Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE SALADA DE
REPOLHO COM CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA APÓS O
TRATAMENTO POR RADIAÇÃO GAMA DESTINADO A PACIENTES
IMUNOCOMPROMETIDOS OU COM DIETAS ESPECIAIS**

Thaise Cristine Fernandes Nunes

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear- Aplicações

Orientadora: Dra. Susy Frey Sabato

**São Paulo
2015**

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE SALADA DE REPOLHO COM CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA APÓS O TRATAMENTO POR RADIAÇÃO GAMA DESTINADO A PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS OU COM DIETAS ESPECIAIS

Thaise C. F. Nunes

RESUMO

Durante e após o tratamento de câncer, de portadores de HIV ou transplantes, a alimentação pode oferecer um bem estar ao paciente, pois o ato de se alimentar corretamente auxilia as pessoas a se sentirem fortalecidas normalmente. Pessoas saudáveis possuem o seu sistema imunológico funcionando de maneira adequada, podendo combater pequenas quantidades de bactérias. Entretanto, pessoas imunocomprometidas podem não conseguir combater esta pequena quantidade de microrganismos e necessitam de uma dieta com baixa contagem microbiológica para evitar o contato com bactérias potencialmente danosas à saúde. Esta dieta é denominada dieta neutropênica. Esses pacientes são suscetíveis à contaminação alimentar, não sendo aconselhável a ingestão de produtos crus. A irradiação em vegetais, com baixas doses, tem a finalidade de reduzir a carga microbiana. Dessa forma a proposta deste trabalho foi obter dados de aspectos microbiológicos, sensoriais e físico-químicos em Mix Primavera minimamente processados submetidos a diferentes doses de radiação ionizante em dietas destinadas a pacientes imunocomprometidos ou imunossuprimidos. Foram utilizadas doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy irradiadas no Irradiador Multipropósito ^{60}Co localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) IPEN-CNEN/SP. Foram realizadas análises microbiológicas (n=25), utilizando Petrifilm, análises sensoriais utilizando o teste sensorial de aceitação (n=30) e triangular (n=15) e análise de textura (n=90) no Laboratório de Microbiologia de Alimentos no Centro de Tecnologia das Radiações. As análises de textura foram realizadas com o auxílio de um texturômetro T.A.XT. Plus (*Stable Micro System*) equipado com a célula de carga de 50kg utilizando a sonda (*probe*) de corte triangular

com lâmina Warner-Bratzler Knife com velocidade de descida de 2mm/s. Todos os resultados foram expressos em Newtons (N). Os resultados obtidos demonstraram que para as análises microbiológicas os padrões foram seguidos de acordo com a RDC nº 12/01 ANVISA. A análise sensorial não apresentou diferença significativa entre as amostras, entretanto no teste triangular com as doses de 4,0kGy e controle houve diferença significativa entre as amostras, demonstrando que a amostra de 3,0kGy seria a mais indicada para o público específico deste trabalho. Pode-se concluir que para uma dieta neutropênica sugere-se uma dose de 2,0kGy.

MICROBIOLOGICAL, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY EVALUATION OF CABBAGE AND CARROT MINIMALLY PROCESSED SALAD AFTER RADIATION TREATMENT INTENDED TO IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS OR WITH SPECIAL DIETS

Thaise C. F. Nunes

ABSTRACT

During and after the treatment of cancer, people with HIV or transplants, the food intake can offer a well-being to the patient, because the action of eating right helps people to feel strong. Healthy people have their immune system working properly and can tolerate small amounts of bacteria. However, immunocompromised persons may not be able to and however immunocompromised people cannot fight this small amount of microorganisms and require a diet with very low microbiological count to avoid contact with potentially harmful bacteria. This is called neutropenic diet. These patients are susceptible to food contamination, so that it's not advisable the ingestion of raw products. The vegetable irradiation with low doses has the purpose of reducing the microbial load. The aim of this study was to obtain data on microbiological, sensorial e physicochemical aspects in minimally processed "*Primavera*" salad irradiated with different doses of gamma radiation designed to immunocompromised patients. It were used doses of 1.0kGy, 2.0kGy, 3.0kGy and 4.0kGy irradiated in the Multipurpose Irradiator ⁶⁰Co located in Radiation Technology Center. Microbiological analyzes were performed (n=25) using Petrifilm, sensory analysis using the sensory acceptance test (n=30) and triangular (n=15) and texture analysis (n=90) in the Food Microbiology Laboratory located at the Radiation Technology Center. The texture analysis was performed with the aid of a texturometer equipped with 5 kg load cell using a triangular cutting Warner-Bratzler Knife blade probe with the descent speed of 2mm/sec. All results were expressed in Newtons (N). The results showed that for microbiological analyzes the standards were followed according to the RDC 12/01 ANVISA. For the sensory test of acceptance no difference was found among the samples, however in the triangular test could be found slight

differences between samples irradiated with 4.0kGy and control and there was significant difference among the sample, showing that the sample of 3.0kGy would be indicate for this specific public. It can be concluded that for a neutropenic diet the suggested dose is 2.0kGy.

AGRADECIMENTOS

À Dra Susy Frey Sabato por me aceitar como sua aluna de doutorado e por sua orientação, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao IPEN, especialmente ao Centro de Tecnologia das Radiações, representado pela Dra Margarida Mizue Hamada, gerente do CTR, pelo apoio financeiro, essencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo pela colaboração

À USJT na pessoa da Dra. Maria Raquel Manhani, Solange dos Anjos Castanheira e Pablo Garcia Carrasco pela valiosa colaboração e incentivo desde a graduação.

Ao Dr. Nelson Minoru Omi pela valiosa ajuda.

Ao Dr. Carlos pela valiosa colaboração.

Ao Dr. Pablo Antônio Vasquez Salvador, Sr. Paulo de Souza Santos e Sr. José Aparecido Nunes, pelo constante auxílio no tratamento por radiação das amostras no irradiador multipropósito.

Aos engenheiros Elizabeth Somessari e Carlos Gaia da Silveira, pelo constante auxílio na irradiação das amostras no Gammacell.

Ao Laboratório de Dosimetria do CTR, em especial à MSc. Célia Marina Napolitano e Salomão pelas dosimetrias essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus colegas do IPEN-CNEN/ SP, que ajudaram a realização deste trabalho em especial para Vladimir, Adriana, Juliana e Fabiana.

À minha família, pelo apoio e estímulo.

Sempre serei grata dos ensinamentos transmitidos da Simone Aquino e Tatiana Alves dos Reis durante o mestrado.

Agradeço ao Dias por todo carinho e ajuda ao longo desta jornada.

Agradeço á Cláudia Regina Nolla e ao Marcos Cardoso da Silva por toda ajuda prontamente prestada.

À todos aqueles que colaboraram para a criação, desenvolvimento e conclusão deste estudo os meus mais sinceros agradecimentos.

“Cada dia sabemos mais e entendemos menos”

ALBERT EINSTEIN

SUMÁRIO

	Página
1.INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo principal.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 Neutropenia.....	17
3.2 Originalidade do trabalho.....	21
3.3 Vegetais.....	23
3.3.1 CENOURA (<i>Daucus carota</i>).....	23
3.3.2 REPOLHO (<i>Brassica oleracea</i>).....	24
3.4 Microbiologia de vegetais minimamente processados.....	25
3.5 Irradiação de alimentos.....	26
3.5.1 Irradiação de vegetais minimamente processados.....	27
3.6 Textura de vegetais processados.....	29
3.7 Análise Sensorial.....	29
3.8 Legislação sobre Irradiação de Alimentos.....	30
3.9 Legislação sobre vegetais minimamente processados.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 Material e método de acondicionamento.....	33
4.2 Irradiação das amostras.....	33
4.2.1 Dosimetria das Amostras.....	34
4.3 Mix Primavera.....	35
4.4 Análises microbiológicas.....	36
4.4.1 Preparo das diluições decimais.....	38
4.4.2 Aeróbios mesófilos.....	38
4.4.3 Mesófilos psicrotróficos.....	39
4.4.4 Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	39

4.4.5 <i>Salmonella</i> spp.....	39
4.4.6 <i>Bacillus cereus</i>	39
4.4.7 Bolores e leveduras.....	39
4.4.8 <i>Staphylococcus aureus</i>	40
4.5 Análise sensorial.....	40
4.5.1 Teste Afetivo de Aceitação.....	40
4.5.2 Teste Triangular.....	42
4.6 Análises físico-químicas.....	43
4.6.1 Análise de textura.....	43
4.7 Análise estatística.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1 MICROBIOLOGIA.....	46
5.2 Análise sensorial.....	53
5.2.1 Análise de Aceitação.....	53
5.2.2 Análise triangular.....	60
5.3 Análises de textura.....	61
6.CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS	66

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Alimentos proibidos para pacientes que seguem uma dieta neutropênica.....	19
TABELA 2 Países que fazem parte do projeto coordenado de pesquisa (CRP D6.20.09) da Agência Internacional de Energia Atômica	22
TABELA 3- Padrões microbiológicos para alimentos - alimentos para grupos populacionais específicos (imunossuprimidos e imunocomprometidos).....	32
TABELA 4- Resultados da análises microbiológicas de Mix de salada primavera minimamente processada irradiados, expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).....	49
TABELA 5- Resultados do experimento microbiológico de mix de salada primavera minimamente processada irradiados, expressos em unidade formadora de colônia (UFC/g).....	49
TABELA 6- Teste Afetivo de Aceitação para Mix Primavera minimamente processados irradiados.....	60
TABELA 7- Valores de texturas de Mix Primavera minimamente processado	62

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1- Neutrófilo humano.....	17
FIGURA 2- Detalhe do Irradiador Multipropósito ^{60}Co localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) IPEN-CNEN	34
FIGURA 3- Detalhe do dosímetro Harwell Amber S 603nm.....	35
FIGURA 4- Detalhe da Câmara asséptica instalada no laboratório de microbiologia de alimentos (CTR-IPEN Agosto de 2014).....	37
FIGURA 5- Detalhe da Câmara asséptica instalada no laboratório de microbiologia de alime.....	38
FIGURA 6- Ficha de análise de aceitação aplicado no Laboratório de Alimentos CTR-IPEN.....	41
FIGURA 7- Ficha de análise de teste triangular aplicado no Laboratório de Alimentos CTR-IPEN.....	42
FIGURA 8- Detalhe do texturômetro equipado com lâmina Warner- Bratzler Knife localizado no Laboratório de Alimentos e instalado no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), do IPEN-CNEN/SP	44
FIGURA 9- Distribuição do atributo aparência resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....	54
FIGURA 10- Distribuição do atributo cor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....	55

FIGURA 11- Distribuição do atributo odor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....56

FIGURA 12- Distribuição do atributo textura resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....57

FIGURA 13- Distribuição do atributo sabor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....58

.
FIGURA 14- Distribuição do atributo impressão global resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processados irradiados.....59

1. INTRODUÇÃO

Durante e após o tratamento do câncer, a alimentação proporciona um bem estar para ao paciente, pois o ato de se alimentar corretamente auxilia as pessoas a se sentirem fortalecidas (PARTNERSHIP FOR FOOD SAFETY EDUCATION - PFSE, 2014). Pessoas saudáveis mantém seu sistema imunológico funcionando de maneira adequada, podendo combater pequenas quantidades de bactérias. Entretanto, pessoas imunocomprometidas não conseguem combater esta pequena quantidade de microrganismos e necessitam de uma dieta com baixa contagem microbiológica para evitar o contato com bactérias potencialmente danosas à saúde. Esta dieta é denominada dieta neutropênica (LIVESTRONG, 2013). Além desta nomenclatura, esta dieta recebe outras denominações como dieta com baixa contagem microbiológica, dieta com redução de bactérias ou dieta limpa (TODD et al., 1999 e DEMILLE et al., 2006).

Segundo Todd et al. (1999), a dieta neutropênica tem o propósito de minimizando a ingestão de bactérias e fungos, reduzindo assim a introdução de bactérias que podem passar pelo trato gastrointestinal e reduzindo seus riscos de infecção. Nesta dieta, vários alimentos comuns são proibidos e no caso de frutas e vegetais, estes tem que ser cozidos. A ingestão de castanhas cruas, por exemplo, é proibida.

Fontes importantes de contaminação alimentar incluem produtos que foram cozidos de maneira inapropriada ou mal manipulados. O consumo desses vegetais é associado a vários surtos (AHVENAINEN, 1997). Estudos relatam contagens de bactérias aeróbias mesófilas em vegetais minimamente processados variando de até 10^9 UFC/g (NGUYEN- THE, CARLIN, 1994; ZAGORY, 1999).

O uso de tratamentos combinados é empregado em vegetais minimamente processados sendo eles: sanitização com solução clorada, controle de

temperatura, congelamento e processamento por radiação gama (KAMAT et al., 2003).

A irradiação de alimentos tem um potencial de decréscimo da incidência de surtos alimentares. A radiação é uma energia transmitida no espaço em forma de ondas eletromagnéticas e envolve o uso de alta energia de radiação podendo ser raios gama (^{60}Co ou ^{137}Cs), raios-x (OSTHERHOLM e NORGAN, 2004). Além disso, há irradiação por feixe de elétrons com energia até 10 Mev.

A irradiação, com baixas doses, em vegetais tem a finalidade de reduzir a carga microbiológica, sendo descrita na literatura. Porém, os aspectos microbiológicos, sensoriais e físico-químicos desses vegetais precisam ser estudados com o propósito de servir a este público específico, uma vez que é recomendado incluir uma porção de vegetais crucíferos (repolho) na dieta diariamente.

Este trabalho faz parte de um projeto coordenado de pesquisa da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) com o propósito de oferecer alimentos que usualmente não poderiam ser consumidos por este público específico, neste caso pacientes imunocomprometidos que podem ser pessoas em tratamento de câncer, transplantados ou portadores de HIV, entre outros.

Diante do exposto, a proposta deste trabalho foi obter dados de aspectos microbiológicos, sensoriais e físico-químicos em Mix Primavera minimamente processadas em dietas destinadas a pacientes imunocomprometidos ou imunossuprimidos. Esses pacientes são suscetíveis à contaminação alimentar, não sendo aconselhável a ingestão de produtos crus.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de aplicação da radiação gama (^{60}Co) em salada de Mix Primavera minimamente processado destinada à pacientes com dietas especiais.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar a dose máxima de radiação gama sem que ocorram alterações significativas em seus atributos sensoriais e físico-químicos (textura);
2. Determinar a dose mínima de radiação gama para alcançar a segurança do produto para o público específico e;
3. Avaliar a redução da carga microbiana em função da dose de radiação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Neutropenia

A neutropenia é um termo designado para pacientes que possuem um decréscimo da contagem normal de neutrófilos no sangue (FIG. 1). A primeira linha de defesa contra infecção são os neutrófilos e a neutropenia indica uma atual ou potencial infecção, pois quando a contagem de neutrófilos é baixa o corpo fica vulnerável aos microrganismos. A neutropenia, na maioria dos casos, surge como um efeito do tratamento do câncer podendo atingir 80% dos pacientes (PIZZO, 1999; eCRIGHTON, 2004).

A neutropenia é comum e perigosa além de custosa em termos humanos e econômicos. O sofrimento físico a que estes pacientes são submetidos é severo, tendo como sintomas: febre relacionada à infecções e colite neutropênica, nessa situação o paciente tem um quadro de diarreia de mais de cinco episódios ao dia (CRIGHTON, 2004).

FIGURA 1- Neutrófilo humano (FAVARI, 2014)

Uma pessoa em boas condições de saúde possui a contagem normal de neutrófilos de maior que $1,5 \times 10^9/L$. Um paciente neutropênico possui contagem superior a $0,5 \times 10^9/L$ podendo ser resultado de um tratamento quimioterápico e uma profunda neutropenia apresenta contagem inferior $0,5 \times 10^9/L$ sendo este valor encontrado em uma profunda leucemia ou no transplante de medula (PATTNI e HANLON, 2010).

Os pacientes neutropênicos podem se encontrar nessas condições devido a tratamentos quimioterápicos, leucemia aguda ou imunossupressão seguida de um transplante de medula ou rim, bem como pacientes imunocomprometidos. A neutropenia pode acometer, aproximadamente, 10% a 50% das pessoas infectadas com HIV (PATTNI e HANLON, 2010).

Durante a quimioterapia o intestino grosso é lesado prejudicando a função de agir como barreira entre as bactérias e a corrente sanguínea. Sendo assim, fica facilitada a transposição das bactérias a esta barreira (LEUKAEMIA e LYMPHOMA RESEARCH- LLR, 2012).

Pacientes com contagem de neutrófilos abaixo do normal requerem uma dieta especial, por necessitarem de proteção contra microrganismos patogênicos e ou oportunistas, tais como bactérias, que podem estar presentes na água ou nos alimentos, prevenindo-os de infecções (DEMILLE et al., 2006; LEUKEMIA e LYMPHOMA SOCIETY RESEARCH -LLS, 2014).

Durante um período, os pacientes recebem instruções para evitar certos alimentos (TAB. 1) com o objetivo de diminuir a incidência de infecções. Somente é recomendada a ingestão de frutas ou vegetais cozidos (BARBER, 2001; NEUTROPENIC DIET-THISISAURL, 2014). Toda esta precaução é baseada na hipótese de que bactérias presentes nos alimentos podem aumentar o risco de infecções, sendo esta restrição uma precaução imposta aos pacientes (TODD et al., 1999).

TABELA 1 - Alimentos proibidos para pacientes que seguem uma dieta neutropênica de acordo com PATTNI e HANLON, 2010; LLR, 2012; University of Pittsburgh Medical Center - UPMC, 2013

Grupo	Alimentos
Vegetais crus	Qualquer vegetal que possua casca Saladas prontas para consumo Espinafre não cozido Alface Tomates crus Rabanetes
Frutas	Frutas com casca Uvas Maçã Amoras Frutas macias Morango
Frutas secas	Uva passa Damasco
Ovos	Ovo cru Ovo mal passado Maionese caseira
Carnes	Qualquer tipo de carne crua ou mal passada Carne bovina (carpacho) Carne de peixe (sushi, sashimi) Carne de frango
Castanhas	Castanhas cruas Amendoim Castanhas com casca

Adaptado de PATTNI e HANLON, 2010; LLR, 2012; UPMC, 2013

Continua...

TABELA 1 - Alimentos proibidos para pacientes que seguem uma dieta neutropênica de acordo com PATTNI e HANLON, 2010; LLR, 2012; University of Pittsburgh Medical Center- UPMC, 2013

Grupo	Alimentos
Mel	Fresco da fazenda
Temperos não cozidos	Pimenta Orégano
Bebidas	Álcool (cerveja, vinho) Suco de frutas não pasteurizado Gelo
Leite	Leite não pasteurizado Produtos probióticos (Yakult, Actimel) Iogurte não pasteurizado (feito em casa)
Queijos não pasteurizados (queijos Azuis e macios)	Brie Camembert
Pães, bolachas, cereais e batatas	Pães com nozes (12 grãos) Aveia crua Massa não cozida (salada de macarrão)

Adaptado de PATTNI e HANLON, 2010; LLR, 2012; UPMC, 2013

A dieta neutropênica antecede a dieta estéril e vem sendo utilizada desde 1960, com a intenção de diminuir o risco de infecções. A dieta neutropênica tem que ser mantida durante e após o tratamento até que o médico autorize sua retirada. Para isto, foram criados manuais, que estabelecem quais alimentos o paciente neutropênico pode e quais ele não pode ingerir com segurança e para que os familiares também possam ajudar nesta fase de melhora, que muitas vezes é realizada na casa do paciente (PATTNI e HANLON, 2010; LLR, 2012; UPMC, 2013).

Seguir uma dieta neutropênica é importante para reduzir a exposição do paciente às bactérias durante a neutropenia, pois existem bactérias que são oportunistas que podem estar no alimento; reduzindo assim a morbidade e mortalidade de pacientes imunocomprometidos (PATTON e HANLON, 2010).

Existe outro problema considerando-se que estes pacientes necessitam reduzir, que são as complicações orais, como a ocorrência crônica de infecções oportunistas como a Candidíase causada pela levedura *Candida* sp. especialmente em pacientes que foram submetidos a radioterapia, pacientes em quimioterapia ou transplante de medula (ADDY e MORAN, 1997). A incidência de candidíase em pacientes neutropênicos pode levar a hospitalização ou temporária suspensão da radioterapia (LANZOS et al., 2010). Ressaltando que após a quimioterapia existe um risco de infecção causada por contaminados por bactérias ou fungos (LLR, 2012). Por este motivo é importante a implementação da dieta neutropênica que minimize os efeitos e sintomas de pacientes que recebem a quimioterapia (DEMILLE, 2006).

3.2 Originalidade do trabalho

Este trabalho faz parte do projeto coordenado de pesquisa da Agência Internacional de Energia Atômica (*International Atomic Energy Agency- IAEA*), projeto CRP D6. 20.09, intitulado “Desenvolvimento de Alimentos Irradiados para Pacientes Imunocomprometidos e outros grupos em potencial” (*The Development of Irradiated Foods for Immuno-Compromised Patients and other Potential Target Groups*) onde participam 14 países, inclusive o Brasil. A ideia principal é estudarem a possibilidade de utilizar a radiação gama para reduzir a carga microbiana em alimentos que não poderiam ser servidos a pacientes imunocomprometidos, tais como, vegetais, frutas, sorvetes, molhos e outras sobremesas (TAB. 2). Este projeto coordenado de pesquisa, em parceria com o *Food and Agriculture of the United Nations* (FAO), vinculada à Organização Mundial de Saúde (OMS) e *International Atomic Energy Agency* (IAEA) fornecerá à comunidade mundial um documento técnico (TECDOC) ao seu término em 2015, que apresentará os resultados atingidos pelos quatorze países participantes, o que incluirá os dados desta tese.

TABELA 2 - Países que fazem parte do projeto coordenado de pesquisa (CRP D6.20.09) da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 2009, IAEA, 2010 e IAEA, 2011)

País	Alimento
Argentina	Pão altamente nutritivo, frutas e vegetais minimamente processados
Bangladesh	Salada de vegetais (pepino, tomate, cenoura, alface, pimentão verde)
Brasil	Salada de frutas, mix de vegetais, sorvete, molhos para saladas
Bulgária	Pimenta vermelha seca, almôndega
China	Salsicha, tofu seco, Sichuan pickle arroz e frango cozido (prato)
Coreia	Alimentos para astronautas
Estados unidos	Melancia, tomate, uva vermelha, morangos, abacate
Filipinas	Cozinha étnica Filipina, alimentos de emergência ou calamidade
Hungria	Frutas minimamente processadas, variedades de maçãs, banana
Índia	Produtos enterais de baixo custo, suco de cana, salada, sorvete
Indonésia	Alimentos de intervenção para residentes com HIV no Instituto Nacional de Narcóticos, alimentos étnicos
Paquistão	Pratos com brotos, frutas e vegetais minimamente processados
Portugal	Frutas e vegetais minimamente processados (cerejas, pêssegos, tomates)
Tunísia	Salada de vegetais, Cuscus

Adaptado de IAEA, 2009, IAEA, 2010 e IAEA, 2011

3.3 Vegetais

O consumo de frutas e vegetais tem sido inversamente associado com morbidade e mortalidade causadas por doenças degenerativas (RIMM et al., 1996; COHEN et al., 2000). Os vegetais contêm compostos que contribuem para a saúde, participando na defesa do organismo contra doenças crônicas. Estudos epidemiológicos demonstraram que o consumo regular de vegetais está associado à redução da morbidade e mortalidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis (KAUR e KAPOOR, 2002).

Algumas organizações internacionais como a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), Organização Mundial da Saúde (OMS), *World Health Organization* (WHO), *United States Department of Agriculture* (USDA), *European Food Safety Authority* (EFSA) recomendam um aumento no consumo de frutas e vegetais com o propósito de reduzir o risco de doenças cardiovasculares e câncer (ALLENDE et al., 2007).

No Brasil, existe a Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) que estimula uma nutrição saudável como uma iniciativa de incentivo ao consumo de frutas, verduras e legumes por contribuir no balanço energético, manutenção da saúde com a prevenção de doenças crônico-degenerativas e câncer (PNAN, 2014). Pinheiro e Gentil (2005) relatam que a população brasileira consome em média 3,37% (132g) do grupo de frutas, verduras e legumes do total de calorias diárias consumidas, sendo que o recomendado pela OMS é de 9% ou seja, 400g por dia.

3.3.1 Cenoura (*Daucus carota*)

A cenoura (*Daucus carota*) é uma das hortaliças mais produzidas no mundo, sendo muito utilizada na indústria de alimentos minimamente processados, podendo apresentar várias formas de comercialização como, por exemplo, ralada, cubos, fatias, palito e mini cenouras (SPAGNOL et al., 2006).

A cenoura é caracterizada no mercado de minimamente processados como um importante componente que predomina nas composições de saladas minimamente processadas, a cenoura é um vegetal versátil de sabor agradável e apresenta benefícios à saúde (ALASALVAR et al., 2001).

3.3.2 Repolho (*Brassica oleracea*)

O repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) é um membro da família Brassicaceae (Cruciferae), incluído entre os vegetais que são amplamente consumidos no mundo e possui importância econômica e nutricional (BEUCHAT, 1996; KAUR e KAPOOR, 2002; SINGH et al., 2009; JAISWAL et al., 2012). O repolho possui muitos fitoquímicos, como os compostos fenólicos e glucosinolatos que ajudam de maneira preventiva o corpo contra doenças como câncer, arteriosclerose e diabetes mellitus (TAVEIRA et al., 2009).

Existem poucos estudos relativos à pós-colheita e à textura de folhas de repolho. Devendo-se ressaltar que para o repolho a textura é um importante padrão de qualidade. BOURNE (2002) estudou a importância da textura no consumo de vegetais. Wennberg et al., (2002) analisou o tempo de prateleira de repolho e suas fibras dietéticas, onde por um pequeno tempo de estocagem a baixa temperatura ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) ocasionou perdas no conteúdo de fibras dietéticas.

Suojala (2003) determinou a firmeza de repolho estocado a baixas temperaturas e houve um decréscimo de perda de água através da respiração. Taniwaki e Sakurai (2008) e Taniwaki et al. (2009) determinaram a diferença de textura em diferentes cultivares estocados a baixas temperaturas utilizando vibrações acústicas, onde houve diferenças entre a textura de cultivares de inverno e verão dos repolhos.

Em outro trabalho referente a repolhos estocados em baixas temperaturas, foram irradiadas as amostras com feixes de elétrons, nas doses de 1,0kGy 2,0kGy 3,0kGy e 4,0kGy para o decréscimo de microbiota natural de repolho minimamente processado houve uma redução na contagem de microrganismos de 7logs com a dose de 4,0kGy. Pode concluir que existem grandes variações

entre as microbiotas dos repolhos minimamente processados devido a fatores naturais como tempo de plantio, colheita e processamento (GRASSO et al., 2011).

3.4 Microbiologia de vegetais minimamente processados

Os vegetais minimamente processados são produtos fatiados, apresentam alta atividade de água e seu pH varia entre 5 e 6, sendo classificados como alimentos de baixa acidez, favorecendo o crescimento de microrganismos. Os vegetais minimamente processados são sujeitos a uma alta deterioração fisiológica e microbiológica, quando comparados a um vegetal não fatiado, isto se deve ao estresse que eles sofrem. Um indicativo de matéria prima de má qualidade é a enumeração de bolores e leveduras. Leveduras podem ser encontradas nestes vegetais e com menos frequência fungos filamentosos (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994; WILLOCX, et al. 1994; TOURNAS, 2005; SANT'ANA e CORREA, 2006; RAGAERT, et al. 2007).

Na maioria dos pratos e preparações culinárias, os vegetais são servidos como saladas, e usualmente consumidos crus e a ingestão destes vegetais está relacionada a muitos surtos de doenças alimentares (BEUCHAT, 1996; AHVENAINEN, 1997).

A indústria de vegetais minimamente processados utiliza cloro (concentrações de 50ppm a 200ppm) sendo difundido como um dos sanitizantes mais eficientes na lavagem e desinfecção de produtos minimamente processados para assegurar a qualidade de seus produtos (BEUCHAT, 1998; JAY et al., 2005; GIL, et al., 2009, GRASSO et al., 2011). Entretanto, esses passos não garantem um produto livre de patógenos (GORNÝ e ZAGORY, 2014).

Alguns autores relatam na literatura que o uso de sanitizantes com a solução desinfetante reduz a contagem inicial em 2 ou 3logs (BEUCHAT et al., 2004; ALLENDE et al., 2007). Alegria et al. (2009) analisaram a microbiota inicial de cenouras minimamente processadas e obtiveram 6.4log para aeróbios mesófilos e 3.8log de bolores e leveduras. As cenouras minimamente

processadas sanitizadas com 200ppm de cloro apresentaram redução de apenas 1log na contagem de mesófilos totais e de bolores e leveduras.

3.5 Irradiação de alimentos

A irradiação de alimentos geralmente é definida como aplicação de um processo em que o alimento é exposto a doses controladas de radiação ionizante de fontes radioativas de ^{60}Co (raios gama), Raio-X ou Aceleradores de Elétrons de Alta Energia (SATIN, 2002, NIEMIRA e FAN, 2009).

O tratamento por energia ionizante não se limita apenas à superfície do alimento, pois há penetração nas camadas internas do produto, o que ocasiona a eliminação de microrganismos presentes em fendas e dobras irregulares de vegetais (PRAKASH et al., 2000).

O potencial de aplicação da radiação ionizante no processamento de alimentos baseia-se principalmente no fato de que a radiação ionizante danifica efetivamente o DNA causando danos diretos e indiretos, podendo ser afetados por radicais livres originados na radiólise da água (FARKAS, 2006), inativando células de microrganismos, fungos, gametas de insetos e inibindo a reprodução de insetos e brotamento dos vegetais (THAYER, 1990; TRITSCH, 2000; DERUITER e DWYER, 2002; FARKAS, 2006).

A irradiação é um tratamento não térmico que contribui para a prevenção de doenças alimentares reduzindo ou eliminando patógenos, tais como *Toxoplasma gondii*, trematóides, protozoários e microrganismos dentre eles a *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Yersinia* sp., *Listeria* sp. e *Shigella* sp.. O objetivo do tratamento por radiação é destruir o microrganismo inativando-o e tornando-o ineficaz para a reprodução (LOAHARANU, 1996; MOLINS et al., 2001).

Os benefícios da irradiação incluem o fato de que os produtos podem ser processados em sua embalagem final para a eliminação de uma possível

contaminação, destruindo bactérias patogênicas internalizadas sem cozimento. (FARKAS, 1998; GIL, et al., 2009).

Allende et al. (2007) relataram que tratamentos combinados são mais efetivos que a irradiação ou sanitização isoladas. A combinação de tratamentos físicos e químicos durante o processamento de vegetais minimamente processados pode ser uma ferramenta promissora para reduzir o risco biológico (GIL et al., 2009). Baixas doses de radiação gama são efetivas na eliminação de patógenos de vários tipos de alimentos em especial vegetais frescos aumentando-se a qualidade do produto (SOMMERS et al., 2004; ALLENDE et al., 2007, MURUGESAN, et al., 2011).

3.5.1 Irradiação de vegetais minimamente processados

Foley et al. (2002), combinando irradiação (5,5kGy) e sanitização com cloro obtiveram redução de aeróbios mesófilos, bolores, leveduras e *E.coli* em 5,4log em alface americano picado sem perda de textura. Niemira et al. (2002) concluíram que para inativar *E. coli* em alface a dose ideal é a de 1,0kGy.

Fan e Sokarai (2002a) irradiaram alface americano minimamente processados com doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy e foi relatado que com doses de 1,0kGy e 2,0kGy o produto apresentava uma aparência visual e firmeza melhores do que comparada com doses mais altas. Fan et al. (2003) e Fan e Sokarai (2002b) irradiaram coentro fresco com doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e doses até 2,0kGy não influenciaram o aroma sabor, cor, aparência global.

Foley et al. (2004) utilizaram tratamentos combinados de baixas doses de radiação com a sanitização com cloro ativo 200ppm para eliminar *E. coli* O157:H7 em coentro fresco e foi alcançado uma significativa redução na contagem de *E. coli*.

Prakash et al. (2000) com a dose de 1,0kGy demonstraram que as amostras de mini espinafre estavam abaixo de nível de detecção, obtendo uma

redução de 2log para bolores e leveduras. Neal et al. (2008) utilizando feixe de elétrons relataram redução de 4log e maior que 6log em *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* em mini espinafre com doses de 0,70kGy e 1,07kGy, respectivamente.

Grasso et al. (2011) analisaram a eficácia de baixas doses de radiação utilizando acelerador de elétrons em repolho minimamente processado com doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy, 4,0kGy e controle na redução da microbiota naturalmente presente nas amostras. As análises de bactérias totais e gram negativas naturalmente presentes apresentaram valores de 5,0 e 4,2log UFC/g nas amostras controle e com a dose de 1,1kGy, valores de 1,9 e 1,4log e <1log para as doses de 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy. Neste mesmo estudo, Grasso et al. (2011) inoculou-se *Escherichia coli* em repolho minimamente processado. Na dose de 2,3kGy houve redução de 4logs e com a dose de 4,0kGy a carga microbiana foi reduzida em 7logs, sendo esta a dose efetiva para redução de *Escherichia coli* inoculada na superfície de repolho minimamente processado.

Fan et al. (2003a) observaram, em cebolas minimamente processadas irradiadas com a dose de 1,0kGy, a redução de 2log UFC/g para aeróbios mesófilos. Murugesan et al. (2011) analisaram cebolas minimamente processadas irradiadas com doses de 1,5kGy, 2,0kGy e 2,5kGy. A carga inicial de bactérias aeróbias mesófilas foi de 5 a 8log UFC/g e com a utilização da radiação gama houve redução de 3log; para bactérias psicrotróficas a dose de 2,5kGy obteve uma redução de 3log UFG/g; para bolores e leveduras com a dose de 1,5kGy as amostras estavam abaixo do limite de detecção obtendo assim uma redução de 3log UFG/g para bolores e leveduras. Analisando a textura de cebolas verdes minimamente processadas irradiadas não houve diferença significativa na firmeza das hastes e do bulbo, entretanto houve um decréscimo significativo na firmeza das folhas.

Nguyen-the e Carlin (1994) relataram uma contagem de 6log UFC/g para mesófilos em cenouras minimamente processadas. Kamat et al. (2005) irradiaram cenouras fatiadas e a dose de 2,0kGy foi efetiva para ficar abaixo do limite de detecção de *E coli*.

3.6 Textura de vegetais processados

O sentido do tato fornece informações sobre a textura e temperatura em dois níveis: na boca e na mão. A textura é um atributo físico importante, pois fornece satisfação ao consumidor, ajudando no exercício mastigatório. Os dentes têm participação na análise sensorial no parâmetro textura, pois as ramificações do nervo dental que terminam na membrana periodontal que envolve o dente no maxilar são sensíveis às pressões e participam na percepção da textura. A percepção mecânica inicial da primeira mordida é denominada dureza para vegetais. A definição de dureza é a força requerida para morder o vegetal com o dente molar, ou seja, força necessária para produzir certa deformação sensorial requerida para a compressão de uma substância entre os dentes molares (DUTCOSKY, 2007).

Dois fatores fundamentais que afetam a qualidade e aceitabilidade de vegetais minimamente processados são a textura e a cor. A perda de textura em vegetais minimamente processados é indesejada e o maior problema para estes produtos (TOIVONEN, 2008). Propriedades de textura como a firmeza é muito utilizada como padrão de aceitabilidade pelo consumidor e para processadores de alimentos; para analisar estes parâmetros de qualidade sensorial podem-se utilizar análises sensoriais e instrumentais (CHEN e OPARA, 2013).

A textura é uma medida de penetração calculada com base na força máxima, em Newtons (BOURNE, 1978). A firmeza é uma escala de resistência que envolve forças compressivas, sendo um parâmetro relacionado com a primeira mordida e a força mecânica aplicada neste momento (HERH et al., 2000).

3.7 Análise Sensorial

O consumo de alimentos é fenômeno complexo influenciado por vários fatores. As propriedades sensoriais têm sido consideradas como determinantes na seleção de um produto pelo consumidor (DANTAS et al., 2005). O processo de

decisão de compra, leva em consideração diferentes atributos (RAGAERT et al., 2007).

Os vegetais frescos possuem características sensoriais de produto fresco, que incluem primeiramente a aparência e características como aroma e sabor, uniformidade de cor e tamanho. Componentes de qualidade como firmeza e crocância das folhas são importantes em preparações como saladas (CANTWELL e REID, 1993). Peri (2006) define qualidade do alimento como aptidão para o consumo, o que satisfaz o consumidor. A qualidade sensorial de um alimento não é uma característica própria dele e sim uma interação entre alimento e homem (DUTCOSKY, 2007).

A aceitação do consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Entre os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos está a Escala Hedônica, onde o consumidor expressa sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varie gradativamente com base nos termos gosta e desgosta. A escala hedônica é um método de graduação de preferência em níveis de qualidade pelo alimento (CHAVES e SPROESSER, 1993).

Os testes de aceitação avaliam o quanto um consumidor gosta ou desgosta de um determinado produto, sendo uma importante ferramenta de análise sensorial por acessar diretamente a opinião de consumidores efetivos e potenciais (ALLENDE et al., 2007).

3.8 Legislação sobre Irradiação de Alimentos

A ação da radiação ionizante sobre microrganismos é bem conhecida, entretanto mudanças em atributos sensoriais de vegetais e frutas necessitam ser avaliados caso a indústria pretenda submeter esses produtos ao processo de irradiação (MARTINS et al., 2007). A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que aprovou o regulamento técnico para irradiação de alimentos RDC nº 21, em 26 de Janeiro de 2001, estabelece o uso da irradiação de alimentos com a finalidade de assegurar a qualidade sanitária do

produto final (BRASIL, 2001a). Esta resolução define que qualquer alimento poderá ser tratado por radiação, desde que sejam observadas as seguintes condições:

1. A dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e:
2. A dose máxima absorvida deve ser inferior aquela em que se comprometeriam as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais dos alimentos.

Nos Estados Unidos da América existe uma regulamentação do Código Federal / “*Code of Federal Regulations title 21*” (21 CFR 7926) que define a aplicação e limite de dose para alimentos irradiados, como controle de patógenos de origem alimentar em produtos refrigerados como alface americana e espinafre na dose máxima de 4,0kGy (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION -FDA, 2013).

3.9 Legislação sobre vegetais minimamente processados

A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que utiliza a resolução RDC nº 12 em 2 de Janeiro de 2001, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos de acordo com a tabela 3 (BRASIL, 2001b).

TABELA 3- Padrões microbiológicos para alimentos - para grupos populacionais específicos (imunossuprimidos e imunocomprometidos)

Microrganismos	Número
Coliformes termotolerantes	Ausência
Estafilococos coagulase positiva	10
<i>Bacillus cereus</i>	5×10^2
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência em 25g
Bolor e levedura	5×10

Adaptado de RDC nº12/01 legislação para alimentos para grupos populacionais específicos (imunossuprimidos e imunocomprometidos)

Esses padrões foram criados para atender vários tipos de alimentos em especial o item 26 da RDC 12/ 2001 que contempla o objetivo deste trabalho: alimentos para grupos populacionais específicos, incluindo as dietas enterais e excluindo os alimentos infantis; (item b) alimentos para imunossuprimidos e imunocomprometidos, excluindo os que serão consumidos após a adição de líquidos com o emprego de calor.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Materiais e método de acondicionamento

Os vegetais minimamente processados foram adquiridos no comércio varejista da cidade de São Paulo. Todas as amostras utilizadas foram do mesmo fornecedor, porém analisadas em tempos diferentes (semestralmente) durante um período de quatro anos. Foi utilizada, neste trabalho, uma mistura de vegetais denominada Mix Primavera minimamente processado contendo cenoura (*Daucus carota*) e repolhos verde e roxo ralados (*Brassica oleracea* L. var. capitata) embalados com polipropileno (250g). Os vegetais foram acondicionados em caixas isotérmicas e refrigerados a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.2 Irradiação das amostras

As amostras foram irradiadas no Irradiador Multipropósito de ^{60}Co , localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (FIG. 2) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN- CNEN/ SP).

Figura 2- Detalhe do Irradiador Multipropósito ^{60}Co localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) IPEN-CNEN em Agosto de 2014

Na irradiação das amostras as caixas térmicas foram preenchidas com gelo reciclável, para que a temperatura interna da caixa fosse mantida a $4\pm 1^\circ\text{C}$ e para que não houvesse oscilação de temperatura durante o processo de radiação. A taxa de dose foi $4,5\text{kGy/h}$.

4.2.1 Dosimetria das Amostras

Para mensurar a dose de radiação foram utilizados dosímetros Harwell Amber S 603nm com faixa atuação de 1 a 10kGy (FIG. 3). A leitura da dose foi realizada pelo Laboratório de Dosimetria em Processos de Irradiação do Centro de Tecnologia das Radiações/IPEN espectrofotômetro *Genenys 20*. Após a irradiação as amostras foram imediatamente armazenadas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ em câmara fria por 24 horas.

FIGURA 3- Detalhe do dosímetro Harwell Amber S 603nm (Harwell, 2014)

4.3 Mix Primavera

O Mix Primavera (composto de repolho verde, roxo e cenoura) minimamente processado foi analisado quatro vezes. No primeiro experimento, três pacotes de 250g foram tratados nas doses de 0,5kGy e 1,0kGy.

Na segunda análise foram utilizados cinco pacotes de 250g por tratamento. As amostras foram irradiadas com doses de 1,0kGy, 1,5kGy e 2,0kGy.

Na terceira análise foram utilizados cinco pacotes de 250g por tratamento e as amostras foram irradiadas com doses de 1,0kGy, 2,0kGy 3,0kGy e 4,0kGy.

Na quarta análise foi introduzida uma etapa adicional de sanitização. As amostras foram compradas previamente sanitizadas no mercado varejista e ao chegarem ao laboratório, antes de serem irradiadas as amostras foram sanitizadas novamente com 20ppm conforme as indicações do fabricante (Hidrosteril) foi colocado em um recipiente plástico e coberto com água, foi adicionado 1mL (20 gotas) de hipoclorito de sódio 2,5% para um litro de água e o tempo de contato foi de 15 minutos, centrifugados durante 3 minutos, embalados e logo após irradiadas.

Foram utilizados cinco pacotes de 250g por tratamento com doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy. Foram realizadas as quatro análises com o objetivo de analisar a salada em diferentes tempos.

4.4 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos localizado no Centro de Tecnologia das radiações do IPEN (FIG 4 e 5), de acordo com a metodologia recomendada pela AOAC (2002).

A última análise microbiológica foi realizada no ano de 2014 em um laboratório certificado (TECAM) em análise físico-química e microbiologia acreditada pela ISO 17025 que possui Boas Práticas de Laboratório (BPL), para efeito de validação das análises anteriores.

Figura 4- Detalhe dos equipamentos no Laboratório de Microbiologia de Alimentos no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) no IPEN-CNEN/SP em Agosto de 2014

Figura 5- Detalhe da Câmara asséptica instalada no laboratório de microbiologia de alimentos (CTR-IPEN Agosto de 2014)

4.4.1 Preparo das diluições decimais

Para o preparo das diluições decimais foram retiradas alíquotas de 10g da amostra e adicionados 90mL de água peptonada tamponada (0,1%) e homogeneizada em homogeneizador de amostras. Desta diluição foram realizadas as outras diluições seriadas (1:10) utilizando o mesmo diluente até 10^{-6} em a semeadura das diluições foi realizada em duplicata.

4.4.2 Aeróbios mesófilos

A contagem de mesófilos aeróbios foi realizada em Petrifilm™ 3M™ *Aerobic Count* (AC). As amostras foram incubadas por 48 ± 3 h a $35 \pm 1^\circ\text{C}$, segundo o método AOAC (990.12) sendo inoculado 1mL de cada diluição.

4.4.3 Mesófilos psicrotróficos

A contagem de mesófilos psicrotróficos foi realizada em Petrifilm™ 3M™ Aerobic Count (AC). As amostras foram incubadas por 10 dias a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, segundo o método AOAC (990.12) sendo inoculado 1mL de cada diluição.

4.4.4 Coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*)

A contagem de coliformes totais e *E. coli* foi realizada em Petrifilm™ 3M™ EC. As amostras foram incubadas por 24 ± 2 h a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$, segundo método AOAC (991.14), sendo inoculado 1mL de cada diluição.

4.4.5 *Salmonella* spp.

A contagem de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com a metodologia AOAC (2011.03), *easy Salmonella method* utilizando *Vidas Salmonella* (SLD).

4.4.6 *Bacillus cereus*

A contagem de *Bacillus cereus*, foi realizada em ágar Manitol-Polimixina B (ágar MYP- Merck®). As amostras foram incubadas durante 18 a 24 horas a 30°C . Foram feitas as contagens de exemplares de bactérias do grupo de *B. cereus* realizado de acordo com APHA (2001).

4.4.7 Bolores e leveduras

Para bolores e leveduras foi realizado em placas em 3M™ Petrifilm™ YM (*Yeast and Mold*), a 25°C por 3 a 5 dias (método AOAC 997.02); sendo inoculado 1mL de cada diluição por semeadura. A leitura de leveduras foi realizada com três dias e a leitura de bolores em 5 dias, após a incubação.

4.4.8 *Staphylococcus aureus*

Para *Staphylococcus aureus* foi realizado em placas em 3M™ Petrifilm™ STX (*Staphylococcus Express*) à 35°C por 24 horas (método AOAC 2001.05).

4.5 Análise sensorial

4.5.1 Teste Afetivo de Aceitação

O Teste Afetivo de Aceitação foi aplicado utilizando 30 provadores não treinados (funcionários e alunos do IPEN-CNEN/SP, com idade entre 25 e 60 anos, de ambos os sexos), que avaliaram a diferença global entre as amostras processadas com diferentes doses de radiação, com o objetivo de definir limites de aceitação para a salada Mix Primavera minimamente processado.

Foram servidos 10g do produto de cada amostra, dispostas em copos plásticos descartáveis codificados com três dígitos e uma ficha de aceitação (FIG. 6) contendo uma escala hedônica de 9 pontos, com os extremos “gostei muitíssimo” nota 9 e “desgostei muitíssimo” nota 1.

As análises foram conduzidas no Laboratório de Análise de Alimentos Irrradiados do Centro de Tecnologia das Radiações no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. A análise de Mix Primavera minimamente processado foi realizada com as amostras submetidas as doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy.

As amostras foram analisadas com relação aos parâmetros aparência, cor, odor, textura, sabor e impressão global (ABNT- NBR 12806/1993, DUTCOSKY, 2007).

Idade: _____

Beba um gole de água e avalie a amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto.

Número da amostra _____

Aparência	Cor	Odor
9-Gostei muitíssimo	9-Gostei muitíssimo	9-Gostei muitíssimo
8-Gostei muito	8-Gostei muito	8-Gostei muito
7-Gostei regularmente	7-Gostei regularmente	7-Gostei regularmente
6-Gostei ligeiramente	6-Gostei ligeiramente	6-Gostei ligeiramente
5-Indiferente	5-Indiferente	5-Indiferente
4-Desgostei ligeiramente	4-Desgostei ligeiramente	4-Desgostei ligeiramente
3-Desgostei regularmente	3-Desgostei regularmente	3-Desgostei regularmente
2-Desgostei muito	2-Desgostei muito	2-Desgostei muito
1-Desgostei muitíssimo	1-Desgostei muitíssimo	1-Desgostei muitíssimo

Sabor	Textura	Impressão global
9-Gostei muitíssimo	9-Gostei muitíssimo	9-Gostei muitíssimo
8-Gostei muito	8-Gostei muito	8-Gostei muito
7-Gostei regularmente	7-Gostei regularmente	7-Gostei regularmente
6-Gostei ligeiramente	6-Gostei ligeiramente	6-Gostei ligeiramente
5-Indiferente	5-Indiferente	5-Indiferente
4-Desgostei ligeiramente	4-Desgostei ligeiramente	4-Desgostei ligeiramente
3-Desgostei regularmente	3-Desgostei regularmente	3-Desgostei regularmente
2-Desgostei muito	2-Desgostei muito	2-Desgostei muito
1-Desgostei muitíssimo	1-Desgostei muitíssimo	1-Desgostei muitíssimo

Comentários: _____

FIGURA 6- Ficha de análise de aceitação aplicado no Laboratório de Alimentos CTR-IPEN (DUTCOSKY,2007)

4.5.2 Teste Triangular

O teste triangular de escolha forçada foi realizado no Laboratório de Irradiação de Alimentos, localizado no Centro de Tecnologia das Radiações. O teste triangular foi aplicado para o minimamente processado. Foram servidas, para os provadores (n=15), três amostras dispostas de maneira aleatória previamente elaborada, codificadas com três dígitos cada e servidas com um copo de água (FIG. 7). Para a elaboração do teste foram feitas todas as combinações possíveis para que os provadores sempre recebessem as amostras diferentes um dos outros (ABNT- NBR 12995/1993; DUTCOSKY, 2007).

Informou-se ao provador que das 3 amostras, 2 eram iguais e 1 era diferente, o provador deveria encontrar a amostra diferente (FIG 7). A dose utilizada neste teste foi de 4,0kGy e comparada com a amostra controle.

<p>Idade: _____</p> <p>Você está recebendo três amostras codificadas: duas amostras são iguais e uma amostra é diferente. Por favor, prove as amostras, da esquerda para a direita, e depois circule o número da amostra diferente das demais e comente sobre as diferenças percebidas.</p> <p>_____</p> <p>Comentários: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
--

FIGURA 7- Ficha de análise de teste triangular aplicado no Laboratório de Alimentos CTR-IPEN (DUTCOSKY,2007)

O teste foi realizado utilizando-se 15 provadores selecionados que já possuíam experiência com testes triangulares (alunos e funcionários do IPEN-CNEN/SP com idade entre 20 e 60 anos, de ambos os sexos) que avaliaram qual amostra era diferente.

4.6 Análises físico-químicas

4.6.1 Análise de textura

As análises de textura foram realizadas com o auxílio de um texturômetro T.A.XT. Plus (*Stable Micro System*) equipado com a célula de carga de 50kg utilizando a sonda (*probe*) de corte triangular com lâmina Warner- Bratzler Knife e a velocidade de descida utilizada foi de 2mm/s (FIG. 8). Todos os resultados foram expressos em (N) Newtons (JAISWAL et al., 2012). Esta análise foi realizada para se determinar a firmeza e a dureza que é a força aplicada pela sonda que corta a amostra. A textura do Mix Primavera minimamente processado foi analisada no dia seguinte ao da irradiação (24h). As análises foram realizadas nas amostras dos cinco tratamentos com 6 repetições em triplicata cada dose (n= 18 por dose). As doses empregadas foram 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy ,4,0kGy e controle.

FIGURA 8 Detalhe do texturômetro equipado com lâmina Warner- Bratzler Knife localizado no Laboratório de Alimentos e instalado no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), do IPEN-CNEN/SP.

Houve uma prévia preparação para esta análise. Cada pacote foi acomodado em um vasilhame plástico grande e homogeneizado manualmente; 20g do Mix Primavera minimamente processado foi coletado e em seguida amarradas as extremidades com barbante. Todas as amostras possuíam o diâmetro 8cm entre dois pontos da extremidade da amostra. Os vegetais do Mix Primavera minimamente processado foram colocados de maneira centralizada na plataforma “heavy duty” do texturômetro e um corte central único foi realizado. Esta análise foi realizada de acordo com o programa do texturômetro para a lâmina Warner- Bratzler Knife.

4.7 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada aplicando-se a Análise de Variância ANOVA ($p < 0,05$). As diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste Tukey de Múltipla Comparação com o nível de significância de 5%, utilizando-se o software *GraphPad*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Microbiologia

Na primeira análise microbiológica foram analisados os seguintes microrganismos: aeróbios mesófilos, leveduras e bolores do Mix Primavera minimamente processado (TAB. 4).

A RDC 12/01 estabelece para alimentos destinados a grupos populacionais específicos (imunossuprimidos e imunocomprometidos) a contagem máxima de 10 UFC/g para *Staphylococcus aureus*, ausência de *Salmonella* spp e de coliformes, e $5,0 \times 10^1$ UFC/g para bolores e leveduras (BRASIL, 2001b).

Na análise de aeróbios mesófilos observou-se uma redução de 4log com a dose de 1,0kGy o que pode ser considerado uma expressiva redução de microrganismos presentes. Entretanto, uma dose maior seria o ideal a se empregar com o intuito de reduzir a carga microbiana, para os pacientes imunocomprometidos ou com dietas especiais como proposto neste trabalho.

A dose de 0,5kGy reduziu a carga inicial de leveduras em apenas 2log ($5,2 \times 10^2$ UFC/g). Para a dose de 1,0kGy a redução foi de 2log ,ou seja, a contagem foi de $1,4 \times 10^2$ UFC/g, demonstrando que doses maiores seriam necessárias. A contagem de bolores ficou abaixo do nível de detecção.

As segundas análise microbiológicas foram realizadas com as doses maiores de 1,0kGy ,1,5kGy e 2,0kGy uma vez que o primeiro experimento resultou em poucos níveis de redução microbiológica. Após irradiação (raios gama). Nesta análise, foram investigadas bactérias mesófilas, leveduras, bolores, coliformes totais e *Escherichia coli*. Pode-se observar uma redução na contagem de microrganismos em todas as análises (TAB. 4 e 5). A contagem inicial de

bactérias aeróbias mesófilas era de 6log e foi reduzida para 4log, com a dose de 2,0kGy.

Para a análise de leveduras houve contagem inicial de $1,0 \times 10^3$ UFC/g na amostra controle. Com as doses de 1,0kGy e 1,5kGy a redução foi pouco significativa, sendo de $1,8 \times 10^2$ UFC/g e $4,3 \times 10^2$ UFC/g, respectivamente. Somente com a dose de 2,0kGy houve redução de 2logs ($9,4 \times 10^1$ UFC/g). Para bolores a dose de 2,0kGy foi suficiente para reduzir a carga inicial a níveis não detectáveis.

TABELA 4. Resultados das análises microbiológicas de Mix de salada primavera minimamente processada irradiados, expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g)

Dose (kGy)	TBC***	Leveduras	Bolores	Coliformes Totais
<i>Primeiro experimento</i>				
Controle	$5,1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^4$	ND**	NR*
0,5	$2,0 \times 10^4$	$5,2 \times 10^2$	ND**	NR*
1,0	$5,0 \times 10^1$	$1,4 \times 10^2$	ND**	NR*
<i>Segundo experimento</i>				
Controle	$7,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^3$	ND**	$4,3 \times 10^4$
1,0	$1,7 \times 10^5$	$1,8 \times 10^2$	ND**	$6,5 \times 10^1$
1,5	$2,7 \times 10^3$	$4,3 \times 10^2$	ND**	$3,1 \times 10^1$
2,0	$7,1 \times 10^2$	$9,4 \times 10^1$	ND**	ND**
<i>Terceiro experimento</i>				
Controle	$8,3 \times 10^6$	$4,0 \times 10^2$	$8,5 \times 10^3$	$9,7 \times 10^3$
1,0	$2,6 \times 10^4$	$0,5 \times 10^1$	$2,2 \times 10^3$	$0,5 \times 10^1$
2,0	$3,0 \times 10^1$	ND**	$4,6 \times 10^2$	ND**
3,0	ND**	ND**	$0,8 \times 10^1$	ND**
4,0	ND**	ND**	ND**	ND**
<i>Quarto experimento (sanitização + irradiação)</i>				
Controle	$5,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^1$	$0,8 \times 10^1$	$1,2 \times 10^4$
1,0	$0,5 \times 10^1$	$0,3 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$	ND**
2,0	ND**	ND**	ND**	ND**
3,0	ND**	ND**	ND**	ND**
4, 0	ND**	ND**	ND**	ND**

* análises não realizadas (NR)

** não detectado (ND)

*** total de bactérias contáveis

Continua...

TABELA 5. Resultados das análises microbiológicas de Mix de salada primavera minimamente processada irradiados, expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g)

Dose (kGy)	<i>E. coli</i>	<i>Bactérias Psicrotróficas</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Primeiro experimento</i>					
Controle	NR*	NR*	NR*	NR*	NR*
0,5	NR*	NR*	NR*	NR*	NR*
1,0	NR*	NR*	NR*	NR*	NR*
<i>Segundo experimento</i>					
Controle	1,3x10 ²	NR*	NR*	NR*	NR*
1,0	ND**	NR*	NR*	NR*	NR*
1,5	ND**	NR*	NR*	NR*	NR*
2,0	ND**	NR*	NR*	NR*	NR*
<i>Terceiro experimento</i>					
Controle	ND**	5,9x10 ⁶	ND**	NR*	NR*
1,0	ND**	5,8x10 ³	ND**	NR*	NR*
2,0	ND**	ND**	ND**	NR*	NR*
3,0	ND**	ND**	ND**	NR*	NR*
4,0	ND**	ND**	ND**	NR*	NR*
<i>Quarto experimento (sanitização + irradiação)</i>					
Controle	ND**	8,0x10 ²	ND**	<1x10 ²	ND**
1,0	ND**	ND**	ND**	<1x10 ²	ND**
2,0	ND**	ND**	ND**	<1x10 ²	ND**
3,0	ND**	ND**	ND**	<1x10 ²	ND**
4, 0	ND**	ND**	ND**	<1x10 ²	ND**

* análises não realizadas (NR)

** não detectado (ND)

A análise de coliformes totais revelou que a dose de 2,0kGy reduziu a carga inicial a níveis não detectáveis. Para *E. coli* observou-se uma redução de 2log com a dose de 1,0kGy. Esta segunda análise demonstrou que a dose de 2,0kGy foi a mais efetiva para a redução da população microbiana.

A terceira análise foi realizada com doses de 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy com a amostra adquirida no comércio varejista e irradiada no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR/IPEN). Foram analisados aeróbios mesófilos, leveduras, bolores coliformes totais, *E. coli*, psicrotróficos e *S. aureus* (TAB. 4 e 5).

As bactérias mesófilas tiveram contagem inicial de $8,3 \times 10^6$ UFC/g. Com a dose de 1,0kGy ($1,0 \times 10^4$ UFC/g) houve a redução de 2log comparado com a amostra controle; já a dose de 2,0kGy ($3,6 \times 10^1$ UFC/g) foi suficiente para reduzir a carga inicial em 5log. A dose de 3,0kGy foi suficiente para reduzir a carga inicial a níveis não detectáveis.

A análise de leveduras apresentou contagem inicial de $4,0 \times 10^2$ UFC/g. Com doses de 1,0kGy houve a redução de 1log e não detecção de contagem com a dose de 2,0kGy. A contagem inicial de bolores foi de $8,5 \times 10^3$ UFC/g. Com as doses de 1,0kGy e 2,0kGy a carga inicial foi reduzida para $2,2 \times 10^3$ UFC/g e $4,6 \times 10^2$ UFC/g, respectivamente. A dose de 3,0kGy ($0,8 \times 10^1$ UFC/g) não foi suficiente para reduzir a quantidade inicial a níveis não detectáveis, sendo 4,0kGy a dose que reduziu a níveis não detectáveis.

Na análise de coliformes a dose de 1,0kGy foi suficiente para reduzir a contagem inicial, de $9,7 \times 10^3$ UFC/g, a níveis não detectáveis. Não foi observado crescimento de *E. coli*.

A análise de bactérias psicrotróficas demonstrou contagem inicial de $5,9 \times 10^6$ UFC/g e com a dose de 1,0kGy houve a redução de 3log ($5,8 \times 10^3$ UFC/g); já a dose de 3,0kGy foi suficiente para reduzir a níveis não detectáveis. A última análise realizada no terceiro teste foi de *S. aureus* onde todas as análises apresentaram abaixo do limite de detecção deste microrganismo.

Na quarta análise microbiológica, observou-se observado que a amostra controle apresentou contagem inicial reduzida de todos os microrganismos (TAB. 4 e 5), provavelmente devido à inserção de uma segunda etapa de sanitização

antes da etapa de irradiação, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* e *Salmonella spp.* Não foram detectadas.

As análises de mesófilos aeróbios apresentaram resultados de $5,0 \times 10^5$ UFC/g para a amostra controle e abaixo do limite de detecção já na dose de 1,0kGy. As análises de leveduras demonstraram que, mesmo com a segunda etapa de sanitização inserida antes da irradiação, as amostras apresentavam contagens de $6,0 \times 10^1$ UFC/g. Com a dose de 1,0kGy a redução foi de 1log ($0,3 \times 10^1$ UFC/g) e com a dose de 2,0kGy houve ausência de contagem. Para as análises de bolores o resultado inicial obtido foi de $0,8 \times 10^1$ UFC/g e com a dose de 1,0kGy houve uma redução para $0,6 \times 10^1$ e somente com a dose de 2,0kGy houve ausência de bolores.

As amostras de coliformes totais tiveram uma contagem inicial de $1,2 \times 10^4$ UFC/g, sendo reduzida a níveis não detectáveis com a dose de 1,0kGy. As amostras de *E. coli* apresentaram ausência de contagem em todas as análises. As análises de psicrótrófos e *S. aureus* foram realizadas somente nas últimas duas análises. Sendo que os psicrótrófos tiveram uma contagem inicial de $8,0 \times 10^2$ UFC/g e com 1,0kGy apresentou-se abaixo do limite de detecção.

As bactérias aeróbias mesófilas estão presentes em vegetais minimamente processados e podem-se encontrar contagens variando de 10^3 a 10^9 UFC/g (NGUYEN-THE e CARLIN, 1994; ZAGORY, 1999). De acordo com Fantuzzi et al. (2004) a contagem inicial das bactérias mesófilas em repolho minimamente processado foi de aproximadamente de 10^4 UFC/g, estando em desacordo com os resultados obtidos neste trabalho, pois em todas as quatro análises microbiológicas a contagem foi superior a deste autor, ou seja as amostras do presente trabalho estavam mais contaminadas. Nenhum das quatro análises apresentou esta contagem, sendo que a menor contagem foi de 10^5 UFC/g.

Outros autores têm reportado altos níveis de microrganismos em cenoura fatiada, com a contagem de bactérias totais entre 10^6 a 10^7 UFC/g, estando em acordo com a segunda e terceira análises, que obtiveram contagens iniciais de $7,1 \times 10^6$ e $7,3 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente; e em desacordo com a primeira e

quarta análises, onde os valores encontrados foram de $5,1 \times 10^5$ e $7,2 \times 10^5$ UFC/g, respectivamente (BRACKETT, 1994, LU et al., 2005, NGUYEN-THE e CARLIN, 1994).

Lu et al. (2005) reportaram uma contagem inicial de bactérias totais, bolores e leveduras em aipo, de 10^6 e 10^8 UFC/g, respectivamente; já a dose de 1,0kGy a contagem foi de 10^3 e 10^4 UFC/g. No presente trabalho, com a dose de 2,0kGy, observou-se uma redução de 2log na contagem de leveduras (terceira e quarta análises) e apenas 1log na segunda análise a redução na contagem inicial de bolores foi de 1log. Para coliformes totais houve redução de $1,1 \times 10^3$ UFC/g para $4,3 \times 10^1$ UFC/g segundo este o autor.

Na segunda análise, a contagem inicial de coliformes foi $1,3 \times 10^2$ UFC/g. Esta análise não atende, portanto, a resolução para grupos populacionais específicos. Na terceira e quarta análise as amostras controle apresentaram ausência na contagem de coliformes fecais, estando em acordo com a RDC 12/01.

A análise de *S. aureus* resultou em abaixo do nível de detecção para todas as amostras analisadas, estando de acordo com a legislação destinada a grupos populacionais específicos. A contagem de *Bacillus cereus* foi inferior a $1,0 \times 10^2$ UFC/g, estando em acordo com a legislação, que estabelece uma contagem máxima de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Para *Salmonella* spp. o Mix Primavera minimamente processado encontra-se dentro dos padrões estabelecidos pela RDC 12/01, que preconiza ausência em todas as amostras.

Os últimos microrganismos para os quais a RDC 12/01 estabelece padrões são os bolores e leveduras, que podem apresentar contagem máxima de $5,0 \times 10^1$ UFC/g para grupos populacionais específicos. As análises realizadas demonstraram que o Mix Primavera minimamente processado apresentou altas contagens destes microrganismos nas amostras controle, sendo que os valores encontrados para bolores e leveduras foram de $1,6 \times 10^4$ UFC/g, $1,0 \times 10^3$ UFC/g, $1,2 \times 10^6$ UFC/g e $6,8 \times 10^2$ UFC/g para a primeira, segunda, terceira e quarta análises respectivamente. Porém com a dose de 3,0kGy a contagem desses

microrganismos foi abaixo do limite de detecção e no quarto ensaio foi abaixo do limite de detecção com a dose de 2,0kGy. O uso de tratamentos combinados é utilizado na melhoria da qualidade microbiológica de vegetais minimamente processados, utilizando-se soluções cloradas, controle de temperatura, resfriamento e processamento por radiação gama (KAMAT et al., 2003).

5.2 Análise sensorial

5.2.1 Análise de Aceitação

A população que realizou este teste consistia de provadores com idade entre 20 a 60 anos e grupos foram estabelecidos com suas respectivas porcentagens onde 50% dos provadores representavam de 20 a 30 anos, 13,3% dos painelistas representavam o grupo de pessoas com idade entre 31 a 40, 13,3% dos indivíduos representavam o grupo 41 a 50 e o último grupo foi representado por 23,3% das pessoas acima de 51 anos.

A faixa de idade mais representativa foi a que compreende entre 20 e 30 anos. Segundo Dutcosky (2007) o indivíduo com menor idade possui maior sensibilidade como provador sensorial, entretanto a sensibilidade pode variar com o indivíduo. O segundo grupo com maior representatividade nesta análise foi o grupo acima de 51 anos e pode ser de grande importância, pois empiricamente as pessoas de maior idade já consumiram mais vezes esse alimento e tem uma bagagem alimentar maior do que um jovem com maior sensibilidade. A percentagem entre homens e mulheres na análise sensorial foi tabulada, sendo 70% homens e 30% mulheres.

Foi realizada a análise da frequência dos atributos aparência, cor, odor, textura e impressão global com o objetivo de se avaliar como os provadores se comportaram em relação à amostra referente a cada atributo. A nota de corte neste experimento foi seis “gostei ligeiramente”.

Na FIG. 9 mostra-se o gráfico de distribuição de frequência do atributo aparência, onde a maioria das doses para esse atributo concentraram-se na nota

8 “gostei muito”, exceto a amostra de 4,0kGy que obteve pontuação na nota de corte 6 “gostei ligeiramente”.

FIGURA 9- Distribuição do atributo aparência resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

Pode-se observar que a nota 9 “gostei muitíssimo” não obteve uma frequência de resposta máxima para as amostras irradiadas, ficando apenas com a amostra controle, entretanto deve-se ressaltar que as maiores notas foram atribuídas a nota 8.

O gráfico de distribuição de notas para o atributo cor (FIG. 10) foi muito semelhante ao gráfico de distribuição de notas para o atributo aparência (FIG. 9). A principal diferença foi que, para o atributo cor, as notas foram desconcentradas das notas 1, 2, e 3, migrando para as notas 4 e 5, principalmente para a nota 5 que é referente ao “indiferente” para o tributo cor. A maioria das amostras obteve a maior concentração na nota 8, exceto a amostra de 4kGy onde a maior pontuação ficou com a nota de corte 6 “gostei ligeiramente”.

FIGURA 10- Distribuição do atributo cor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

Para os resultados de odor (FIG. 11), a frequência de respostas dos provadores foi semelhante a dos gráficos de distribuição de aparência e de cor, porém com notas um pouco menores e novamente a amostra de 4,0kGy obteve a nota máxima na nota de corte. O destaque deste gráfico, foi a distribuição da nota 5 “indiferente”, que obteve alta frequência de respostas para as amostras irradiadas. Outra observação importante é que nenhum provador atribuiu a nota 1 “desgostei muitíssimo” para odor, demonstrado pela aceitação começar na nota 2.

FIGURA 11- Distribuição do atributo odor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

A análise de aceitação de textura (FIG. 12) demonstrou que a textura foi aceita pelos provadores em todas as doses. As amostras de maior dose apresentaram notas 7 “gostei regularmente” e 8 “gostei muito”.

Ressaltando que todas as doses pontuaram com a nota 9 e os somatórios de médias acima da nota de corte foram superiores a 70% das notas.

FIGURA 12- Distribuição do atributo textura resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

Em relação ao sabor o gráfico de distribuição de sabor (FIG. 13) obteve um pico na nota 4 para a amostra de 3,0kGy, demonstrando que 23,3% “desgostaram ligeiramente” da amostra.

Entretanto, o somatório das médias acima da nota de corte (6, 7, 8, e 9) demonstrou que essa amostra obteve 63,2% de aceitação e para as outras notas novamente o padrão estabelecido da nota 8 manteve-se. A maioria das notas para o aspecto “gostei muito” exceto para a amostra de 4,0kGy que ficou com a frequência de resposta máxima.

FIGURA 13- Distribuição do atributo sabor resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

O último atributo analisado foi a impressão global (FIG. 14) sendo este o aspecto mais importante por unir todas as características anteriores (aparência, cor, odor, textura e sabor) em um único atributo.

FIGURA 14- Distribuição do atributo impressão global resultado da análise de aceitação das amostras de Mix Primavera minimamente processadas irradiados

O somatório das médias a partir da média 6 demonstrou 86,5%, 86,5%, 76,6%, 78,9% e 73,2% para as amostras controle, 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy, respectivamente.

Sendo estas boas médias, pode-se observar que a amostra de 3,0kGy obteve uma resposta melhor para o atributo impressão global do que as amostras 2,0 e 4,0kGy.

Após a análise estatística (TAB. 6) pode-se concluir que não houve diferença significativa entre as amostras; esses resultados foram similares aos encontrados por HAJARE et al. (2006). Entretanto, CHAUDRY et al. (2004) reportaram que conforme o aumento das doses de radiação, a aparência e o sabor foram afetados pela irradiação com o decréscimo de pontos.

TABELA 6. Teste Afetivo de Aceitação para Mix Primavera minimamente processadas irradiados

Doses (kGy)	Atributos		
	Aparência	Cor	Odor
Controle	7,00± 1,71 ^a	7,24± 1,50 ^a	6,55± 1,76 ^a
1,0	7,00± 1,73 ^a	6,90± 1,54 ^a	6,48± 1,81 ^a
2,0	6,31± 2,19 ^a	6,21± 2,19 ^a	5,93± 1,98 ^a
3,0	6,69± 1,71 ^a	6,86± 1,66 ^a	5,72± 1,98 ^a
4,0	6,31± 1,77 ^a	6,41± 1,80 ^a	5,79± 1,63 ^a
	Textura	Sabor	Global
Controle	7,17± 1,71 ^a	7,14± 1,79 ^a	7,03± 1,59 ^a
1,0	6,86± 1,73 ^a	6,69± 1,77 ^a	6,72± 1,71 ^a
2,0	6,38± 2,19 ^a	6,24± 2,25 ^a	6,48± 2,06 ^a
3,0	6,72± 1,81 ^a	6,21± 2,11 ^a	6,52± 1,60 ^a
4,0	6,52± 1,62 ^a	6,38± 1,87 ^a	6,31± 1,63 ^a

Números seguidos da mesma letra dentro de cada categoria não diferem significativamente (p<0,05)

5.2.2 Teste triangular

O teste triangular foi realizado utilizando-se a amostra controle e a amostra de 4,0kGy, com o propósito de evidenciar se houve diferença entre a amostra irradiada com maior dose em relação ao controle, pois no teste de aceitação não houve diferença significativa entre as amostras (controle, 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy e 4,0kGy).

O teste foi realizado com provadores (n=15) classificados por idade 20 a 30 anos (33,3%), 31 a 40 anos (6,6%), 41 a 50 (26,6%) e acima de 51 anos (33,3%).

O teste triangular de escolha forçada apresentou mais comentários: 6,6% dos provadores relataram que a amostra de 4,0kGy era de sabor mais doce; 6,6% sabor menos acentuado; 6,6% frescor inferior; 6,6% sabor mais forte; 13,3% odor mais intenso e 26,6% textura mais macia. Nenhum provador relatou uma descaracterização da amostra de 4,0kGy comparada com a controle.

Dentre os 66,6% dos comentários realizados o de maior importância, foi o que a amostra de 4,0kGy era mais macia. Entretanto foi analisado no teste de aceitação (5.2.1) e não houve diferença entre as amostras.

Já no teste triangular houve 60% de respostas corretas, os provadores puderam demonstrar que houve diferença entre as amostras sensorialmente para o teste triangular.

Segundo a tabela de autora Dutcosky (2007), houve diferença entre as amostras no teste triangular, a tabela preconiza que a partir de 9 provadores com respostas corretas para pode-se definir se houve diferença significativa entre as amostras.

Neste teste foram encontradas 9 respostas corretas, sendo assim houve diferença entre as amostras de 4,0kGy e controle, demonstrando que a dose de 4,0kGy foi aceita sensorialmente pelo consumidor. Entretanto quando o consumidor era forçado a encontrar diferença, provou haver diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$) no teste triangular.

5.3 Análises de textura

A firmeza não foi afetada pela radiação gama com doses até 4,0kGy. Entretanto a dureza foi afetada pela radiação gama e algumas flutuações podem ser observadas na TAB. 7. A amostra irradiada com 3,0kGy demonstrou altos valores comparados com as outras, havendo diferença estatística entre as amostras.

Han et al. (2004) observaram que vegetais tornam-se mais macios com altas doses de radiação gama apresentando diferença estatística entre as amostras. Esta observação difere dos resultados de textura obtidos neste trabalho, pois os vegetais analisados no texturômetro não apresentaram diferença estatística.

TABELA 7. Valores de texturas de Mix Primavera minimamente processado

Doses (kGy)	Firmeza (N)	Perda de firmeza (%)
Controle	3,29± 1,77 ^a	-
1,0	2,76± 0,71 ^a	16,32
2,0	2,60± 0,78 ^a	19,35
3,0	2,90± 1,03 ^a	12,01
4,0	2,48± 0,73 ^a	24,78
	Dureza (N)	Aumento de dureza (%)
Controle	18,03± 6,62 ^a	-
1,0	19,58± 7,61 ^a	8,63
2,0	19,69± 8,11 ^a	9,24
3,0	24,91± 9,92 ^b	38,18
4,0	20,87± 7,91 ^a	15,79

^{a, b} letras diferentes diferem estatisticamente (p < 0,05)

Os resultados aqui obtidos estão de acordo com os resultados obtidos por Hajare (2006), onde as cenouras irradiadas com 2,0kGy não apresentaram diferença estatística na dureza após a irradiação. Estes valores concordam com os resultados reportados por Rastogi et al. (2006) que, utilizando tratamentos combinados com radiação gama, obteve uma redução na textura de 25% em comparação a amostra controle. Rastogi et al. (2005) encontrou valores próximos aos resultados do presente trabalho com uma porcentagem de redução de textura

em relação à dureza de 24,36%, 47,18%, 63,33% e 69,23% para as amostras de cenoura irradiadas com 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12kGy, respectivamente.

Nayak et al. (2007) obteve uma redução de textura de 34% com dose de 12kGy para cenouras que foram submersas em cloreto de cálcio. Em contrapartida Han et al. (2004) observaram que alguns vegetais tornaram-se mais macios com altas doses de radiação.

Alguns autores relataram que com o aumento das doses de radiação (superiores a 12kGy) houve um decréscimo na textura (como dureza, coesividade e elasticidade), demonstrando que as microestruturas claramente intactas e bem definidas da parede celular da amostra controle, começaram a se tornar menos densas e separadas, causando o amaciamento do tecido vegetal (Nayak et al. (2006) e (2007) e Rastogi, 2005). A exposição à radiação gama resulta na quebra da parede da célula, tornando-as menos densas e espaçadas com o aumento da dose de radiação e o amaciamento dos tecidos (RASTOGI et al., 2005).

A análise de firmeza demonstrou que não houve diferença significativa entre as amostras de Mix Primavera minimamente processado. Esses resultados estão de acordo com aqueles demonstrados por AHN et al. (2005), onde foi irradiado repolho minimamente processado embalado sob atmosfera modificada e nenhuma diferença na textura foi detectada entre as amostras controle e as irradiadas com 0,5kGy, 1,0kGy e 2,0kGy.

PRAKASH et al. (2000) relataram que alface romano minimamente processado irradiado teve uma perda de textura de 10%, mas nenhuma diferença ou perda sensorial foi relatada como aroma e aparência. Resultados similares foram encontrados por FAN et al. (2003a) em alface americana, onde as amostras irradiadas tiveram uma redução de firmeza comparada com a amostra controle. SUOJALA (2003) reportou que a firmeza de repolhos estocados em baixas temperaturas decresce linearmente devido à perda de água através da transpiração e perda de matéria seca através da respiração. TANIWAKI e SAKURAI (2008) demonstraram que existem diferenças estruturais em diferentes

tipos de repolho. Contrário a essas observações, KHATTAK et al. (2005) recomendam doses de 2,5kGy para repolhos e pepinos minimamente processados para manter a qualidade sensorial e de firmeza. HAN et al. (2004) descrevem que as folhas e talos de alface romano irradiados são mais fáceis de cortar se comparados a amostra controle.

CONCLUSÃO

A irradiação na dose mínima de 2,0kGy foi a mais eficiente na eliminação de microrganismos em Mix de salada primavera minimamente processada, estando dentro dos limites exigidos pela legislação e garantindo a segurança microbiológica.

Resultados de textura revelam que alterações, como o aumento da dureza, podem ser observadas com o aumento da dose de radiação para a dose de 3,0kGy. Entretanto, esses vegetais foram analisados demonstrando uma boa aceitação pelo consumidor.

O Mix de salada minimamente processada irradiado com doses de até 4,0kGy apresentou boa aceitação no teste de aceitação. Para o teste triangular o provador demonstrou saber qual era a amostra irradiada, por ela ser mais macia em comparação com o controle.

De acordo com os resultados obtidos nas análises físico-químicas, sensoriais e microbiológicas a dose de 2,0kGy foi a mais efetiva para utilizar no Mix Primavera minimamente processado, desde que a etapa de sanitização seja acrescentada antes da irradiação. Este tratamento combinado reduz a carga microbiana e não interfere nos parâmetros sensoriais e de textura. Conclui-se que esta dose pode ser indicada para o consumo de pacientes imunocomprometidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDY, M.; MORAN, J.M. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. ***Periodontol*** **2000**, v.15, p.52-4,1997.

AHN, H.J.; KIM, J.H.; KIM, J.K.; KIM, D.H.; YOOK, H.S.; BYUN, M.W. Combined effects of irradiation and modified atmosphere packaging on minimally processed Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). ***Food Chemistry***, v. 89, n.4, p. 589-597, 2005.

AHVENAINEN. R. Review- New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. ***Trends in Food Science Technology***, v. 71, n.6, p. 179-187, 1997.

ALASALVAR, C.; GRIGOR, J. M.; ZHANG, D.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v.49, n.3, p. 1410–1416, 2001.

ALEGRIA, C.; PINHEIRO, J.; GONÇALVES, E.M.; FERNANDES, I.; MOLDÃO, M. ABREU, M. Quality attributes of shredded carrot (*Daucus carota* L. cv. Nantes) as affected by alternative decontamination processes to chlorine. ***Innovative Food Science and Emerging Technologies***, v. 10, n.1, p. 61–69,2009.

ALLENDE, A.; MARTÍNEZ, B.; SELMA, .V.; GIL, M.I.; SUÁREZ, J.E.; RODRÍGUEZ, A., Growth and bacteriocin production by lactic acid bacteria in vegetable broth and their effectiveness at reducing *Listeria monocytogenes* in vitro and in fresh-cut lettuce. ***Food Microbiology***, v. 24, n.7, p. 759–766, 2007.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), ***Compendium of methods for the microbiological examination of foods***. 4th ed. Washington: APHA 311-316. 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ***Análise sensorial de Alimentos e bebidas: procedimento***. Rio de Janeiro: ABNT, 1993. (NBR 12806).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ***Análise sensorial de Alimentos e bebidas: procedimento***. Rio de Janeiro: ABNT, 1993. (NBR12995).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International*. 18. ed. Arlington, VA, 2002.

BARBER, F.D. Management of fever in neutropenic patients with cancer. ***Nursing Clinics of North America***, v. 36, n.4, p. 631-644, 2001.

BEUCHAT, L. R. ***Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: A review. Food safety unit Brussels Belgium: World Health Organisation WHO/FSF/FOS/98.2.,1998.***

BEUCHAT, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. ***Journal of Food Protection***, v.59, n.2, p. 204-216, 1996.

BEUCHAT, L.R.; ADLER, B.B.; LANG, M.M. Efficacy of chlorine and a peroxyacetic acid sanitizer in killing *Listeria monocytogenes* on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. ***Journal of Food Protection***, v. 67,n.6, p.1238–1242, 2004.

BOURNE, M. C. Texture profile analysis. ***Food Technology***, v.32, n.7, p.62-66,1978.

BOURNE, M.C. ***Food texture and viscosity: Concept and Measurement***. Academic Press. San Diego, 2002.

BRACKETT, R.E. ***Microbiological spoilage and pathogen in minimally processed refrigerated fruit and vegetables***. New York:NY.; Chapman and Hall, 269-312, 1994.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. ***Aprova a regulamento técnico para irradiação de alimentos***. Publicada no Diário Oficial da União de 29 de janeiro de 2001.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. ***Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos***. Publicada no Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001.

CANTWELL, M.; REID, M.S. Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs. ***Journal of Herbs Spices e Medical Plants***, v.1, n.3, p. 93-127, 1993.

CHAUDRY, M.A.; BIBI, N.; KHAN, M.; KHAN, M.; BADSHAH, A.; QURESHI, M.J. Irradiation treatment of minimally processed carrots for ensuring microbiological safety. ***Radiation Physics and Chemistry***, v.71, n.1 p. 171-175, 2004.

CHAVES, J.B.P.; SPROESSER, R.L. ***Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas***. Viçosa, MG.: Universidade Federal de Viçosa, 1993.

CHEN, L.; OPARA, U. L. Texture measurement approaches in fresh and processed fruits- a review. ***Food Research International***, v.51, n.2, p.823-835, 2013.

COHEN, J.H.; KRISTAL, A.R.; STANFORD, J.L. Fruit and vegetables intakes and prostate cancer risk. ***Journal of the National Cancer Institute***, v. 92,n.1, p. 61-68, 2000.

CRIGHTON, M. Dimension of neutropenia in adult cancer patients. ***Cancer Nursing*** ,v. 27, n. 4, p. 275-284, 2004.

DANTAS, M.I.S.; DELIZA, R.; MINIM, V.P.R.; HEDDERLEY, D. Avaliação da intenção de compra de couve minimamente processada. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos***, v. 25, n.4, p. 762-767, 2005.

DEMILLE, D.; DEMING, P.; LUPINACCI, P.; JACOBS, L.A The effect of the neutropenic diet in the outpatient setting: a pilot study. ***Oncology Nursing Forum***, v.33, n.2, p. 337-343, 2006.

DERUITER, F.E.; DWYER, J. Consumer acceptance of irradiated foods: dawn of a new era? ***Food Science Technology.***, v. 2, n.2, p. 47-58, 2002.

DUTCOSKY, S. D. ***Análise sensorial de alimentos***. 2.ed. Curitiba: Champagnat, p.239 ,2007

FAN, X., SOKORAI, K., Sensorial and chemical quality of gamma irradiated fresh-cut iceberg lettuce in modified atmosphere packages. ***Journal of Food Protection***, v 65, n.26, p.1760–1765, 2002a.

FAN, X., SOKORAI, K. Changes in volatile compounds of gamma irradiated fresh cilantro leaves during cold storage.***J. Agric. Food Chem***, v.50,p. 7622–7627, 2002b.

FAN, X.; NIEMIRA, B.A.; SOKORAI, K.J.B. Use of ionizing radiation to improve sensory and microbial quality of fresh-cut green onion leaves. ***Journal of Food Science***, v. 68, n.4, p.1478–1483, 2003.

FAN, X.; TOIVONEN, P.M.; RAJKOWSKI, K.; SOKORAIL K. Warm water treatment in combination with modified atmosphere packanging reduces undesirable effects of irradiation on the quality of fresh-cut iceberg lettuce. ***Journal of Agricultural Food Chemistry***, v.51, n.5, p.1231-1236, 2003.

FANTUZZI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M.C.; Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos***, v.24, n.2, p. 207-211, 2004.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. ***International Journal of Food Microbiology***, v. 44, n. 33, p. 189-204, 1998.

FARKAS, J. Irradiation for better foods. ***Trends in Food Science & Technology***, v. 17, n.4, p. 148-152, 2006.

FÁVARI, P. **Estudo sobre melatonina abre caminho para tratar derrame e outros males, São Paulo, mai. 2012.** USP Online Destaque, **Seção Ciência.** Disponível em :<<http://www5.usp.br/10551/httpwww-ib-usp-brcronofarmaco/>> Acesso em: 10 de jun de 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION U.S. FDA -Final Rule (73 FR 49593). ***Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food*** 21 CFR Part 179 Abr. 2013. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=179.26>> Acesso em 20 mar. 2014.

FOLEY, D.M.; DUFOUR, A.; ROCLRIGUE, I.; CAPORASO, F.; PRAKASH, A. Reduction of *Escherichia coli* 0157:H7 in shredded iceberg lettuce by chlorination and gamma irradiation. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 63, p.391-396. 2002.

FOLEY, D.M.; EUPER, M.; CAPORASO, F.; PRAKASH, A. Irradiation and chlorination effectively reduce *Escherichia coli* 0157:H7 inoculated on cilantro

(*Coriandrum sativum*) without negatively affecting quality. **Journal of Food Protection**, v. 67, n.10, p.2092-2098, 2004.

GIL, I.G.; SELMA, F.L.; ALLENDE, A. Fresh-cut product sanitization and wash water disinfection: problems and solutions. **International journal of microbiology**, v.134, p. 37-45, 2009.

GORNY, J. R.; ZAGORY, D. Food safety. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery crops**. Abr. 2004. Disponível em: < <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/contents.html> > Acesso em: 2 mai. 2014

GRASSO, E.; URIBE-RENDON, R.M.; LEE, K. Inactivation of *Escherichia coli* Inoculated onto Fresh-Cut Chopped Cabbage Using Electron-Beam Processing **Journal of Food Protection**, v. 74, n.1, p.115–118, 2011.

HAJARE, S.N.; DHOKANE, V.S.; SHASHIDHAR, R.; SHARMA, A.; BANDEKAR, J.R., Radiation Processing of Minimally Processed Carrot (*Daucus carota*) and Cucumber (*Cucumis sativus*) to Ensure Safety: Effect on Nutritional and Sensory Quality. **Journal of Food Science**, v. 71, n.3, p.198-203, 2006.

HAN, J.; GOMES-FEITOSA, C.L.; CASTELL-PEREZ, E.; MOREIRA, R.G.; SILVA, P.F. Quality of packaged romaine lettuce hearts exposed to low-dose electron beam irradiation. **Food Science Technology**, v.37, n.7, p. 705–715, 2004.

HARWELL- DOSIMETER Disponível em < <http://www.harwell-dosimeters.co.uk/harwell-amber-3042/> > Acesso em: 08 Ago. 2014.

HERH, P. K.W.; COLO, S. M.; ROYE, N.; HEDMAN, K. Rheology of foods: New techniques, capabilities, and instrument. ATS Reosystems, Jun, 2000. Disponível em: < <http://www.atsrheosystems.com/pdf%20files/food%20paper.pdf> >. Acesso em 10 Jan. 2014.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Use of Irradiation for Shelf-Stable Sterile Foods for Immuno-compromised Patients and Other Specific Target Groups, Nov, 2009. Disponível em: < <http://www-naweb.iaea.org/nafa/fep/crp/fep-irradiated-foods-for-ICP-CM.pdf>> acesso em 08 Ago. 2014

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Use of Irradiation for Shelf-Stable Sterile Foods for Immuno-compromised Patients and Other Specific Target Groups, Ago, 2010. Disponível em: <<http://www-naweb.iaea.org/nafa/fep/crp/fep-irradiated-foods-for-ICP-1RCM.pdf>>. Acesso em: 08 Ago. 2014

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Use of Irradiation for Shelf-Stable Sterile Foods for Immuno-compromised Patients and Other Specific Target Groups, Nov, 2011. Disponível em: <<http://www-naweb.iaea.org/nafa/fep/crp/fep-irradiated-foods-for-ICP-2RCM.pdf>>. Acesso em : 08 Ago. 2014

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/IEC 17025: frequently asked questions. Disponível em: <http://www.a2la.org>. Acesso em: 03/2013.

JAISWAL, A.K.; GUPTA, S.; ABU-GHANNAM, N. Kinetic evaluation of colour, texture, polyphenols and antioxidant capacity of Irish York cabbage after blanching treatment. **Food Chemistry**, v.131, n.1, p. 63–72, 2012.

JAY, J.M.; LOESSNER M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology** 7.ed. NewYork, NY.: Springer Sciencez Business Media, 2005.

KAMAT, A.; PINGULKAR, K.; BHUSHAN, B.; GHOLAP, A.; THOMAS, P.; Potential application of low dose of gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. **Food Control**, v.14, n.8, p. 529-37. 2003

KAMAT, A.S.; GHADGE, N.; RAMAMURTHY, M.S.; ALUR M.D. Effect of low-dose irradiation on shelf life and microbiological safety of sliced carrot. ***Journal Science of Food Agriculture***, v.85, p. 2213-2219, 2005.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. ***International Journal of Food Science and Technology***, v. 37,n.3, p. 153-161, 2002.

KHATTAK, A.B.; BIBI, N.; CHAUDRY, M.A.; KHAN, M.; KHAN, M.; QURESHI, M.J Shelf life extension of minimally processed cabbage and cucumber through gamma radiation. ***Journal of Food Protection***, v. 68, n.1, p. 105-110, 2005.

LANZÓS, I.; HERRERA, D.; SANTOS, S.; O'CONNOR, PENA. C.; LANZOS, E.; SANZ, M. Mucositis in irradiated cancer patients: Effects of an antiseptic mouthrinse. ***Medicina Oral Patologia Oral Cirurgia Bucal***, v.15, n.5, p. 732-738, 2010.

LEUKAEMIA E LYMPHOMA RESEARCH (LLR). Beating Blood Cancer Dietary advice for patients with Neutropenia Leucemia. ***Leukaemia lymphoma research on line***, Londres. Jan. 2012 Disponível em: <https://leukaemialymphomaresearch.org.uk/sites/default/files/dapn_jan_2012.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2014.

LEUKEMIA & LYMPHOMA SOCIETY RESEARCH (LLS). ***Food and Nutrition facts.***, n. 24. p.1-6, Out. 2013. Disponível em: <<https://www.lls.org/content/nationalcontent/resourcecenter/freeeducationmaterials/generalcancer/pdf/foodnutritionfacts.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2014.

LIVESTRONG. Immunosuppressed diet, Neutropenic Precautions in Cancer Patients. ***Livestrong on line***; Ago. 2013. Disponível em: <<http://www.livestrong.com/article/301878-immunosuppressed-diet/#ixzz2AnZs7qoU>>. Acesso em: 14 jun. 2014.

LOAHARANU, P. Irradiation as cold pasteurization process of food. ***Veterinary Parasitology***, v. 64, n.1-2, p.71-82, 1996.

LU, Z.; YU, Z.; GAO, X.; LU, F.; ZHANG, L. Preservation effects of gamma irradiation on fresh-cut celery. ***Journal Food Engineer***, v. 67, n.3, p. 347-51, 2005.

MARTINS, C.G.; BEHRENS, J.H.; ARAGON-ALEGRO L.C.; VIEIRA, V.S.; COSTA-SOBRINHO, P.S.; VIZEU, D.M.; HUTZLER, B.; FRANCO, B.D.G.M.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M. Vida-de-prateleira de agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado e exposto à irradiação. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos***, v. 27, n.1,p. 44-48, 2007.

MOLINS, R.A.; MOTARJEMI, Y.; KAUFERSTEIN, F. K. Irradiation: a critical control point in ensuring the microbiological safety of raw foods. ***Food Control***, v.12, n.1, p. 347-356, 2001.

MURUGESAN, L.; WILLIAMS-HILL D.; PRAKASH, A. Effect of Irradiation on *Salmonella* Survival and Quality of 2 Varieties of Whole Green Onions. ***Journal of Food Science***, v.76, n.6, p. m1-m6, 2011.

NAYAK, C. A.; SUGUNA, K.; NARASIMHAMURTHY, K; RASTOGI, N. K. Effect of gamma irradiation on histological and textural properties of carrot, potato and beetroot, ***Journal of Food Engineering***,v. 79, n.3, p.765-770, 2007.

NAYAK, C. A.; SUGUNA, K.; RASTOGI, N. K. “Combined effect of gamma-irradiation and osmotic treatment on mass transfer during rehydration of carrots”, ***Journal of Food Engineering***, v.74, n.1, p.134-142 , 2006.

NEAL, J. A.; CABRERA-DIAZ, E.; MARQUEZ-GONZALEZ, M.; MAXIM, J.E.; CASTILLO. A. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on baby spinach, using electron beam radiation. ***Journal of Food Protection***, v.71, n.12, p.2415–2420, 2008.

NEUTROPENIC DIET. Disponível em: < <http://www.thisisauril.com/wp-content/uploads/2010/02/NeutropenicDiet.pdf>> Acesso em 10 jan. 2014.

NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F.; The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition***, v. 34, p. 371-401, 1994.

NIEMIRA, B.A.; FAN, X. Irradiation Enhances quality and microbial safety of fresh cut fruits and vegetables in Microbial Safety of fresh produce. ***Journal of Food Protection***, p 191-204, 2009.

NIEMIRA, B.A.; SOMMERS, C.H.; FAN, X. Suspending lettuce type influences recoverability and radiation sensitivity of E. coli O157:H7. ***Journal of Food Protection***, p. 65, n.9, 1388–1393, 2002.

OSTERHOLM, M.; NORGAN, A. P. The role of irradiation in food safety. ***The New England Journal of Medicine***, p.1898-1901, 2004.

PATTNI, S.; HANLON, C. ***Clinical guideline for dietary management of neutropenic patients***. University hospitals of Leicester NHS trust. Setembro v. 1-29, 2010.

PERI, C. The universe of food quality. ***Food Quality and Preference***, v. 17, n.1, p. 3-8, 2006,

PARTNERSHIP FOR FOOD SAFETY EDUCATION (PFSE). Disponível em: < <http://www.fightbac.org/> em: 10 ago. 2014.

PINHEIRO, A.R.O; GENTIL, P.C. A Iniciativa de Incentivo ao consumo de Frutas, Verduras e Legumes (fvl) : uma estratégia para abordagem intersetorial no contexto da Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA – Brasil), Brasília 2005. <Disponível em: <http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/iicflvBrConsea.pdf>> Acesso em: 2 de fev. 2014.

PIZZO, P.A. Current concepts: fever in immune compromised patients. ***The New England Journal of Medicine***, v. 341, p. 893-900, 1999.

Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN). Promoção da alimentação Saudável. Iniciativa de incentivo ao consumo de Frutas, Verduras e Legumes. Disponível em: <<http://nutricao.saude.gov.br/pas.php?conteudo=iniciativa>> Acesso em 14 abr. 2014.

PRAKASH, A.; GUNER, A.R.; CAPORASO F.; FOLEY, D.M. Effects of low-dose gamma irradiation on the shelf life and quality characteristics of cut romaine lettuce packaged under modified atmosphere. ***Journal of Food Science***, v. 65, n.3, p. 549–53. 2000.

RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. ***Postharvest Biology Technology***, v. 44, n.3, p. 185-194, 2007.

RASTOGI, N. K. Impact of gamma-irradiation on some mass transfer driven operations in food processing, ***Radiation Physics and Chemistry***, v.73, n.6, p.355-361,2005.

RASTOGI, N. K.; SUGUNA, K.; NAYAK, C. A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Combined effect of gamma irradiation and osmotic pretreatment on mass transfer during dehydration, ***Journal of Food Engineering***, v.77, p.1059-1063, 2006.

RIMM, E.B.; ASCHERIO, A.; GIOVANNUCCI, E.; SPIEGELMAN, D.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W.C. Vegetables, fruit and cereal fibre intake and risk of coronary heart disease among men. ***Journal of American Medical Association***, v. 275,n.6, p. 447-451, 1996.

SANT'ANA, A.S; CORREA, S.S. Efeito da adição de dicloran ao diluente, para enumeração de fungos em alimentos desidratados utilizando-se o sistema petrifilmTM para bolores e leveduras. **Higiene Alimentar**, v. 21, n.140, p. 122-126, 2006.

SATIN, M. Use of irradiation of microbial decontamination of meat: situation and perspectives. **Meat Science**, v. 62,n.3, p. 227-283, 2002.

SINGH, B. K.; SHARMA, S. R., SINGH, B. Heterosis for mineral elements in single cross-hybrids of cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) **Scientia Horticulturae**, v. 122, n.1, p.32-36,2009.

SOMMERS, C.; FAN, X.; NIEMIRA, B.; RAJKOWSKI K. Irradiation of ready-to-eat foods at USDA'S Eastern Regional Research Center-2003 update. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, n.1, p. 511– 514, 2004.

SPAGNOL, W. A.; PARK, K. J.; SIGRIST, J. M. M. Taxa de respiração de cenouras minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.3, p. 550-554, 2006.

SUOJALA, T. Compositional and quality changes in white cabbage during harvest period and storage. **Journal Horticultural Science Biotechnology**, v. 78, n.6, p. 821–287, 2003.

TANIWAKI, M.; SAKURAI, N. Texture measurement of cabbages using an acoustical vibration method. **Postharvest Biology and Technology**, v.50, n.2-3, 176–181, 2008.

TANIWAKI, M.; TAKAHASHI, M.; SAKURAI, N.; TAKADA, A.; NAGATA, M. Effects of harvest time and low temperature storage on texture of cabbage leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 54, n.2, p. 106-110, 2009.

TAVEIRA, M.; Pereira, D.M.; Sousa, C; FERRERES, F.; ANDRADE, P.B. In vitro cultivares of *Brassica oleracea* L. var. costata DC: Potential plantbioreactor for antioxidante phenolic compounds. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v 57, n.4, p. 1247-1252, 2009.

THAYER, D.W. Food irradiation: Benefits and concerns. ***Journal of Food Quality***, v. 13, n.3, p. 147-169, 1990.

TODD, J.; SCHIMID, T.; CHRISTIAN, J.; WILLIAMS, R. The low bacteria diet for immunocompromised patients. ***Cancer Prattice***, v. 7, n.4, p.205-207, 1999.

TOIVONEN, P. M.A.; BRUMMELL, D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables . ***Postharvest Biology and Technology***, v.48, 1–14, 2008.

TOURNAS, V.H. Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. ***International Journal of Food Microbiology***, v. 99, p. 71-77, 2005.

TRITSCH, G.L. Food irradiation. ***Nutrition***, v. 16, p. 698-718, 2000.

University of Pittsburgh Medical Center- UPMC, 2013. Disponivel em : < <http://www.upmc.com/patients-visitors/education/cancer/Pages/neutropenic-diet.aspx>> Acesso em 8 de Ago.2014.

WENNBERG, M.; ENGVIST, G.; NYMAN, M. Effects of harvest time and storage on dietary fibre components in various cultivars of white cabbage (*Brassica oleracea* var. Capitata). ***Journal of the Science of Food Agriculture***, v. 82, p. 1405-14011, 2002.

WILLOCX, F.; HENDRICKX, M.; TOBBACK, P. The Influence of Temperature and Gas Composition on the Evolution of Microbial and Visual Quality of Minimally Processed Endive. Apud, SINGH, R.P.; OLIVEIRA, F.A.R. (Ed.). ***Minimal Processing of Foods and Process Optimization: An Interface***. CRC Press, p. 475-492, 1994.

ZAGORY D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. ***Postharvest Biology and Technology***, v.15, n.3, p. 313-321, 1999.