



Thaís Diniz Mendes

**COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA MICROBIOLÓGICA DO
HIPOCLORITO DE SÓDIO E ÁCIDO ACÉTICO EM
HORTALIÇAS**

Pindamonhangaba – SP

2016



Thaís Diniz Mendes

**COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA MICROBIOLÓGICA DO
HIPOCLORITO DE SÓDIO E ÁCIDO ACÉTICO EM
HORTALIÇAS**

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de Bacharel pelo Curso de Farmácia da Fundação Universitária Vida Cristã.

Orientadora: Prof. Dra. Luciane Vieira Garcia

Co-orientadora: Prof. Dra. Graziella Nuremberg Back Brito

Pindamonhangaba – SP

2016

Mendes, Thaís Diniz

Comparação da eficácia microbiológica do hipoclorito de sódio e ácido acético em hortaliças / Mendes, Thaís Diniz / Pindamonhangaba-SP : FUNVIC Faculdade de Pindamonhangaba, 2016.

20f.

Monografia (Graduação em Farmácia) FUNVIC-SP.

Orientador: Prof. Dra. Luciane Vieira Garcia.

1 Sanitização de alimentos. 2 Microbiologia de alimentos. 3 Coliformes totais e fecais.

I Comparação da eficácia microbiológica do hipoclorito de sódio e ácido acético em hortaliças II Thaís Diniz Mendes.



THAÍS DINIZ MENDES

**COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA MICROBIOLÓGICA DO HIPOCLORITO DE
SÓDIO E ÁCIDO ACÉTICO EM HORTALIÇAS.**

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de Bacharel pelo Curso de Farmácia da Fundação Universitária Vida Cristã.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura: _____

Prof. _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura: _____

Prof. _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais (Dirceu e Marta) que se esforçaram todos os dias para pagar minha faculdade, me incentivaram e me deram apoio em todos os momentos que precisei.

A Deus que sempre esteve à frente clareando meus caminhos e me abençoando em minhas decisões.

Ao meu namorado Ewerton que dedicou seu tempo a me ajudar, me levando aos estágios e à faculdade para resolver qualquer emergência.

A todos os professores que me deram a base do conhecimento em farmácia e me ajudaram na construção profissional e até mesmo pessoal. Em especial, às Profa. Luciane e Profa. Graziella que estiveram presentes na construção deste trabalho, sempre prontas para ajudar e orientar com muita paciência.

A Faculdade de Pindamonhangaba que me concedeu os recursos básicos para conclusão da graduação em Farmácia.

E aos meus amigos pessoais e colegas de classe que sempre me ajudaram, mesmo que inconscientemente, em minha formação.

Este trabalho foi escrito na forma de artigo científico segundo as normas da Revista Ciência e Saúde online, cujas normas encontram-se em anexo.

COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA MICROBIOLÓGICA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO E ÁCIDO ACÉTICO EM HORTALIÇAS

COMPARISON OF THE MICROBIOLOGICAL EFFICACY OF SODIUM HYPOCHLORITE AND ACETIC ACID IN VEGETABLES

Thaís Diniz Mendes¹, Graziella Nuernberg Back Brito², Luciane Vieira Garcia²,
Fernanda Bueno Sant'anna Pereira¹

¹ Discente do Curso de Farmácia – Fundação Universitária Vida Cristã – FUNVIC

² Docente do Curso de Farmácia – Fundação Universitária Vida Cristã - FUNVIC

RESUMO

A busca por alimentos de qualidade e que sejam seguros à saúde da população vem se tornando maior. Dessa forma, faz-se necessário o controle microbiológico, desde o plantio até o momento de sua ingestão, evitando possíveis contaminações que levem a internações dos indivíduos e gastos com a saúde, que poderiam ter sido evitados através de medidas de controle simples, como a sanitização desses alimentos antes do consumo. O presente trabalho visou avaliar a eficácia de diferentes métodos de sanitização (hipoclorito de sódio 10%, ácido acético 6% e água corrente) em 3 hortaliças (Alface, Repolho e Couve flor) através da contagem de coliformes totais e fecais (*Eschechiria coli*) através do kit Colipaper®. A alface foi a hortaliça que apresentou maior contagem de coliformes fecais, acima do permitido por legislação. O repolho foi a hortaliça que apresentou maior contagem de coliformes totais. Os testes realizados se mostraram presuntivos para os microrganismos avaliados, sendo necessárias novas avaliações para comparação com outros métodos de análise quantitativo.

Palavras-chave: Sanitização de alimentos. Microbiologia de alimentos. Coliformes totais e fecais.

ABSTRACT

The search for quality food and which are secured to the health of the population is becoming more. So, it is necessary the microbiological control, from planting until the moment of its intake, avoiding possible contamination that lead to hospitalization of individuals and health spending, which could have been avoided by means of control measures as simple as sanitizing these foods before consumption. The present study aimed to evaluate the efficacy of different methods of sanitizing (Sodium Hypochlorite 10% acetic acid 6% and flowing water) in 3 vegetables (lettuce, cabbage and kale flower) through the count of total and fecal coliforms (*Eschechiria coli*) through the Colipaper® kit. Lettuce was the herbs that presented the highest count of fecal coliforms, above the permitted by legislation. The cabbage was the herbs that presented the highest count of fecal coliforms. The tests performed proved to be presumptive for the evaluated microorganisms, and new assessments are required for comparison with other methods of quantitative analysis.

Keyword: Sanitization of food. Food Microbiology. Total and fecal coliforms.

INTRODUÇÃO

Atualmente, segundo dados epidemiológicos do Ministério da Saúde¹ cerca de 45% das contaminações por doenças transmitidas por alimentos (DTAs) ocorrem dentro das casas dos brasileiros, estando associadas principalmente ao manuseio incorreto e a conservação inadequada de alimentos, sendo responsável por cerca de 670 surtos com 13 mil doentes todo ano. Em 2014, foram relatados 886 casos de surtos por DTAs², mostrando a importância do cuidado para com os alimentos, desde o plantio até o consumo, para que o mesmo não se torne um veículo para microrganismos patogênicos como *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Listeria* sp., *Escherichia coli*, coliformes totais e fecais, além de protozoários e helmintos, assim é necessário uma boa conduta de higienização dos alimentos para evitar toxinfecções alimentares (TIAs).

A relação entre microrganismos e a disponibilidade, abundância e qualidade do alimento está intimamente ligado, sendo que, uma vez contaminado, o mesmo serve como um meio de crescimento favorável, podendo alterar características físico-químicas e organolépticas levando a sua deterioração. É de grande relevância considerar submeter esses alimentos a provas que validem sua inocuidade e qualidade antes de sua comercialização, garantindo essas competências até o consumo e manipulação residencial.

Os tratamentos para eliminação total ou parcial de microrganismo em verduras, legumes e frutas têm se mostrado eficaz, porém a eficiência do método depende de fatores como tipo de tratamento, morfologia e fisiologia do microrganismo, características da superfície dos alimentos como rachaduras, fendas e textura, tempo de exposição e concentração do sanitizante, assim como pH e temperatura³. Além da lavagem em água corrente deve-se utilizar métodos de sanitização seguros do ponto de vista toxicológico e microbiológico, a fim de eliminar em níveis consideráveis a carga microbiana presente no alimento. A presença de determinados microrganismos no alimento não indica, necessariamente, um risco potencial ao consumidor ou sua falta de qualidade, sendo assim, quando identificado presença de coliformes totais este não caracteriza que o alimento está impróprio para o consumo. Já quando há comprometimento de métodos de higiene e sanitização esses alimentos podem oferecer riscos sérios à saúde, com a presença de coliformes fecais, que indica contaminação de origem fecal. Um exemplo de microrganismo de origem entérica é *Escherichia coli*,

uma bactéria gram-negativa anaeróbia facultativa, que está presente na microbiota intestinal.

Segundo a RDC 14, de 28 de fevereiro de 2007⁴, é definido como sanitizante “um agente e/ou produto que reduz o número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde”, ou seja, substâncias capazes de diminuir a carga microbiana a níveis inócuos à saúde. Existem vários tipos de sanitizantes para higienização de alimentos, como o hipoclorito de sódio, que é amplamente utilizado para este fim, porém há dúvidas sobre o seu potencial tóxico nos alimentos. Há também outros tipos de substâncias que reduzem a carga microbiana e que são utilizadas a nível doméstico, como a utilização de ácido acético (vinagre comercial), que possuem ação antimicrobiana nos alimentos e auxilia em sua conservação.⁵ A água também é um fator potencial para ocorrência de doenças de veiculação hídrica causadas por microrganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, ou seja, a contaminação de água e alimentos se deve, na grande maioria, à presença de excretados de fezes de indivíduos infectados no solo e água, conseqüentemente, atingindo o consumidor e o expondo a doenças.⁶

São muitas as formas de controle e prevenção da contaminação de alimentos, sendo necessária, em primeira instância, a conscientização da população para os riscos à saúde após ingestão de alimentos com carga microbiana acima do permitido e a educação sanitária para higienização pessoal antes do manuseio do alimento, como lavar as mãos com água e sabão, ou, quando em ambientes públicos onde não há essa possibilidade, fazer uso de álcool gel. Deve-se evitar o consumo de alimentos onde não se sabe a procedência e não há confiabilidade na segurança, fazendo uso de sanitizantes no caso de alimentos que possibilitem a higienização⁷. Deve-se exigir das autoridades públicas a maior fiscalização do comércio de alimentos, para eliminar possíveis riscos à saúde apresentados por estabelecimentos que não cumprem as normas de segurança alimentar⁸. Todas as medidas tomadas para controle e prevenção da saúde relacionada a alimentos devem ser respeitadas a fim de diminuir o número de casos de DTAs e as possíveis complicações que podem comprometer a saúde física, mental e socioeconômica do consumidor⁹.

O presente estudo visou avaliar a eficácia de dois métodos de sanitização descritos na literatura, o hipoclorito de sódio e ácido acético, como agentes para redução ou esterilização das hortaliças analisadas (alface, repolho e couve flor).

MÉTODO

As amostras de hortaliças foram obtidas do estabelecimento comercial na cidade de Taubaté-SP, no período de outubro de 2016. As análises microbiológicas foram feitas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Pindamonhangaba FUNVIC, no mesmo período da compra dos vegetais.

AMOSTRAS DOS ALIMENTOS

Foram adquiridas hortaliças, como alface, repolho e couve flor e acondicionados em sacos plásticos, separadamente, encontrados no próprio estabelecimento. Cada amostra tinha em média 400g.

SANITIZAÇÃO E ANÁLISE DOS ALIMENTOS

SANITIZAÇÃO INICIAL

Cada alimento foi separado em: grupo A (higienizado com água corrente) e B (sem higienização com água corrente) com pesos iguais (± 200 g cada amostra).

As amostras do grupo A foram higienizados com água corrente a temperatura ambiente e acondicionados em sacos plásticos limpos identificados como “A”. As amostras do grupo B foram acondicionadas em sacos plásticos limpos identificados como “B”, sem passar por qualquer processo de higienização prévia do alimento.

Ambas as amostras de cada alimento foram mantidas em refrigeração até o momento da análise para evitar deterioração do material.

ANÁLISE INICIAL

A análise dos alimentos foi feita pelo kit Colipaper® (modelo: cód 65) da Alfakit para determinação simultânea de *Escherichia coli* (EC) e coliformes totais no meio de cultura DIPSLIDE em papel. Todas as análises foram feitas em triplicata.

O grupo A foi separado em 2 amostras, por alimento, com ± 100 g cada e acondicionados em sacos plásticos limpos com adição de 500 mL de água deionizada, agitado para contato completo da água com o alimento, deixando descansar por 5 minutos.

Posteriormente retirou-se a água do saco plástico e foi colocado em um recipiente higienizado com água e sabão e posteriormente com álcool 70%, onde foi imersa a cartela microbiológica até que estivesse completamente umedecida.

Após completa umidificação a cartela foi colocada de volta à embalagem original identificada com Grupo A – alface, Grupo A- repolho, Grupo A- couve flor e levado a estufa por 15 horas, à temperatura de 36-37° C. Passada as 15 horas foi feita a leitura do material, considerando os dois lados da cartela para a contagem das colônias, conforme instruções do fabricante. O mesmo procedimento foi feito com o grupo B.

SANITIZAÇÃO FINAL

Os alimentos do grupo A e B foram submetidos à sanitização por dois tipos de sanitizantes: hipoclorito de sódio 10%, identificado por subgrupo C e Ácido acético 6%, identificado pelo subgrupo D, ambos durante 15 minutos.

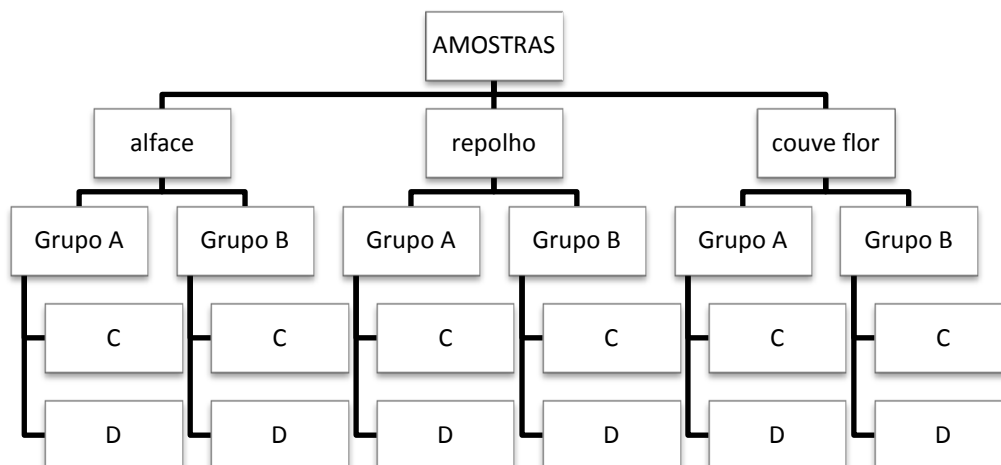
Após a sanitização os alimentos foram lavados com água corrente até a remoção dos produtos e levados para a análise.

ANÁLISE FINAL

A análise final seguiu o mesmo método utilizado na análise inicial para cada grupo (A e B) em cada um dos subgrupos (C e D).

Os ensaios metodológicos realizados encontram-se sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Plano de Análise. Grupo A- higienizado com água corrente; Grupo B- sem higienização com água corrente; C- solução de Hipoclorito de Sódio a 10%; D- solução de Ácido acético a 6%.



RESULTADO

Os resultados obtidos através da análise feita em hortaliças através do método Colipaper®, em triplicata, estão apresentados pela Tabela 2 a 7.

Tabela 2: Resultado das amostras de alface para de coliformes fecais (EC) encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Alface- A	19200	19200	10000	16133,3
Alface -B	22800	26400	38000	29066,7
Alface-AC	0	0	0	0
Alface- BC	0	0	0	0
Alface- AD	0	400	0	133,3
Alface- BD	0	0	400	133,3

Tabela 3: Resultado das amostras de repolho para coliformes fecais (EC) encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Repolho- A	7600	3600	6000	5733,3
Repolho- B	0	1600	1200	933,3
Repolha- AC	0	0	0	0
Repolho- BC	0	0	0	0
Repolho- AD	0	0	0	0
Repolho- BD	0	0	0	0

Tabela 4: Resultado das amostras de couve flor para coliformes fecais (EC) encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Couve flor- A	0	0	800	266,7
Couve flor- B	2800	3200	3600	3200
Couve flor- AC	0	0	0	0
Couve flor- BC	0	0	0	0
Couve flor- AD	400	0	400	266,7
Couve flor- BD	0	400	0	133,3

A determinação da presença de coliformes fecais na amostra de Alface mostrou alto nível de unidades formadoras de colônia (UFC) quando analisadas na etapa A e B de acordo com o preconizado por legislação, a qual estabelece limite de 10^2 UFC/mL¹⁰. As demais amostras analisadas na etapa A e B estão dentro do limite.

As amostras submetidas ao ácido acético 6%, representado pelo subgrupo D, encontram-se dentro dos padrões estabelecidos por legislação. Na etapa em que as mesmas foram submetidas à sanitização em solução de hipoclorito de sódio a 10%, encontraram-se ausentes de coliformes fecais através da metodologia utilizada.

Tabela 5: Resultado das amostras de alface para coliformes totais encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Alface- A	12800	10400	17066	13422
Alface –B	16400	17200	17200	16933,3
Alface- AC	0	0	0	0
Alface- BC	0	0	0	0
Alface- AD	11600	14000	9200	11600
Alface- BD	5200	13200	2800	5500

Tabela 6: Resultado das amostras de repolho para coliformes totais encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Repolho- A	43200	16000	40000	33066,7
Repolho- B	4360	34133	37200	23923
Repolho- AC	0	0	0	0
Repolho- BC	0	0	0	0
Repolho- AD	5200	80000	11600	8266,7
Repolho- BD	5200	3200	4800	4400

Tabela 7: Resultado das amostras de couve flor para coliformes totais encontrados em UFC/100mL.

Amostra	Análise 1	Análise 2	Análise 3	Média
Couve flor- A	13600	9200	10000	10933,3
Couve flor- B	14800	12000	14800	13866,7
Couve flor- AC	0	0	0	0

Couve flor- BC	0	0	0	0
Couve flor- AD	3600	1600	1600	2266,7
Couve flor- BD	1600	2400	2400	2133,3

Observa-se que a média de coliformes totais nos grupos A, B, AD e BD se mostraram maiores em relação ao número de coliformes fecais encontrados nas mesmas etapas.

A atual legislação brasileira não estabelece limite para coliformes totais presentes em alimentos. Baseando-se no que é preconizado como limite para coliformes fecais observa-se um número alto de coliformes totais na etapa de alface (A, B e AD), repolho (A e B) e Couve flor (A e B).

DISCUSSÃO

O principal veículo de contaminação de alimentos in natura é a água de irrigação, que quando não obtido de fontes seguras e sem os cuidados necessários levam o alimento a níveis elevados de microrganismos que inviabilizam o consumo dos mesmos, podendo levar o comprometimento da saúde do consumidor.¹¹ A legislação brasileira preconiza um limite de coliformes fecais de 10^2 UFC/g ou ml como padrão microbiológico em legumes, hortaliças, similares frescos e in natura, para consumo direto. Não há um padrão estabelecido para coliformes totais, no entanto, contagens muito altas de coliformes totais presume-se que o alimento está impróprio para o consumo humano, levando em consideração a perda do valor nutricional, de características organolépticas e risco de contaminação por microbiota patogênica.¹²

Em relação aos valores encontrados nas amostras de alface, o mesmo foi observado por Nascimento et al.¹³, quando avaliou a eficiência antimicrobiana de desinfetantes em hortaliças na cidade de Natal-RN, onde houve as maiores médias de contaminação de coliformes totais e fecais atingindo valores acima de 2400 NMP/100ml e 1356 NMP/100ml, respectivamente. O mesmo estudo demonstrou que o repolho foi a hortaliça com menor valor de contaminação, em média 1613 NMP/100ml e 13 NMP/100ml para coliformes totais e coliformes fecais, respectivamente, o que diverge dos resultados encontrados neste estudo, em que o repolho (A e B) foi a hortaliça com maior índice de contaminação de coliformes totais e a segunda em relação a quantidade de coliformes fecais.

Em pesquisa feita por Pereira et al.¹⁴, sobre a qualidade a nível microbiológico da alface tipo crespa verificou-se que 85% das amostras analisadas estavam contaminadas. Moreira et al.¹⁵, mostrou em estudo sobre a eficiência de soluções antimicrobianas na sanitização de alfaces tipo crespa, alta contagem de coliformes fecais quando higienizado somente com água, nas amostras higienizadas com vinagre 10% e com hipoclorito de sódio 10% obtiveram valores dentro do limite permitido para hortaliças in natura.

No presente estudo verificou-se que na presença de hipoclorito de sódio 10% durante 15 minutos não foi observado desenvolvimento de microrganismos nos três alimentos analisados, tanto para coliformes totais como para coliformes fecais (*E.coli*). Já com a utilização de ácido acético 6% por 15 minutos, foi observado contagem de coliformes fecais (*E. coli*), nas amostras de alface (AD e BD) e nas amostras de couve flor (AD e BD). Já nas amostras de repolho (AD e BD) não houve crescimento microbiano. Na contagem de coliformes totais foi observado, nas amostras de alface AD= 11600 UFC/100mL e BD= 5500 UFC/100mL, nas amostras de repolho AD= 8266,7

UFC/100mL e BD= 4400 UFC/100mL e nas amostras de couve flor AD= 2266,7 UFC/100mL e BD= 2133,3 UFC/100mL.

Em relação a ação do hipoclorito de sódio o contrário foi observado por Vanetti et al.¹⁶ e Srebernich et al.¹⁷ em que não foi observado ausência total de microrganismos, mostrando que o hipoclorito de sódio não é eficaz na sanitização dos vegetais analisados, neste estudo.

Os resultados encontrados nas amostras submetidas à solução de hipoclorito de sódio 10% foram semelhantes aos resultados encontrados por Silva et al.¹⁸, em pesquisa sobre a eficiência do cloro em hortaliças, onde utilizou solução de cloro a 0,2% por 15 minutos, tendo redução de carga microbiana maior que 35%.

Não é mencionado em legislação o período necessário para desinfecção de alimentos, mas é padronizado, para superfícies inanimadas e ambientes, tempo de desinfecção de, no mínimo, 10 minutos¹⁹. Em trabalho realizado por Santos et al.²⁰ em que foi avaliado a eficácia da água sanitária em diferentes tempos de imersão para sanitização de alfaces, foi observado que 15 minutos de imersão em água sanitária a 200 ppm reduziu a carga microbiana heterotrófica, de coliformes tolerantes e de *Escherichia coli*, porém para redução da população inicial de coliformes totais, fungos filamentosos e leveduras não foram eficazes. Também foi constatado que o tempo (15, 30 e 45 minutos) não obteve diferença significativa, sendo assim, aumentar o tempo de imersão do alimento em hipoclorito de sódio não aumenta a porcentagem de redução de carga microbiana.

O teste Colipaper® utilizado resultou em um teste presuntivo para coliformes totais e fecais, não sendo possível quantificar com precisão as amostras analisadas em relação a outros métodos tradicionais, como de tubos múltiplos. Sendo assim, para validar os resultados obtidos neste estudo é necessária a comparação do método utilizado com outros métodos quantitativos para a contagem de coliformes totais e fecais.

CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento pode-se concluir que, as amostras submetidas às etapas A e B demonstraram altos níveis de contaminação, tanto para coliformes fecais (*Escherichia coli*) como para coliformes totais. A alface, foi a hortaliça que apresentou níveis de contaminação de origem fecal acima do preconizado por lei, seguido por repolho e couve flor, sendo os dois últimos dentro do padrão permitido. Em relação a contagem de coliformes totais o repolho foi a hortaliça com a contagem mais elevada, seguido por alface e couve flor.

Nas etapas de sanitização o hipoclorito de sódio 10% apresentou ausência de coliformes totais e fecais. Já a utilização de ácido acético 6% como sanitizante, mesmo baixo, ainda apresentou contagem de coliformes fecais e totais, concluindo que, em comparação de métodos sanitizantes, o hipoclorito de sódio foi o que apresentou melhor desempenho.

Sugere-se que os testes sejam realizados novamente com outras metodologias de identificação e quantificação de coliformes totais e fecais (EC), visto que a metodologia utilizada se mostrou apenas presuntiva para tais microrganismos.

REFERENCIA

- 1 ANVISA [Internet]. Brasília: Contaminação de alimentos: o perigo mora em casa. [citado 20 de nov 2016] Disponível em: <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/dpI>.
- 2 Portalsaude.saude.gov.br [internet]. Brasil: Doenças transmitidas por alimentos, Inc.; c11220 [citado 27 de março de 2014]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/653-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/11220-situacao-epidemiologica-dados>.
- 3 Fontana N. Atividade antimicrobiana de desinfetantes utilizados na sanitização de alface [monografia]. Santa Maria: Centro Universitário Franciscano; 2006.
- 4 Diário oficial da união. Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 21/09/2006. Resolução nº. 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana.
- 5 Nascimento MS, Silva N, Catanozi MPLM, Silva KC. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. Brazilian Journal of Food Technology.2002;11:63-8.
- 6 Amaral LA, Filho NA, Junior ODR, Ferreira LA, Barros LSS. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. Rev. Saúde Pública.2003;37(4):510-4.
- 7 Jaime PC, Monteiro CA. Fruit and vegetable intake by Brazilian adults, Rio de Janeiro. Cad. Saúde. 2005;21(sulp.1):19-24.
- 8 Ministério da Saúde. Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos. Brasília: Editora MS;2010. 160 p.
- 9 Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. 1 Ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2008.
- 10 Diário oficial da união. Ministério da Saúde. Publicação da RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimento.
- 11 Rodrigues KL, Gomes JP, Conceição RCS. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas-RS. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2003;23(3):447-52.

- 12 Vitti MCD, Kluge RA, Gallo C, Moretti CL, Jacomino AP. Efeito do momento de sanitização sobre atributos físico-químicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. *Horticultura Brasileira*. 2004;22(4):718-21.
- 13 Nascimento ER, Alencar FLS. Eficiência antimicrobiana e antiparasitária de desinfetantes na higienização de hortaliças na cidade de Natal – RN. *Ciência e Natura*. 2014; 36(2): 92–106.
- 14 Pereira JÁ, Freitas FIS, Maciel JF. Qualidade microbiológica da alface (*Lactuca sativa*). *Revista Verde*. 2013;8(2):171-77.
- 15 Moreira IS, Souza FC, Santos FM, Feitosa MKSB, Marques LF. Eficiência de soluções antimicrobiana na desinfecção de alface tipo crespa comercializada em feira livre. *Revista Verde*. 2013;8(2):171-77.
- 16 Vanetti MCD. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo [Anal] Encontro Nacional sobre Processamento mínimo de frutas e hortaliças. 12 de março de 2000; Viçosa: UFV; 2000. p. 44-51.
- 17 Srebernich SM. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(4):744-50
- 18 Silva WL, Medeiros RAB, Pires EF. Eficiência do cloro para sanitização de hortaliças [resumo]. 5º Simpósio de segurança alimentar, alimentação e saúde. 26 à 29 de maio de 2015; Bento Gonçalves – RS; 2015. p.1-4.
- 19 Diário oficial da república federativa do brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 55, de 10 de novembro de 2009. Aprova Regulamento Técnico que estabelece os requisitos mínimos para o registro de produtos saneantes categorizados como água sanitária e alvejantes à base de hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio.
- 20 Santos HS, Muratori MCS, Marques ALA, Alves VC, Cardoso-Filho FC, Costa APR, et al. Avaliação da eficácia da água sanitária na sanitização de alfaces (*Lactuca sativa*). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2012;71(1):56-60

ANEXO

Diretrizes para Autores

Os trabalhos devem ser redigidos em português, o uso da forma culta correta é de responsabilidade dos autores. Os nomes dos autores, bem como a filiação institucional de cada um, devem ser inseridos nos campos adequados a serem preenchidos durante a submissão e não devem aparecer no arquivo. A Revista Ciência e Saúde on-line sugere que o número máximo de autores por artigo seja 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial que poderá solicitar a adequação. Pesquisas feitas com seres humanos e animais devem, obrigatoriamente, citar a aprovação da pesquisa pelo respectivo Comitê de Ética. O não atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação. Da mesma forma, o plágio implicará na recusa do trabalho.

Os autores dos artigos aceitos poderão solicitar a tradução do artigo para língua inglesa nos tradutores indicados pela revista e reenviar. Os custos com a tradução serão de responsabilidade dos autores.

O periódico disponibilizará aos leitores o conteúdo digital em ambos os idiomas, português e inglês.

APRESENTAÇÃO DO MATERIAL

Sugere-se um número máximo de 20 páginas, incluindo referências, figuras, tabelas e quadros. Os textos devem ser digitados em **Fonte Times New Roman, tamanho 12, espaçamento 1,5, justificado, exceto Resumo e Abstract**. Devem ser colocadas margens de 2 cm em cada lado.

As Figuras: gráficos, imagens, desenhos e esquemas deverão estar inseridas no texto, apresentar boa qualidade, estar em formato JPEG, com resolução de 300dpi com 15cm x 10cm. O número de figuras deve ser apenas o necessário à compreensão do trabalho. Não serão aceitas imagens digitais artificialmente 'aumentadas' em programas computacionais de edição de imagens. As figuras devem ser numeradas em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem e suas legendas devem estar logo abaixo.

Tabelas e Quadros: deverão ser numerados consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçados pelo título. As tabelas e os quadros devem estar inseridos no texto. Não serão admitidas as tabelas e quadros inseridos como Figuras.

Títulos de tabelas e quadro e legendas de figuras deverão ser escritos em tamanho 11 e com espaço simples entre linhas.

Citação no texto: deve-se seguir o sistema numérico de citações, em que as referências são numeradas na ordem em que aparecem no texto e citadas através dos seus números sobrescritos (depois de ponto e de vírgula; antes de ponto e vírgula e dois pontos). Citações de mais de uma referência devem obedecer ordem numérica crescente. Quando no final da frase, os números das referências devem aparecer depois da pontuação. Citações com numerações consecutivas devem ser separadas por hífen (Ex: ³⁻⁶); em caso contrário, deve-se utilizar vírgula (Ex: ^{3,4,9,14}). Toda referência deverá ser citada no texto. Exemplos: Conforme definem Villardi et al.¹, a perda óssea alveolar... O uso de implante de carga imediata tem sido discutido por vários autores.^{1,3,5-8} Teses, dissertações e monografias, solicitamos que sejam utilizados apenas documentos dos **últimos três anos** e quando não houver o respectivo artigo científico publicado em periódico. Esse tipo de referência deve, obrigatoriamente, **apresentar o link** que remeta ao cadastro nacional de teses da CAPES e aos bancos locais das universidades que publicam esses documentos no formato pdf.

Grafia de termos científicos, comerciais, unidades de medida e palavras estrangeiras: os termos científicos devem ser grafados por extenso, em vez de seus correspondentes simbólicos abreviados. Incluem-se nessa categoria os nomes de compostos e elementos químicos e binômios da nomenclatura microbiológica, zoológica e botânica. Os nomes genéricos de produtos devem ser preferidos às suas respectivas marcas comerciais, sempre seguidos, entre parênteses, do nome do fabricante, da cidade e do país em que foi fabricado, separados por vírgula. Para unidades de medida, deve-se utilizar o Sistema Internacional de Unidades. Palavras em outras línguas devem ser evitadas nos textos em português, utilizar preferentemente a sua tradução. Na impossibilidade, os termos estrangeiros devem ser grafados em itálico. Toda abreviatura ou sigla deve ser escrita por extenso na primeira vez em que aparecer no texto.

ESTRUTURA DO ARTIGO

PESQUISAS ORIGINAIS devem ter no máximo 20 páginas com até 40 citações; organizar da seguinte forma:

Título em português: caixa alta, centrado, negrito, conciso, com um máximo de 25 palavras;

Título em inglês (obrigatório): caixa alta, centrado. Versão do título em português;

Resumo: parágrafo único sem deslocamento, fonte tamanho 11, espaço 1, justificado, contendo entre 150 e 250 palavras. Deve conter a apresentação concisa de cada parte do trabalho, abordando objetivo(s), método, resultados e conclusões. Deve ser escrito sequencialmente, sem subdivisões.

Não deve conter símbolos e contrações que não sejam de uso corrente nem fórmulas, equações, diagramas;

Palavras-chave: de 3 a 5 palavras-chave, iniciadas por letra maiúscula, separadas e finalizadas por ponto. Deverá ser consultada a lista de Descritores em Ciências da Saúde-DECS, que pode ser encontrada no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br/>

Abstract (obrigatório): fonte tamanho 11, espaço 1, justificado, deve ser a tradução literal do resumo;

Keywords: palavras-chave em inglês;

Introdução: deve apresentar o assunto a ser tratado, fornecer ao leitor os antecedentes que justificam o trabalho, incluir informações sobre a natureza e importância do problema, sua relação com outros estudos sobre o mesmo assunto, suas limitações. Essa seção deve representar a essência do pensamento do pesquisador em relação ao assunto estudado e apresentar o que existe de mais significativo na literatura científica. Os objetivos da pesquisa devem figurar como o último parágrafo desse item.

Método: destina-se a expor os meios dos quais o autor se valeu para a execução do trabalho. Pode ser redigido em corpo único ou dividido em subseções. Especificar tipo e origem de produtos e equipamentos utilizados. Citar as fontes que serviram como referência para o método escolhido.

Resultados: Nesta seção o autor irá expor o obtido em suas observações. Os resultados poderão estar expressos em quadros, tabelas, figuras (gráficos e imagens). Os dados expressos não devem ser repetidos em mais de um tipo de ilustração.

Discussão: O autor, ao tempo que justifica os meios que usou para a obtenção dos resultados, deve contrastar esses com os constantes da literatura pertinente; estabelecer relações entre causas e efeitos; apontar as generalizações e os princípios básicos, que tenham comprovações nas observações experimentais; esclarecer as exceções, modificações e contradições das hipóteses, teorias e princípios diretamente relacionados com o trabalho realizado; indicar as aplicações teóricas ou práticas dos resultados obtidos, bem como, suas limitações; elaborar, quando possível,

uma teoria para explicar certas observações ou resultados obtidos; sugerir, quando for o caso, novas pesquisas, tendo em vista a experiência adquirida no desenvolvimento do trabalho e visando a sua complementação.

Conclusões: Devem ter por base o texto e expressar com lógica e simplicidade o que foi demonstrado com a pesquisa, não se permitindo deduções. Devem responder à proposição.

Agradecimentos (opcionais): O autor deve agradecer às fontes de fomentos e àqueles que contribuíram efetivamente para a realização do trabalho. Agradecimento a suporte técnico deve ser feito em parágrafo separado.

Referências (e não bibliografia): Espaço simples entre linhas e duplo entre uma referência e a próxima. As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. A lista completa de referências, no final do artigo, deve estar de acordo com o estilo Vancouver (norma completa <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>; norma resumida http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Quando a obra tiver até seis autores, todos devem ser citados. Mais de seis autores, indicar os seis primeiros, seguido de et al. Alguns exemplos:

Artigo publicado em periódico:

Lindsey CJ, Almeida ME, Vicari CF, Carvalho C, Yagui A, Freitas AC, et al. Bovine papillomavirus DNA in milk, blood, urine, semen, and spermatozoa of bovine papillomavirus-infected animals. Genet. Mol. Res. 2009;8(1):310-8.

Artigo publicado em periódico em formato eletrônico:

Gueiros VA, Borges APB, Silva JCP, Duarte TS, Franco KL. Utilização do adesivo Metil-2-Cianoacrilato e fio de náilon na reparação de feridas cutâneas de cães e gatos [Utilization of the methyl-2-cyanoacrylate adhesive and the nylon suture in surgical skin wounds of dogs and cats]. Ciência Rural [Internet]. 2001 Apr [citado em 10 Out 2008;31(2):285-9. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000200015.

Instituição como autor:

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. Med J Aust. 1996;164:282-4.

Artigo eletrônico publicado antes da versão impressa

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. Blood. 2002 Nov 15;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5

Livro (como um todo)

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Capítulo de livro

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

RELATOS DE CASO CLÍNICO

Artigos predominantemente clínicos, de alta relevância e atualidade. Os relatos de caso devem apresentar a seguinte estrutura: título em português; título em inglês; resumo em português; palavras-chave; abstract; keywords; introdução; relato do caso; discussão; conclusão e referências. Não devem exceder 12 páginas, incluídos os quadros, as tabelas e as figuras, com até 30 citações.

ARTIGOS DE REVISÃO

Poderão ser aceitos para submissão, desde que abordem temas de interesse, atualizados. Devem ser elaborados por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber. Devem ter até 20 páginas, incluindo resumos, tabelas, quadros, figuras e referências. As tabelas, quadros e figuras limitadas a 06 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas devem ser limitadas a 60. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação.

Devem conter: título em português e inglês, resumo e abstract (de 150 a 250 palavras), palavras-chave/keywords, introdução, método, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (caso necessário), referências.

EDITORIAIS

Colaborações solicitadas a especialistas de áreas afins, indicados pela Conselho Editorial, visando analisar um tema de atualidade. Devem conter: Título em português e inglês, Autor, Palavras-chave Keywords, Texto em português, Referências (quando necessário). Os trabalhos não devem exceder a 2 páginas.

Autorizo cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização específica do autor. Autorizo também a divulgação do arquivo no formato PDF no banco de monografias da Biblioteca institucional.

Thaís Diniz Mendes
Pindamonhangaba, Dezembro de 2016.