

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CAMILA LEONÇO DE LUCENA

**ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA DE SALADAS MINIMAMENTE
PROCESSADAS COM DIFERENTES TRATAMENTOS: LAVAGEM,
SANITIZAÇÃO E EMBALAGEM A VÁCUO**

CAMPO MOURÃO

2022

CAMILA LEONÇO DE LUCENA

**ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA DE SALADAS MINIMAMENTE
PROCESSADAS COM DIFERENTES TRATAMENTOS: LAVAGEM,
SANITIZAÇÃO E EMBALAGEM A VÁCUO**

**Study of the life of salad shelf minimally
processed with different treatments: washing,
vacuum sanitization and packaging**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Tecnóloga em Alimentos da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof. Dra. Roberta de Souza Leone

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

CAMILA LEONÇO DE LUCENA

**ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA DE SALADAS MINIMAMENTE
PROCESSADAS COM DIFERENTES TRATAMENTOS: LAVAGEM,
SANITIZAÇÃO E EMBALAGEM A VÁCUO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Tecnóloga em Alimentos da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 29/novembro/2022

Roberta de Souza Leone
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Fábio Henrique Polisel Scopel
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Leila Larisa Medeiros Marques
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2022

Dedico este trabalho a meu pai, que não está mais entre nós, mas está vivo em meu coração.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, autor da vida, da inteligência, da sabedoria e da graça por me dar força em todos os momentos.

Agradeço ao meu marido, por me aconselhar muito, por estar comigo para enfrentar meus desafios e a por me ouvir.

Minha gratidão à minha família, por entender essa fase e me apoiar.

Agradeço a minha orientadora professora doutora Roberta pelo apoio para eu continuar até o fim e pelas professoras doutora Leila e doutora Aline por não medir esforços para ajudar.

Também quero deixar registrado meu agradecimento a todos os funcionários e estagiários do laboratório de apoio, por tirar dúvidas, me ensinar e me ajudar quando mais precisei.

Ergam os olhos e olhem para as alturas. Quem criou tudo isso? Aquele que põe em marcha cada estrela do seu exército celestial, e a todas chama pelo nome. Tão grande é o seu poder e tão imensa a sua força, que nenhuma delas deixa de comparecer!

(Isaías 40:26 NVI)

RESUMO

As saladas minimamente processadas são enquadradas como alimentos minimamente processados, hortaliças que passaram por etapas de lavagem, sanitização, descascamento, cortes de diferentes tipos para o preparo de porções prontas para o consumo. O objetivo dessa pesquisa foi analisar a vida de prateleira de saladas minimamente processadas produzidas com três tratamentos, o primeiro foi lavagem somente com água, o segundo lavagem e sanitização com solução com cloro e o terceiro lavagem com sanitização e embalagem a vácuo. Foram analisados os microrganismos patogênicos *Salmonella*, *Escherichia coli* e microrganismos deteriorantes, como os aeróbios psicotróficos estes últimos analisados nos dias 5, 7 e 12. *Salmonella* e *Escherichia coli* apresentaram resultados de acordo com a legislação em todos os tratamentos. A contagem de aeróbios psicotróficos teve como objetivo determinar o melhor tratamento de limpeza, higienização e embalagem. Os resultados apontam que o melhor tratamento foi o segundo, aquele no qual os vegetais foram limpos, higienizados em solução clorada e armazenados em embalagem plástica rígida sob temperatura de refrigeração. Sugere para estudos futuros a análise da influência de embalagens com atmosfera modificada no armazenamento de saladas.

Palavras-chave: minimamente processado; microrganismos; sanitização; embalagem a vácuo; vida de prateleira.

ABSTRACT

Minimally processed salads are classified as minimally processed foods, vegetables that suffered washing stages, sanitization, peeling, cuts of different types for the preparation of ready-to-eat portions. The objective of this research was to analyze the shelf life of minimally processed salads produced with three treatments, the first one consisted of washing with just water, the second one washing and sanitizing with chlorine solution and the third one washing with sanitization and vacuum packaging. The pathogenic microorganisms *Salmonella*, *Escherichia coli* and spoilage microorganisms were analyzed, such as psychrotrophic aerobes, the latter analyzed on days 5, 7 and 12. *Salmonella* and *Escherichia coli* presented results in accordance with the legislation in all treatments. Psychrotrophic aerobic counts aimed to determine the best cleaning, sanitizing and packaging treatment. The results indicated that the best treatment was the second one, in which the vegetables were cleaned, sanitized in a chlorinated solution and stored in rigid plastic packaging under refrigeration. It suggests for future studies the analysis of the influence of packaging with modified atmosphere on the storage of salads.

Keywords: minimally processed; microorganisms; sanitization; vacuum packaging; Shelf Life.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DTA's	Doenças Transmitidas por Alimentos
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PPM	Partes Por Milhão
T1	Tratamento 1
T2	Tratamento 2
T3	Tratamento 3
NMP	Número Mais Provável

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	Minimamente Processados	13
3.2	Microrganismos de Interesse	16
3.2.1	<i>Salmonella</i>	17
3.2.2	Coliformes (<i>E. coli</i>)	18
3.2.3	Aeróbios Psicotróficos	18
4	METODOLOGIA	19
4.1	Matéria-prima	21
4.2	Processamento Mínimo	22
4.3	Tratamentos para Higienização	22
4.3.1	Tratamento T1: Lavagem com água.....	22
4.3.2	Tratamento T2: Sanitização com solução de hipoclorito de sódio.....	22
4.3.3	Tratamento T3: Embalagem a vácuo	23
4.4	Análises Microbiológicas	24
4.4.1	Análise de <i>Escherichia coli</i>	24
4.4.2	Análise de <i>Salmonella</i>	25
4.4.3	Análise de bactérias aeróbias psicotróficas	26
4.5	Análises Estatísticas	26
5	RESULTADO E DISCUSSÕES	27
6	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os produtos minimamente processados referem-se às hortaliças e frutas que passaram por etapas de lavagem, sanitização, descascamento, cortes e/ou abrasões de diferentes tipos para o preparo de porções prontas para o consumo. A qualidade desses produtos inclui uma combinação de atributos, como aparência, textura, sabor e aroma, bem como os aspectos nutricionais e de segurança, que determinam o seu valor para o consumidor (PILON, 2017).

O SEBRAE (2014) destaca que o mercado de minimamente processados apesar de ser recente está em crescimento no Brasil. Esse é um nicho em expansão mundialmente devido às mudanças na sociedade em relação ao estilo de vida já que as frutas e hortaliças minimamente processadas surgiram como uma interessante alternativa para o consumidor que não tem tempo de preparar sua refeição ou mesmo não gosta de fazê-lo (MORETTI, 2007).

Devido a esse público que procura uma alimentação saudável e ao mesmo tempo praticidade, surgiram as saladas minimamente processadas.

É imprescindível a máxima atenção a segurança alimentar desses produtos pois são alimentos da filosofia: “Direto da embalagem para a mesa do consumidor” (SEBRAE, 2014). Esses alimentos podem causar as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) que ocorrem com a ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico ou por sua toxina. As DTA's podem ser causadas por toxinas, bactérias, vírus, parasitas e substâncias tóxicas de forma a gerar infecções, intoxicações e toxinfecções (BRASIL, 2001; BRASIL, 2010).

As lesões das células das hortaliças durante o processamento facilitam o crescimento de microrganismos, os quais utilizam os compostos provenientes do rompimento celular para a sua nutrição. Desse modo, essas hortaliças cortadas mostram-se como fontes mais ricas de nutrientes para os microrganismos do que as hortaliças intactas, favorecendo, com isso, a sobrevivência e o crescimento microbiano. Elas também diferem das hortaliças inteiras quanto à sua fisiologia, uma vez que se comportam como hortaliças que sofreram danos, onde uma série de mudanças fisiológicas é desencadeada, afetando a sua qualidade (PILON, 2017).

Em sua preparação, vegetais intactos são higienizados, normalmente com água que contém cloro na concentração de 50 a 200ppm, seguido por corte e

embalagem. Enquanto a higienização reduz a contagem microbiana, a operação de corte tem o potencial para recontaminar (JAY, 2005).

Como os microrganismos patogênicos normalmente não deterioram esse tipo de produto (MORETTI, 2007) é preciso levar em consideração os microrganismos deteriorantes que podem se desenvolver. Os minimamente processados geralmente exibem contagens altas de microrganismos deteriorantes, como as *pseudomonas*, bactérias ácido-láticas e *Enterobacteriaceae* (JAY, 2005).

Se, por um lado, a atratividade e a conveniência desses produtos podem vir a aumentar o consumo de hortaliças, de outro os potenciais riscos para a saúde associados à sua rápida deterioração requerem atenção especial. As técnicas usadas no processamento para diminuir a ocorrência de deterioração não eliminam completamente o crescimento de microrganismos deteriorantes e, ao mesmo tempo, criam oportunidades para o crescimento de agentes patogênicos humanos. Normalmente, esses patógenos não têm efeito direto na vida útil do produto, isto é, em sua durabilidade, mas a sua presença torna o produto nocivo à saúde humana de acordo com Moretti (2007).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2022) os microrganismos que devem ser analisados nesse tipo de alimento são a *Salmonella* e *Escherichia coli*. Para se determinar o prazo de validade de um alimento podem ser utilizados testes laboratoriais objetivos (ANVISA, 2018).

Diante do exposto, esta pesquisa propõe analisar a vida de prateleira de saladas minimamente processadas a partir de análises microbiológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a vida de prateleira das saladas minimamente processadas produzidas com três tratamentos diferentes de limpeza e armazenamento.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar as amostras com três tratamentos que se diferenciam na etapa de sanitização e embalagem de armazenamento;
- Realizar as análises microbiológicas de *Salmonella* e *E. coli* em saladas que passaram pelos três tratamentos;
- Realizar a análise microbiológica de Aeróbios Psicotróficos em saladas que passaram pelos três tratamentos diferentes, nos tempos 5, 7 e 12 dias de armazenamento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os alimentos são classificados pelo tipo de processamento usado em sua produção: *in natura*, minimamente processado e processado.

3.1 Minimamente Processados

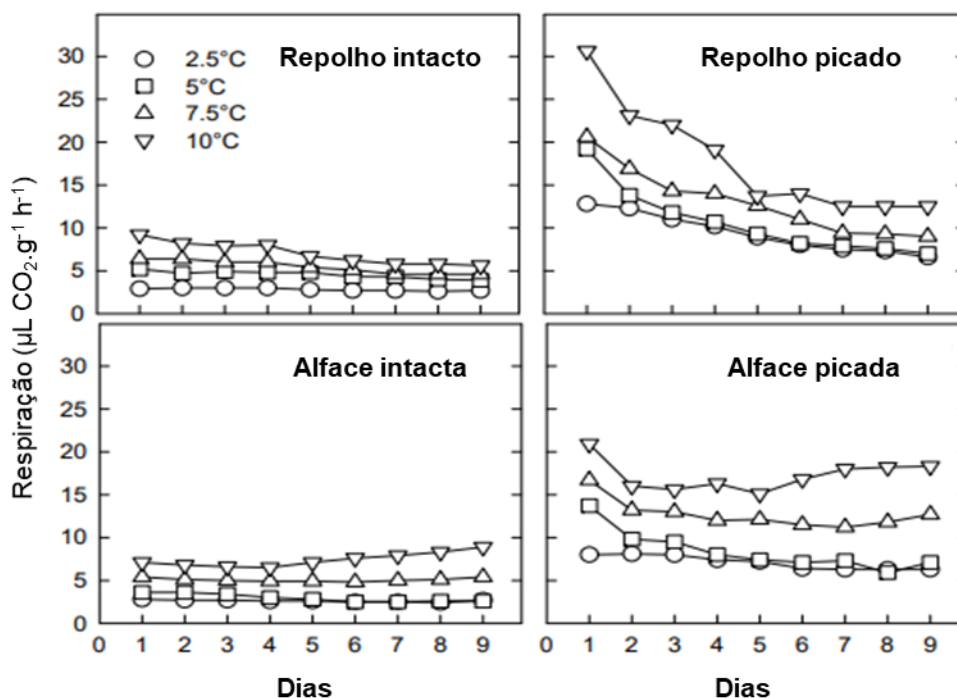
Segundo Alves *et al.* (2010) no Brasil há uma grande variedade e disponibilidade de produtos vegetais, mas nesse segmento há grandes perdas causadas por procedimentos errôneos nas etapas que vão desde a colheita até o armazenamento. Com isso os minimamente processados colaboram por diminuir perdas.

De acordo com Gomes *et al.* (2005) a busca por uma alimentação saudável e a falta de tempo pelo consumidor aumentou o consumo de produtos minimamente processados. As hortaliças minimamente processadas são produtos prontos para o consumo, que seguem as operações de limpeza, lavagem, sanitização, enxágue, descascamento, corte, embalagem e armazenamento.

A diferença entre produtos minimamente processados e produtos inteiros são as alterações fisiológicas causadas pelos cortes e as respostas aos ferimentos. Algumas das alterações que as hortaliças podem sofrer são o amolecimento rápido, deterioração, perda de sabor e cor, aumento de perda de vitamina e enrugamento segundo Damodaran e Parkin (2019).

Cantwell e Suslow (2002) comentam que a taxa de respiração de minimamente processados é mais alta que nos produtos intactos correspondentes, pois indicam um metabolismo mais ativo e geralmente uma taxa mais rápida de deterioração, além disso ocorre o aumento da produção de etileno. Para diminuir o aumento dessa taxa de respiração, é necessário o armazenamento em baixas temperaturas, como pode se ver na Figura 1.

Figura 1 - Taxas de respiração do repolho e alface, intacto ou picado/ralado em 4 diferentes temperaturas.



Fonte: Cantwell e Suslow (2002, p. 17).

Além do processamento mínimo e métodos de conservação como temperatura correta de refrigeração, é necessário utilizar embalagens adequadas e ficar atento para a qualidade da matéria-prima (CENCI, 2011).

São usadas tanto a embalagem com atmosfera modificada ou a embalagem a vácuo para prologar a vida útil de vegetais inteiros ou minimamente processados (ZHANG *et al.*, 2014).

Embalagem a vácuo significa a retirada da maior parte do ar da embalagem. É muito usado em alimentos processados, mas em alimentos *in natura* podem ocorrer alterações subsequentes na composição dos gases em função das atividades metabólicas do produto ou de microrganismos (FELLOWS, 2019). A embalagem a vácuo é comumente usada para prologar a vida útil de frutas e vegetais inteiros. Ela inibe o avanço de reações oxidativas e o crescimento de microrganismos aeróbios que trazem deterioração durante o armazenamento (ROCHA *et al.*, 2003). Mas como desvantagem se tem que a concentração extremamente baixa de oxigênio pode aumentar o crescimento de patógenos anaeróbios (LEE *et al.*, 2011), provocar metabolismo fermentativo e acúmulo de etanol e acetaldeído (DENOYA *et al.*, 2015)

Mini cenouras podem ser embaladas a vácuo parcial de acordo com Fernandes *et al.* (2015). É possível observar, em alguns mercados e feiras, vegetais minimamente processados embalados a vácuo, como abóbora fatiada, mandioca salsa descascada e mandioca descascada e picada.

De acordo com Koblitz (2019) também são usados em vegetais, embalagens com atmosfera controlada que se tem o controle dos gases da atmosfera em que o alimento está durante todo o armazenamento e embalagens com atmosfera modificada, que é criada uma barreira para que não ocorra a difusão dos gases em torno do vegetal. Nessas embalagens o teor de CO₂ é elevado e o de O₂ é diminuído. Essa embalagem pode ser ativa ou passiva. Na passiva a concentração de gases é feita pela própria respiração do vegetal. Já na ativa, é realizada pela injeção de gases dentro da embalagem, na concentração específica para o produto.

Na Instrução Normativa n° 161, de 1° de julho de 2022 que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos, as saladas minimamente processadas contendo repolho, cenoura e alface se enquadra no grupo de alimentos definidos como “hortaliças, raízes, tubérculos, fungos comestíveis e derivados”, na categoria específica de “preparados (inteiros, descascados ou fracionados), sanificados, branqueados, refrigerados ou congelados, que não necessitam de tratamento térmico efetivo, previamente ao consumo” onde são estabelecidas a tolerância máxima permitida para *Escherichia coli*/g e a determinação de ausência de *Salmonella*/25g (BRASIL, 2022).

Moretti (2007) diz que nesses alimentos podem ocorrer a incidência de microrganismos patógenos e/ou deteriorantes de forma a comprometer a saúde dos consumidores ou a qualidade do alimento. Para se evitar essas situações é necessário se atentar na adoção de procedimentos de segurança em todas as etapas da cadeia produtiva.

De acordo com Cenci (2011) os programas de pré-requisitos (PPR) são um conjunto de etapas e procedimentos operacionais formalizados para controlar condições higiênico-sanitária durante toda cadeia produtiva. Dentro do PPR estão as Boas Práticas Agrícolas (BPA), as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO). As BPA são recomendações técnicas para a produção agrícola, no campo até após a colheita, para fornecer alimentos seguros produzidos de forma sustentável. As BPF são conjuntos de normas simples, porém eficazes de manipulação, armazenagem e

transporte de matérias-primas, ingredientes, embalagens, utensílios, equipamentos e produtos acabados, essas normas são ligadas a procedimentos de higiene, devem estar presentes desde o recebimento da matéria-prima até a distribuição dos produtos ao consumidor. E os PPHO criam registros de atividades necessárias no controle de inocuidade do processo, garantem sucesso de padronização de atividades e permitem rastreabilidade. A Figura 2 mostra a atuação dos programas em cada etapa.

Figura 2 - Aplicação dos programas de pré-requisitos nas cadeias industriais de alimentos.



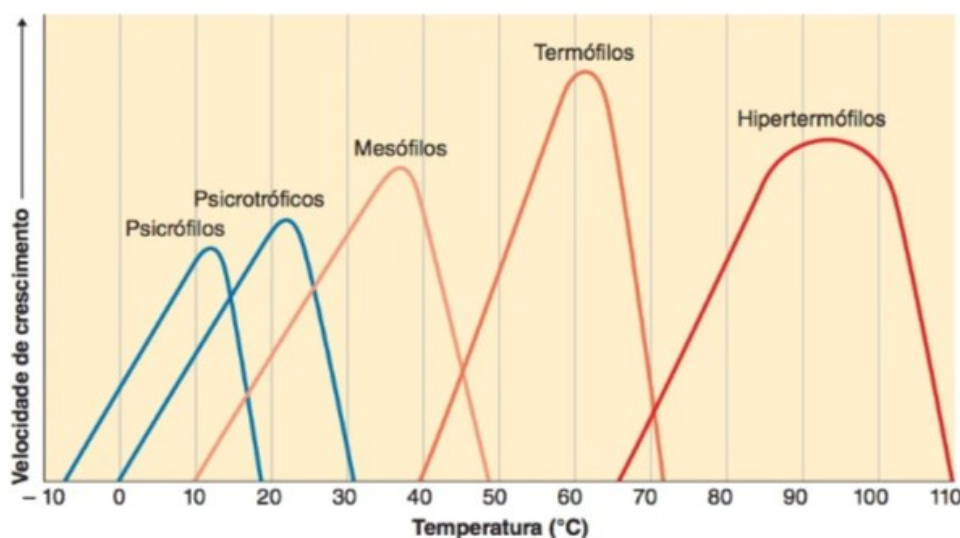
Fonte: Cenci (2011, p. 36).

3.2 Microrganismos de Interesse

Moretti (2007) observa que pela mudança no estilo de vida da sociedade, houve a busca por alimentos mais naturais e ao mesmo tempo, pela praticidade e rapidez, a indústria trouxe dessa forma tecnologias de conservação que aumentaram a quantidade e variedade de produtos para o mercado. Porém é importante se atentar que o alimento *in natura* com as técnicas de processamento brandas e as condições de estocagem, cria um ecossistema onde os microrganismos podem crescer.

Segundo Tortora, Funke e Case (2017) o crescimento bacteriano pode ser influenciado por fatores físicos e químicos. Dentre os físicos se tem: temperatura, pH e pressão osmótica. Os microrganismos são divididos pelas temperaturas em que seu crescimento atinge valores ótimos: psicrófilos (preferem o frio, em torno de -10 a 20°C), já os mesófilos (temperaturas moderadas, por volta de 10 a 50°C) e os termófilos (dão preferência ao calor, temperaturas entre 40 a 70°C). Além disso há a temperatura mínima que a espécie pode crescer, a temperatura ótima de crescimento, onde se desenvolve melhor e a temperatura máxima de crescimento. Na Figura 3 pode-se observar isso:

Figura 3 - Crescimento de diferentes microrganismos em resposta a temperatura.



Fonte: Tortora, Funke e Case (2017, p. 150).

Também há a diferença entre psicrófilos e psicrotróficos. Psicrófilos crescem a 0°C, sua temperatura ótima é aproximadamente 15°C, são microrganismos encontrados nas profundezas do oceano ou em regiões polares. Já os psicrotróficos também podem crescer a 0°C, mas sua temperatura ótima é mais alta, por volta dos 20 a 30°C, esses são encontrados mais facilmente na deterioração de alimentos por se adaptarem bem em temperaturas de refrigeradores (TORTORA, FUNKE e CASE 2017).

3.2.1 *Salmonella*

A salmonela é uma bactéria que pertence à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, não produzem esporos e a maioria é móvel através de flagelos peritríquios. O pH ótimo para multiplicação é em torno de 7,0, sendo que valores inferiores a 4,0 e superiores a 9,0 causam sua destruição, a temperatura ideal para sua multiplicação é de 35 – 37 °C (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Segundo Jay (2005) o habitat primário dessa bactéria é o trato intestinal de animais, desde pássaros e/ou répteis até homens, pode ser excretada pelas fezes e podem se espalhar e contaminar outros ambientes por insetos. Porém de vez em

quando a *Salmonella* pode ser encontrada em outras partes do corpo dos transmissores.

De acordo com Franco e Landgraf (1996), a salmonela é uma bactéria patogênica. As doenças que ela pode causar são a febre tifoide causada por *Salmonella* Typhi, febres entéricas, geradas por *Salmonella* Paratyphi (A, B e C) e enterocolites ou salmoneloses causadas pelas demais salmonelas. Uma das medidas de controle mais conhecidas e eficiente de eliminar a salmonela presente em alimentos é sua destruição pelo calor.

3.2.2 Coliformes (*E. coli*)

Coliformes totais são de um subgrupo da família *Enterobacteriaceae*, podem fermentar a lactose a 35 °C. Já os coliformes termotolerantes são capazes de fermentar a lactose a 44,5 – 45,5 °C, esse subgrupo foi criado para selecionar somente as bactérias do trato gastrointestinal, como a *E. coli*, porém hoje sabe-se que nesse grupo também há bactérias que são de origem não fecal. Pode ser um indicador de contaminação fecal em alimentos “*in natura*” (SILVA, *et al.* 2017). Diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e para os animais (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

3.2.3 Aeróbios Psicrófilos

Segundo Silva *et al.* (2017) esses microrganismos crescem a temperatura de 0 – 7 °C. São um subgrupo dos mesófilos, a refrigeração não impede seu crescimento, porém preferem temperaturas mais altas, acima dos 20°C. É um grupo de várias bactérias, o que as une em um grupo é a afinidade da temperatura. Podem ser cocos, bastonetes, esporogênicos e não esporogênicos, aeróbios e anaeróbios. A sua contagem é utilizada como indicador de populações bacterianas, importante para saber informações sobre a qualidade da produção, processamento, produtos e vida de prateleira.

4 METODOLOGIA

Segundo o Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos da ANVISA (2018) a validade dos alimentos pode ser determinada por três fatores diferentes, sendo eles: questões de saúde, quando o alimento é direcionado a uma necessidade nutricional específica sendo indispensável o controle de quais nutrientes não são estáveis e por quanto tempo estarão nos níveis explícitos no rótulo; o segundo são as razões de segurança, que são definidas pela presença de microrganismos patogênicos e suas toxinas; e o terceiro é a deterioração, representada pelas alterações sensoriais decorrentes de contaminação microbiológica ou por alterações físicas, químicas ou bioquímicas.

Para identificar por quais desses três fatores seria realizada a determinação de validade das saladas minimamente processadas foram utilizadas as árvores de decisão dispostas no guia.

Para identificar qual fator avaliar na determinação do prazo de validade de um alimento, é possível utilizar a árvore de decisões da Figura 4, que demonstra se existem questões de saúde envolvidas na deterioração do alimento.

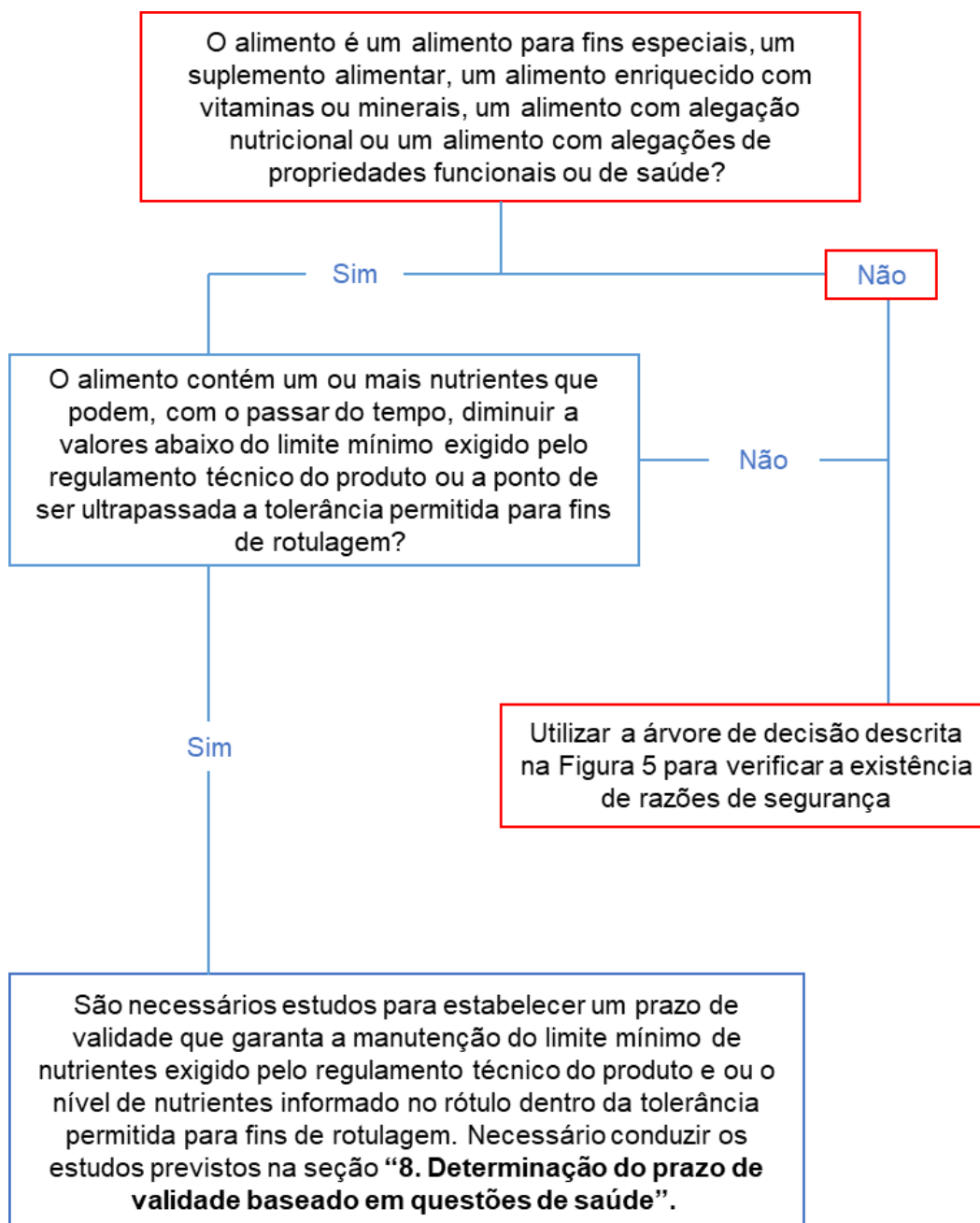
Quando a árvore de decisão exclui a deterioração do alimento por questões de saúde, utiliza-se a árvore de decisões por razões de segurança, conforme Figura 5.

A árvore de decisão excluiu a determinação por questões de saúde para as saladas minimamente processadas e direcionou para a Figura 5, para a verificação da existência de razões de segurança.

Conforme a Figura 5, concluiu-se que a determinação do prazo de validade deveria ser feita pelo critério de deterioração.

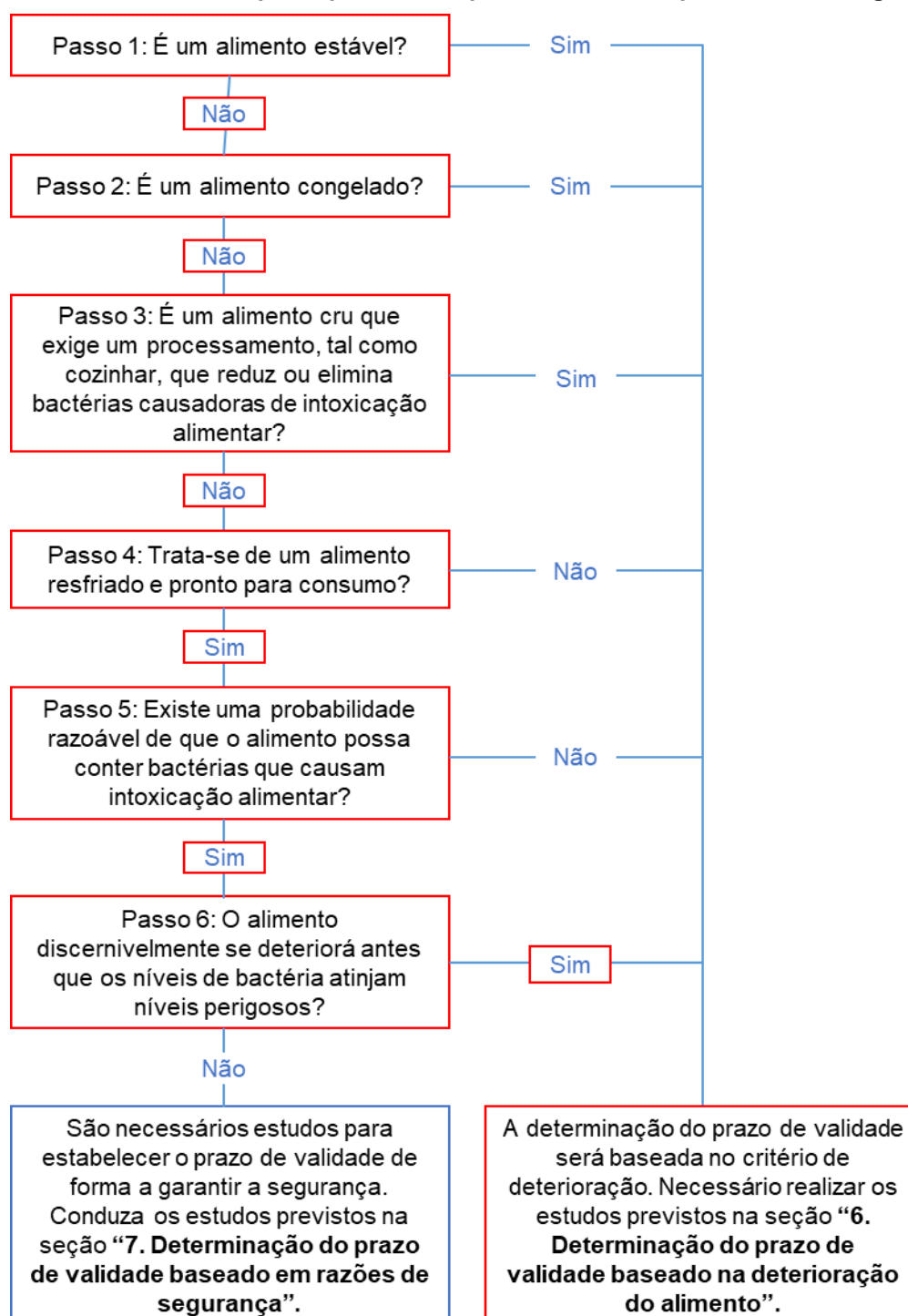
Somente as características sensoriais não determinam se um alimento irá ou não causar uma doença alimentar, pois existem microrganismos deteriorantes que podem estragar o alimento tornando impróprio ao consumo e microrganismos patogênicos que não alteram o alimento, porém podem causar doenças (ARAÚJO, MACHADO e MOLIN, 2016).

Figura 4 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por questões de saúde do consumidor



Fonte: ANVISA (2018, p. 27).

Figura 5 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por razões de segurança



Fonte: ANVISA (2018, p. 28).

4.1 Matéria-prima

As verduras (repolho roxo, cenoura e alface) foram adquiridas no comércio local, com ausência de injúrias físicas. Em seguida, foram transportadas para o laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Campo Mourão e foram acondicionadas dentro da geladeira até o processamento.

4.2 Processamento Mínimo

Antes de começar, todas as superfícies do laboratório foram limpas e, posteriormente, higienizadas com álcool 70 %.

Os utensílios que foram utilizados para o processamento das hortaliças, como facas, tábuas, peneiras, potes e ralador foram deixados de molho em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm por 10 minutos.

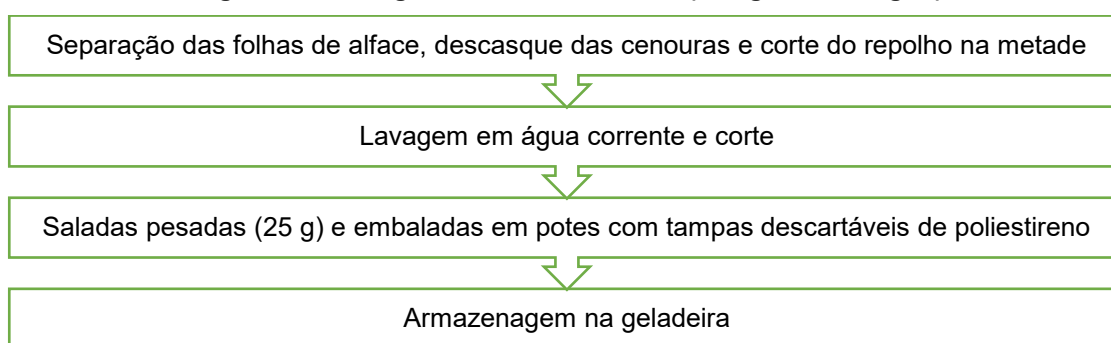
4.3 Tratamentos para Higienização

Para a realização das análises foram feitos 3 tipos de higienização/sanitização:

4.3.1 Tratamento T1: Lavagem com água

As folhas de alface foram despetaladas e junto com o repolho e as cenouras com casca foram lavados em água corrente. O repolho foi cortado ao meio e as cenouras foram descascadas. O repolho foi picado, a alface foi fatiada, as cenouras foram raladas e posteriormente centrifugados em centrífuga manual, para retirada do excesso de água. Por fim, foram embaladas em potes com tampas descartáveis de poliestireno (PS) de 100 mL e guardadas sob refrigeração.

Figura 6 - Fluxograma do tratamento 1 (lavagem com água)



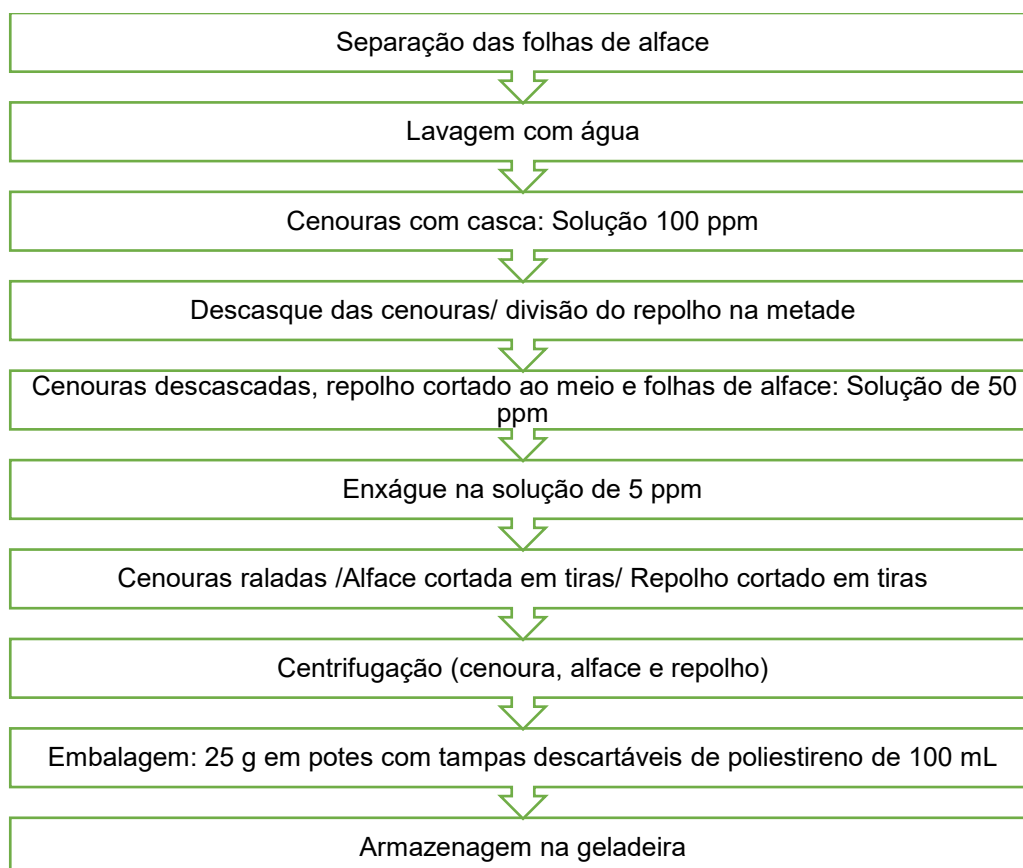
Fonte: Autoria própria (2022).

4.3.2 Tratamento T2: Sanitização com solução de hipoclorito de sódio

As folhas de alface foram despetaladas e junto com o repolho e as cenouras com casca foram lavados com água. Posteriormente, as cenouras com casca foram tratadas com solução sanitizante com concentração de 100 ppm por 10 minutos. O repolho foi cortado ao meio e as cenouras foram descascadas. As metades do repolho, as folhas de alface e as cenouras descascadas foram tratadas com solução

sanitizante 50 ppm por 10 minutos e enxaguados por solução sanitizante 5 ppm por 10 minutos. O repolho foi picado, a alface foi fatiada, as cenouras foram raladas e posteriormente centrifugados em centrífuga manual, para retirada do excesso de água. Por fim, foram embaladas em potes com tampas descartáveis de poliestireno (PS) de 100 mL e guardadas sob refrigeração.

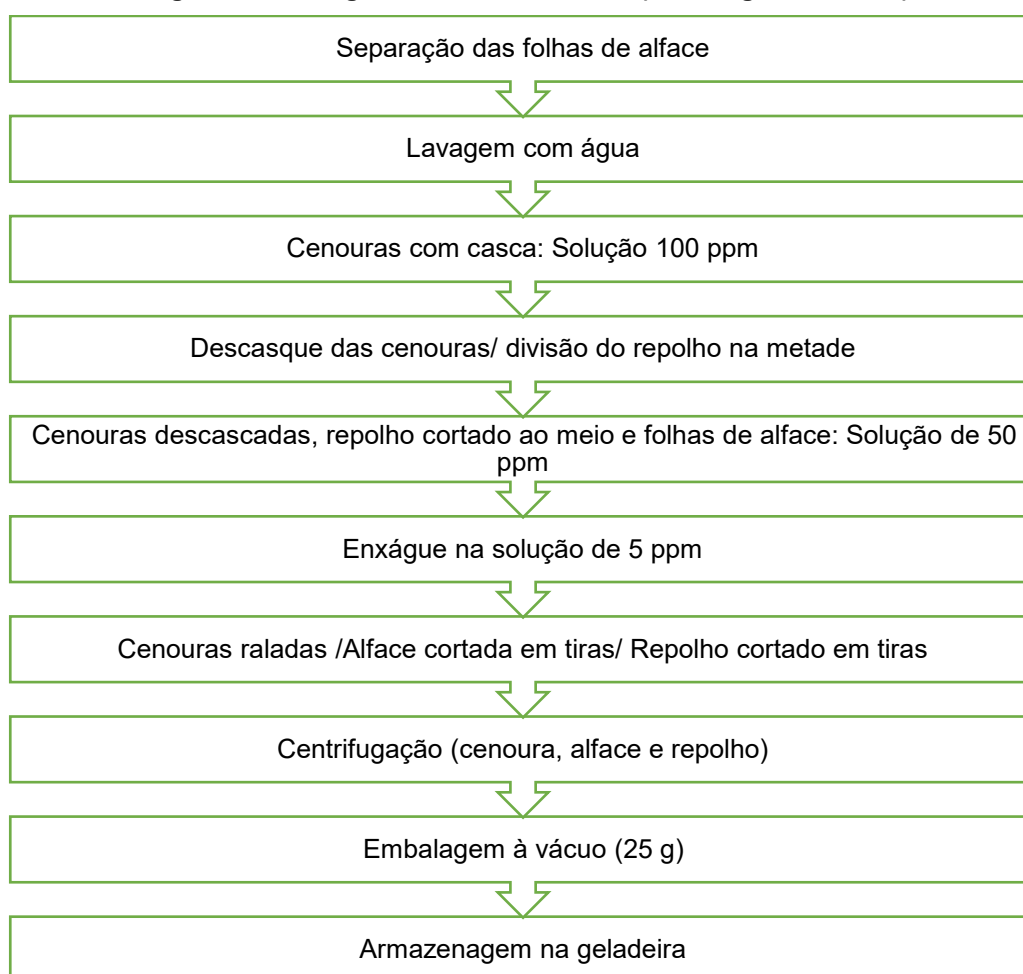
Figura 7 - Fluxograma do tratamento 2 (sanitização com hipoclorito de sódio)



Fonte: Autoria própria (2022).

4.3.3 Tratamento T3: Embalagem a vácuo

As folhas de alface foram despetaladas e junto com o repolho e as cenouras com casca foram lavados com água. Posteriormente, as cenouras com casca foram tratadas com solução sanitizante com concentração de 100 ppm por 10 minutos. O repolho foi cortado ao meio e as cenouras foram descascadas. As metades do repolho, as folhas de alface e a cenouras descascadas foram tratadas com solução sanitizante 50 ppm por 10 minutos e enxaguados por solução sanitizante 5 ppm por 10 minutos. O repolho foi picado, a alface foi fatiada, as cenouras foram raladas e posteriormente centrifugados em centrífuga manual, para retirada do excesso de água. Foram pesadas, embaladas a vácuo e guardadas sob refrigeração.

Figura 8 - Fluxograma do tratamento 3 (embalagem a vácuo)

Fonte: Autoria própria (2022).

4.4 Análises Microbiológicas

As metodologias de análises microbiológicas foram baseadas na Instrução Normativa nº 62/2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003) e no livro Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2017).

4.4.1 Análise de *Escherichia coli*

Um dia após o processamento das saladas iniciou-se a análise de *Escherichia coli*. Adicionou toda a salada do pote (25g) em um saco plástico estéril e adicionou 225mL de água peptonada 0,1%, sendo homogeneizada em stomacher por 60 segundos. Essa foi a diluição 10^{-1} . Foram feitas em triplicatas as análises.

Em tubos contendo 9mL de solução peptonada 0,1%, adicionou-se uma alíquota de 1mL da diluição 10^{-1} em um tubo com 9mL de solução peptonada 0,1%

para a criação de diluição 10^{-2} e a próxima diluição foi da mesma forma, a partir da diluição anterior até a 10^{-3} .

O método utilizado foi o NMP APHA 9:2015 (SILVA *et al.*, 2017), inoculou-se 1mL das diluições homogeneizadas em tubos com 10mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em triplicata, em seguida os tubos foram incubados em estufa a 35 °C por 48 horas. Esse processo foi feito em cada tratamento (T1, T2 e T3). Em todos os tubos foram inseridos tubos de Durham invertidos.

Após as 48 horas analisou se os tubos confirmaram ou não para dar continuidade para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes e em sequência *E.coli*. Os tubos confirmados apresentaram crescimento e produção de gás. Alguns deles confirmaram e foram repicados para tubos contendo Caldo *E. coli* (EC), incubados a 45,5 °C por 24 horas, em banho-maria.

Reincubou-se os tubos com Caldo *E.coli* (EC) por mais 24 horas adicionais para submeter a confirmação dos tubos positivos para a análise de *E. coli*.

4.4.2 Análise de *Salmonella*

Seis dias após o processamento das saladas iniciou-se a análise de *Salmonella*. A metodologia utilizada se encontra na Instrução Normativa nº62/2003 (BRASIL, 2003). Para o preparo das amostras, utilizou-se 225mL de água peptonada 1% e 25g de cada amostra, homogeneizou-se no stomacher por 60 segundos. Logo em seguida deixou 1 hora em temperatura ambiente e depois foram levadas à estufa a 35°C por 16 a 20 horas, essa é a etapa do pré-enriquecimento, para que a solução peptonada favoreça a manutenção do pH, para que as bactérias acompanhantes não acidifiquem o meio prejudicando a recuperação das células da *Salmonella* (BRASIL, 2003).

A segunda etapa é o enriquecimento seletivo, onde se pipetou alíquotas de 0,1 mL da amostras pré-enriquecidas para tubos com 10mL de caldo Rappaport Vassiliadis e foi pipetado 1mL das amostras pré-enriquecidas para tubos com 10mL de caldo selenito cistina, incubou-se os tubos com caldo Rappaport Vassiliadis e caldo selenito cistina em banho-maria com circulação contínua de água a 41°C por 24 horas.

Após 24 horas, com o objetivo de isolar colônias, a partir dos caldos foram repicados em estrias contínuas sobre a superfície das placas de ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) e sobre as placas de xilose lisina

desoxicolato (XLD) e incubadas todas as placas invertidas por 35 °C por 24 horas. Essa análise foi realizada em duplicata.

4.4.3 Análise de bactérias aeróbias psicotróficas

A metodologia usada foi plaqueamento APHA 13.61: 2015 para contagem de bactérias aeróbias psicotróficas em alimentos.

As diluições seguiram o mesmo modelo da análise de *E.coli*. Diluições foram de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e água peptonada 0,1%. De cada tratamento (T1, T2 e T3) foram diluídas as amostras. Para a homogeneização foi utilizado o stomacher no tempo de 60 segundos.

Foi usado o plaqueamento em superfície, que é o recomendado já que as bactérias podem ser afetadas pelo calor no plaqueamento em profundidade (SILVA *et al.* 2017) foram adicionadas 0,1mL das amostras em placas contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) e espalhada pela superfície com o uso da alça de Drigalski. Essa análise foi realizada em triplicata.

Foram incubadas em BOD a 7°C por 10 dias. No décimo dia realizou a contagem total de aeróbios psicotróficos (UFC/g). Essa análise foi realizada com 5 dias de armazenamento, repetida com as saladas armazenadas por 7 e 12 dias para obter informações sobre a vida de prateleira.

4.5 Análises Estatísticas

Os resultados foram expressos como média (\pm desvio padrão). Inicialmente, as variáveis de resposta foram avaliadas em relação à normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Diferenças estatísticas significativas foram avaliadas pela análise de variância ANOVA seguida do teste de Tukey para diferenças mínimas significativas quando $p_{\text{valor}} \leq 0,05$.

5 RESULTADO E DISCUSSÕES

As fotos das amostras das saladas minimamente processadas, seus tratamentos e tipos de embalagem encontram-se na Figura 9 e 10:

Figura 9 – Saladas, suas embalagens e tratamentos diferentes



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 10 – Todas as amostras com os tratamentos T1, T2 e T3 armazenadas na geladeira



Fonte: Autoria própria (2022).

Após a realização das análises microbiológicas, o resultado para *E.coli* apresentou a combinação de tubos positivos 0-0-0 (< 3,0 NMP/g) e ausência em 25g de *Salmonella*, conforme a Tabela 1, resultados esses de acordo com a legislação vigente.

Tabela 1 - Análises de saladas minimamente processadas com diferentes tratamentos

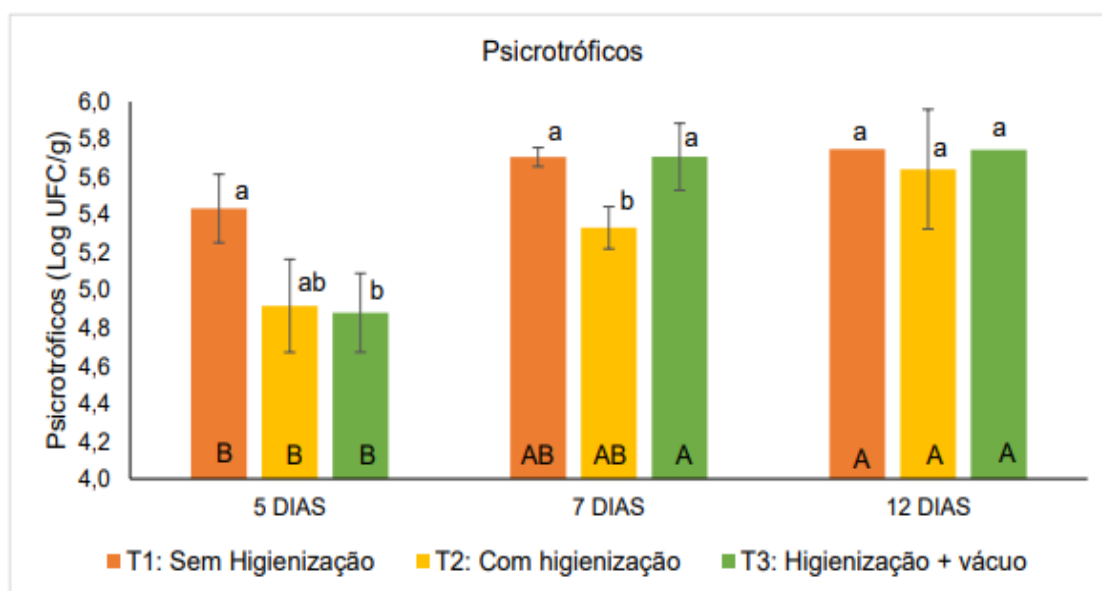
Tratamentos	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>
T1	< 3,0 NMP/g	Ausência em 25g
T2	< 3,0 NMP/g	Ausência em 25g
T3	< 3,0 NMP/g	Ausência em 25g

Legenda: T1 – lavagem somente com água; T2 – lavagem e sanitização; T3 – sanitização e embalagem a vácuo

Fonte: Autoria própria (2022).

Para o resultado de aeróbios psicotróficos, comparou-se os tratamentos T1, T2 e T3 e o tempo de análise dos dias 5, 7 e 12, e pode-se observar no Gráfico 1 as taxas de crescimento bacteriano.

Gráfico 1 – Aeróbios psicotróficos em amostras com os três tratamentos nos tempos 5, 7 e 12 dias



Legenda: letras minúsculas iguais indicam que não há diferença significativa, ao nível de 95% de significância, para o fator tratamento, quando comparados dentro de cada tempo de armazenamento. Letras maiúsculas iguais indicam que não há diferença significativa, ao nível de 95% de significância, para o fator tempo, quando cada tratamento é comparado. Resultados expressos em média ± desvio padrão (indicado pelas barras pretas)

Fonte: Autoria própria (2022).

Quando os tratamentos foram comparados no quinto dia de armazenamento, pode ser observado que as letras minúsculas indicam que o T1 ($5,434 \pm 0,181$ log UFC/g) é diferente do T3 ($4,880 \pm 0,209$ log UFC/g) e igual ao T2 ($4,917 \pm 0,247$ log UFC/g), que também é igual a T3, ou seja, a contaminação de T1 é maior do que a contaminação em T3. Ao sétimo dia de armazenamento, a contagem de psicotróficos para o T1 ($5,706 \pm 0,050$ log UFC/g) e T3 ($5,708 \pm 0,178$ log UFC/g) se igualou, apresentando valores maiores que T2 ($5,332 \pm 0,112$ log UFC/g), sendo o T2 o tratamento diferente. Ao final dos 12 dias, a contaminação por psicotróficos entre os tratamentos T1 ($5,748$ log UFC/g), T2 ($5,642 \pm 0,317$ log UFC/g) e T3 ($5,745$ log UFC/g) se igualou. O tratamento 2 (lavagem seguida de higienização com solução clorada) foi o mais eficiente em manter a menor contaminação microbiana de psicotróficos até 7 dias de armazenamento. Em 12 dias de armazenamento, nenhuma salada apresentava aparência adequada para ser consumida.

Quando avaliamos a influência do tempo de armazenamento em cada tratamento, observando as letras maiúsculas, pode-se constatar que com o passar dos dias de armazenamento houve aumento da contagem dos psicotróficos nos três tratamentos. Os resultados para o T3, saladas embaladas à vácuo, foram os que causaram surpresa, pois em 7 dias já tinha atingido contaminação igual à contaminação que atingiu com 12 dias de armazenamento, comportamento semelhante à salada preparada sem o processo de higienização (T1).

A etapa de higienização com solução clorada foi importante para reduzir a carga microbiana inicial dos vegetais, e pode-se constatar isso observando que o Gráfico 1 apresenta menores contagens de psicotróficos para os vegetais que foram higienizados com cloro. Lima *et al.* (2020) estudaram o efeito de três sanitizantes em alface, hipoclorito de sódio, dicloroisocianurato de sódio e ácido acético e o estudo demonstrou que o hipoclorito de sódio foi o sanitizante que mais diminuiu a contagem dos microrganismos analisados.

O aumento da contagem de psicotróficos na salada T3, do dia 5 para o dia 7 de armazenamento, se igualando à contagem de psicotróficos da salada T1 que não passou por processo de higienização, provavelmente se deu por contaminação na seladora a vácuo, pela perda de vácuo de algumas embalagens observada visualmente durante o armazenamento (não terem sido seladas adequadamente) ou por crescimento de microrganismos anaeróbios, além dos microrganismos aeróbios quantificados como psicotróficos.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se no presente estudo que o tratamento 2 (lavagem, sanitização e embalagem em pote plástico) fez a salada durar mais. Sugere-se para futuras pesquisas, testes com embalagens com atmosfera modificada para comparar a influência desse tipo de embalagem com o uso de embalagens convencionais, como a utilizada nas saladas T1 e T2. São necessários outros estudos com a embalagem a vácuo.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. A. *et al.* Qualidade de produto minimamente processado à base de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Food Science and Technology**. 2010, v. 30, n. 3, pp. 625-634. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/CRTTrh58DmWNRyKtDsFpwNyS/?lang=pt>. Acesso em: 03 mar. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para determinação de prazos de validade de alimentos**. Guia n. 16/2018 – v. 1. p. 1-76. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5056443/Guia+16_2018+prorrogacao+prazo.pdf/13a19f5f-94f8-4430-9548-6d43278ffb62. Acesso em: 29 set. 2022.

ARAÚJO, E. S.; MACHADO, M. V. G.; MOLIN, C. T. **Manual de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos**. Secretaria Municipal da Saúde. São Paulo, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa - IN nº 161, de 1º de julho de 2022** que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2. Acesso em: 06 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001** que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, em Anexo. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001.pdf/view>. Acesso em: 06 nov. 2022.

BRASIL. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. São Paulo, 2003. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>. Acesso em: 06 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília, 2010. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf. Acesso em: 29 set. 2022.

CANTWELL, M.; SUSLOW, T. Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Aspects of Physiology, Preparation and Handling that Affect Quality. **Postharvest Technology Horticultural Products**, 2002. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/313180473_Postharvest_handling_systems_Fresh-cut_fruits_and_vegetables. Acesso em: 06 nov. 2022.

CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem. Rio de Janeiro: **Embrapa Agroindústria de Alimentos**,

2011. *E-book*. Disponível em:

https://www.academia.edu/40876785/Processamento_m%C3%ADnimo_de_frutas_e_hortali%C3%A7as_tecnologia_qualidade_e_sistemas_de_embalagem. Acesso em: 06 nov. 2022.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2019. 9788582715468. *E-book*. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582715468/pageid/0>. Acesso em: 03 mar. 2022.

DENOYA G. I., *et al.* Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. **LWT - Food Science and Technology** 62: 801–806. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.036>. Acesso em 06 nov. 2022.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 4. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2019. *E-book*. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582715260/pageid/0>. Acesso em: 06 nov. 2022.

FERNANDES, C. A. *et al.* **Produção Agroindustrial - Noções de Processos, Tecnologias de Fabricação de Alimentos de Origem Animal e Vegetal e Gestão Industrial**. São Paulo: Érica, 2015. *E-book*. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788536532547/pageid/0>. Acesso em: 04 nov. 2022.

FRANCO, B. D. G. M. LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, SP: Atheneu, 1996.

GOMES, C. A. O. *et al.* Hortaliças minimamente processadas. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005. *E-book*. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11876/2/00076170.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2022

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica dos Alimentos - Teoria e Aplicações Práticas**, 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. Grupo GEN. *E-book*. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788527735261/epubcfi/6/2/%3Bvnd.vst.idref%3Dcover!/4/2/2%4051:1>. Acesso em: 04 nov. 2022.

LEE H. H., *et al.* Microbiological and visual quality of fresh-cut cabbage as affected by packaging treatments. **Food Science and Biotechnology** 20: 229–35. 2011.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-011-0031-8>. Acesso em: 04 nov. 2022.

LIMA L. N. C., *et al.* 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. Disponível em:
<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/10984>. Acesso em: 04 nov. 2022.

MATTIUZ, B. *et al.* Processamento mínimo de uvas de mesa sem semente. **Revista Brasileira de Fruticultura [online]**. 2004, vol.26, n.2, pp.226-229. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452004000200011>. Acesso em: 06 nov. 2022.

MORETTI, C. L. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. 2007. E-book. Disponível em:
[https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/47921/Manual-de-Processamento-Minimo-de-Frutas-e-Hortaliças%20\(1\).pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/47921/Manual-de-Processamento-Minimo-de-Frutas-e-Hortaliças%20(1).pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 29 set. 2022.

PILON, L. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Segurança das Hortaliças Minimamente Processadas**. 2017. Disponível em:
<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/31394451/seguranca-das-hortaliças-minimamente-processadas>. Acesso em: 29 set. 2022.

ROCHA A., *et al.* Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes. **Food Service Technology** 3: 81–88. 2003. Disponível em:
<https://www.ijcmas.com/8-9-2019/Neeraj,%20et%20al.pdf>. Acesso em 03 nov. 2022.

SEBRAE. **Conheça os produtos minimamente processados**. Sebrae respostas. 2014. Disponível em: <https://respostas.sebrae.com.br/conheca-os-produtos-minimamente-processados/#:~:text=Os%20minimamente%20processados%20s%C3%A3o%3A%20produtos%20frescos%20comercializados%20j%C3%A1,e%20armazenamento%2C%20principalmente%20quanto%20ao%20controle%20da%20temperatura>. Acesso em 29 set. 2022.

SILVA N., *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Editora Blucher, 2017. *E-book*. ISBN 9788521212263. Disponível em:
<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788521212263/pageid/0>. Acesso: 03 out. 2022.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Grupo A, 2017. *E-book*. Disponível em:
<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582713549/pageid/0>. Acesso em: 04 out. 2022.

ZHANG M., *et al.* Recent application of modified atmosphere packaging (MAP) in fresh and fresh-cut foods. **Food Reviews International** 31: 172–193. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.981826>. Acesso em 07 nov. 2022.