



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

EDSON RENATO MOREIRA FILHO

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO BACTERICIDA DO VINAGRE EM *Escherichia coli* E
BACTÉRIAS MESÓFILAS**

Assis
2010

EDSON RENATO MEREIRA FILHO

AVALIAÇÃO DA AÇÃO BACTERICIDA DO VINAGRE EM *Escherichia coli* E
BACTÉRIAS MESÓFILAS

Trabalho de Conclusão de
Curso apresentado ao Instituto
Municipal de Ensino Superior
de Assis, como requisito do
Curso de Graduação.

Orientadora: ELAINE AMORIM SOARES MENEGON

Área de Concentração: Exatas – Química Industrial

Assis – SP
2010

FICHA CATALOGRÁFICA

MOREIRA, Edson Renato

Avaliação Bactericida do Vinagre em Bactérias *Escherichia Coli* e *Mesófila* / Edson Renato Moreira Filho. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA - Assis, 2010.

Nº 47p.

Orientador: Elaine Amorim Meneguel
Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. Vinagre. 2. *Escherichia Coli*. 3. *Misófila*

CDD:660
Biblioteca da FEMA

AVALIAÇÃO DA AÇÃO BACTERICIDA DO VINAGRE EM *Escherichia coli* E
BACTÉRIAS MESÓFILAS

EDSON RENATO MOREIRA FILHO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação,
analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientadora: Ms. Elaine Amorim Soares Menegon

Analisador: Dr. Idécio Nogueira da Silva

Assis – SP
2010

AGRADECIMENTO

Eu agradeço a toda minha família que muito me apoiou na realização desse trabalho sou muito grato a eles. Agradeço a minha orientadora Elaine por ter confiado em mim esse trabalho, a Joelma pela sua atenção e ajuda nas análises realizada. Ao Danilo pela sua ajuda e paciência nas horas de dificuldade, aos meus colegas de sala que estavam sempre ao meu lado me apoiando e ajudando e a professora Mary que nunca deixou de me ajudar quando precisei.

RESUMO

O consumo de hortaliças vem sendo cada vez mais incentivado no mundo atual diante de todos os seus benefícios nutricionais conhecidos. Porém principalmente as hortaliças folhosas constituem um importante meio de transmissão de várias doenças, tendo sido reportadas como fonte potencial de microrganismos patogênicos, contribuindo para a elevação dos casos de doenças veiculadas por alimentos. A pesquisa de sanitizantes não tóxicos eficazes na desinfecção de hortaliças vem sendo amplamente desenvolvida. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de 4 tipos de vinagres na desinfecção de hortaliças. Foram testados os seguintes tipos de vinagre: álcool, maçã, vinho tinto e vinho branco. Foi testada a medida caseira usada na desinfecção de hortaliças. Os tipos de vinagre foram submetidos aos testes de inibição *in vitro* de bactérias *E. coli* e de bactérias mesófilas isoladas do solo de cultivo de hortaliças. O teste de acidez foi feito em todos os tipos de vinagre. Verificou-se que nenhum dos tipos de vinagre nas concentrações testadas foi capaz de inibir o crescimento de bactérias mesófilas e de bactérias *E. coli*. Os índices de acidez dos vinagres foram os seguintes: vinagre de álcool 4,32%, vinagre de maçã 4,08%, vinagre de vinho branco 4,20%, vinagre de vinho tinto 4,11%, teores estes de acordo com a legislação. Concluímos que a medida caseira de vinagre utilizada na desinfecção de hortaliças não é eficaz para a inibição do crescimento de bactérias Mesófilas e de *E. coli*.

Palavras chaves: vinagre, bactéria *E. coli*, bactéria Mesófila

ABSTRACT

The consumption of vegetables has been increasingly encouraged in today's world before all their known nutritional benefits. But mainly leafy vegetables are an important means of transmission of several diseases, having been reported as a potential source of pathogens, contributing to the rising cases of foodborne illnesses. The search for effective non-toxic sanitizers to disinfect vegetables, has been widely developed. This study aimed to evaluate the efficiency of four types of vinegar to disinfect vegetables. We tested the following types of vinegar, alcohol, apple, red wine and white wine. We tested the household measure used in the disinfection of vegetables. Types of vinegar were tested in vitro inhibition of bacteria *E. coli* and mesophilic bacteria isolated from soil cultivation of vegetables. The acidity test was done on all types of vinegar. It was found that all types of vinegar in concentrations were unable to inhibit the growth of mesophilic bacteria and *E. coli*. The indices of acidity of vinegars were: alcohol vinegar 4.32%, apple cider vinegar 4.08%, white wine vinegar 4.20%, red wine vinegar 4.11%, and these levels according to legislation. We conclude that the vinegar household measure used in the disinfection of vegetables is not effective to inhibit bacterial growth mesophilic and *E. coli*.

Keywords: vinegar, bacteria *E. coli*, bacteria mesophytic

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do ácido acético	29
Figura 2 - Teste de Indol.....	36
Figura 3 - Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A - Vinagre de álcool 1 colher/L, 3B - Vinagre de álcool 2 colheres/L, 3C – Controle	37
Figura 4 - Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de vinho tinto 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho tinto 2 colheres/L, 3C- Controle.....	37
Figura 5 - Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de maçã 1 colher/L, 3B- Vinagre de maçã 2 colheres/L, 3C- Controle	38
Figura 6 - Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de vinho branco 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho branco 2 colheres/L, 3C- Controle....	38
Figura 7 - Teste de inibição de bactérias <i>E. coli</i> : 3A-Vinagre de álcool 1 colher/L, 3B- Vinagre de álcool 2 colheres/L, 3C-Controle	39
Figura 8 - Teste de inibição de bactérias <i>E. coli</i> : 3A- Vinagre de vinho branco 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho branco 2 colheres/L, 3C- Controle.....	39
Figura 9 - Teste de inibição de bactérias <i>E. coli</i> : 3A- Vinagre de maçã 1 colher/L, 3B- Vinagre de maçã 2 colheres/L, 3C- Controle	40
Figura 10 - Teste de inibição de bactérias <i>E. coli</i> : 3A- Vinagre de vinho tinto 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho tinto 2 colheres/L, 3C- Controle.....	40

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
2.	UTILIZAÇÃO E FABRICAÇÃO DO VINAGRE	13
2.1.	COMPOSIÇÕES DO VINAGRE	14
2.1.1.	Ácido acético	14
2.1.2.	Álcool etílico (etanol) Residual.....	14
2.1.3.	Extrato Seco.....	15
2.1.4.	Cinzas	15
2.2.	LEGISLAÇÕES E PRINCIPAIS TIPOS DE VINAGRES BRASILEIROS	15
3.	CONTAMINAÇÃO DE HORTALIÇAS.....	17
4.	SENEAMENTOS UTILIZADOS EM HORTALIÇAS.....	19
5.	AGENTES SANITIZANTES NA ELIMINAÇÃO DE PATÓGENOS.....	21
6.	<i>Escherichia coli</i>	23
7.	BACTÉRIA MESÓFILA.....	25
8.	EFICÁCIAS DO VINAGRE COMO SANITIZANTE.....	26
9.	AULA DE ÁCIDEZ DO VINAGRE EM ENSINO MÉDIO.....	28
10.	MATERIAIS E METODOS.....	31
10.1.	MATERIAIS E REAGENTES	31
10.2.	EQUIPAMENTOS	31
10.3.	VINAGRES	32

10.4.	MICROORGANISMOS UTILIZADOS.....	32
11.	MÉTODOS	33
11.1.	DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DO VINAGRE	33
11.2.	DILUIÇÃO DOS VINAGRES.....	33
11.3.	ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS MESÓFILAS.....	33
11.4.	TESTE DE INIBIÇÃO DA BACTÉRIA <i>MESÓFILA</i>	34
11.5.	TESTE DE INIBIÇÃO DA BACTÉRIA <i>Escherichia coli</i>	34
11.6.	TESTE DE INDOL	35
12.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
13.	CONCLUSÃO	42

1. INTRODUÇÃO

O consumo de hortaliças vem sendo cada vez mais incentivado no mundo atual diante de todos os seus benefícios nutricionais conhecidos. Porém, principalmente as hortaliças folhosas, constitui um importante meio de transmissão de várias doenças toxinfeciosas, tendo sido reportadas como fonte potencial de microrganismos patogênicos, contribuindo para a elevação dos casos de doenças veiculadas por alimentos (DVAs) (FDA, 1998; BUCK *et al.*, 2003).

O consumo dessas verduras cruas desempenha um importante papel na transmissão de várias doenças toxinfeciosas (AMORIM, 2003; BASTOS 2002). Os riscos que afetam a segurança dos alimentos podem estar presentes em qualquer ponto da cadeia produtiva desde o cultivo, a colheita, a lavagem, armazenamento transporte, comercialização e finalmente na mesa do consumidor (RANTHUM, 2001).

As hortaliças são consideradas fontes de microrganismos, sendo elas bactérias como: *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli enterotoxigênica* e *E. coli enterohemorrágica (O157:H7)*, além de protozoários, parasitas e vírus de hepatite A (FRANK e TAKEUSHI, 1999). Com esses problemas, bactericidas como métodos de sanitização são utilizados para a diminuição da presença desses microrganismos no alimento.

O processo de sanitização das hortaliças é considerado uma etapa crítica para a segurança do consumo de alimento e a seleção dos sanitizantes a serem empregados deve ser baseada não apenas na eficácia dos mesmos, mas também na presença do ponto de vista toxicológico (NASCIMENTO, 2002). O Hipoclorito de sódio é o agente mais comum empregado, porém além de possuir efeito limitado sobre determinados microrganismos, pode produzir substâncias denominadas *trihalometanos*, comprovadamente carcinogênicas (FERRARIS *et al.*, 2005; DUNNICK e MELNICK, 1993).

Por causa desse problema, há interesse pelas indústrias de alimentos em desenvolver novos sanitizantes que sejam mais eficazes que o hipoclorito de sódio,

que elimine patógenos humanos e não possua efeitos nocivos a saúde. Uns dos sanitizantes pesquisados são os ácidos orgânicos de cadeia curta, como o ácido acético presente no vinagre, que além de serem consideradas substâncias seguras à saúde, têm sido uma alternativa na redução da população bacteriana em alimentos (SANTOS 2007).

Portanto este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de 4 tipos de vinagre na desinfecção de hortaliças, Especialmente, na inibição do crescimento de bactérias Mesófilas e *E. coli*.

2. UTILIZAÇÃO E FABRICAÇÃO DO VINAGRE

O vinagre é utilizado no mundo inteiro como condimento e conservante de alimentos. Além disso, é considerado um complemento indispensável à alimentação humana, pela ação nutritiva e biorregulatória (AQUARONE *et al.*, 2001). É produzido por dois processos bioquímicos distintos, ambos resultantes da ação de microrganismos: a fermentação alcoólica, pela ação de leveduras sobre matérias-primas açucaradas e amiláceas e a fermentação acética, pela ação de bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter* (AQUARONE *et al.*, 2001).

A fabricação de vinagre proporciona um meio de utilização de matéria-prima inaproveitável dos estabelecimentos industriais de frutas e especialmente de propriedades rurais, que de outra forma, não poderiam competir no mercado (EVANGELISTA, 1989). Os vinagres de frutas são considerados superiores em qualidades sensoriais e nutritivas, quando comparados a outros tipos de vinagres, apresentando características como sabor e aroma próprios. Sob o aspecto nutricional, têm vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos provenientes do fruto e da fermentação alcoólica (AQUARONE *et al.*, 2001).

Dentre os processos industriais utilizados na produção de vinagre, o mais difundido é o que utiliza cultura submersa através de forte aeração, com acetificadores do tipo Frings. O método Orleans, mais lento, é utilizado apenas nos estabelecimentos de pequeno porte, quando o objetivo é obter um produto de melhor qualidade (AQUARONE *et al.*, 2001).

A produção de um bom vinagre depende de uma série de fatores como (CASTELO, 2002):

- A linhagem e a seleção do microrganismo;
- A matéria-prima;
- A concentração do álcool;
- A temperatura de fermentação (na faixa de 20° a 30°C);
- A quantidade de O₂;
- O pH ótimo na faixa de 5 e 6;

- A maturação e a conservação;
- A clarificação, o envase, a pasteurização;
- Materiais de construção de tubulações, recipientes e depósitos.

2.1 COMPOSIÇÕES DO VINAGRE

A composição característica de um vinagre depende basicamente da matéria prima que o originou. Os vinagres obtidos de frutos ou de malte possuem composição mais complexa que o vinagre de álcool por conter praticamente todas as substâncias solúveis existentes na matéria-prima ou que se formaram nos processo fermentativo alcoólico e acético (AQUARONE *et al.*, 2001).

2.1.1 Ácido acético

O ácido acético ($\text{H}_3\text{C} - \text{COOH}$), peso molecular 60, 05616 e densidade 1, 049 g/mL, é o componente principal dos vinagres quaisquer que sejam o substrato alcoólico precedente e sua concentração é expressa em graus acéticos (gramas de ácido acético por 100 mL de vinagre) (AQUARONE *et al.*, 2001).

2.1.2 Álcool etílico (etanol) Residual

Na fabricação industrial do vinagre objetiva-se alcançar o maior rendimento possível na transformação de etanol em ácido acético. Porém não se deve chegar ao esgotamento desse substrato, pois as bactérias acéticas, na ausência de álcool etílico, são capazes de promover a degradação do ácido acético produzido, o que torna o processo antieconômico (AQUARONE *et al.*, 2001).

No Brasil, a legislação estabelece um teor máximo de 1º GL de álcool residual para os vinagres (BRASIL, 1990).

2.1.3. Extrato Seco

A determinação do extrato seco de vinagres é uma tentativa de evitar fraudes bastante utilizadas no passado, já que teores muito baixos ou muito altos de extrato seco podem indicar adulterações do produto (TAKEMOTO, 2000).

No Brasil, a legislação estabelece um valor mínimo de 7 g.L⁻¹ para vinagres de vinho tinto e rosados e 6 g.L⁻¹ para vinagres de vinho branco (BRASIL, 1990).

2.1.4. Cinzas

A determinação do teor de cinzas objetiva determinar os sais minerais contidos no produto. As considerações para o teor de cinzas são análogas para o teor de extrato seco dos vinagres. Um vinagre diluído e reconstituído parcialmente com ácido acético apresenta baixos valores para o teor de cinzas assim como valores muito altos podem indicar a adição de substâncias não voláteis (TAKEMOTO, 2000).

A legislação brasileira estabelece um valor mínimo de 1 g.L⁻¹ (BRASIL, 1990).

2.2 LEGISLAÇÕES E PRINCIPAIS TIPOS DE VINAGRES BRASILEIROS

Denominam-se vinagres a todos os produtos da fermentação acética de diversos substratos alcoólicos, adicionando ao nome do vinagre o do substrato correspondente. Os vinagres devem conter quantidades determinadas de ácido acético e ingredientes opcionais tais como ervas, especiarias, sal e outros, conforme especificação do Codex Alimentarius, em quantidades suficientes para conferir um sabor e aroma peculiares.

A legislação brasileira define que vinagre ou vinagre de vinho é o produto obtido da fermentação acética do vinho (BRASIL, 1900, 1988) e deve conter uma acidez volátil mínima de 40g por litro expressa em ácido acético (4%). Sua graduação alcoólica não pode exceder a 1° GL e deve ser obrigatoriamente pasteurizado. Um vinagre

com mais de 80g por litro de acidez volátil é o concentrado de vinagre usado exclusivamente para diluição (BRASIL, 1990).

A legislação especifica ainda as seguintes características organolépticas para os vinagres (BRASIL, 1974).

Aspecto: líquido, límpido e sem depósitos.

Cor: de acordo com a matéria-prima que lhe deu origem.

Cheiro: característico

Sabor: ácido.

No Brasil, não é permitido à fabricação e venda de vinagre artificial, isto é, vinagre produzido a partir da diluição do ácido acético obtido a partir da síntese do etileno ou da destilação seca da madeira (Brasil, 1990).

Na tabela 1 estão os tipos de vinagres mais consumidos no Brasil:

Tipo de vinagre	Características
Vinagre de vinho tinto	Produzido através da fermentação acética do vinho tinto
Vinagre de vinho branco	Produzido através da fermentação acética do vinho branco
Vinagre de maçã	Produzido através da fermentação acética do vinho de maçã
Vinagre de álcool	Produzido através da fermentação acética do álcool

Tabela 1: Classificação dos vinagres brasileiros (In: BELMONT, 2002, p-20).

3. CONTAMINAÇÃO DE HORTALIÇAS

A alimentação tem sido motivo de preocupação em vários países do mundo (WHO, 2003) e adequar a produção de alimentos à demanda crescente da população tem sido um grande desafio. Entretanto, este desafio não se resume apenas em atender a essa nova demanda, mas também em oferecer alimentos satisfatórios e livres de agentes contaminantes para o consumo humano (BALBANI e BUTANI, 2001).

Com o número de surtos de DVAs ocasionado pelo aumento do consumo de hortaliças *in natura*. Ao longo da década esses alimentos têm sido considerados como uma fonte de microrganismos patogênicos sendo os principais: *Salmonella* SSP, *Campylobacter jejuni* e *Escherichia coli* do tipo *enterohemorrágica* (OMS, 2000).

Com esses problemas muitos países fiscalizam as condições higiênicas sanitárias nos locais de produção, insumos e manipuladores de hortaliças.

Como hortaliças são produzidas sob diferentes condições climáticas e prática agrícola diferentes pressupõe-se que os perigos microbiológicos variem entre esses sistemas que vai do cultivo até a mesa do consumidor. Portanto todos os procedimentos devem ser conduzidos sob condições higiênicas e estruturais satisfatórias, visando minimizar os riscos potenciais a saúde do consumidor (FDA, 1998).

Durante o cultivo as fontes potenciais de contaminação devem ser identificadas. Frequentemente observam-se irregularidades com a água utilizada, o adubo, o saneamento básico, a presença de animais nos locais de produção além de outras deficiências na infra-estrutura dos locais de produção e manejo agrícola (MORETTI, 2003).

Para aumentar a produtividade e melhorar o cultivo, os agricultores optam muitas vezes pelo uso de adubos orgânicos, como por exemplo, o esterco animal, pelo baixo custo e pela sua eficácia como fertilizantes (EMBRAPA, 2001). Essa fonte de adubo indevidamente tratado pode conter patógenos e contaminar as hortaliças

como, por exemplo, a *Escherichia coli* O157: H7, que pode sobreviver por até 70 dias nas fezes destes animais (TAUXE, 1997).

Terras que foram usadas para outras atividades, como solos que anteriormente serviram como depósitos de lixo podem apresentar contaminação por bactérias patogênicas, pois contém matéria orgânica em decomposição e possivelmente matéria fecal (EMBRAPA, 2001).

A área de cultivo quando situada em regiões íngremes favorece o escoamento de águas superficiais contaminadas e que se agrava com residências que não dispõem de drenagem para as águas servidas e animais em volta da horta podem contaminar as hortaliças com suas fezes (MORETTI, 2003).

A saúde e a higiene pessoal dos trabalhadores que entram em contato com o alimento devem ser monitoradas. Funcionários com gripe, diarreia ou ferimentos na pele podem veicular microrganismos para os alimentos (SILVA Jr, 2001).

4. SENEANTES UTILIZADOS EM HORTALIÇAS

O risco de toxinfecções humanas por patógenos de origem alimentar pode ser reduzido prevenindo-se a contaminação dos alimentos, através de lavagem e do uso de sanitizantes podendo controlar o crescimento dos microrganismos patogênicos (BEAUCHAT, 2004 apud Santos 2007).

É preferível na prevenção da contaminação das hortaliças o uso de agentes químicos antimicrobianos, mas isso nem sempre é alcançado pelas falhas no controle que antecedem o consumo, por isso a higienização dos alimentos, é o processo que através dos quais os alimentos se tornam higienicamente e sanitariamente adequados para o consumo, utilizando-se várias técnicas de processamento, dentre estas os produtos para limpeza e desinfecção dos alimentos (Silva Jr, 2001).

A lavagem em água corrente de boa qualidade pode reduzir em até 74% a carga microbiana dos vegetais (LEITÃO *et al.*,1981), não sendo o suficiente para manter a contaminação em níveis seguros, sendo necessário á aplicação de agentes sanitizantes (LEITÃO *et al.*,1981; TAKEUSHI e FRANK, 2001 apud Santos 2007).

A pré-lavagem em água corrente é um requisito essencial para retirada de matéria orgânica na superfície das hortaliças, mas é necessário o uso de agentes sanitizantes, porque apenas a lavagem em água corrente não é suficiente para diminuir a carga microbiana a níveis seguros (NASCIMENTO, 2002). Para BRENES (2002), agentes sanitizantes são substâncias químicas que podem destruir ou reduzir substancialmente a população de microrganismos presentes na água de lavagem e resfriamento, reduzindo a contaminação, como também pode reduzir, mas não eliminar os patógenos da superfície dos produtos.

A sanitização de vegetais, sob o ponto de vista de segurança alimentar, é considerada etapa crítica do processamento, assim também como os aspectos de higiene pessoal na manipulação do produto. Estatísticas de países industrializados revelam que 60% das intoxicações alimentares são atribuídas á manipulação incorreta de alimentos, sugerindo um índice ainda mais elevado para os países em

desenvolvimento, em função das precárias condições de infra estrutura e educação dos seus habitantes (NASCIMENTO *et al.*, 2002).

5. AGENTES SANITIZANTES NA ELIMINAÇÃO DE PATÓGENOS

A lavagem dos vegetais é a prática mais comum para se obter um produto mais seguro, a eficácia da operação de lavagem pode ser aumentada acrescentando soluções sanitizantes, objetivando a eliminação de microrganismos presentes nestes alimentos (BERBARI *et al.*, 2001).

A sanitização utilizada na indústria de alimentos depende de vários fatores: concentração, tempo, pH, solubilidade, concentração de matéria orgânica, tipo de superfície e espécie e população de microrganismos (BEUCHAT *et al.*, 2001; BRENES, 2002).

Segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995), um sanitizante para ser considerado eficaz deverá reduzir 99, 999% da ação bacteriana. Vários agentes sanitizantes vêm sendo utilizados na higienização de frutas e hortaliças, sendo os mais utilizados aqueles a base de cloro (BRENES, 2002).

Segundo alguns pesquisadores, em adição ao limitado efeito da lavagem com hipoclorito, o sistema pode produzir substâncias carcinogênicas como trihalometanos (FERRARIS *et al.*, 2005, DUNNICK e MELNICK, 1993).

Com os problemas do hipoclorito há um grande interesse das indústrias de alimentos em desenvolver novos sanitizantes, para reduzir os patógenos, que não causem efeitos nocivos ao organismo humano (NASCIMENTO *et al.*, 2003).

Neste aspecto destacam-se os ácidos orgânicos de cadeia curta, que embora não sejam considerados sanitizantes, têm sido muito utilizado em estudos de redução de população bacteriana em alimentos (FDA, 2001 e NASCIMENTO *et al.*, 2003).

Os ácidos orgânicos de cadeia curta são produzidos a partir do metabolismo natural das frutas e hortaliças, entre estes se destacam: os ácidos acéticos, benzóico, cítrico, málico, sórbico, succínio e tartárico (FDA, 2001).

Os ácidos orgânicos são classificados como conservadores ou como acidulantes pela legislação brasileira no Decreto nº 55871 de 23/06/1965 (BRASIL 1965),

definido como substância que adicionadas ao alimento para impedir a ação microbiana ou enzimática, protegendo o alimento contra a degradação.

A eficiência dos ácidos orgânicos no controle de patógenos depende do agente químico utilizado, da concentração do agente, da forma de aplicação da temperatura, do tempo de contato e da análise de resultados (VASCONCELOS *et al.*, 2002).

São três os fatores responsáveis pela ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos: o efeito do pH, dissociação do ácido e a especificação da molécula de ácido (ANDERSON *et al.*, 1970).

Os ácidos orgânicos têm maior eficiência como inibidores em condições de baixa temperatura, e maior efeito bactericida com o aumento de temperatura (CHICHISTER e TANNER, 1972).

Quanto mais ácido o meio, maior será a capacidade de inibição e uma diminuição de uma unidade do pH implica em um aumento de até 10 vezes do efeito inibitório (CANHOS e DIAS., 1983).

O efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos depende do seu pKa e do pH do meio externo. A medida que se diminui o pH do alimento, aumenta-se a proporção de moléculas de ácido na forma não dissociada e, conseqüentemente, sua eficiência como agente microbiano (CHICHISTER e TANNER, 1972).

Os ácidos fracos são mais eficientes que os ácidos fortes, visto que os ácidos fracos são capazes de acidificar o interior da célula. Os ácidos comestíveis sofrem dissociação em sistema aquoso, os íons de H⁺ livres e os componentes não dissociados da solução podem ser fatores decisivos na atividade antimicrobiana desses compostos (DICKSON e ANDERSON, 1992).

6. *Escherichia coli*

Escherichia coli é um membro da família *Enterobacteriaceae*, tendo como principal habitat a microbiota intestinal dos mamíferos. Caracteriza-se por ser um bacilo gram-negativo, anaeróbico facultativo, podendo causar infecções *entéricas* (diarréia, desistiria, colite hemorrágico, síndrome urêmica hemolítica e doenças de Edema) (NATARU & KAPER , 1998; Kaper *et al.* , 2004).

A *Escherichia coli* distribui-se a partir das fezes, habitat específico ou primário alcançando o solo e sendo veiculado principalmente através da água até os vegetais (AMÂNCIO *et al.*, 2003).

Uma das principais contribuições para a caracterização da *E. coli* foi o estabelecimento dos métodos sorológicos por Kauffamam (1947) que permitiu um grande conhecimento sobre, epidemiologia, ecologia e patogênese deste microrganismo. Esse autor propôs que amostras de *E. coli* fossem identificadas tendo-se como base seus principais antígenos de superfície. Estes foram denominados de O e H representando, respectivamente, o *lipopolissacarídeo* (LPS) termoestável da membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas e a proteína do flagelo. A estes se somam os antígenos capsulares que foram denominados de antígenos. Os patótipos de *E. coli* tendem a ser grupos clonais que definem os sorogrupos (somente antígenos O) ou sorotipos (onde o antígeno H deve ser pesquisado, O:H) (BLANCO *et al.* , 1994).

Pela presença destes antígenos, a identificação sorológica tem permitido estabelecer a correlação de amostras de *E.coli* com algumas doenças principalmente com as enteropatias (ORSKOV & ORSKOV ., 1992).

Apesar de a *Escherichia coli* exercer um efeito benéfico sobre o organismo e suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetizando algumas vitaminas existem algumas cepas que desenvolveram a habilidade de causar doenças. Estas cepas patogênicas de *E. coli* podem ser divididas em pelo menos seis categorias diferentes com esquemas patogênicos distintos (SILVA *et al.* , 2003 , NATARO & KAPER, 1998).

Entre as linhagens de *E. coli* patogênicas as mais estudadas são: *Escherichia coli* enteroxigênica (ETEC), *Escherichia coli* enteroenvasia (EIEC), *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC ou VTEC), *Escherichia coli* enteroagregativa (EaggEc). (AMÂNCIO *et al.* , 2003).

A *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) está relacionada a diarreia nos países em desenvolvimento sendo conhecido também como diarreia do viajante. A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e a *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) infectam principalmente crianças menores de dois anos, nos países em desenvolvimento, sendo que a EPEC, tem sido reportada como causa da diarreia no recém nascido (BALBANI & BUTUGAN., 2001). A *Escherichia coli* enteroagregativa (EaggEc) ela não dispõe de muitos dados e sua patogenicidade parece estar relacionada com a mucosa intestinal podendo causar diarreia aquosa (LANOGRAF., 1996).

A *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), caracteriza pela produção de shiga-Toxinas. Em adição a linhagem de EHEC também contém a ilha de patogenicidade que modifica o sistema de secreção, homólogo ao sistema produzido pela EPEC. EHEC está associado a epidêmica e grave síndrome clínica como colite hemorrágica e síndrome urêmica hemolítica (Kobauashi, 2001).

7. BACTÉRIAS MESÓFILAS

A contagem destas bactérias é empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo com esses patógenos ausentes e não tendo ocorrido alterações nas condições organolépticas dos alimentos, um número elevado de microrganismos indica que o alimento é insalubre (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Para uma alta contagem de aeróbios mesófila, é necessário temperaturas ótimas de crescimento próximas ao do corpo humano em torno de 35°C (Leite Junior *et al* 2000).

A contagem elevada desse grupo de bactérias nos alimentos não perecíveis indica o uso de matéria-prima contaminada ou insatisfatória, sob o ponto de vista sanitário (Franco e Landgraf *et al* .,2006)

8. USO DO VINAGRE COMO SANITIZANTE

O vinagre contendo ácido acético é usado como flavorizante e acidificante para saladas de vegetais e pode ser considerado como sanitizante alternativo para remover ou reduzir a carga de patógenos não causando riscos à saúde do consumidor (SEGUN e KARAPINAR, 2004). Esse produto ganhou aceitação no comércio internacional tanto em função das controvérsias de toxicidade do cloro em alimentos, como também por ser considerado tão eficaz e seguro quanto o cloro (NASCIMENTO, 2002).

Os ácidos acéticos e lácticos empregados como acidulantes, também exercem efeito conservador. Entre eles o ácido acético é o mais eficiente. Algumas bactérias são tolerantes a esse ácido entre elas o *Acetobacter*, certas bactérias lácticas e bolores e leveduras (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A atividade antimicrobiana do ácido acético em substrato acidificado a pH 3,0 é de 10 a 100 vezes superior a de qualquer outro ácido (LUCK, 1981).

O ácido acético e seus sais são bastante eficientes e largamente usados como acidulantes e conservantes nos alimentos. Sua ação conservadora é atribuída a queda de pH provocado no meio, e sua atividade microbiana inicia-se em concentrações superiores a 0,5% (PARDI *et al.*, 1994).

SEGUN e KARAPINAS (2004) Avaliaram a eficácia do suco de limão, vinagre e a mistura de limão com vinagre na eliminação de *Salmonella typhimurium* inoculado artificialmente em rúcula e cebola, conseguindo reduções significativas principalmente na mistura do vinagre com o limão.

VEJAYAKIMAR e HALL (2002) testaram soluções diluídas de vinagre de maçã, vinagre de vinho branco e suco de limão na eficiência da solução da contagem de *E. coli* e bactérias Mesófilas. Constataram em seu trabalho que o vinagre de vinho branco a 35% foi o mais efetivo na redução de *E. coli* (redução de 5 ciclos logarítmicos, depois de 5 minutos com agitação e 10 minutos sem agitação) e na

redução da contagem de Mesófilas (redução de 2 ciclos logaritmos depois de 10 minutos de agitação).

EIROA e PORTO 1995 apud Santos 2007 testaram o efeito bactericida de diferentes desinfetantes a base de cloro e vinagre contra linhagens *Vibrio cholerae* inoculados em alface e concluíram que o vinagre foi o melhor dos produtos avaliados, seguido em ordem decrescente de eficiência pelos compostos a base de dicloroisocianurato de sódio e hipoclorito de sódio.

9. AULA DE ÁCIDEZ DO VINAGRE EM ENSINO MÉDIO

A química tem uma importância muito grande no conteúdo escolar, porque além de ser uma matéria fundamental, praticamente em tudo existe química como, por exemplo, a água que bebemos, o ar que respiramos, ou seja, em tudo ela está presente.

Neste trabalho possui um assunto que pode ser abordado pelo professor para aprimorar o conhecimento e interesse dos alunos pela disciplina de química.

O vinagre abordado neste trabalho pode ser muito utilizado pela sua propriedade estrutural, sua acidez, benefícios no organismo humano e a sua produção. Esse assunto aborda vários temas de química sendo um ótimo assunto a ser trabalhado em sala de aula.

Para elaborar algo diferente uma aula prática pode ser utilizada. Determinando a porcentagem de ácido acético presente no vinagre através de uma titulação.

O ácido acético é um ácido carboxílico fraco de cadeia curta de forma molecular CH_3COOH com ponto de fusão de 17°C e ponto de ebulição de 118°C , tendo cheiro característico, sabor ácido e representa cerca de 4% da composição do vinagre sendo utilizado também na eliminação de bactérias.

Procedimento Experimental da aula:

A titulação é um processo simples que consiste em pipetar 10 ml de vinagre em um balão volumétrico e diluir até a marca com água destilada. Depois transferir 25 ml dessa solução em um erlenmeyer de 250 ml e diluir com 25 ml de água destilada.

Depois se utiliza uma bureta de 25 ml com solução de NaOH a 0,1 M adicionando ao erlenmeyer 3 gotas do indicador fenolftaleína e depois adicione gota a gota a solução de NaOH da bureta no erlenmeyer até a mudança de cor. Pelo volume gasto calcula-se a concentração do ácido acético presente nas amostras.

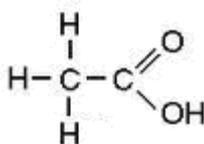
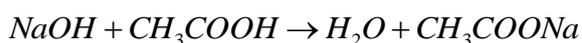


Figura 1 – Fórmula estrutural do ácido acético

Nesse processo de titulação ocorre a seguinte reação



O procedimento para calcular a percentagem de ácido acético no vinagre está apresentado abaixo:

Tomando-se como exemplo que os volumes gastos foram os seguintes:

$$V_1 = 17 \text{ mL}$$

$$V_2 = 18 \text{ mL}$$

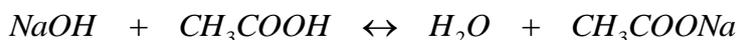
Calcula-se a média do volume gasto:

$$V_f = \frac{V_1 + V_2}{2} = \frac{17 + 18}{2} = 17,5 \text{ mL de NaOH}$$

Utilizando a fórmula da molaridade calcula-se o número de mols na reação:

$$M = \frac{n}{V_f} = 0,1 \text{ M} = \frac{n}{0,0175 \text{ L}} = n = 0,00175 \text{ mols de NaOH}$$

Fazendo a estequiometria na equação da reação padrão:



$$1 \quad - \quad 1$$

$$0,00175 \quad - \quad x$$

$$x = 0,00175 \text{ mols de } CH_3COOH$$

Calculou-se que foram necessários 0,00175 mols de CH_3COOH para ocorrer a reação. Substituindo esse valor na equação obtemos a massa de CH_3COOH .

$$n = \frac{m}{PM} = 0,00175 \text{ mols} = \frac{m}{60,0 \text{ g/mol}} = m = 0,105 \text{ g de } CH_3COOH$$

$$\begin{array}{r} 0,105 \text{ g} - 25 \text{ mL} \\ x \quad - 100 \text{ mL} \end{array}$$

$$x = 0,42 \text{ g de CH}_3\text{COOH}$$

$$\begin{array}{r} 0,42 \text{ g} - 100 \text{ mL} \\ x \quad - 10 \text{ mL} \end{array}$$

$$x = 0,042 \text{ g} \times 100 = 4,2 \% \text{ de ácido acético no vinagre}$$

10. MATERIAIS E METODOS

10.1. MATERIAIS E REAGENTES

Os reagentes utilizados para os experimentos estão dispostos a seguir:

- (PCA) Standard Methods Agar –Acumedia (A Subsidiary of Neogen Agar)
- (EMB) Levine Emb Agar - Merck
- Bacto Peptone - Enzimatic Digest of Protein
- Tryptone
- Reagentes de Kovacs
- Hidróxido de sódio 0,1 M
- Fenolftaleína 1%

10.2. EQUIPAMENTOS

Os equipamentos que foram utilizados para os experimentos encontram-se a seguir:

- Estufa bacteriológica MA 032 Marconi
- Estufa Fanem SP Brasil modelo 502c
- Balança Analítica - Equilibrador Balanças LTDA
- Autoclave Vertical – Phoenix Equipamentos Científicos
- Fluxo Laminar série 1341 – Trox Technik
- Balança Semi Analítica – Diagtech Comércio e Importação LTDA
- Banho Maria – Quimis Aparelhos Científicos LTDA
- Estufa de Secagem e Esterilização modelo 315 SE

10.3. VINAGRES

Os tipos de vinagres utilizados nos experimentos foram:

- Vinagre de Álcool – (Fortaleza) Castelo Alimentos SA Engarrafamentos
- Vinagre de Vinho Branco – (Saboroso) Fabricado por Rapacci & Cia Ltda
- Vinagre de Vinho Tinto – (Saboroso) Fabricado por Rapacci & Cia Ltda
- Vinagre de Maçã - (Saboroso) Fabricado por Rapacci & Cia Ltda

10.4. MICRORGANISMOS UTILIZADOS

Os microrganismos utilizados nos experimentos foram às bactérias *Escherichia coli* da coleção de cultura do CEPECI – Centro de Pesquisa em Ciências da FEMA e bactérias mesófilas foram isoladas em amostras de solos utilizadas nos cultivos de hortaliças.

11. MÉTODOS

11.1. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DO VINAGRE

Pipetou-se 10 mL de vinagre para um balão volumétrico de 100 ml e diluiu-se a marca com água destilada.

Misturou-se intimamente e pipetou-se uma alíquota de 25 ml para um erlenmeyer de 250 ml. Adicionou-se 25 ml de água destilada e 2 gotas de indicador fenolftaleína. Adicionou-se corretamente uma bureta de 25 ml com a solução padronizada de NaOH.

Adicionou-se ao erlenmeyer a solução de NaOH, gota a gota até a mudança de cor do indicador. Pelo volume gasto calculou-se a concentração do ácido acético presente nas amostras.

11.2. DILUIÇÃO DOS VINAGRES

Cada um dos 4 vinagres utilizados foram diluídos numa proporção de 1 colher e 2 colheres de sopa de vinagre para 1 litro de água destilada em frascos de âmbar tendo no total 8 frascos 4 com uma colher de vinagre e 4 com 2 colheres de vinagre por litro.

11.3. ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS MESÓFILAS

Foram isoladas 2 amostras de solo de hortaliças em sacos de polietileno estéreis. Pesou-se 10 g do solo diluiu-se em 90 mL H₂O peptonada tamponada. Inoculou-se 1mL da solução em Plate Cont Ágar – PCA para a contagem de bactéria Mesófila.

As placas foram utilizadas nos testes de inibição de bactérias mesófilas.

11.4. TESTE DE INIBIÇÃO DA BACTÉRIA MESÓFILA

Para a inibição de bactérias mesófilas foi realizado o método de difusão em Agar. Primeiramente foi feita a preparação dos meios de cultura, conforme instruções de preparo do rótulo. Após a preparação os meios foram autoclavados em 1 atm de pressão por 15 minutos.

Na Água Peptonada foi adicionada 10 g de solo de horta isolado contendo a bactéria mesófila, pipetou-se 1 mL dessa solução em placas de Petri e adicionou-se 25 ml do meio PCA para o cultivo da bactéria em seguida foi adicionado 1 ou 2 mL de solução de vinagre diluído conforme a medida caseira. Em cada placa foi adicionado um tipo diferente de vinagre para a inibição.

Após o procedimento as placas foram levadas em uma estufa de 32°C por 48h.

Outro teste realizado foi o de inibição em poço que consiste praticamente no mesmo método, mas ao invés de adicionar o vinagre junto com o meio de cultura em estado líquido, esperou-se que o meio endureceu-se em ágar sólido e o vinagre foi adicionado em um furo feito no centro do PCA. As placas foram incubadas a 32°C/ 48 horas sem inverter.

11.5. TESTE DE INIBIÇÃO DA BACTÉRIA *Escherichia coli*

Para o teste de inibição da bactéria *E. coli* também foi utilizado o teste de difusão em Ágar, preparou-se o meio de cultura EMB, conforme instruções do rótulo e autoclavado a 1 atm de pressão por 15 minutos.

Após a autoclavagem foi adicionado em placas de Petri 25 mL de EMB para o crescimento da *E.coli* em seguida pipetou-se 1 mL de caldo positivo de *E. coli* contido em tubos de (EC) e adicionou-se 1 ou 2 mL de solução de vinagre diluído conforme a medida caseira dentro das placas. Em cada placa foi adicionado um tipo diferente de vinagre para a inibição.

Depois as placas foram levadas em estufa de 37°C por 48 horas.

O teste de inibição em poço também foi utilizado sendo praticamente o mesmo procedimento, más ao invés de adicionar o vinagre no EMB líquido, esperou-se a solidificação do meio sendo feito um furo no seu centro e no local do furo foi adicionado o vinagre.

11.6. TESTE DE INDOL

No teste do indol foi utilizado 48 g de Tryptona em 48 mL de água destilada e pipetou-se 4 mL da solução em 11 tubos de ensaio.

Foram transferidos para os tubos de Caldo Tryptona inóculos da cepa de *E.coli* através de alça de platina inoculou-se os tubos por 24 horas em banho Maria 42°C após esse tempo adicionou-se 3 gotas de Reagente de Kovacs. E observou-se a formação de anel de cor vermelha (reação positiva). As cepas de *E.coli* são indol positivas.

12. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados de acidez dos vinagres utilizados neste trabalho comprovaram que os vinagres estão de acordo com a legislação brasileira que determina de 4 a 5% de acidez acética. Os valores encontrados estão na tabela 2.

Tipos de vinagre	% de ácido acético
Álcool	4,32
Vinho Tinto	4,11
Vinho Branco	4,20
Maçã	4,08

Tabela 2 – Acidez acética encontrada nos tipos de vinagres utilizados nos experimentos.

A cepa de *E. coli* foi inoculada em caldo EC. Para verificar a viabilidade das cepas, foi realizado o teste de indol. A figura 2 mostra o resultado do teste de indol, formou-se halos vermelhos (teste positivo para *E. coli*) após a adição do reagente de Kovacs.



Figura 2- Teste de Indol

Nos testes de inibição das bactérias e mesófilas utilizando o vinagre como inibidor através dos métodos de difusão em Ágar e teste de inibição em poço nenhuma das placas de petri apresentaram inibição.

A figura 3 mostra o teste de inibição de bactérias mesófilas utilizando vinagre de álcool.



Figura 3- Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A-Vinagre de álcool 1 colher/L, 3B- Vinagre de álcool 2 colheres/L, 3C-Controle.

Pode-se verificar na figura 3 que as placas A1 e A2 contendo vinagre de álcool apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias mesófilas, a medida caseira de vinagre de álcool foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 4 mostra o teste de inibição de mesófilas utilizando o vinagre de vinho tinto.



Figura 4- Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de vinho tinto 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho tinto 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 4 que as placas T1 e T2 contendo vinagre de vinho tinto apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias mesófilas, a medida caseira de vinagre de vinho tinto foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 5 mostra o teste de inibição de mesófilas utilizando o vinagre de maçã.



Figura 5- Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de maçã 1 colher/L, 3B- Vinagre de maçã 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 5 que as placas M1 e M2 contendo vinagre de maçã apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias mesófilas, a medida caseira de vinagre de maçã foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 6 mostra o teste de inibição de mesófilas utilizando o vinagre de vinho branco.

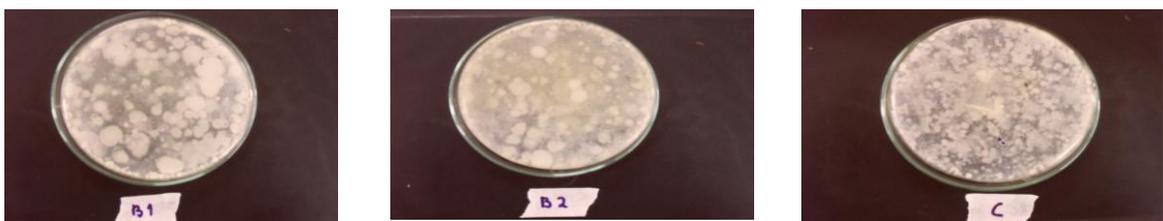


Figura 6- Teste de inibição de bactérias mesófilas: 3A- Vinagre de vinho branco 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho branco 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 6 que as placas B1 e B2 contendo vinagre de vinho branco apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias mesófilas,

a medida caseira de vinagre de vinho branco foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

Nos testes de inibição das bactérias e *E. coli* utilizando o vinagre como inibidor através dos métodos de difusão em Ágar não foram eficientes.

A figura 7 mostra o teste de inibição bactérias *E. coli* utilizando o vinagre de álcool.

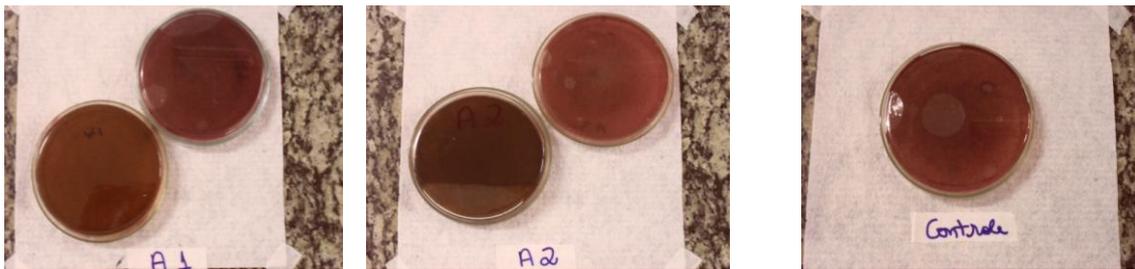


Figura 7- Teste de inibição de bactérias *E. coli*: 3A-Vinagre de álcool 1 colher/L, 3B- Vinagre de álcool 2 colheres/L, 3C-Controle.

Pode-se verificar na figura 3 que as placas A1 e A2 contendo vinagre de álcool apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias *E. coli*, a medida caseira de vinagre de álcool foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 8 mostra o teste de inibição de *E. coli* utilizando o vinagre de vinho branco.

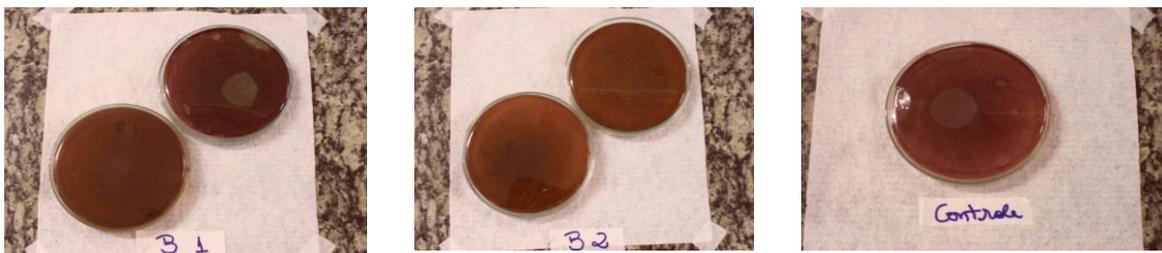


Figura 8- Teste de inibição de bactérias *E. coli*: 3A- Vinagre de vinho branco 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho branco 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 8 que as placas B1 e B2 contendo vinagre de vinho branco apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias *E. coli*, a

medida caseira de vinagre de vinho branco foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 9 mostra o teste de inibição de *E. coli* utilizando o vinagre de maçã.



Figura 9- Teste de inibição de bactérias *E. coli*: 3A- Vinagre de maçã 1 colher/L, 3B- Vinagre de maçã 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 9 que as placas M1 e M2 contendo vinagre de maçã apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactéria *E. coli*, a medida caseira de vinagre de maçã foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

A figura 10 mostra o teste de inibição de *E. coli* utilizando o vinagre de vinho tinto.



Figura 10- Teste de inibição de bactérias *E. coli*: 3A- Vinagre de vinho tinto 1 colher/L, 3B- Vinagre de vinho tinto 2 colheres/L, 3C- Controle.

Pode-se verificar na figura 10 que as placas T1 e T2 contendo vinagre de vinho tinto apresentaram crescimento de bactérias, assim como no controle (placa sem adição de vinagre). O teste mostrou que não houve inibição de bactérias *E.coli*, a medida caseira de vinagre de vinho tinto foi ineficiente na eliminação dessas bactérias.

Para ter um parâmetro de inibição um teste foi realizado com o mesmo procedimento e mesmas concentrações com hipoclorito de sódio. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio inibiu as cepas de bactérias *Mesófilas* e *E. coli* contidas nos meios.

VIJAYAKUMAR & WOLF HALL obtiveram bons resultados de redução de contagem de bactérias mesófilas e de *E. coli* (2 e 5 ciclos logaritmos respectivamente) utilizando vinagre de vinho branco em alface, porém utilizavam uma concentração de 35%.

Já Santos (2007), obteve uma redução de 1,51 ciclos logarítmicos para a cepa de *E. coli* utilizando vinagre de álcool.

Segundo a literatura o ácido acético é eficaz na redução de contagem de bactérias mesófilas e *E. coli*, más conforme discutido neste trabalho, a medida caseira 1 ou 2 colheres em 1 litro de água não é eficiente.

13. CONCLUSÃO

Os resultados de acidez dos vinagres utilizados mostraram que os teores estão de acordo com a legislação. O vinagre de álcool apresentou acidez de 4,32%, o vinagre de vinho branco 4,11%, o vinagre de vinho tinto 4,20% e o vinagre de maçã 4,08%.

Nos resultados de inibição os vinagres testados (maçã, álcool, vinho branco e vinho tinto) nas concentrações de 1 e 2 colheres por litro de água não foram eficientes para inibir o nascimento de bactérias mesófilas e de *E. coli*.

A mesma medida utilizando hipoclorito de sódio foi eficiente na inibição das bactérias mesófila e *E. coli*.

Conforme a literatura, o vinagre pode reduzir o crescimento de bactérias dependendo da concentração, mas conclui-se com este trabalho que isso não é possível nas medidas caseiras.

REFERÊNCIAS

AMORIM, J. R. A. Fatores que afetam a adequabilidade da água para irrigação. **Empresa Brasileira de Pecuária e Agricultura**. São Paulo, fev. 2003. Disponível na Internet: <http://www.cpatc.embrapa.br>, 10. Jun.2006.

AQUARONE, E., LIMA, U. A., BORZANI, W., SCHMIDELL, W. **Biotecnologia na produção de alimentos**. Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **AOAC official methods**: 96009, germicidal and detergent sanitizing action disinfectants. 16 th. ed. Gaithersburg, 1995. p. 9-11.

BALBANI, A. P. S., BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Revista de Pediatria**, v. 23, p. 320-328, 2001.

BASTOS, R. K. X. Avaliação da contaminação de hortaliças irrigadas com esgotos sanitários. In: CONGRESSO INTERAMERICANO INGENIERIA SANITÁRIA Y AMBIENTAL, 28, 2002, Cancun, México.

BELMONT. Indústria de Vinagres Belmont. Disponível na Internet: <http://www.vinagrebmont.com.br>, 26/06/2002.

BERBARI, S. A. G., PASCHOALINO, J. E., SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 21, n. 2, ago. 2001. Disponível na Internet: <http://www.scielo.com.br>, 20/08/2005.

BEUCHAT, L. R. Difficulties in eliminating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. **Acta Hort.** (ISHS) 642:151-160. Disponível na Internet: http://www.actahort.org/books/642/642_17.htm, 2004.

BEUCHAT, L. R., FABBER, J. M., GARRETT, E. H., HARRIS, L. J., PARISH, M. E., SUSLOW, T. V., BUSTA, F. F. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 7, p. 1079-1084, 2001.

BLANCO M, BLANCO J, BLANCO J. E, GONZÁLEZ E. A, GOMES T. A, ZERBINI L.F, YANO T, DE CASTRO A. F. Genes coding for Shiga-like toxins in bovine verotoxinproducing *Escherichia coli* (VTEC) strains belonging to different O:K:H serotypes. **Microbiol.**, v. 42, (2-3), p. 105-10, 1994

BRASIL. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040/61 referente às Normas Reguladoras de Emprego de Aditivos em Alimentos, alterado pelo Decreto nº 691/62. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Rio de Janeiro, 09 de abril de 1965, retificado pelo de 20 de abril de 1965.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Secretaria de Inspeção de Produto Vegetal. **Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Cerveja, Vinho, Vinho de Frutas, Fermentado de Cana, Saquê, Filtrado Doce, Hidromel, Jeropiga, Mistela, Sidra, Vinagre.** Brasília: Imprensa Nacional, 109 p., 1974.

BRASIL. **Decreto nº 99.066 de 08 de Março de 1990.** Brasília: Imprensa Nacional, 1990.

BRENES, C. H. Good manufacturing practices (GMPS) – **Buenas practices para la manipulación, embalaje, almacenamiento y transporte de productos frescos.** In: FDA, Food and Drug Administration. Manual de formación para instructores. Campus Monterrey, México, 2002.

BUCK, J. W., WALCOTT, R. R., BEUCHAT, L. R. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. **APS Net, Feature Story.** Jan.-fev. 2003.

CASTELO. Indústria de Vinagres Castelo. Disponível na Internet: <http://www.vinagrecastelo.com.br>, 26/06/2002.

DUNNICK, J. K., MELNICK, R. L. Assessment of the carcinogenic potential of chlorinated water: experimental studies of chlorine and trihalomethanes. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 19, p. 817-822, 1993.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Melhoria da Qualidade e Segurança de Frutas e Verduras Frescas: Curso para Multiplicadores,** Petrolina – PE, 2001.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos** 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1989. 652 p.

FERRARIS, M., CHIESARA, E., RADICE, S., GIOVARA, A., FRIGERIO, S., FUMAGALLI, R., MARABINI, L. Study of potential toxic effects on rainbow trout hepatocytes of surface water treated with chlorine or alternative disinfectants. **Chemosphere**, v. 60, n.1, p. 65-73, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Department of Agriculture. Centers for Disease Control and prevention. **Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables**. 1998. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov>, 15/07/2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. **Methods to Reduce/Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce**. Set. 2001.

FRANK, J. F., TAKEUSHI, K. Direct observation of *Escherichia coli* O157:H7 inactivation on lettuce leaf using confocal scanning laser microscopy. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL CONFERENCE OF INTERNATIONAL COMMITTEE ON FOOD MICROBIOLOGY AND HYGIENE, 1999, Veldhoven. p.795-7.

LEITÃO, M. F. F., MONTEIRO FILHO, E., DELAZARI, I., ANGELUCCI. Eficiência de sanitizantes na redução da contaminação bacteriana da alface. **Boletim Ital**, v. 18, n. 2, p. 201-226, 1981.

MORETTI, C. L. Boas práticas agrícolas para produção de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, jul. 2003.

NASCIMENTO, A. R., FILHO MOUCHREK, J. E., BAYMA, A. B., MARQUES, C. M. P. Sanitização de saladas “in natura” oferecidas em restaurantes *self-service* de São Luis – MA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 16, p. 92-93, 2002.

NASCIMENTO, M. S. **Avaliação comparativa de tratamentos químicos na sanitização de frutas e hortaliças**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2002.

NASCIMENTO, M. S., SILVA, N., CATANOZI, M. P. L. M., SILVA, K. C. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 1, p. 63-68, 2003.

NATARO, J. P & KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, p. 142-201, 1998

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Evaluacion de los servicios de água potable y saneamiento em las Américas. **Relação dos serviços de água e saneamento com a saúde, ambiente, desenvolvimento econômico e social**. 2000. Disponível na Internet: <http://www.cepis.ops-oms.org/eswww/eva2000/brasil/informe/informe/inf-07.htm>, 5/06/2006.

ØRSKOV, I & ØRSKOV, F. *Escherichia coli* serotyping and in man and animals. **Can. J. Microbiol.**, v. 38, p. 699-704, 1992

RANTHUM, M. A. **Subnotificação e alta incidência de doenças veiculadas por alimentos e seus fatores de risco: causas e conseqüências no município de Ponta Grossa – PR**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2001.

SANTOS, Y. T. O. **Qualidade sanitária de hortaliças cultivadas em um distrito sanitário de Salvador-BA e eficiência de soluções antimicrobianas sobre linhagens de *Escherichia coli***. Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde) – Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

SILVA Jr, E. O. Vias de transmissão. In: **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. p. 13-14.

TAKEMOTO, S. Y. **Avaliação do Teor de Acetoína em Vinagres como forma de verificação de sua genuinidade**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2000.

TAKEUCHI, K., FRANK, J. F. Quantitative determination of the role of lettuce leaf structures in protecting *Escherichia coli* O157: H7 from chlorine disinfection. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 2, p. 147-151, 2001.

TAUXE, R. V. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. **Emerging Infectious Diseases**, Georgia, USA, v. 3, n. 4, out.–dez. 1997.

VASCONCELOS, E. C., ZAPATA, J. F. F., FIGUEIREDO E. A., CASTELO BRANCO, M. A. A., BORGES, A. S. A microbiota da carcaça e da carne ovina tratada com ácido acético, embalada a vácuo e maturada por 48 dias. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 3, 2002.

VIJAYAKUMAR. C .,. HALL, W. Minimum bacteriostatic and bactericidal concentrations of household sanitizers for Escherichia coli strains in tryptic soy broth. *Food Microbiology* v. 19,. N. 4, p. 383-388, 2002.

WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva, 2003. Disponível na Internet: <http://www.who.int>, 20/07/2005.

