Com base nestas informações, a solução sanitizante foi utilizada para uma nova lavagem de amostra, totalizando quatro lavagens. Os resultados obtidos estão representados na Figura 6.

Figura 6- Avaliação do tempo de inoculação e crescimento de bactérias na quarta lavagem



A tendência novamente se mostra presente nos dados obtidos evidenciando assim que as amostra, novamente apresentaram contaminação antes da lavagem com a solução sanitizante e após a lavagem a amostra não apresentou contaminação por bactérias. Mais uma vez os resultados obtidos demonstraram-se satisfatórios. Assim, solução sanitizantes foi novamente reutilizada totalizando cinco lavagens, os resultados foram expressos na figura 7.

Figura 7- Avaliação da eficiência da solução sanitizante após a quinta lavagem em função do crescimento de bactérias ao longo do tempo.



Os resultados obtidos a partir da quinta lavagem, demonstraram que a solução sanitizante não foi totalmente eficaz na eliminação de bactérias presentes na amostra, o que significa que nas condições experimentais empregadas, a solução sanitizante pode ser reutilizada de forma confiável em quatro lavagens consecutivas. Portanto para continuar utilizando a mesma solução sanitizante para outras

amostras recomenda que seja feto uma complementação para voltar a ter o teor necessário para eliminar as bactérias com eficiência.

Considerações Finais

Pode-se concluir que todas amostras de repolho roxo foi constatada a presença de bactérias, que podem causar grandes riscos a saúde humana. Portanto faz-se necessário a higienização destes vegetais em solução sanitizante, para total eliminação destes micro-organismos. A solução sanitizante proposta, apresentou resultados positivos quanto à eliminação das bactérias presentes nas amostras analisadas, tornando a mesma num grande potencial para a sanitização de repolho roxo em cozinhas indústrias. Outra vantagem é a reutilização da solução sanitizante, determinada como efetiva por quatro lavagens consecutivas, favorecendo assim grande economia de água e do reagente sanitizante.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde e forças para superar as dificuldades, aos meus pais, e a minha família pelo incentivo e apoio, a UEG-CCET por possibilitar o desenvolvimento do projeto a partir de apoio técnico, a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e o orientador Jonas Alves Vieira, pelo apoio na realização do projeto.

Referências

ANTONIOLLI, L. R. et. al. **Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi "Pérola" minimamente processado**. Revista Brasileira de Fruticultura, Brasília, v.27, n.1, p157-160, abr.2005.

ARAPITSAS, P.; TURNER, C. **Pressurized solvente extraction and monolithic column HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage.** Talanta, v. 74, p. 1218-1223,2008.

HAYES, P. R. **Microbiologia e Higiene dos Alimentos**. Zaragoza, Acribia, 1993. 369p.

JUNIOR, E.C. R; GONÇALVES, F.M.; MICHELAN, K.S.; HORA, R.C. **Avaliação fitotécnica de plantas de repolho roxo cultivadas sob diferentes densidades e fontes de nitrogênio**. Cultivando o Saber, v. 5 (4), p. 124-132, 2012.

PACHECO, M. A. S. R; FONSECA, Y. S. K.; DIAS, H. G. G.; CÂNDIDO, V. L. P.; GOMES, A. H. S.; ARMELIN, I. M.; BERNARDES, R. **Condições higiênico-**

sanitárias de verduras e legumes comercializados no CEAGESP de Sorocaba-SP. Higiene Alimentar, São Paulo, v.16, n. 101, p. 50-55, 2002.

SAPERS, G. M.; SIMMONS, G. F. **Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables**. Food Technology, Chicago, v.52, n.2, p.48-52, Feb. 1998.

SANTOS, H. P. dos. **Influência da sanificação sobre a qualidade de melão Amarelo (*Cucumis melo* L.) minimamente processado.** Lavras, 2003. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras (UFLA).

SUSLOW, T. **Postharvest chlorination: basic properties and key points for effective disinfection**. In: ANNUAL WORKSHOP FRESH-CUT PRODUCTS: MAINTAINING QUELITY AND SAFETY, 5., 1999, Davis. Proceedings… Davis: University of California, 1997. Section 9c, p.8.