UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

**Efeito da irradiação combinada à embalagem em atmosfera
modificada na qualidade de rúcula (*Eruca sativa* Mill.)
minimamente processada**

Tatiana Pacheco Nunes

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Profa. Assoc. Mariza Landgraf
Orientadora

São Paulo
2008

DEDALUS - Acervo - CQ

30100014849

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Nunes, Tatiana Pacheco

N972c Efeito da irradiação combinada à embalagem em atmosfera modificada na qualidade de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) minimamente processada / Tatiana Pacheco Nunes. -- São Paulo, 2008.
111p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental

Orientador: Landgraf, Mariza

1. Bromatologia 2. Microbiologia de alimentos I. T. II.
Landgraf, Mariza, orientador.

641 CDD

Tatiana Pacheco Nunes

**Efeito da irradiação combinada à embalagem em atmosfera modificada na
qualidade de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) minimamente processada**

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Assoc. Mariza Landgraf
Orientadora/Presidente

Profa. Dra. Beatriz Roxana Cordemusi
1º. examinador

Profa. Dra. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
2º. examinador

Profa. Dra. Regina Celia Della Modesta
3º. examinador

Profa. Dra. Maria Teresa Destro
4º. examinador

São Paulo, 28 de novembro de 2008

Dedicatória

*Aos meus pais Waldo e Almerinda, pelo amor incondicional, infinita paciência, carinho,
compreensão e apoio para que eu sempre continue realizando meus sonhos.*

*A minha tia Lícia, a minha irmã Luciana por estarem sempre ao meu lado, me incentivando
e torcendo por mim.*

*Ao Pedro, meu “bebeco”, por ter trazido alegria e por estar sempre disponível a ajudar a
Dáda no “cutador”.*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Mariza Landgraf, pela amizade, orientação, paciência, e incentivo fundamentais para a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Teresa Destro, pelo apoio, convívio, amizade e pelas valiosas sugestões durante esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge H. Behrens, pela orientação na elaboração e desenvolvimento da análise sensorial.

À Profa. Dra. Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco pelo convívio e amizade.

À Profa. Dra. Beatriz Rosana Cordenunsi pelas sugestões e pela ajuda inestimável na realização deste trabalho.

À Lucia Helena Justino dos Santos pela colaboração na execução das análises de vitamina C.

À Profa. Dra. Maria Inés Genovese pela atenção e execução da análise de flavonóides

À Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante e à aluna Adelia Ferreria de Faria Machado pela realização das análises de carotenóides e pela pronta disponibilidade em ajudar, independente do horário.

À Rosa Cordeiro pelo auxílio na realização das análises de determinação de umidade.

Aos meus anjos, em forma de gente, que Deus colocou no meu caminho para que este fosse mais suave: Cecília, Aninha, Vanessa, Katinha, Angela, André, Lina e Gabi. MUITO OBRIGADA pela ajuda, pelo ombro, pelos esclarecimentos e pelo tempo. Vocês moram no meu coração!!!!!!

Aos queridos, Daniela, Luciana, Marina, Natalie, Gabriela e Andrew, que me acompanham desde sempre e torcem por mim como se fosse a final do jogo do timão. Amo vocês!!!!!!

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos: Danielle, Matheus, Monika, Crystina, Anderson, Eb, Verônica, Graciela, Marildes, Keila, Vinícius, Hans e Lucia pela amizade e colaboração.

À Empresa EMBRARAD, em especial ao Prof. Dr. Dirceu M. Vizeu, pela colaboração e sugestões.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), em especial a Yasko e Paulo pela disponibilidade e carinho.

À empresa Horta e Arte Ltda pelo fornecimento da rúcula para realização de parte deste trabalho.

À Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo.

À Mônica, Cleonice e Edílson da secretaria do departamento, pelos serviços prestados.

À Elaine e Jorge da secretaria de Pós-Graduação, pela atenção dedicada e serviços prestados.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	x
Lista de Figuras	xii
Lista de Anexos	xiv
Resumo	xv
Abstract	xvi
1 Introdução	1
1.1 Processamento mínimo de hortaliças	2
1.2 Aspectos microbiológicos de vegetais minimamente processados	4
1.3 Embalagem em atmosfera modificada	13
1.4 Irradiação	15
1.5 Compostos bioativos	17
1.6 Aceitação de alimentos irradiados	21
2 Objetivos	23
3 Material e métodos	24
3.1 Material	24
3.2 Métodos	26
3.2.1 Avaliação da qualidade microbiológica de rúcula antes e após o processamento mínimo	26
3.2.1.1 Preparo da amostra	26
3.2.1.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos (Cousin <i>et al.</i> , 2001)	26
3.2.1.3 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos (Morton, 2001)	27
3.2.1.4 Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp. (Mead & Adams, 1977)	27
3.2.1.5 Enumeração de coliformes termotolerantes (Kornacki e Johnson, 2001)	27
3.2.1.6 Enumeração de <i>Escherichia coli</i> (Kornacki e Johnson, 2001)	27
3.2.1.7 Contagem de bactérias lácticas (Hall <i>et al.</i> , 2001)	28

3.2.1.8 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. (Andrew <i>et al.</i> , 2001, modificado)	28
3.2.1.9 Pesquisa de <i>Listeria</i> spp. (Hitchins, 2003, modificado)	29
3.2.2 Determinação dos valores de D ₁₀ em rúcula minimamente processada embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada	29
3.2.2.1 Preparo do inoculo	29
3.2.2.2 Contaminação dos vegetais para a determinação dos valores D ₁₀ (Niemira <i>et al.</i> , 2002)	30
3.2.2.3 Processo de Irradiação	30
3.2.2.4 Quantificação da população sobrevivente de <i>L. monocytogenes</i> em rúcula minimamente processada (Kang & Fung, 1999, com modificações)	31
3.2.2.5 Quantificação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> spp. em rúcula minimamente processada (Kang & Fung, 1999, com modificações)	31
3.2.2.6 Cálculo de valor D ₁₀	32
3.2.2.7 Análise Estatística	32
3.2.3 Avaliação do efeito da radiação gama no comportamento de <i>Salmonella</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> inoculadas em rúcula embaladas sob ar atmosférico e atmosfera modificada, armazenadas a 5°C por 16 dias	32
3.2.3.1 Preparo do inoculo	32
3.2.3.2 Inoculação dos vegetais para a avaliação do comportamento de <i>L. monocytogenes</i> e <i>Salmonella</i> spp.	32
3.2.3.3 Processo de irradiação	32
3.2.3.4 Quantificação da população sobrevivente de <i>Listeria monocytogenes</i> em rúcula minimamente processada (Kang & Fung, 1999, com modificações)	33
3.2.3.5 Quantificação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> spp. em rúcula minimamente processada (Kang & Fung, 1999, com modificações)	33
3.2.3.6 Análise estatística	33

3.2.4 Avaliação do teor de umidade em rúcula minimamente processada e irradiada (AOAC, 1997)	33
3.2.5 Avaliação do teor de flavonóides em rúcula minimamente processada irradiada (Price <i>et al.</i> , 1999, modificado por Arabbi <i>et al.</i> , 2004)	34
3.2.5.1 Extração quantitativa dos flavonóides	34
3.2.5.2 Extração em fase sólida	34
3.2.5.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	35
3.2.6 Avaliação dos teores de ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 5°C durante 16 dias (Pasternak <i>et al.</i> , 2005)	36
3.2.7 Avaliação dos teores de carotenóides pró-vitamina A em rúcula minimamente processada e irradiada (De Rosso e Mercadante, 2007a)	37
3.2.7.1 Extração dos carotenóides	38
3.2.7.2 Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos acoplada a espectrometria de massas (HPLC-PDA e HPLC-PDA-MS/MS)	38
3.2.8 Análise sensorial de rúcula minimamente processada	39
3.2.8.1 Teste de aceitação	39
3.2.8.2 Avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados	40
4 Resultados e Discussão	42
4.1 Qualidade microbiológica antes e após o processamento mínimo de rúcula	42
4.2 Determinação dos valores D_{10} em rúcula minimamente processada embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada	44
4.3 Avaliação do efeito da radiação gama no comportamento de <i>Salmonella</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> inoculadas em rúcula embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada durante o armazenamento a 5°C	48

4.4 Avaliação do teor de flavonóides em rúcula minimamente processada irradiada	58
4.5 Avaliação dos teores de ácido ascórbico reduzido, ácido dehidroascórbico e ácido ascórbico total em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 5°C durante 16 dias	60
4.6 Avaliação dos teores de carotenóides com atividade pró-vitamina A em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 4°C durante 13 dias	63
4.7 Análise sensorial de rúcula minimamente processada	67
4.7.1 Teste de Aceitação	67
4.7.2 Avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados	68
5 Conclusões	78
6 Referências Bibliográficas	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Ocorrência de flavonóides nos alimentos.	19
Tabela 2- Médias dos valores D_{10} de <i>Salmonella</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> inoculados em rúcula embalada sob ar atmosférico e atmosfera modificada.	48
Tabela 3- Conteúdo de flavonóides – quempferol e quercetina - em amostras de rúcula expostas às doses de 1 kGy e 2 kGy.	59
Tabela 4- Teor de umidade ^a (%) em amostras de rúcula expostas às doses de 1 kGy e 2 kGy.	59
Tabela 5- Teor de β -criptoxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.	64
Tabela 6- Teor de α -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.	65
Tabela 7- Teor de β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.	66
Tabela 8- Teor de carotenóides pró-vitaminicos totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.	66
Tabela 9- Média de aceitação sensorial de rúcula minimamente processada exposta a diferentes doses de radiação gama.	68
Tabela 10- Perfil sócio-econômico e demográfico dos entrevistados sobre a atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados.	69
Tabela 11- Avaliação da opinião dos consumidores e comparação estatística de médias dos itens avaliados antes e após a informação positiva sobre a irradiação de alimentos. (N=98 respondentes).	73

Tabela 12- Avaliação da opinião dos consumidores e comparação estatística de médias dos itens avaliados antes e após a informação positiva seguida de informação negativa sobre a irradiação de alimentos. (N=100 respondentes).	74
Tabela 13- Comparação da avaliação da opinião dos consumidores através dos escores médios dos itens avaliados pelo grupo de informação positiva e do grupo de informação positiva, seguida de informação negativa sobre a irradiação de alimentos.	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação esquematizada das etapas do processamento mínimo de rúcula.	25
Figura 2- Qualidade microbiológica de amostras de rúcula antes e após o processamento mínimo.	42
Figura 3- Sobrevivência de <i>Salmonella</i> spp. inoculada em rúcula embalada sob ar atmosférico e exposta a diferentes doses de radiação.	45
Figura 4- Sobrevivência de <i>L. monocytogenes</i> inoculada em rúcula embalada sob ar atmosférico e exposta a diferentes doses de radiação.	46
Figura 5- Sobrevivência de <i>Salmonella</i> spp. inoculada em rúcula embalada sob atmosfera modificada e exposta a diferentes doses de radiação.	47
Figura 6- Sobrevivência de <i>L. monocytogenes</i> inoculada em rúcula embalada sob atmosfera modificada e exposta a diferentes doses de radiação.	48
Figura 7- Comportamento de <i>Salmonella</i> spp. inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob ar atmosférico e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.	50
Figura 8- Comportamento de <i>Listeria monocytogenes</i> inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob ar atmosférico e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.	51
Figura 9- Comportamento de <i>Salmonella</i> spp. inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob atmosfera modificada e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.	53

- Figura 10- Comportamento de *Listeria monocytogenes* inoculada em
rúcula minimamente processada embalada sob atmosfera
modificada e submetida a diferentes doses de irradiação,
durante o armazenamento a 5°C por 16 dias. 56
- Figura 11- Teores de ácido ascórbico reduzido, ácido dehidroascórbico e
ácido ascórbico total em amostras de rúcula minimamente
processadas irradiadas e armazenadas a 5°C durante 16 dias. 61

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1- Parecer de aprovação concedido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa	98
Anexo 2- Ficha utilizada na análise sensorial para o teste de aceitação de rúcula minimamente processada irradiada	99
Anexo 3- Termo de consentimento livre e esclarecido	100
Anexo 4- Questionário utilizado na análise sensorial para a avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados	102
Anexo 5- Material explicativo com informações favoráveis ao processo de irradiação	104
Anexo 6- Material explicativo com informações contrárias ao processo de irradiação	106
Anexo 7- Questionário final utilizado na análise sensorial para a avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados	109
Anexo 8- Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado	111

RESUMO

As mudanças nos hábitos de consumo e a presença de compostos com propriedades antioxidantes, capazes de reduzir o risco de doenças degenerativas, aumentaram a procura por vegetais minimamente processados. Uma vez que as doenças transmitidas por esses vegetais são um problema crescente no cenário internacional, este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a viabilidade da utilização do processo de irradiação associado à embalagem sob atmosfera modificada (15% O₂, 5% CO₂ e 80% N₂) em rúcula (*Eruca sativa* Mill.) minimamente processada para garantir a inocuidade do alimento. Nesta pesquisa constatou-se que a sanificação com ozônio (0,08 ppm/5 minutos) reduziu as populações de psicotróficos e mesófilos aeróbios, bactérias lácticas, *Pseudomonas* e coliformes termotolerantes em até 1 ciclo logarítmico. Não foi verificada a presença de *Listeria monocytogenes* ou *Salmonella* nas amostras analisadas, tanto antes quanto após o processamento mínimo. Os valores de D₁₀ determinados neste estudo, para *Salmonella* e *L. monocytogenes* inoculadas em amostras de rúcula variaram de 0,16 a 0,22 kGy e de 0,33 a 0,48 kGy, respectivamente, não diferindo estatisticamente ($P > 0,05$) em relação ao tipo de embalagem utilizada (ar atmosférico e atmosfera modificada). A combinação da aplicação de 2 kGy associada à atmosfera modificada foi o tratamento mais eficiente para reduzir a população de *L. monocytogenes* a níveis não detectáveis ao longo de todo o período de armazenamento (5°C por 16 dias). Tanto as amostras irradiadas quanto as controle apresentaram redução no teor de vitamina C ao longo dos 16 dias de armazenamento. Por outro lado, verificou-se aumento do teor de flavonóides para as amostras irradiadas. Não se observou alteração no teor de carotenóides com atividade pró-vitamina A após irradiação ou período de estocagem. A análise sensorial demonstrou que a aplicação de 2 kGy não afetou a aceitação da rúcula. Além disso, a percepção da população sobre o risco da irradiação de alimentos é significativamente influenciada ($P \leq 0,05$) em função do tipo de informação adquirida. O processo de irradiação associado às Boas Práticas de Fabricação garantem a segurança microbiológica desse produto, entretanto é necessário maior divulgação sobre esta tecnologia para que ela possa ser aceita comercialmente no Brasil.

ABSTRACT

Changes in consumption habits and the presence of bioactive compounds with antioxidant capacity, which have the property to protect against degenerative disease, has increased the demand for minimally processed vegetables. Since foodborne diseases associated with these vegetables are increasing problems on the international scene, this study was conducted to evaluate the feasibility of associating irradiation with modified atmosphere packaging (15% O₂, 5% CO₂ and 80 % N₂) in minimally processed arugula (*Eruca sativa* Mill.), to ensure the food safety. Sanitization in ozone-treated water (0.08 ppm/5 minutes) reduced psychrotrophic, mesophilic, lactic acid bacteria, *Pseudomonas* and fecal coliform by 1 log. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* were not isolated in samples. D₁₀ values for *Salmonella* and *L. monocytogenes* inoculated in arugula samples ranged from 0.16 to 0.22 kGy and from 0.33 to 0.48 kGy, respectively, not statistically different ($P > 0.05$) with the type of packaging used (air and modified atmosphere). The 2 kGy dose with modified atmosphere packaging was the most efficient treatment reducing the population of *L. monocytogenes* at non detectable levels during the storage period up to 16 days at 5°C. The vitamin C content decreased in irradiated (1 and 2 kGy) and non-irradiated samples during the storage period, on the other hand, irradiation caused a very significant increase in flavonoid content. No significant change in carotenoids with pro-vitaminic A activity content was observed after irradiation or storage period. The sensory evaluation showed that the exposition to 2 kGy did not affect the acceptance of arugula. What is more, the population risk perception of food irradiation is significantly influenced ($P \leq 0.05$) by the type of the given information. The combination of irradiation and Good Manufacture Practices improve the microbiological safety of these products, however it is necessary to provide more information about this technology so it can be commercially acceptable in Brazil.

1 Introdução

A importância e a influência da escolha dos alimentos na saúde humana e no bem estar nos dias de hoje é um tema que vem recebendo especial atenção da mídia em geral. Diversas doenças crônicas de importância para a saúde pública, como doenças cardíacas e alguns tipos de cânceres podem ser atenuados, de alguma forma, através de uma alimentação saudável, rica em vegetais (Fang *et al.*, 2005; Ignarro *et al.*, 2007; Kopsell e Kopsell, 2006). Aliado a esses fatores, a falta de tempo para o preparo das refeições a nível doméstico e a forte presença da mulher no mercado de trabalho colaboram para que haja uma maior oferta de vegetais prontos para o consumo no mercado (Nantes *et al.*, 1999).

Esses produtos proporcionam facilidades para o consumidor como economia de tempo no seu preparo e redução de lixo gerado. Entretanto, mesmo com o rápido crescimento do mercado de produtos vegetais no Brasil, existem segmentos na cadeia produtiva que não se encontram estruturados de maneira adequada, o que provoca desequilíbrios na oferta, oscilações de preço e variações na qualidade do produto (Nantes e Leonelli, 2000).

No Brasil, o início da atividade de processamento mínimo de frutas e hortaliças ocorreu com a chegada das redes de “fast food” no final da década de 70. Entretanto, foi só a partir de meados da década de 90 que se iniciou, de forma mais consistente e sistematizada, a pesquisa e o desenvolvimento de tecnologia de processamento mínimo, o que possibilitou que muitos empresários pudessem atuar no setor de forma mais organizada, sustentável e competitiva (Moretti e Machado, 2006).

Vegetais minimamente processadas são aqueles que passaram por alterações físicas, como descascamento, fatiamento, etc, mas ainda mantém o estado de frescor, metabolismo ativo e são prontos para o consumo (Moretti e Puschmann, 2006).

Entre esses vegetais, destaca-se a rúcula (*Eruca sativa* Mill.) que é uma hortaliça da família das *Brassicaceae*, originária do sudeste da Europa e da Ásia central, muito popular nas regiões de colonização italiana no Brasil. É rica em

potássio, enxofre, pró-vitamina A e vitamina C, sendo muito apreciada pelo sabor picante e cheiro agradável acentuado. Ainda é rica em fitonutrientes, incluindo fibras, flavonóides e glicosinolatos (Bennett *et al.*, 2004; Trani e Passos, 1998).

Mundialmente, a rúcula é cultivada em Portugal em escala comercial e exportada para o Reino Unido e para outros países do norte Europeu, onde é comercializada misturada a outros vegetais, em embalagens seladas após sanitização (Dias, 1996). No Brasil, é o terceiro vegetal mais consumido, perdendo apenas para a alface e o agrião; entretanto devido às técnicas inadequadas no manuseio pós-colheita, transporte e armazenamento ocorrem grandes perdas para o produtor e para o varejista, bem como para o consumidor, por adquirir produtos de qualidade duvidosa (Kawashima e Soares, 2003).

No Estado de São Paulo, as microrregiões produtoras são a Grande São Paulo, Paranapiacaba, Campinas e Sorocaba, cabendo às duas primeiras quase 90% da produção (Trani e Passos, 1998).

Segundo Sigrist (2002), os dados fornecidos pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) em 2002 indicaram, pelo volume de entrada expresso em dúzias de maços dessa hortaliça, um aumento consecutivo do seu consumo entre os anos de 1997 e 2002. Em 1997, entraram 139.707 dúzias de maços; em 1998, 190.119; em 1999, 283.252; em 2000, 382.027 e em 2001, 444.730 dúzias de maços.

1.1 Processamento mínimo de hortaliças

O processamento mínimo dos vegetais possui dois objetivos básicos: o primeiro é manter os vegetais frescos e fornecê-los de uma forma conveniente evitando perdas nutricionais e sensoriais, e o segundo é prolongar a vida útil para facilitar sua distribuição até o consumidor final (Huxsoll e Bolin, 1989).

Entretanto, é sabido que esse processamento, mesmo quando não tão agressivo, como, por exemplo, o fatiamento, promove mais rapidamente a deterioração fisiológica, as mudanças bioquímicas através da liberação de enzimas oxidantes e a degradação microbiológica (Allende *et al.*, 2006).

Por essa razão, os consumidores exigem que independente do tipo de processamento mínimo sofrido pelo vegetal, ou do intervalo de tempo existente entre o processamento inicial e o consumo final, a aparência do vegetal minimamente processado seja semelhante à do vegetal *in natura*. Pois é através do aspecto visual

que o consumidor consegue avaliar a qualidade total do produto, através da presença do escurecimento enzimático, o amarelecimento de hortaliças esverdeadas, o murchamento e as possíveis injúrias mecânicas provocadas pelo processamento (Jacxsens *et al.*, 2003).

A qualidade dos produtos minimamente processados depende, sobretudo, da obtenção de matéria prima de qualidade. Durante o cultivo devem ser tomados cuidados quanto à nutrição mineral, ao controle fitossanitário e ao manejo de água e solo, entre outros. A colheita deve ser feita no ponto ótimo de maturidade hortícola do produto, o que varia de acordo com as condições de clima, solo e cultivar. O fator mais importante na conservação de vegetais após a colheita é a temperatura de armazenamento (Moretti e Puschmann, 2006).

A utilização de baixas temperaturas retarda, de forma geral, o metabolismo dos vegetais (taxa respiratória, transpiração, maturação...), além de reduzir a velocidade de multiplicação dos microrganismos deteriorantes e o risco de desenvolvimento de microrganismos patogênicos ao homem (Sigrist, 2003).

Temperaturas superiores a 5°C, associadas a altas taxas de umidade relativa e baixos teores de oxigênio no interior da embalagem, favorecem a multiplicação de bactérias patogênicas ao homem, principalmente as dos gêneros, *Clostridium*, *Yersinia* e *Listeria* (Cantwell, 1992).

De acordo com Moretti e Puchmann (2006), o processamento mínimo de hortaliças compreende algumas etapas:

a) Na área de recepção

- Pesagem: quantificação da matéria prima que será processada para posterior cálculo de rendimento;
- Seleção: remoção de hortaliças danificadas, indesejáveis, fora do padrão ou com sinais de podridão. A classificação pode ser feita por aparência e tamanho, visando à padronização da matéria prima;
- Lavagem: remoção da matéria orgânica e impurezas provenientes do campo que ficam aderidas à superfície;

b) Na área limpa

- Corte, descasque, fatiamento: folhosas como couve e repolho são cortadas em fatias finas, ou simplesmente desmembradas da sua estrutura original; inflorescências como brócolis e couve flor são normalmente cortados em floretes menores;

- Enxágüe inicial: Imersão rápida em água com o objetivo de remover o suco celular extravasado, por rompimento de membranas celulares, no corte;
- Sanificação: imersão do produto em uma solução de cloro (150 a 200 mg.L⁻¹ de cloro livre) durante 10 minutos, com o objetivo de reduzir a carga microbiana presente nos vegetais, ou em água ozonizada (5 ppm por 5 minutos) (Koseki e Isobe, 2006);
- Enxágüe final: imersão em água (3 a 5 mg.L⁻¹ de cloro livre) para remover o excesso de cloro na solução aderida nos tecidos;
- Centrifugação: tem por objetivo retirar a água que foi adicionada ao produto por ocasião das imersões;
- Pesagem, embalagem, rotulagem: as hortaliças minimamente processadas necessitam de embalagens que auxiliem na preservação da qualidade do produto fresco, de forma a minimizar ou retardar as alterações bioquímicas e fisiológicas para estender ao máximo a sua vida útil. A rotulagem deve informar a vida útil, instruções de preparo e armazenamento;
- Armazenamento: estar entre 0 e 5°C para a manutenção da qualidade e segurança microbiológica do produto.

1.2 Aspectos microbiológicos de vegetais minimamente processados

Os vegetais são constituídos basicamente por água, resultando em um alimento com alta atividade de água (>0,99). O pH intracelular, outro fator extremamente importante, varia de 1,9 a 6,5, sendo mais elevado para as hortaliças (5,0 – 6,5) e mais ácido para as frutas (1,9 – 4,5). Estas características intrínsecas, aliadas à liberação de nutrientes provocada pela injúria física do vegetal antes, durante e após a colheita (clima, insetos, pássaros, roedores, implementos agrícolas, colheita e processamento) permitem a rápida multiplicação de muitos microrganismos (Lund, 1992; Ragaert *et al.*, 2007).

Entretanto, sob condições naturais, a camada mais externa dos vegetais atua como uma barreira natural contra os microrganismos, pois é constituída por uma superfície hidrofóbica (cutina) (Ragaert *et al.*, 2007).

A liberação de nutrientes ainda é favorecida pela ação de microrganismos produtores de enzimas degradativas (pectinases e celulasas) que despolimerizam os principais componentes estruturais das células vegetais (pectinas e celuloses), promovendo o amolecimento dos tecidos. Os principais microrganismos produtores

de enzimas que auxiliam na deterioração pós-colheita são *Bacillus*, *Botrytis*, *Erwinia*, *Pseudomonas* e *Aspergillus* (Zagory, 1999).

O mercado globalizado exige que os alimentos estejam cada vez mais seguros sob o ponto de vista microbiológico. O “Acordo Sanitário e Fitossanitário” da Organização Mundial do Comércio estabelece a inocuidade como forma de evitar doenças no consumidor. Também estabelece que as medidas sanitárias aplicadas pelo setor produtivo e governamental têm que ter base científica obtida pelo processo de Avaliação de Riscos, ou estar de acordo com as decisões internacionais estabelecidas pelo programa conjunto FAO/OMS (Gelli, 2006).

Enquanto a ecologia dos microrganismos, ou seja, as interações entre os microrganismos e o meio em que vivem, e entre os diferentes microrganismos presentes no meio, é bastante conhecida nos alimentos de origem animal, pouco se sabe em relação aos alimentos de origem vegetal. Isto ocorre, principalmente, devido a diferenças significativas na morfologia, composição do tecido interno e atividades metabólicas das folhas, floretes, frutos, raízes e tubérculos, que fornecem microambientes específicos a uma grande diversidade de microrganismos (Beuchat, 2002).

Os vegetais possuem uma microbiota variada onde os microrganismos, na sua maioria, estão presentes na região superficial, embora os tecidos internos também possam eventualmente apresentar microrganismos viáveis dependendo das técnicas de plantio, colheita e processamento (Beuchat, 1996b; Thayer e Rajkowski, 1999).

Os microrganismos patogênicos e deteriorantes podem contaminar os vegetais durante a pré e pós-colheita. Durante a pré-colheita, os principais focos de contaminação são: o solo, a água de irrigação, a água utilizada para aplicar fungicidas e inseticidas, a poeira, os insetos, a compostagem inadequada do adubo, os animais domésticos e selvagens e a manipulação humana. As fontes de contaminação pós-colheita incluem manipulação humana, equipamentos de colheita, embalagens de transporte, animais, insetos, poeira, água de lavagem, gelo, veículos de transporte e equipamentos durante o processo (Brackett, 1999; Beuchat, 2002).

A colheita pode ser vista como a primeira de uma série de eventos que levam à decomposição. Esta etapa provoca alterações fisiológicas no vegetal associadas à manutenção da homeostase, reparação da injúria e prevenção da infecção provocada por microrganismos oportunistas. Intervenções de tecnologia pós-colheita

são aplicadas nos vegetais para retardar as mudanças na qualidade que surgem com as alterações fisiológicas provocadas pela colheita (Delaquis, 2006).

O processamento mínimo contribui para aumentar essa injúria, principalmente quando o tecido é cortado ou fatiado, já que essas etapas alteram os processos metabólicos, aumentando a taxa de respiração e a produção de etileno. Dessa forma há o favorecimento a senescência do vegetal e conseqüentemente a diminuição da integridade dos componentes que formam a parede celular vegetal (Ragaert *et al*, 2007).

A senescência surge, então, em função do acúmulo de enzimas degradativas produzidas pelo próprio vegetal permitindo, dessa forma, uma maior contaminação pelos microrganismos, em função do relaxamento da estrutura da parede celular e o conseqüente extravasamento de nutrientes (Jay, 2000).

Devido à alta perecibilidade dos vegetais minimamente processados, a vida útil destes produtos pode ser significativamente melhorada se os inúmeros fatores que afetam a sua qualidade como temperatura de armazenamento, umidade relativa, aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos dos vegetais, forem observados e controlados ao longo de toda a cadeia de produção (Guerzoni *et al.*, 1996).

As bactérias são os principais microrganismos constituintes da microbiota em hortaliças. Isso ocorre, pois o valor do pH encontrado nesse tipo de alimento (5,0 – 6,5) favorece a multiplicação destes microrganismos em relação à multiplicação dos bolores e leveduras (King *et al.*, 1991).

As bactérias encontradas nas hortaliças minimamente processadas são as mesmas normalmente encontradas nas hortaliças ainda no campo. A microbiota é composta na sua grande maioria por *Pseudomonas* spp., *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas* e *Enterobacter agglomerans*. Bactérias lácticas, como *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactobacillus* spp., também são comumente encontradas. Dependendo ainda das técnicas de plantio, as hortaliças que crescem muito próximo ao solo podem conter na sua microbiota, bactérias gram positivas do gênero *Bacillus* (Zagory, 1999).

Após o processamento mínimo, as bactérias do gênero *Pseudomonas* podem compor cerca de 50-90% da população microbiana devido às baixas temperaturas de armazenamento (Zagory, 1999).

Contrariamente às hortaliças, a microbiota das frutas é composta majoritariamente por bolores e leveduras, incluindo espécies de *Candida*, *Cryptococcus*, *Botrytis*, *Rhodotorula*, *Rhizopus*, *Trichosporon*, *Pichia*, *Penicillium* e *Torulaspora*, já que o pH desse tipo de alimento é suficientemente ácido para restringir a multiplicação das bactérias. Além disso, muitas frutas contêm ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico...) que possuem propriedades bactericidas (Nguyen e Carlin, 1994).

As superfícies das frutas, talos, raízes, floretes e folhas são caracterizadas por micro ambientes únicos que podem afetar a proliferação e a persistência de bactérias, leveduras e bolores nos vegetais. No campo, fatores como as flutuações na temperatura, na umidade e na radiação UV, influenciam a sobrevivência e a multiplicação da microbiota associada à superfície dos vegetais, enquanto os fatores intrínsecos como a natureza do epitélio e a cutícula protetora, o pH do tecido e a presença de antimicrobianos indicam quais vegetais são mais sensíveis ao ataque por microrganismos (Beuchat, 2002; Aruscavage *et al.*, 2006).

A população de microrganismos mesófilos presente nos vegetais pode ser tão elevada quanto 10^9 UFC/g, mas geralmente fica entre $10^4 - 10^6$ UFC.g⁻¹. Esta variabilidade ocorre em função das condições climáticas, da presença de animais e de insetos ou da injúria no próprio vegetal (Nguyen e Carlin, 1994).

O aumento da população de bactérias deteriorantes ($>10^7$ UFC.g⁻¹), por exemplo, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Lactococcus* e *Bacillus*, em vegetais minimamente processados é sempre acompanhado por um acúmulo de metabólitos, como etanol, ácido láctico, ácido acético, CO₂, etc. Essa atividade metabólica acarreta mudanças organolépticas, as quais estão associadas com a oxidação enzimática dos polifenóis dos tecidos injuriados. Segundo Marchetti *et al.* (1992), a deterioração microbiana é detectada sensorialmente quando o número de células atinge um limiar de aproximadamente 10^7 - 10^8 UFC.g⁻¹, dependendo da espécie bacteriana e das características do vegetal.

Segundo Baur *et al.* (2004), a Sociedade Alemã para Microbiologia e Higiene preconiza que a carga de microrganismos mesófilos aeróbios em saladas prontas para o consumo não deve exceder 7,7 log UFC.g⁻¹. Adicionalmente, a validade deve ser no máximo de seis dias e a temperatura de armazenamento inferior a 6°C. Entretanto, para García-Gimeno e Zurera-Cosano (1997) a vida útil de vegetais

minimamente processados pode variar de 6 a 14 dias, dependendo da composição de cada alimento, das condições de processamento e armazenamento.

De acordo com Zagory (1999), a redução da vida útil dos vegetais minimamente processados se dá principalmente através do não controle das condições que possam favorecer a multiplicação dos microrganismos deteriorantes, como as altas temperaturas durante o armazenamento, a injúria física do vegetal e elevados teores de CO₂ no interior da embalagem acarretando a deterioração química do produto. Dessa forma, tão importante quanto o processo de sanificação para reduzir a microbiota inicial, é necessário adotar medidas para se controlar e/ou limitar a multiplicação dos microrganismos, e desta forma auxiliar na extensão da vida útil dos vegetais minimamente processados.

Embora bactérias deteriorantes, bolores e leveduras dominem a microbiota dos vegetais minimamente processados, a presença de patógenos já foi relatada (Froder *et al.*, 2007; Sivapalasingam *et al.*, 2004). Os microrganismos patogênicos podem estar alocados em dois grupos: bactérias patogênicas associadas ao solo (*Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*) e bactérias patogênicas associadas ao trato gastrointestinal (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E. coli* O157:H7, etc.) (Gorny, 2006).

A bactéria enteropatogênica mais comumente associada ao consumo de vegetais é *Salmonella* spp. (CDC, 2002a; Mead *et al.*, 1999; Mohle-Boetani *et al.*, 2001; Sivapalasingam *et al.*, 2004; Thunberg *et al.*, 2002). Esta bactéria já foi isolada de inúmeros alimentos, como alcachofra, broto de feijão, repolho, couve flor, alface, chili, espinafre, agrião, chicória (Abadias *et al.*, 2008; Froder *et al.*, 2007; Gadaga *et al.*, 2007; Nguz *et al.*, 2005; Rai e Tripathi, 2007; Ruiz *et al.*, 1987).

As bactérias do gênero *Salmonella* são microrganismos em forma de bastonetes, Gram-negativos, não esporulados, geralmente móveis devido a flagelos peritríqueos. São anaeróbios facultativos e utilizam a glicose e outros carboidratos com produção de ácido e geralmente de gás. Estes microrganismos são agentes causadores da febre tifóide, septicemia e gastroenterites (Holt *et al.*, 1994).

Nos Estados Unidos já foram relatados alguns surtos por *Salmonella* associados ao consumo de vegetais contaminados. Tal fato pode estar correlacionado, entre outros fatores, com o aumento do consumo de vegetais em busca de uma dieta mais saudável e à globalização do mercado. Em 1999 e 2001 ocorreram, nos Estados Unidos, dois surtos por *Salmonella* Newport e *S. Saintpaul*

provocados pelo consumo de mangas importadas do Brasil e Peru, respectivamente (Beatty *et al.*, 2004; Sivapalasingam *et al.*, 2003).

Nos anos 2000, 2001 e 2002 foi registrado pelos Estados Unidos e Canadá um surto por *Salmonella* sorotipo Poona associado ao consumo de melão importado do México (CDC, 2002b).

Anos mais tarde, entre os meses de junho e julho de 2006, outro surto também associado ao consumo de melão foi registrado pelos Estados Unidos e Canadá, envolvendo *Salmonella* sorotipo Oranienburg (CDC, 2007).

Em abril de 2008 foi registrado pelos Estados Unidos, um surto causado por *Salmonella* sorotipo Saintpaul envolvendo o consumo de tomate *red plum*, *red Roma* e *round red* (CDC, 2008).

Outros casos também foram registrados na Europa, como o que aconteceu na Noruega em 2004 associado ao consumo de rúcula importada causado por *Salmonella* Thompson (Eurosurveillance, 2004).

Em 2006, foi registrado na Suécia um surto por *Salmonella* Bareilly e *Salmonella* Virchow associado ao consumo de feijão verde (*mung bean*) importado da Ásia (Eurosurveillance, 2007).

As bactérias do gênero *Listeria* são microrganismos em forma de cocobacilo, gram-positivos, não esporulados, móveis devido a flagelos peritríqueos quando incubados a 20-25°C. São anaeróbios facultativos e fermentam a glicose produzindo principalmente o lactato. A espécie *Listeria monocytogenes* é patogênica tanto para humanos quanto para animais (Holt *et al.*, 1994).

Diferentemente da maioria das enfermidades transmitidas por alimentos, cujos sintomas são diarreia, vômitos, cólicas, acompanhadas ou não de febre, a listeriose apresenta um quadro clínico normalmente descrito como meningite, aborto, parto prematuro e septicemia. Esta bactéria é conhecida por afetar principalmente pessoas imunocomprometidas, grávidas, idosos e neonatos (Aureli *et al.*, 2000). *L. monocytogenes* também já foi relatada como agente causal de gastroenterites ou ainda como causadora de eczemas (listeriose cutânea) pelo contato direto da bactéria com a pele (Swaminathan e Gerner-Smidt, 2007).

O primeiro surto de importância em alimentos foi relatado no Canadá em 1981 com o consumo de salada *coleslaw*, na qual o repolho foi o alimento responsável pelo surto, já que se encontrava contaminado com as fezes de ovelhas portadores de *Listeria monocytogenes* (Schlech *et al.*, 1983).

Segundo Beuchat (1996a), casos de listeriose humana associados ao consumo de vegetais crus são, em parte, devido à contaminação por adubo orgânico não tratado de ruminantes.

Em 1997, no norte da Itália, *L. monocytogenes* foi incriminada como o agente causal de um surto de gastroenterite associado ao consumo de salada de milho e atum, sendo o milho o alimento contaminado. A população deste patógeno, na salada, era de aproximadamente 10^6 UFC/g e nenhum dos pacientes (crianças e adultos saudáveis) morreu ou apresentou quadro de septicemia (Aureli *et al.*, 2000).

A literatura indica que doenças transmitidas por vegetais minimamente processados são um problema crescente (Beuchat, 1996a; CDC, 2006a, CDC, 2006b; De Roever, 1998; FSNET, 2007). Isso demonstra a necessidade da associação do processamento mínimo com outras tecnologias como irradiação, embalagem em atmosfera modificada, etc. de forma a reduzir os riscos biológicos associados ao consumo desses vegetais.

Muitos dos fatores que contribuem para a epidemiologia de doenças associadas ao consumo de frutas e hortaliças cruas são direta ou indiretamente influenciados pelas condições que afetam a sobrevivência ou a multiplicação dos microrganismos patogênicos. A adaptação às condições desfavoráveis do meio pode resultar em um aumento da virulência do patógeno. *E. coli* O157:H7, *Salmonella* e *L. monocytogenes* são conhecidos por se adaptarem a pH reduzido e a baixas temperaturas, bem como por serem pouco afetados pelas variações do potencial de oxirredução do substrato por serem anaeróbias facultativas. Conseqüentemente, são microrganismos mais tolerantes em meios desfavoráveis (Beuchat, 2002).

Segundo Sivapalasingam *et al.* (2004), o aumento no número de surtos ligados ao consumo de vegetais minimamente processados deve-se principalmente à melhor técnica de detecção desses patógenos nesse tipo de alimento, ao aumento do consumo *per capita* de vegetais minimamente processados, a correlação de vegetais como um potencial veículo de patógenos e aos maiores períodos de estocagem permitindo a multiplicação dos microrganismos até atingir populações capazes de causar infecção.

Formas de minimizar os riscos de contaminação e os surtos envolvendo o consumo de vegetais minimamente processados são a aplicação de Boas Práticas Agrícolas (GAP), Boas Práticas de Processamento (GPM) e da Análise de Perigos e

Pontos Críticos de Controle (HACCP) de forma a se obter um conjunto de práticas e processos que possibilitem a produção de vegetais seguros sob o ponto de vista microbiológico, químico e físico (Gorny, 2006; Sivapalasingam *et al.*, 2004).

Durante o processamento mínimo existem etapas consideradas potencialmente de risco uma vez que pode ocorrer a contaminação do vegetal. Essas etapas envolvem o contato humano, a imersão em água, o corte e o fatiamento (Brackett, 1999).

Segundo Gleeson e O'Beirne (2005), diferentes métodos de corte podem afetar a sobrevivência e a multiplicação de microrganismos devido a diferenças na injúria dos tecidos e conseqüentemente a maior ou menor disponibilidade de nutrientes.

O processo de lavagem é uma das principais etapas dentro da cadeia de produção de vegetais minimamente processados. Tem como objetivo remover restos de solo e outros fragmentos, reduzir a população microbiana, remover resíduos de pesticida, limitar o escurecimento e diminuir a temperatura dos produtos (Simons e Sanguansri, 1997). Deste modo, lavar e centrifugar alface picada após o corte para remover fluidos celulares que contenham enzimas e compostos fenólicos responsáveis pelo rápido escurecimento enzimático é essencial para estender a vida útil do produto (Beltrán *et al.*, 2005; Bolin e Huxsoll, 1991).

A qualidade microbiológica da água utilizada no processamento de vegetais é extremamente importante, pois esta pode servir como veículo de contaminação. A infiltração de patógenos nos vegetais pode ser aumentada se a temperatura do vegetal for maior que a temperatura da água, ou em função da profundidade dos tanques utilizados para a lavagem dos vegetais, mesmo quando estes se encontram perfeitamente intactos (Merker *et al.*, 1999; Zhuang *et al.*, 1995).

Embora os detergentes sejam utilizados para reduzir a microbiota (patogênica ou deteriorante) dos vegetais, estes também podem favorecer a infiltração dos microrganismos, pois poderá reduzir a tensão superficial da água na interface ar-água dos vegetais que possuam a cutina danificada, células do parênquima ou mesmo através dos poros que levam ao interior do vegetal (Beuchat, 2002; Zhang e Faber, 1996; Zhuang *et al.*, 1995).

Zhang e Faber (1996) e Zhuang *et al.* (1995) relataram que sanificantes tiveram ação mínima na redução da população de *Salmonella* e de *L.*

monocytogenes, respectivamente. Assim sendo, esses compostos podem ajudar, mas não garantem a completa eliminação do patógeno do produto.

Diversos sanificantes (cloro, amônia quartenária, peróxido de hidrogênio, ozônio...) podem ser utilizados com o objetivo de destruir ou reduzir de forma significativa os patógenos de importância para a saúde pública, sem afetar a qualidade do produto ou a saúde do consumidor. Entretanto sua eficiência poderá depender das características do vegetal, do tempo de exposição ao sanificante, da concentração utilizada, do pH e da temperatura da água (FDA, 2001).

O cloro, nas suas variadas formas, é um dos principais sanificantes utilizado pela indústria de alimentos por ser relativamente eficiente contra vários patógenos, além de possuir rápida ação, fácil aplicação e completa dissociação em água. Os compostos à base de cloro possuem amplo espectro de ação, que destroem certos sistemas enzimáticos das membranas das células microbianas, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de componentes celulares. Compostos à base de cloro são normalmente utilizados em uma concentração que varia de 50 a 200 ppm com tempo de contato entre 1 a 2 minutos (FDA, 2001; Komanapalli e Lau, 1996).

Entretanto, o cloro pode se oxidar incompletamente com materiais orgânicos, levando à formação de produtos indesejáveis, como clorofórmio (CHCl_3) e outros trihalometanos, com possível potencialidade carcinogênica, que podem permanecer nos alimentos, água, água de lavagem e superfícies de contato com os alimentos, afetando assim a saúde do consumidor. Em pH alcalino, o cloro reage com bases nitrogenadas para produzir cloraminas. A alta reatividade do cloro com a matéria orgânica na presença de oxigênio reduz o teor de cloro livre na água, reduzindo desse modo a sua eficiência contra os microrganismos presentes nos vegetais (Moretti e Puschmann, 2006). Embora este sanitizante promova uma redução no número de microrganismos presentes nos vegetais, essa redução variou entre 0,5–2,0 ciclos conforme observado por Baur *et al.* (2004); Francis e O'Beirne, (2002), Goularte *et al.* (2004), Martins *et al.* (2004) e Niemira (2007).

A indústria de alimentos também utiliza o ozônio como sanificante para os vegetais minimamente processados. O ozônio é relativamente estável no ar, mas altamente instável na água, decompondo-se em um curto período de tempo. O único produto oriundo da decomposição do ozônio é o oxigênio, desta forma os alimentos tratados por ozônio são livres de resíduos (Karaca e Velioglu, 2007).

A eficiência deste sanificante na inativação microbiana depende de fatores ambientais, como a temperatura. Por exemplo, o aumento da temperatura do meio aquoso resulta em uma diminuição de sua solubilidade e, portanto, uma redução na sua eficiência, além de acelerar a sua decomposição. Por outro lado, a diminuição no valor do pH aumenta a eficiência do ozônio (Karaca e Velioglu, 2007).

O ozônio destrói os microrganismos através de uma oxidação progressiva dos componentes celulares vitais causando uma rápida morte celular. A superfície da célula bacteriana é considerada o primeiro alvo no processo de ozonização (Komanapalli e Lau, 1996). Os dois principais mecanismos de destruição identificados do ozônio são a oxidação do grupo sulfidril e aminoácidos das enzimas, peptídeos e proteínas e a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados a peróxidos (Victorin, 1992).

1.3 Embalagem em atmosfera modificada

As embalagens com atmosfera modificada podem ser definidas como as que possuem uma composição interna diferente do ar atmosférico (<0,1% de gás carbônico- CO_2 , 21% de oxigênio- O_2 , 78% de nitrogênio- N_2), hermeticamente seladas com permeabilidade adequada de modo a manter o alimento seguro do ponto de vista microbiológico, e estender a sua vida útil (Werner e Hotchkiss, 2006).

O equilíbrio no interior da embalagem é atingido quando a taxa de consumo do oxigênio e da geração de gás carbônico resultante da respiração de um determinado vegetal se iguala à taxa de transmissão de gases através do material da embalagem. Geralmente, a atmosfera interna equilibrada em 3 a 6% de O_2 e 2 a 10% de CO_2 permite o controle microbiano e aumenta a vida útil dos vegetais, embora outras composições também possam ser utilizadas (Werner e Hotchkiss, 2006).

Dependendo do mecanismo pelo qual se estabelece a atmosfera no interior da embalagem pode-se ter armazenamento em atmosfera passiva ou ativa.

Atmosfera modificada passiva é aquela obtida através das trocas gasosas do interior da embalagem com o ambiente atmosférico. A atmosfera modificada ativa é obtida através da reposição da atmosfera do interior da embalagem por misturas gasosas em concentração pré-estabelecida. Promove-se o vácuo moderado da embalagem que contém o produto e injeta-se a mistura de gases desejada antes da selagem da mesma (Chitarra, 1998).

Há diversos registros na literatura sobre a utilização de embalagens com atmosfera modificada para aumentar a vida útil de vegetais minimamente processados (Ahn *et al.*, 2005; Fan *et al.*, 2003b; Jacxsens *et al.*, 2001). Para que essa tecnologia seja viável, é importante a escolha correta do tipo de embalagem a ser empregada, de forma que esta promova teores apropriados de oxigênio, gás carbônico e vapor d'água no interior da embalagem propiciando, dessa forma, o aumento da vida útil dos vegetais minimamente processados (Allende *et al.*, 2006).

O teor de oxigênio normalmente empregado é geralmente menor que o presente no ar atmosférico e o teor de gás carbônico, maior, com o objetivo de reduzir a taxa respiratória do alimento, retardar o amadurecimento e senescência e reduzir a atividade microbiana. Os microrganismos são afetados indiretamente pelo retardo da maturação e diretamente pela restrição de oxigênio e pela atividade antimicrobiana do gás carbônico (Werner e Hotchkiss, 2006).

Segundo Zagory (1999), altas concentrações de gás carbônico aumentam a fase lag da curva de crescimento e o tempo de geração, o que retarda a multiplicação microbiana.

Elevadas concentrações de CO₂ e/ou reduzidas concentrações de O₂ podem favorecer ou selecionar certos microrganismos. Baixos teores de oxigênio podem favorecer microrganismos microaerófilos como as bactérias lácticas, induzindo à fermentação no interior dos tecidos vegetais ou as bactérias anaeróbias facultativas como *Listeria* spp. Elevadas concentrações de CO₂ podem favorecer bactérias Gram positivas em detrimento das Gram negativas (Brackett, 1987).

Segundo Hao e Brackett (1993), o principal fator que controla a multiplicação bacteriana em vegetais é a temperatura de armazenamento. Entretanto, a vida útil de vegetais minimamente processados pode ser prolongada quando se tem no interior da embalagem uma composição gasosa (baixos teores de oxigênio e elevados teores de CO₂) que reduza os efeitos do etileno (retardando a maturação e senescência), bem como com a utilização correta da embalagem, de forma a prevenir a perda de umidade.

Com a redução da concentração de etileno no interior da embalagem há um atraso na maturação e na senescência do vegetal. Com isso há uma diminuição na velocidade de multiplicação da maioria dos microrganismos oportunistas, já que esta é maior quanto mais velho for o tecido (Zagory, 1999).

1.4 Irradiação

A radiação é a energia propagada através do espaço na forma de ondas eletromagnéticas, as quais podem ser consideradas raios ou partículas. A irradiação de alimentos é obtida através da exposição de alimentos a raios gama (^{60}Co Cobalto) ou feixe de elétrons (energia de até 10 MeV) ou raios-X (energia de até 5 MeV). O efeito da radiação no alimento depende do nível de energia bem como da composição do meio, do teor de umidade, do estado físico, da temperatura durante o processo e da composição atmosférica do ambiente envolvendo o alimento (Diehl, 1990).

Quando a radiação é absorvida por materiais biológicos, há a possibilidade de ela atuar diretamente nos alvos críticos da célula, promovendo a quebra da molécula de DNA, ou indiretamente, interagindo com outros átomos ou moléculas, particularmente com a água, produzindo radicais livres que podem se difundir e afetar importantes componentes celulares. Esse efeito indireto da irradiação é extremamente importante nas células vegetativas dos microrganismos, cujo citoplasma é composto por aproximadamente 80% de água (Diehl, 1990).

Os efeitos da radiação gama diferem dependendo do tipo de microrganismo. As bactérias Gram-negativas são mais sensíveis, enquanto os esporos de bactérias e os fungos são mais resistentes. Deste modo, a irradiação com baixas doses, normalmente aplicada em vegetais, reduzirá mais bactérias do que fungos, modificando a microbiota do vegetal (Brackett, 1987).

A grande vantagem dessa tecnologia é seu alto poder de penetração. Os materiais podem ser tratados na sua embalagem final, evitando dessa forma uma possível recontaminação, além de não aumentar a temperatura interna do produto. Mesmo assim, ela não substitui as Boas Práticas de Fabricação, já que a irradiação não consegue reverter os processos fisiológicos e químicos envolvidos na decomposição do alimento (Henson, 1995).

Os microrganismos respondem diferentemente à irradiação. Essas diferenças estão relacionadas às suas estruturas químicas e físicas e à sua capacidade de se recuperar da injúria provocada pela irradiação. A quantidade de energia necessária para controlar os microrganismos nos alimentos varia de acordo com a resistência de cada espécie e com a população total presente nos alimentos (Farkas, 2006).

A aplicação correta da radiação ionizante pode ser extremamente eficiente na eliminação/redução da população microbiana presente nos alimentos minimizando,

dessa forma, o risco da incidência de doenças transmitidas por alimentos e aumentando sua vida útil (Morehouse e Komolprasert, 2004).

No Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas na década de 50, pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena), em Piracicaba (SP). Mesmo com a permissão, em 1985, do uso da irradiação para a conservação de alimentos, os estudos se restringiram quase que exclusivamente às instituições de pesquisas, uma vez que o País contava com um número restrito de especialistas (Sanz, 1996).

Atualmente, embora esta tecnologia seja comprovadamente eficiente, ainda há uma percepção equivocada de risco por parte dos consumidores, tornando-a subutilizada pelas indústrias de alimentos (Bruhn, 2007).

Devido aos surtos relatados em setembro de 2006 por *Escherichia coli* O157:H7 associado ao consumo de alface americana e espinafre minimamente processado, no qual mais de 200 pessoas foram contaminadas e 3 pessoas morreram, o FDA resolveu em agosto de 2008, aprovar o uso da irradiação nesses alimentos, de modo a garantir a inocuidade dos mesmos (FDA, 2008).

A dose de radiação utilizada em processamento de alimentos é medida em Gray (Gy), que é igual à absorção de 1J/kg. Um kilogray (kGy) equivale a 1000 Gy. Convencionalmente, as doses são divididas em três categorias através de sua aplicação: menor que 1 kGy (baixa dose) para a desinfestação e prolongamento da vida útil; de 1 a 10 kGy (dose de pasteurização) para a pasteurização de carnes e outros alimentos, maior que 10 kGy (alta dose) para a esterilização ou para a redução do número de microrganismos em condimentos (Osterholm e Norgan, 2004).

Atualmente, a dose empregada é um balanço entre o necessário para garantir a segurança e a quantidade necessária que pode ser tolerada pelo produto sem provocar mudanças indesejáveis (Farkas, 2006).

No Brasil, em 2001, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou o regulamento técnico para a irradiação de alimentos, publicado na resolução RDC 21. Esta resolução preconiza que qualquer alimento poderá ser tratado por radiação desde que a dose mínima absorvida seja suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida seja inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais, nutricionais e ou os atributos sensoriais do alimento (ANVISA, 2001).

As mudanças nas propriedades sensoriais são resultados principalmente de reações químicas que ocorrem nos componentes dos alimentos. A mais importante delas é a radiólise da água, que gera moléculas reativas capazes de interagir com os demais componentes dos alimentos (lipídeos, proteínas e carboidratos). A irradiação pode iniciar o processo de autoxidação de lipídeos, aumentando desse modo o sabor de ranço nos alimentos, assim como quebrar proteínas ricas em aminoácidos sulfurados resultando em “off-flavours” extremamente desagradáveis, o que ocorre principalmente em derivados de leite (Kilcast, 1994).

Além disso, a irradiação pode promover a despolimerização de carboidratos com alto peso molecular (por exemplo, a pectina em vegetais), provocando o amolecimento dos tecidos de frutas e hortaliças. Esse efeito vai depender do tipo, da variedade e da maturidade do vegetal. O amolecimento pode ser uma desvantagem, mas também pode ser uma vantagem se este vegetal for utilizado para a produção de suco. Também pode haver redução dos tempos de cozimento e secagem para produtos desidratados (Kilcast, 1994).

As vitaminas possuem radiosensibilidade variada e essas diferenças são dependentes do tipo de alimento a ser irradiado e da disponibilidade de água presente. Entre as vitaminas hidrossolúveis, a tiamina (B_1) é a que apresenta a maior sensibilidade seguida da vitamina C, piridoxina (B_6), riboflavina (B_2) e niacina. Em relação às lipossolúveis, a vitamina E é a mais degradada pelo processo de irradiação, seguida pelas vitaminas A e K, enquanto a vitamina D é a que apresenta maior estabilidade (Diehl, 1990).

1.5 Compostos bioativos

Compostos bioativos são substâncias naturalmente presentes nos vegetais, porém em pequenas quantidades. São reconhecidas por suas propriedades benéficas à saúde do ser humano, por reduzirem o risco de doenças degenerativas melhorando a qualidade de vida das pessoas de uma forma geral (Ragaert *et al.*, 2004)

Na literatura existem estudos indicando que o alto consumo de vegetais está associado à redução do risco de doenças crônicas (McCann *et al.*, 2007). Espécies reativas de oxigênio, por exemplo, radicais livres como o ânion superóxido, radical hidroxila, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlet (O_2^- , OH , H_2O_2 e 1O_2) oriundas do metabolismo aeróbio da maioria dos organismos vivos para a obtenção de

energia, podem causar danos às células e iniciar a peroxidação de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares. Essa injúria causada pelas espécies reativas de oxigênio pode incluir dano à molécula de DNA e oxidação de enzimas importantes para o corpo humano, podendo haver, desta forma, o desenvolvimento de doenças como o câncer, doenças cardiovasculares, arteriosclerose e diabetes (Halliwell, 1994).

Recentemente verificou-se que o efeito benéfico dos vegetais é em parte atribuído aos compostos que possuem atividade antioxidante. Os principais antioxidantes presentes nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos, principalmente os flavonóides (Podsdek, 2007).

Os flavonóides são um grupo de mais de 4000 compostos fenólicos que ocorrem naturalmente em alimentos de origem vegetal. Eles são produtos do metabolismo secundário dos vegetais e são freqüentemente encontrados ligados a açúcares (glicosídeos), o que os torna, geralmente, solúveis em água. Ocasionalmente, os polifenóis também ocorrem em plantas na forma de agliconas (Ross e Kasum, 2002).

Os flavonóides estão divididos em diversos subgrupos (flavonóis, flavonas, catequinas, flavanonas, antocianidinas e isoflavonóides) dependendo da sua estrutura química e, em função dessa classificação, estes compostos fenólicos podem apresentar diferenças em suas propriedades biológicas e químicas. A sua estrutura básica é constituída por dois anéis aromáticos ligados através de três carbonos (C6-C3-C6) (Erlund, 2004; Podsdek, 2007).

Os flavonóides presentes nos alimentos e suas principais fontes podem ser visto na Tabela 1.

A formação dos flavonóides nas plantas é influenciada por diversos fatores, incluindo luminosidade, fatores genéticos, condições ambientais, germinação, grau de maturação, técnicas de processamento e armazenamento, além da variedade dentro de uma mesma espécie (Bravo, 1998).

Os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, possuem diferentes atividades biológicas, mas as mais importantes são a capacidade antioxidante, prevenção de doenças cardiovasculares e o efeito inibitório em vários estágios de tumores (Hollman e Katan, 1997).

Tabela 1 – Ocorrência de flavonóides nos alimentos.

Flavonóide (subgrupo)	Fonte
Flavonol	cebola, chá preto, maçã, brócolis, cereja, vinho tinto
Flavona	Pimenta vermelha, salsão, tomilho
Flavanona	frutas cítricas
Catequinas	chá, vinho tinto, maçã, pêra, uva, pêssego
Antocianidina	ameixa, maçã, frutas vermelhas
Isoflavona	soja

Fonte: Erlund (2004).

A vitamina C é a definição genérica para todos os compostos que exibem atividade biológica para o ácido ascórbico (AA). Porém, apesar do AA ser a principal forma biologicamente ativa, o produto da oxidação deste, denominado ácido dehidroascórbico (AOX) também exibe atividade biológica. Como o AOX pode ser facilmente convertido em AA no corpo humano, é importante verificar o teor destes dois ácidos, quando se tem por objetivo determinar a atividade de vitamina C total presente nos vegetais (Lee e Karder, 2000).

A vitamina C é importante na prevenção de doenças e na manutenção de uma pele saudável. Auxilia a formação do colágeno, absorção do ferro inorgânico, redução do nível de colesterol, melhoria do sistema imunológico e também como antioxidante reagindo com o oxigênio singlet e outros radicais livres. A vitamina C, como antioxidante, reduz o risco de arteriosclerose, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (Davey *et al.*, 2000).

O genótipo, as condições climáticas e as práticas de cultivo e colheita podem influenciar o teor de vitamina C presente nos vegetais na pré-colheita. Na pós-colheita, a temperatura e a umidade relativa, o tipo de processamento do vegetal e a tecnologia utilizada são os fatores que mais influenciam o seu teor (Lee e Karder, 2000).

Os carotenóides são pigmentos lipossolúveis sintetizados por vegetais e microrganismos (cianobactérias, *Serratia marcescens*), abundantemente distribuídos em uma grande variedade de frutas e hortaliças. Embora não sejam nutricionalmente essenciais, tem um papel extremamente importante na dieta

humana como precursores da vitamina A. A deficiência desta vitamina pode acarretar a diminuição das funções celulares, a xeroftalmia, o retardo no crescimento, o aumento na susceptibilidade a infecções e, algumas vezes, a cegueira (Thane e Reddy, 1997).

Os carotenóides podem ser divididos em dois grandes grupos, os precursores e os não precursores da vitamina A (Podsdek, 2007; Rao e Rao, 2007; Thane e Reddy, 1997).

Os precursores são:

- α -caroteno e β -caroteno – abundante nas hortaliças verdes e nos vegetais de coloração amarelo/laranja. Exemplo, cenoura, brócolis, espinafre, salsinha, aipo, tomate;
- β -criptoxantina – presente no pêssego, laranja, tangerina, manga, papaia.

E o grupo dos não precursores da vitamina A são:

- licopeno – encontrado em tomate, goiaba vermelha, melancia;
- luteína – presente em hortaliças verdes e verde-escuras como espinafre, salsinha, brócolis, ervilha, couve, couve de Bruxelas;
- zeaxantina – encontrado em hortaliças verdes e verdes escuras e em algumas frutas, como pêssego, laranja, tangerina.

Em função de sua estrutura possuir duplas ligações conjugadas, os carotenóides são excelentes antioxidantes, além de atuarem na prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (Arab e Steck, 2000; Franceschi *et al.*, 1994; Rice-Evans *et al.*, 1997).

De uma forma geral o teor de carotenóides presentes nos alimentos é bastante estável, exceto sob temperaturas extremamente altas, a qual pode resultar na destruição oxidativa dos mesmos (Thane e Reddy, 1997).

Assim como os carotenóides, a vitamina E (tocoferol e tocotrienol) também pertence ao grupo dos antioxidantes lipossolúveis. O α -tocoferol impede a propagação das reações por radicais livres atuando como um antioxidante e protegendo especialmente os ácidos graxos polinsaturados dentro dos fosfolipídeos da membrana e nas lipoproteínas do plasma, demonstrando um efeito protetor contra doenças cardiovasculares (Podsdek, 2007).

1.6 Aceitação de alimentos irradiados

Segundo Ornellas *et al.* (2006), apesar de toda aprovação e controle pelos órgãos governamentais no emprego da irradiação, diversas barreiras ainda persistem e impedem a comercialização dos alimentos submetidos a essa tecnologia. Estas não são barreiras de natureza técnica ou científica, mas relacionadas ao custo de sua utilização e na aceitação pelo consumidor.

A aceitação de produtos irradiados por parte dos consumidores é baseada em decisões complexas nas quais pesam as percepções sobre os riscos e benefícios da nova tecnologia (irradiação) quando comparada com as demais já existentes (Henson, 1995).

Alguns fatores contribuem para a lentidão no processo de aceitação dos alimentos irradiados. Dentre eles, a associação de alimentos irradiados com alimentos radioativos, o pouco conhecimento da grande maioria da população sobre as causas, incidências e prevenções das enfermidades transmitidas por alimentos e a campanha anti-irradiação promovida por certos grupos ativistas (Eustice e Bruhn, 2006).

Apesar da aprovação por diversas agências reguladoras (Food and Drug Administration, Food and Agriculture Organization, Organização Mundial da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e de diversos trabalhos científicos comprovando sua eficiência (Goularte *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2004; Niemira, 2003a; Niemira *et al.*, 2003b; Rajkowski *et al.*, 2003; Tsuhako, 2005), o mercado de alimentos irradiados ainda não atingiu o nível desejado. Segundo Gunes e Tekin (2006), esse fato é, provavelmente, devido ao desconhecimento dessa tecnologia pela população.

A percepção de riscos e benefícios de uma nova tecnologia pode ser influenciada pela confiança dos consumidores em autoridades (pessoas e instituições) detentoras de conhecimento ou responsáveis por decisões e ações relacionadas à tecnologia (Siegrist *et al.*, 2000).

Segundo Bruhn (1995), é extremamente importante que as informações aos consumidores não se limitem somente à segurança do produto, mas também aos impactos econômicos, éticos e ambientais acarretados por essa tecnologia.

Devido à busca por uma alimentação mais saudável aliada ao atual estilo de vida, verificou-se o aumento do consumo de vegetais minimamente processados. Entretanto, também se observa, cada vez mais, a associação de microrganismos patogênicos a esses alimentos, indicando que apenas o processamento mínimo não é suficiente para reduzir, de forma segura, a população de patógenos presentes nesses alimentos. Por essas razões, vimos a necessidade de associar diferentes tecnologias, como a irradiação e a embalagem em atmosfera modificada, para a possível redução das populações de microrganismos patogênicos sem que haja necessidade de aplicação de doses de irradiação que venham a comprometer a qualidade organoléptica do produto e algumas características nutricionais.

2 Objetivos

Os objetivos desta pesquisa foram:

- Avaliar a eficiência do processamento mínimo sobre a qualidade microbiológica de rúcula;
- Determinar os valores D_{10} para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em rúcula (*Eruca sativa* Mill.) minimamente processada embalada sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada;
- Avaliar o efeito radiação gama no comportamento de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* inoculadas em rúcula embaladas sob ar atmosférico e atmosfera modificada, armazenadas a 5°C por 16 dias;
- Avaliar o efeito da radiação gama no teor de flavonóides em rúcula
- Avaliar o efeito da radiação gama no teor de vitamina C em rúcula irradiada, embalada em ar atmosférico e armazenada a 5°C por 16 dias;
- Avaliar o efeito da radiação gama no teor de carotenóides de rúcula minimamente processada armazenada a 4°C por 13 dias;
- Avaliar a aceitação de rúcula minimamente processada irradiada e a atitude do consumidor em relação à informação fornecida sobre a irradiação de alimentos.

3 Material e Métodos

3.1 Material

Microrganismos: Três cepas de *Salmonella* spp. (*Salmonella* Infantis – gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, *Salmonella* Thyphimurium – ATCC 14028 e *Salmonella* Enteritidis – ATCC 13076) e quatro cepas de *Listeria monocytogenes* (uma cepa isolada de espinafre, uma cepa isolada de carne moída, e duas cepas ATCC 7644 e 19115). Essas cepas foram mantidas a -70°C em caldo tripticase de soja (TSB, Oxoid, Basingstoke, UK) com 20% glicerol.

Alimento: Amostras de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) minimamente processadas foram gentilmente doadas por uma empresa localizada no Estado de São Paulo.

O processamento mínimo realizado nessa empresa consistia de seleção para descartar as folhas que apresentassem qualquer tipo de dano, seguida de uma pré-lavagem em esteira em água ozonizada com concentração desconhecida, cujo principal objetivo era reduzir as sujidades oriundas do campo. Após esta etapa, esses vegetais eram levados à lavagem também em água ozonizada, onde nova seleção para descartar folhas danificadas era realizada. Logo após, eram submetidos à sanificação por imersão em água ozonizada (0,08 ppm) durante 5 minutos e, então, eram centrifugados para a retirada do excesso de água e embalados (Figura 1).

As amostras foram coletadas e analisadas no mesmo dia em que foram minimamente processadas pela indústria.

Figura 1 – Representação esquematizada das etapas do processamento mínimo de rúcula.

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação da qualidade microbiológica de rúcula antes e após o processamento mínimo

As 18 amostras que foram avaliadas antes e após o processamento mínimo, foram submetidas às seguintes análises microbiológicas:

- Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos;
- Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos;
- Contagem de bactérias lácticas;
- Contagem de *Pseudomonas* spp.;
- Enumeração de coliformes termotolerantes (NMP/g);
- Enumeração de *Escherichia coli* (NMP/g);
- Pesquisa de *Salmonella* spp.;
- Pesquisa de *Listeria* spp.

3.2.1.1 Preparo da amostra

Pesaram-se 25 g das amostras que foram adicionadas a 225 mL de solução salina (0,85%) NaCl (LabSynth, Diadema, Brasil) e homogeneizadas em Stomacher 400 Laboratory Blender (Seward – London, UK). Em seguida foram preparadas diluições decimais seriadas até 10^{-5} em solução salina 0,85%.

3.2.1.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos (Cousin *et al.*, 2001)

A partir de cada diluição selecionada, semeou-se 0,1 mL na superfície de placas de Petri previamente preparadas com ágar Padrão para Contagem (PCA – Oxoid, Basingstoke, UK) e, realizou-se o espalhamento do inóculo por toda a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. A seguir, as placas foram incubadas a 7°C por 10 dias. Foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama do alimento (UFC.g⁻¹).

3.2.1.3 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos (Morton, 2001)

A partir de cada diluição selecionada, semeou-se 1 mL em placa de Petri, sobre a qual foi adicionado PCA. Após a completa homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37°C por 48 h. As placas contendo entre 25 a 250 colônias foram contadas. Para a enumeração utilizaram-se os mesmos critérios apresentados em 3.2.1.2.

3.2.1.4 Contagem de *Pseudomonas* spp. (Mead e Adams, 1977)

A partir de cada diluição selecionada, semeou-se 0,1 mL na superfície de placas de Petri previamente preparadas com ágar Base *Pseudomonas* (Oxoid) suplementado com glicerol (Synth) e *Pseudomonas* suplemento seletivo CN (Oxoid SR102) e, com uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio. As placas foram incubadas a 25°C por 48 horas. Foram contadas as placas com 25 a 250 colônias. Para a enumeração utilizaram-se os mesmos critérios apresentados em 3.2.1.2.

3.2.1.5 Enumeração de coliformes termotolerantes (Kornacki e Johnson, 2001)

Triplicatas de 1 mL de cada diluição selecionada foram inoculadas em séries de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Tryptose (LST-Oxoid). Os tubos foram incubados a 37°C por 48 horas. A partir de tubos considerados positivos, isto é, turvos e com produção de gás, transferiu-se uma alíquota destes tubos com auxílio de uma alça para tubos de caldo EC (Oxoid) e incubados em banho-maria a 44,5°C por 48 horas. Foi observada a turbidez do caldo com produção de gás, e a partir desses tubos positivos foi calculado o número mais provável por grama (NMP.g⁻¹), utilizando a tabela de NMP para 3 séries de 3 tubos conforme Swanson *et al.* (2001).

3.2.1.6 Enumeração de *Escherichia coli* (Kornacki e Johnson, 2001)

A partir de cada tubo positivo obtido na análise de coliformes termotolerantes, semeou-se por estrias com auxílio de uma alça uma alíquota do Caldo EC na superfície de placas com ágar Eosina Azul de Metileno (EMB-Oxoid) para a enumeração de *Escherichia coli*. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, foram selecionadas de 3 a 5 colônias suspeitas de *E. coli* (coloração verde metálico) para serem submetidas à confirmação através de provas bioquímicas empregando-se os meios EPM, MILi e ágar Citrato de

Simmons (Enterokit B – Probac do Brasil, São Paulo). Os tubos foram incubados a 37°C durante 24 horas. A partir dos tubos positivos para *E. coli*, calculou-se a população deste microrganismo utilizando a tabela de NMP para 3 séries de 3 tubos conforme Swanson *et al.* (2001). Os resultados foram expressos como NMP.g⁻¹.

3.2.1.7 Contagem de bactérias lácticas (Hall *et al.*, 2001)

A partir de cada diluição selecionada, semeou-se 1 mL em placa de Petri, sobre o qual foi adicionado ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS-Oxoid). Após a completa homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas, em condições de anaerobiose (Anaerogen, Oxoid) a 30°C por 72 horas. Foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e para a enumeração utilizaram-se os mesmos critérios apresentados em 3.2.1.2.

3.2.1.8 Pesquisa de *Salmonella* spp. (Andrews *et al.*, 2001, modificado)

Fase de pré-enriquecimento: 25 g da amostra foram adicionados a 225 mL de caldo lactosado (Oxoid), que foram homogeneizados em “Stomacher” 400 Laboratory Blender e incubados a 37°C por 24 horas.

Fase de enriquecimento seletivo: após a incubação, retiraram-se alíquotas de 0,1 mL e 1 mL do caldo lactosado as quais foram adicionadas em dois meios seletivos distintos, o caldo Rappaport-Vassiliadis (Oxoid), incubado a 42°C por 24 horas e o caldo tetratonato (Difco), incubado a 37°C por 24 horas, respectivamente.

Isolamento de colônias: os inóculos provenientes dos meios de enriquecimento foram semeados em dois meios seletivos diferenciais, ágar Hektoen Enteric (HE - Oxoid) e ágar Manitol Lisina Violeta Cristal Verde Brilhante (MLCB – Oxoid) e incubados a 37°C por 24 horas.

Confirmação das colônias: de 3 a 5 colônias suspeitas de *Salmonella* spp. em MLCB (negras, convexas, lisas e brilhantes) e HE (verde-azuladas, com ou sem centro negro, ou inteiramente negras) foram semeadas em ágar ferro lisina (LIA – Oxoid) e ágar tríplice açúcar ferro (TSI – Oxoid) e incubados a 37°C por 24 horas. As colônias com reações características foram submetidas a outras provas bioquímicas nos meios EPM, MILi e ágar Citrato de Simmons e a prova de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella*. (Probac do Brasil).

3.2.1.9 Pesquisa de *Listeria* spp. (Hitchins, 2003, modificado)

Fase de enriquecimento: 25 g da amostra foram adicionados em 225 mL de caldo BLEB (Buffered Listeria Enrichment Broth-Oxoid) e incubados a 30°C por 4 horas para, após este período, ser adicionado o suplemento "Listeria selective enrichment supplement" (Oxoid). Esse homogeneizado foi novamente incubado a 30°C por 20 horas adicionais.

Isolamento: com o auxílio de uma alça, semeou-se uma alíquota do caldo de enriquecimento em placas com ágar Palcam (Oxoid) e com ágar Oxford (Oxoid), estas foram incubadas por 48 horas a 37°C. O caldo de enriquecimento foi novamente incubado por mais 24 horas (total de 48 horas) a 30°C. Após este período, com o auxílio de uma alça, semeou-se uma alíquota do caldo de enriquecimento nos mesmos meios de isolamento citados anteriormente e sob as mesmas condições de incubação.

Confirmação das colônias: de 3 a 5 colônias suspeitas de cada meio (côncavas, escuras e com halo enegrecido), foram semeadas em placas com ágar tripticase soja adicionado de 0,6 % de extrato de levedura (TSA-YE, Oxoid) e incubadas a 37°C por 24 horas para a verificação de sua pureza. As colônias suspeitas de *L. monocytogenes* (verde-azuladas ou cinza-azuladas) foram submetidas à identificação bioquímica através dos testes de motilidade, β -hemólise, produção de catalase e fermentação de carboidratos (xilose, manitol, ramnose e dextrose).

3.2.2 Determinação dos valores D_{10} em rúcula minimamente processada embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada

3.2.2.1 Preparo do inóculo

Cada cepa de *Salmonella* foi inoculada em caldo tripticase soja (TSB-Oxoid) e de *L. monocytogenes* em TSB adicionado de 0,6% de extrato de levedura (TSBYE). As cepas foram incubadas por 18–20 h a 37°C. Em seguida, cada cepa foi semeada 100 mL de TSB para *Salmonella* e em 100 mL de TSBYE para *L. monocytogenes* e incubada a 37°C por 20–24h. A partir da segunda cultura das 3 cepas de *Salmonella*, 15 mL de cada cultura foram transferidos para um tubo de centrífuga obtendo um *pool* com 45 mL de cultura por tubo.

Para *L. monocytogenes* foram transferidos 10 mL de cada cultura para um tubo de centrífuga obtendo um *pool* com 40 mL de cultura por tubo

Essas culturas foram centrifugadas a 700 x g por 30 min (MIKRO 22, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Alemanha), o sobrenadante descartado e os precipitados foram ressuspensos em 45mL de solução salina (0,85%) NaCl. Para cada microrganismo foram preparados dois *pools*.

3.2.2.2 Contaminação dos vegetais para a determinação dos valores D_{10} (Niemira *et al.*, 2002)

As suspensões dos *pools* de cada gênero de microrganismo foram misturados em 6L de água destilada estéril refrigerada (2–5°C) com o objetivo de se obter uma população final de aproximadamente 10^7 - 10^8 UFC.mL⁻¹. A rúcula minimamente processada foi imersa nessa suspensão por 15 minutos e depois centrifugada manualmente (Supreme Plastic Manufacturing Co., China) para a remoção do excesso de água. A rúcula foi, então, dividida em porções de 25 g, embaladas em sacos de polietileno, seladas e mantidas sob refrigeração até o momento da irradiação. Estas amostras foram caracterizadas como embaladas sob ar atmosférico.

Posteriormente, para a modificação da atmosfera no interior das embalagens, porções de 25 g de amostras, previamente inoculadas, foram acondicionadas em filme de polipropileno biorientado (20 μ de espessura, taxa de transmissão de oxigênio de 2200 cm³/m²dia a 23°C e taxa de transmissão de vapor de 8 g de H₂O/m²dia). Inicialmente foi aplicado um leve vácuo para a retirada do ar do interior da embalagem e posteriormente injetou-se uma mistura gasosa por 4 segundos, nas proporções de 15% de oxigênio, 5% de gás carbônico e 80% de nitrogênio. Estas amostras foram então fechadas na seladora AP 500 (TecMaq, São Paulo, Brasil) e mantidas sob refrigeração até o momento da irradiação.

3.2.2.3 Processo de irradiação

As amostras de rúcula preparadas conforme o item 3.2.2.2 e contaminadas com *L. monocytogenes* foram expostas às doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 kGy, enquanto aquelas inoculadas com *Salmonella* foram expostas às doses de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 kGy. Cada estudo incluiu três amostras por dose, além dos controles (não irradiadas) e foi repetido três vezes.

Essas amostras foram transportadas em caixa de material termoisolante, com gelo, para a planta de irradiação. Estas foram irradiadas em um irradiador JS-7500 Nordium Inc, tendo como fonte radioativa ^{60}Co (Embrarad S.A., Cotia, São Paulo). A taxa de dose variou de 2,0 a 2,2 kGy/hora e a calibração do canal foi feita através de dosímetro Harwell red perpex (UK).

3.2.2.4 Quantificação da população sobrevivente de *L. monocytogenes* em rúcula minimamente processada (Kang e Fung, 1999, com modificações)

As amostras irradiadas e não irradiadas foram mantidas sob refrigeração (5°C) até o início das análises microbiológicas. Cada porção de 25 g foi homogeneizada em 225 mL de solução salina (0,85%) em Stomacher 400 durante 30 segundos. A partir desse homogeneizado, foram realizadas diluições decimais seriadas, usando como diluente solução salina (0,85%). Um mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri sobre a qual foi adicionada TSAYE. Este procedimento foi realizado em duplicata. Após solidificação deste meio, adicionou-se uma sobrecamada de ágar Oxford e incubou-se a 37°C por 48 horas. Foram contadas as placas com 25 a 250 colônias, após as contagens foram calculadas as médias das duplicatas, aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos UFC.g^{-1} .

3.2.2.5 Quantificação da população sobrevivente de *Salmonella* spp. em rúcula minimamente processada (Kang e Fung, 1999, com modificações)

As amostras irradiadas e não irradiadas foram mantidas sob refrigeração (5°C) até o início das análises microbiológicas. Cada porção de 25 g foi homogeneizada em 225 mL de solução salina (0,85%) em Stomacher 400 durante 30 segundos. A partir desse homogeneizado, foram realizadas diluições decimais seriadas, usando como diluente solução salina (0,85%). Um mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri sobre a qual foi adicionada TSA. Este procedimento foi realizado em duplicata. Após solidificação deste meio, adicionou-se uma sobrecamada de ágar MLCB e incubou-se a 37°C por 48 horas. Foram contadas as placas com 25 a 250 colônias, após as contagens foram calculadas as médias das duplicatas, aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos UFC.g^{-1} .

3.2.2.6 Cálculo do valor D_{10}

O valor D_{10} foi calculado, graficamente, através da análise de regressão linear realizada empregando-se o software Excel (Microsoft® Excel, SR-2, Redmond, WA, EUA).

3.2.2.7 Análise estatística

Para a avaliação e interpretação dos resultados procedeu-se à análise de variância e o teste de Tukey, utilizando o programa STATISTICA (StatSoft®, versão 5.5, EUA) com o objetivo de verificar a influência do tipo de embalagem (ar atmosférico e atmosfera modificada) na radiosensibilidade da população de *Salmonella* e *L. monocytogenes* inoculada em rúcula. Valores de P menores que 0,05 indicaram diferença significativa.

3.2.3 Avaliação do efeito da radiação gama no comportamento de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* inoculadas em rúcula embaladas sob ar atmosférico e atmosfera modificada, armazenadas a 5°C por 16 dias

3.2.3.1 Preparo do inóculo

Foi realizado de maneira análoga à descrita no item 3.2.2.1.

3.2.3.2 Inoculação dos vegetais para a avaliação do comportamento de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp.

Foi realizado de maneira análoga à descrita no item 3.2.2.2.

3.2.3.3 Processo de irradiação

As amostras de rúcula inoculadas com populações de aproximadamente 10^6 UFC.g⁻¹ de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. foram embaladas tanto sob ar atmosférico (135 embalagens) como sob atmosfera modificada (135 embalagens), conforme descrito no item 3.2.2.2, e expostas às doses de 1,0 e 2,0 kGy. Cada estudo incluiu três amostras por dose, além das amostras-controle, isto é, que não foram irradiadas, e foi repetido três vezes.

Essas amostras foram transportadas em caixa de material termoisolante com gelo para a planta de irradiação e irradiadas em um irradiador multipropósito, tendo

como fonte radioativa ^{60}Co , pertencente ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, São Paulo. A taxa de dose durante os experimentos foi de 2,0 kGy/hora e a calibração do canal foi feita através de dosímetro Harwell Amber (UK).

Após o processo de irradiação, as amostras foram armazenadas a 5°C durante 16 dias. As populações de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. foram avaliadas nos dias 0, 5, 9, 12 e 16.

3.2.3.4 Quantificação da população sobrevivente de *Listeria monocytogenes* em rúcula minimamente processada (Kang e Fung, 1999, com modificações)

Foi realizado de maneira análoga à descrita no item 3.2.2.4.

3.2.3.5 Quantificação da população sobrevivente de *Salmonella* spp. em rúcula minimamente processada (Kang e Fung, 1999, com modificações)

Foi realizado de maneira análoga à descrita no item 3.2.2.5.

3.2.3.6 Análise estatística

Para a avaliação e interpretação dos resultados procedeu-se à análise de variância e o teste de Tukey, utilizando o programa STATISTICA (StatSoft®, versão 5.5, EUA) com o objetivo de verificar a influência da dose de irradiação, do tipo de embalagem (ar atmosférico e atmosfera modificada) e do tempo de armazenamento no comportamento da população de *Salmonella* e *L. monocytogenes*. Valores de *P* menores que 0,05 indicaram diferença significativa.

3.2.4 Avaliação do teor de umidade em rúcula minimamente processada e irradiada (AOAC, 1997).

O método utilizado foi o de secagem em estufa (105°C $\pm$ 5°C), baseado na remoção da água por aquecimento. As amostras foram colocadas em cápsulas de porcelana com massa previamente determinada, ficando em estufa até a secagem. As cápsulas contendo as amostras foram, então, resfriadas à temperatura ambiente, em dessecador, tendo sua massa novamente determinada. Logo após, as cápsulas retornaram à estufa e este procedimento foi repetido até a obtenção de massa constante (por aproximadamente 5 h). Foi calculada, então, a porcentagem de umidade das rúculas. Todas as determinações foram feitas em triplicatas.

Para a avaliação e interpretação dos resultados procedeu-se à análise de variância e o teste de Tukey, utilizando o programa STATISTICA (StatSoft®, versão 5.5, EUA) com o objetivo de verificar a influência da dose de irradiação no teor de umidade presente na rúcula. Valores de *P* menores que 0,05 indicaram diferença significativa.

3.2.5 Avaliação do teor de flavonóides em rúcula minimamente processada irradiada (Price *et al.* (1999) modificado por Arabbi *et al.* (2004))

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, ou grau HPLC quando necessário. Os padrões de flavonóides como as flavonas- luteolina e apigenina, os flavonóis- quempferol, mirecetina e quercetina, assim como a catequina e a epicatequina foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA), as antocianidinas- cianidina, pelargonidina, delphinidina, malvidina e peonidina da Extrasynthese (Genay, França), as flavonas- naringenina e hespertidina e as chalconas- naringenina e phloridzina da Plantech (Reading, Reino Unido), a naringina e a cianidina-3-glicosídeo da Apin Chemicals (Abingdon, Reino Unido) e a rutina da Merck (Darmstadt, Alemanha).

3.2.5.1 Extração quantitativa dos flavonóides

As amostras foram congeladas e pulverizadas com nitrogênio líquido para posterior extração. Duplicatas da amostra pulverizada (20 g) foram homogeneizadas três vezes em metanol/água na proporção 70:30, incluindo a água das amostras (100 mL na primeira extração, 50 mL nas seguintes) em velocidade 5, no aparelho Ultra-Turrax (Polytron-Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça), durante 1 minuto em um banho de gelo. O homogeneizado contendo polifenóis foi filtrado em papel de filtro (Whatman nº06 Maidstone, Inglaterra).

Os extratos foram concentrados até a eliminação do metanol em rotavapor (RE 120, Buchi, Flawil, Suíça), em temperatura menor que 40°C até volume próximo de 20 mL. O seu volume foi ajustado para 25 mL com água deionizada, em balão para posterior aplicação em colunas de poliamida (SPE).

3.2.5.2 Extração em fase sólida

Uma alíquota de 10 mL da amostra preparada conforme item 3.2.5.1 foi eluída em coluna de 1 g de Poliamida (CC 6, Macherey-Nagel), preparada em seringa

própria de 6 mL (HPLC Technology). As colunas foram pré-condicionadas pela passagem de 20 mL de metanol e 60 mL de água deionizada. Após a passagem dos extratos aquosos, as colunas foram lavadas com 20 mL de água deionizada e a eluição dos flavonóides foi feita com 50 mL de metanol-amônia (99,5:0,5). Utilizou-se manifold Visiprep 24 DL (Supelco, Bellefonte, EUA). Após a secagem completa dos eluatos por rotoevaporação sob vácuo a 40°C, as amostras foram ressuspensas em 1 mL de metanol HPLC, e filtradas utilizando-se filtros de polietileno com membrana PTFE (Millipore Ltd., Bedford, EUA) de 0,22 μ de poro.

3.2.5.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O cromatógrafo utilizado para a identificação e a quantificação dos flavonóides foi o do sistema Hewlett-Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quaternária e detetor de diodos (DAD), controlado pelo software ChemStation. A coluna utilizada foi a Prodigy 5 μ ODS₃ 250x4,60 mm (Phenomex Ltd., Reino Unido) e a eluição foi realizada com gradiente de solventes constituído por A: água/tetrahidrofurano/ácido trifluoroacético (98:2:0,1) e B: acetonitrila. A proporção foi de 17% de B por 2 minutos, aumentando para 25% de B após cinco minutos, 35% de B após mais oito minutos e 50% de B após mais 5 minutos. As amostras foram injetadas em duplicata (20 μ L) e os flavonóides foram obtidos na forma glicosilada, sendo identificados e quantificados de acordo com os padrões externos, na forma de agliconas. Considerou-se uma avaliação positiva na identificação quando a porcentagem de identidade dos espectros foi da ordem de 99,9%. Os açúcares ligados aos flavonóides não foram identificados. A calibração foi realizada através da injeção dos padrões em triplicata em cinco concentrações diferentes.

Os resultados foram expressos em mg de aglicona por 100g de amostra em base úmida (b.u.), através da análise das médias e desvios-padrão dos valores obtidos para as duplicatas de extração e duplicatas de injeção de cada uma das amostras.

Todos os reagentes utilizados nessa análise, quando não especificados anteriormente, foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

O teor de flavonóides foi determinado no dia posterior ao processo de irradiação.

3.2.6 Avaliação dos teores de ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 5°C durante 16 dias (Pasternak *et al.*, 2005)

As amostras de rúcula foram coletadas e transportadas em caixa de material termoisolante com gelo para a planta de irradiação (IPEN) e expostas às doses de 1 e 2 kGy.

Após o processo de irradiação, as amostras foram armazenadas a 5°C durante 16 dias. Os teores de ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C foram avaliados nos dias 0, 5, 9, 12 e 16.

Denominou-se dia 0, o intervalo de tempo para as amostras analisadas 24 horas após o processo de irradiação.

Nos dias determinados para as análises, as amostras foram previamente congeladas e pulverizadas com nitrogênio líquido para posterior extração do ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C.

Pesou-se aproximadamente 0,5 g de amostra previamente congelada e pulverizada, aos quais foram adicionados 3 mL de solução de ácido metafosfórico a 3% (Sigma, EUA). Essa solução foi homogeneizada em homogeneizador Potter (Glas-Col, EUA) por 1 minuto e depois centrifugada (Sorvall, EUA) por 30 minutos a 12.000 x g a 4°C. O precipitado foi desprezado e o volume do sobrenadante anotado para posterior cálculo. Este sobrenadante foi filtrado em membrana Millipore®, porosidade 0,45 µm.

Para a determinação de ácido ascórbico reduzido, adicionou-se 250 µL de ácido metafosfórico 3% e 500 µL de solução de KCl 2 mM, pH 2,5 (Merck, Alemanha) a 250 µL de amostra filtrada.

Para a determinação do ácido ascórbico total, adicionou-se a 250 µL de amostra filtrada, 250 µL de solução de ditioneitol (DTT) (Sigma) 0,5 M. Após 30 minutos, adicionou-se 500 µL de solução de KCl 2 mM, pH 2,5. Todas estas etapas foram realizadas em banho de gelo.

O cromatógrafo utilizado para a quantificação da vitamina C foi o do sistema Hewlett-Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quaternária e detetor de diodos (DAD). A coluna utilizada foi a µBondapak C18 300 x 3,6 mm e porosidade 0,5 µm (Waters, EUA), e a eluição foi realizada por KCl 2 mM pH 2,5 (acertado com ácido o-fosfórico).

Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de amostra em base úmida (b.u.), através da análise das médias e desvios-padrão dos valores obtidos para as triplicatas de extração e duplicatas de injeção de cada uma das amostras.

O conteúdo de ácido dehidroascórbico foi obtido pela diferença entre o conteúdo de ácido ascórbico total e de ácido ascórbico reduzido.

Para a avaliação e interpretação dos resultados procedeu-se à análise de variância e o teste de Tukey, utilizando o programa STATISTICA (StatSoft®, versão 5.5, EUA) com o objetivo de verificar a influência da dose de irradiação e do tempo de armazenamento no teor de ácido ascórbico presente na rúcula. Valores de *P* menores que 0,05 indicaram diferença significativa.

3.2.7 Avaliação dos teores de carotenóides pró-vitamina A em rúcula minimamente processada irradiada (De Rosso e Mercadante, 2007a)

As amostras de rúcula foram coletadas e transportadas em caixa de material termoisolante com gelo para a planta de irradiação (IPEN) e expostas às doses de 1 e 2 kGy.

Após o processo de irradiação, as amostras foram armazenadas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 13 dias. Os teores de carotenóides pró-vitamina A foram avaliados nos dias 0, 3, 7, 10 e 13.

Denominou-se dia 0, o intervalo de tempo para as amostras analisadas 24 horas após o processo de irradiação.

Metanol (MeOH) e éter tert-butil metílico (MTBE), grau HPLC, foram obtidos da Merck ou da Mallinckrodt Baker (Philipsburg, EUA). Todos os demais reagentes utilizados foram de grau analítico e foram obtidos da Labsynth. As amostras e os solventes foram filtrados por membrana Millipore (Billrica, EUA) com 0,22 e 0,45 μm antes da análise por HPLC.

Os padrões de *all-trans*- β -criptoxantina, *all-trans*- α -caroteno, *all-trans*- β -caroteno, 15-*cis*- β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno foram fornecidos pela DSM Nutritional Products (Basel, Suíça) com grau de pureza entre 93 a 99%.

3.2.7.1 Extração dos carotenóides

Os carotenóides foram exaustivamente extraídos, em duplicata, de amostras de rúcula (10 g), utilizando acetona foram, então, transferidos para uma mistura éter de petróleo (30-70°C)/éter etílico (2:1) e saponificados com KOH metanólico 10%, por uma noite em temperatura ambiente. Posteriormente foi feita lavagem com água para a retirada do álcali, até obtenção de pH neutro. O solvente foi completamente evaporado em evaporador rotatório, em temperatura menor que 40°C. Os extratos foram mantidos a -35°C até o momento de realização da análise por cromatografia líquida de alta eficiência.

3.2.7.2 Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos acoplada a espectrometria de massas (HPLC-PDA e HPLC-PDA-MS/MS).

As análises quantitativas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters (Milford, EUA) com sistema quaternário de bombeamento de solventes (modelo 600), desgaseificador *on line*, injetor *Rheodyne* (Rheodyne LCC, Rohnert Park, EUA) com alça de amostra (*loop*) de 20 µL, forno externo com controle de temperatura e detector de arranjo de diodos (PDA) (Waters, modelo 996). A aquisição e o processamento de dados foram realizados através do software Millennium Waters. Os espectros foram adquiridos entre 250 e 650 nm e os cromatogramas foram processados em 450, 350 e 280 nm.

Para as análises por espectrometria de massas (MS), foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu (Kioto, Japão) com sistema quaternário de bombeamento de solventes (modelo LC-20AD), desgaseificador *on line* e injetor *Rheodyne* com alça de amostra (*loop*) de 20 µL. Este equipamento estava conectado, em série, a um detector de arranjo de diodos (PDA) (Shimadzu, modelo SPD-M20A) e a um espectrômetro de massas com fonte de ionização APCI e analisador *ion-trap* da Bruker Daltonics, modelo Esquire 4000 (Bremen, Alemanha). Os parâmetros de espectrometria de massas foram os seguintes: modo positivo: corrente corona de 4000 nA, temperatura da fonte: 450°C, gás de secagem N₂ – temperatura: 350°C, fluxo: 5 L/minuto, nebulizador: 60 psi, energia de fragmentação MS/MS: 1,4 V. Os espectros de massas foram adquiridos com faixa de varredura de 100 a 700 *m/z*.

Em ambos os cromatógrafos Waters e Shimadzu, a separação dos carotenóides foi realizada em uma coluna C₃₀ YMC (5 µm, 250 x 4,6 mm i.d.), utilizando como fase móvel um gradiente linear de MeOH com 0,1% de trietilamina (TEA)/MTBE de 95:5 para 70:30 em 30 minutos, seguindo para 50:50 em 20 minutos. O fluxo foi de 1 mL/minuto e a temperatura da coluna foi de 29°C, quando a análise foi realizada no HPLC Waters. Quando a análise foi realizada utilizando o espectrômetro de massas, TEA foi excluída da fase móvel, e o fluxo e a temperatura foram respectivamente diminuídos para 0,9 mL/minuto e 26°C.

Os resultados combinados dos seguintes parâmetros foram considerados para a identificação de carotenóides: ordem de eluição na coluna C₃₀, características do espectro de absorção UV/visível (comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\max}$), estrutura fina do espectro (%III/II) e intensidade do pico *cis* (%A_B/A_{II})), e características do espectro de massas, comparando a padrões analisados nas mesmas condições e dados disponíveis na literatura (Back e Enzell, 1995; Britton, 1995; Britton *et al.*, 2004; De Rosso e Mercadante, 2007a e 2007b). Os carotenóides foram quantificados por HPLC, utilizando curvas de calibração externa *all-trans*- β -criptoxantina, *all-trans*- α -caroteno e *all-trans*- β -caroteno. Os isômeros *cis* de β -caroteno foram estimados utilizando a curva do isômero *all-trans* correspondente.

Para a avaliação e interpretação dos resultados procedeu-se à análise de variância e o teste de Tukey, utilizando o programa STATISTICA (StatSoft®, versão 5.5, EUA) com o objetivo de verificar a influência da dose de irradiação e do tempo de armazenamento no teor dos carotenóides com atividade pró-vitamina A presente na rúcula. Valores de *P* menores que 0,05 indicaram diferença significativa.

3.2.8 Análise sensorial de rúcula minimamente processada

O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP) tendo recebido parecer que se encontra no Anexo 1.

3.2.8.1 Teste de Aceitação

Três pacotes de rúcula minimamente processada, com aproximadamente 2 Kg cada, foram gentilmente doados por uma empresa de processamento mínimo.

Essas amostras foram irradiadas com doses de 2 e 4 kGy e analisadas sensorialmente 24 horas depois.

No teste de aceitação, os provadores foram solicitados a avaliar, de forma geral, o quanto gostou ou desgostou da amostra, em escala hedônica híbrida de 10 cm (0= desgosta extremamente; 10= gosta extremamente) (Anexo 2) (Villanueva *et al.*, 2000).

O painel, com idade entre 20 e 55 anos, era composto por 50 provadores não treinados, alunos de graduação, pós-graduação, funcionários e professores da USP. Nesse teste, analisou-se a aparência, o sabor, o aroma e a textura dos produtos. A rúcula foi mantida sob refrigeração (7°C) e servida em pratos brancos descartáveis, codificados com número de três dígitos aleatórios, na porção de aproximadamente 10 gramas. Cada provador recebeu garfo descartável, sal, água e biscoito de água e sal para minimizar o sabor residual entre uma amostra e outra. As amostras foram avaliadas sob luz branca em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, em São Paulo - SP.

Os resultados foram analisados através de análise de variância (SAS Institute, Inc. Cary, NC) e o teste de média foi conduzido utilizando o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2.8.2 Avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados

Nesta etapa, realizada no início de setembro de 2006, foi avaliada a opinião dos consumidores da cidade de São Paulo sobre alimentos irradiados. Foram entrevistados 200 provadores não treinados (potenciais consumidores do produto), recrutados nas dependências do Centro de Práticas Esportivas da Universidade de São Paulo (CEPEUSP) como forma de obter heterogeneidade da população entrevistada.

Os provadores, com idade entre 18 e 75 anos, responderam a três questionários a respeito do seu conhecimento sobre irradiação de alimentos, conforme questionários em anexo (anexo 3, anexo 4 e anexo 7).

Inicialmente, foi apresentado o questionário denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 3) para que cada participante pudesse entender os objetivos da pesquisa e para que fossem anotados os dados de identificação de cada sujeito, como nome, idade, grau de escolaridade, presença de filhos ou idosos na casa e a renda média mensal da família.

Posteriormente, foi entregue um segundo questionário (anexo 4) no qual foram formuladas perguntas sobre o conhecimento e a opinião dos consumidores da cidade de São Paulo sobre alimentos irradiados e a percepção sobre a segurança ou o risco do processo de irradiação. Estes entrevistados foram divididos em dois grandes grupos, onde 50% (100) recebeu um material informativo (anexo 5) que continha explicações e opiniões favoráveis ao processo de irradiação. O outro grupo (100 indivíduos) recebeu, além desse material informativo, um outro que possuía informações totalmente contrárias ao processo de irradiação em alimentos (anexo 6).

Após a leitura do material informativo, foi distribuído um terceiro questionário (anexo 7), semelhante ao questionário anterior (anexo 4). Esta etapa teve como objetivo verificar a influência da informação sobre a percepção de risco e segurança em relação ao processo de irradiação de alimentos.

Os dois últimos questionários (anexo 4 e anexo 7) eram compostos de escalas numeradas, onde o ponto mais baixo de cada escala significava a extrema discordância em relação ao quesito perguntado e o ponto mais alto, a extrema concordância.

Os resultados foram analisados através de testes t de Student, com a finalidade de testar a hipótese de diferença das médias, considerando um nível de 5% para estabelecer diferenças significativas.

4 Resultados e Discussão

4.1 Qualidade microbiológica antes e após o processamento mínimo de rúcula

A Figura 2 mostra o efeito do processamento mínimo com água ozonizada (0,08 ppm durante 5 minutos) na redução da microbiota naturalmente presente em rúcula. É possível observar redução inferior a 1 $\log_{10}$ UFC.g⁻¹ para o grupo de bactérias analisadas antes e após o processamento mínimo.

Figura 2 – Qualidade microbiológica de amostras de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) antes e após o processamento mínimo (* $\pm$ DP).

Verifica-se, através da Figura 2, que as populações de bactérias lácticas e mesófilas durante o processamento mínimo variaram de 3,68 $\log_{10}$ UFC.g⁻¹ a 2,94 $\log_{10}$ UFC.g⁻¹ e de 6,57 $\log_{10}$ UFC.g⁻¹ a 5,88 $\log_{10}$ UFC.g⁻¹, respectivamente. Esses resultados são concordantes com os relatados por Nguyen e Carlin (1994), que afirmaram que a quantidade de bactérias mesófilas durante o processamento mínimo varia de 10⁹ a 10³ UFC.g⁻¹.

Os resultados sobre a eficiência do ozônio observados neste estudo, foram semelhantes aos relatados por outros autores com a redução de aproximadamente 1 log para a população de mesófilo após o processo de sanificação (Garcia *et al.*, 2003; Ketteringham *et al.*, 2006; Koseki e Isobe, 2006; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006 e Martins *et al.*, 2005). Garcia *et al.* (2003) com 7,5 mg.L⁻¹, Koseki e Isobe (2006) com 3 ppm, Ketteringham *et al.* (2006) com uma concentração de até 3,5 mg.L⁻¹, Martínez-Sánchez *et al.* (2006) com 10 mg.L⁻¹ e Martins *et al.* (2005) com 0,08 ppm, não observaram efeito significativo na redução da população microbiana nos diversos vegetais estudados, como alface, pimenta verde, rúcula e agrião minimamente processado.

Reduções de aproximadamente 1 log para as populações de psicrotróficos, coliformes termotolerantes e bactérias lácticas após o processamento mínimo, relatadas por Martínez-Sánchez *et al.* (2006) e Martins *et al.* (2005), foram semelhantes aos resultados obtidos na presente pesquisa.

Contrariamente ao observado na presente pesquisa e nas anteriormente citadas, Kim *et al.* (1999) observaram a redução de 4 log₁₀ UFC.g⁻¹ para a população de mesófilos e Selma *et al.* (2007) verificaram a redução de aproximadamente 6 log₁₀ UFC.g⁻¹ para *Shigella sonnei* em alface, ao utilizarem ozônio nas concentrações de 1,3 mM e de 2,2 ppm, respectivamente.

Já quando o sanificante utilizado foi o hipoclorito de sódio (200 ppm), Goularte *et al.* (2004) e Martins *et al.* (2004) encontraram redução semelhante ao da presente pesquisa, de aproximadamente 1 log₁₀ UFC.g⁻¹ na população de psicrotróficos em alface e agrião, respectivamente. Tshako (2005), utilizando a mesma concentração de hipoclorito de sódio no processamento mínimo de diversos tipos de alface observou reduções maiores atingindo, aproximadamente, 3 log₁₀ UFC.g⁻¹ para a população de psicrotróficos.

A combinação de cloro e ozônio também pode ser utilizada na sanificação de vegetais. Garcia *et al.* (2003) verificaram que a combinação destes dois sanificantes (2,5 mg.L⁻¹ de ozônio e 100 mg.L⁻¹ de cloro) foi mais eficiente na redução da população de aeróbios mesófilos em alfaces (1,4 log₁₀ UFC.g⁻¹), quando comparado com 7,5 mg.L⁻¹ de ozônio (0,5 log₁₀ UFC.g⁻¹) ou com 200 ppm de cloro (1 log₁₀ UFC.g⁻¹), separadamente.

De uma maneira geral, pode-se afirmar que a eficiência da ação dos sanificantes na redução da população microbiana é influenciada pelo pH e

temperatura da água, pelas contaminações iniciais, pelas características do vegetal, pela cera superficial do vegetal, pelas fissuras e pelos cortes (Karaca e Velioglu, 2007). Os microrganismos também podem produzir biofilmes na superfície do vegetal, de maneira análoga ao que acontece na superfície de equipamentos, dificultando a ação do sanificante.

E. coli, quando presente, teve população de aproximadamente $1 \log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ não sendo possível detectá-la após o processamento mínimo.

Salmonella e *L. monocytogenes* não foram detectadas nas amostras de rúcula analisadas antes e após o processamento mínimo, o que concorda com os resultados obtidos por Tsuhako (2005) que não encontrou essas bactérias patogênicas nas amostras de alface analisadas. Contrariamente, tal fato foi observado por Froder *et al.* (2007) que detectaram *L. monocytogenes* em uma amostra de espinafre e *Salmonella* spp. em 4 amostras de vegetais folhosos minimamente processados (agrião, alface mimosa, escarola e salada de alface, cenoura e *radicchio*).

4.2 Determinação dos valores D_{10} em rúcula minimamente processada embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada

A radiorresistência de *Salmonella* e *L. monocytogenes* é a mais estudada em função da importância que estes microrganismos representam para a saúde pública, sendo considerados os de maior resistência à radiação dentre os patogênicos não formadores de esporos e causadores de enfermidades transmitidas por alimentos (ETA). Portanto, ao se reduzir a população destes microrganismos, ocorrerá conseqüentemente a redução dos demais patógenos não esporulados.

As Figuras 3 e 4 mostram as curvas de inativação de *Salmonella* e *L. monocytogenes* inoculadas em amostras de rúcula embaladas sob ar atmosférico e expostas às doses de até 1,2 kGy e 2,5 kGy, respectivamente. Os valores D_{10} para *L. monocytogenes* (0,48; 0,42 e 0,37 kGy) foram superiores aos encontrados para *Salmonella* (0,19; 0,19 e 0,16 kGy).

Os resultados de D_{10} desta pesquisa são semelhantes aos obtidos por Goularte *et al.* (2003) para *Salmonella* spp. em alface picada e irradiada (0,16 – 0,23 kGy)

Por outro lado, Dhokane *et al.* (2006) encontraram valores superiores aos relatados por nós e que variaram de 0,31 a 0,35 kGy em cenoura e pepino,

respectivamente. O mesmo ocorreu com os resultados obtidos por Lee *et al.* (2006) em pepino e espinafre, cujos valores foram de 0,40 e 0,37 kGy, respectivamente, e por Martins *et al.* (2004) em agrião minimamente processado (0,33 a 0,42 kGy).

Figura 3 – Sobrevivência de *Salmonella* spp. inoculada em rúcula embalada sob ar atmosférico e exposta a diferentes doses de radiação.

Os valores D_{10} para *L. monocytogenes* (Figura 4) foram superiores aos reportados por Bari *et al.* (2005), Niemira (2003a, 2003b) e Tshako (2005), que relataram valores que variaram de 0,19 a 0,25 kGy em diversos vegetais analisados (repolho, tomate, alface e endívia).

Embora Lee *et al.* (2006) tenham encontrado valores de D_{10} para *Listeria ivanovii* (0,34 e 0,41 kGy para pepino e espinafre, respectivamente), superiores aos relatados por Bari *et al.* (2005), Niemira (2003a, 2003b) e Tshako (2005), ainda assim, são menores que os encontrados na presente pesquisa.

A variação na radiosensibilidade de microrganismos inoculados em alimentos é ainda pouco compreendida, entretanto é sabido que a sensibilidade de um microrganismo à radiação não é influenciada apenas pelo tipo do vegetal, como também pelos diferentes cultivares de um mesmo vegetal. Isto ocorre, provavelmente, em função da variação no teor de umidade, da presença de

compostos químicos que protegem os microrganismos da ação dos produtos radiolíticos ou de qualquer outro fator ainda não identificado (Niemira, 2003a).

Figura 4 – Sobrevivência de *L. monocytogenes* inoculada em rúcula embalada sob ar atmosférico e exposta a diferentes doses de radiação.

Para as amostras de rúcula embaladas sob atmosfera modificada (15% de O₂, 5% de CO₂ e 80% de N₂), as doses de radiação gama necessárias para reduzir 90% da população de *Salmonella* (0,20; 0,16 e 0,22 kGy) e *L. monocytogenes* (0,35; 0,33 e 0,35 kGy) podem ser observadas nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

Figura 5 – Sobrevivência de *Salmonella* spp. inoculada em rúcula embalada sob atmosfera modificada e exposta a diferentes doses de radiação.

Embora tenha se observado, pelos resultados encontrados, que a composição gasosa utilizada tenha promovido um ligeiro aumento (0,08 kGy) na sensibilidade de *L. monocytogenes*, verificou-se através da análise de variância (Tabela 2) que a radiosensibilidade dos microrganismos analisados não foi influenciada significativamente ($P > 0,05$) pelo tipo de embalagem utilizada (ar atmosférico ou atmosfera modificada).

Segundo Beuchat (1996b), a embalagem com atmosfera modificada exerce pouca ou nenhuma influência na taxa de multiplicação de *L. monocytogenes* em brócolis, couve-flor e aspargo. Beuchat e Brackett (1991) também já haviam observado que não há diferença na população deste microrganismo em tomates embalados com atmosfera modificada (3% O₂ e 97% N₂).

Tabela 2 – Médias dos valores D_{10} de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* inoculados em rúcula embalada sob ar atmosférico e atmosfera modificada.

	Tipo de embalagem	
	ar atmosférico	atmosfera modificada
<i>Salmonella</i> spp.	0,18±0,02 ^a	0,19±0,03 ^a
<i>L. monocytogenes</i>	0,42±0,06 ^a	0,34±0,01 ^a

Figura 6 – Sobrevivência de *L. monocytogenes* inoculada em rúcula embalada sob atmosfera modificada e exposta a diferentes doses de radiação.

4.3 Avaliação do efeito da radiação gama no comportamento de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* inoculadas em rúcula embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada durante o armazenamento a 5°C.

O comportamento de microrganismos patogênicos em vegetais minimamente processados é influenciado por diversos fatores, como o próprio microrganismo, a disponibilidade de nutrientes, a temperatura de armazenamento, a presença de microbiota deteriorante competidora, a composição gasosa no interior da embalagem e a presença de compostos antimicrobianos (Delaquis *et al.*, 2007).

O National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF, 1999) e o Food and Drug Administration (FDA, 2005) recomendam para

sementes de alfafa e suco de frutas, respectivamente, uma redução de 5 ciclos logarítmicos na população de patógenos presentes, independente da tecnologia utilizada, para que o alimento seja considerado seguro microbiologicamente.

Adotando o mesmo critério para a rúcula minimamente processada, as doses necessárias escolhidas para serem aplicadas nesta fase da pesquisa foram de 1 e 2 kGy o que corresponde a uma redução 5 vezes maior que o valor D_{10} encontrado para *Salmonella* e *L. monocytogenes*, respectivamente.

As Figuras 7 e 8 mostram o efeito da radiação gama no comportamento de *Samonella* e *L. monocytogenes*, respectivamente, em rúcula embalada sob ar atmosférico.

A população inicial de 10^6 UFC.g⁻¹ de *Salmonella* foi reduzida em aproximadamente 4 e 6 ciclos logarítmicos com a aplicação de 1 e 2 kGy, respectivamente (Figura 7).

A aplicação de 2 kGy reduziu a contaminação para níveis não detectáveis, permanecendo assim até o final do período de armazenamento a 5°C.

Shashidhar *et al.* (2007) também verificaram que a dose de 2 kGy foi suficiente para reduzir a população de *S. Typhimurium* ($5 \log$ UFC.g⁻¹) em abacaxi para níveis não detectáveis, sem que houvesse a recuperação destes microrganismos por até 12 dias, independente da temperatura de armazenamento (4°C ou a 10°C).

Esses resultados são concordantes parcialmente com os relatados por Dhokane *et al.* (2006) que embora não tenham verificado a recuperação deste microrganismo nas amostras irradiadas com 2 kGy após 8 dias de armazenamento a 10°C (redução de $5 \log$ UFC.g⁻¹), observaram o aumento na população de *S. Typhimurium* nas amostras-controle de cenoura e pepino ($1,5 \log$ UFC.g⁻¹ e $2 \log$ UFC.g⁻¹, respectivamente).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($P>0,05$) entre as populações de *Salmonella* nos diferentes dias de armazenamento tanto para as amostras não irradiadas como para as irradiadas com 2 kGy (Figura 7).

Para a exposição a 1 kGy, no entanto, houve redução significativa ($P\leq 0,05$) a partir do 9º dia de armazenamento, quando então, essa população não apresentou alterações significativas até o final do período analisado. Entretanto, microbiologicamente, essa redução de $1,3 \log_{10}$ UFC.g⁻¹ encontrada no 9º dia, não pode ser considerada importante, pois ainda permaneceu uma população de

aproximadamente 10 UFC.g^{-1} . Segundo o FDA (1992), embora a dose infectante de *Salmonella* para humanos saudáveis seja de aproximadamente 10^5 - 10^7 UFC.g^{-1} , doses bem mais baixas como 10 UFC.g^{-1} , podem ser responsáveis por uma infecção dependendo da idade e das condições de saúde do hospedeiro, do tipo de alimento envolvido, bem como da cepa infectante.

Outro ponto que também deve ser levado em consideração é a temperatura de armazenamento. Como as amostras, neste experimento, permaneceram a 5°C ao longo dos 16 dias, este microrganismo teve sua velocidade de multiplicação bastante reduzida, entretanto, se houver uma variação na temperatura, como geralmente ocorre no transporte, nos pontos de venda ou mesmo nas geladeiras domésticas, essa velocidade de multiplicação pode ser aumentada rapidamente, atingindo doses capazes de causar uma infecção em humanos adultos saudáveis.

Observou-se diferença significativa ($P \leq 0,05$) na população sobrevivente de *Salmonella* para as duas doses aplicadas (1 e 2 kGy) ao longo de todo o período analisado.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;
Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Figura 7 – Comportamento de *Salmonella* spp. inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob ar atmosférico e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.

O comportamento da população de *Salmonella* para as amostras não irradiadas observado na presente pesquisa não são concordantes com as observações relatadas por Kakiomenou *et al.* (1998) para cenoura e alface não irradiadas, uma vez que estes autores observaram uma redução de, aproximadamente, 1 e 2 log na população de *S. Enteritidis*, respectivamente, durante armazenamento a 4°C por 15 dias. Chang e Fang (2007) também observaram um declínio de aproximadamente 1 log na população de *S. Typhimurium* e na de *Escherichia coli* O157:H7 em alface não irradiada armazenada a 4°C durante 14 dias.

O processo de irradiação reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) a população de *L. monocytogenes* inoculada em rúcula minimamente processada ao longo de todo período de armazenamento a 5°C (Figura 8).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;
Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Figura 8 – Comportamento de *Listeria monocytogenes* inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob ar atmosférico e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.

As doses de 1 e 2 kGy reduziram aproximadamente 4 e 5 ciclos logarítmicos, respectivamente, em relação à população da amostra não irradiada. Essa redução foi levemente inferior quando comparada com a observada na população de *Salmonella* (4 e 6 log).

Farkas *et al.* (1997) observaram comportamento semelhante para *L. monocytogenes* em pimentas irradiadas com 1 kGy e estocadas a 5°C durante 9 dias.

Mintier e Foley (2006) observaram redução de 5 log em alface irradiada com 1 kGy e armazenada a 4°C por 10 dias, sem a multiplicação da população ao longo do armazenamento. O mesmo ocorreu com os resultados reportados por Prakash *et al.* (2000) em aipo fatiado armazenado durante 20 dias a 5°C, e por Bari *et al.* (2005) em brócolis, broto de feijão e repolho armazenados a 4°C por 10 dias.

Contrário ao que foi observado para *Salmonella*, houve um aumento significativo ($P \leq 0,05$) (Figura 8) na população de *L. monocytogenes* nas amostras controle e nas irradiadas com 1 kGy ao longo do armazenamento, embora esses aumentos (1,5 e 0,5 log, respectivamente) não representem diferença, sob o ponto de vista microbiológico. Porém, como ainda não se tem conhecimento da dose infectante de *L. monocytogenes* para os indivíduos suscetíveis, a ingestão deste alimento poderá ser um perigo para este grupo.

Os resultados observados na presente pesquisa foram semelhantes aos observados por Niemira *et al.* (2003b), que verificaram uma redução de 4 log em folhas de endívia irradiadas com 0,8 kGy e a multiplicação da população remanescente durante os 19 dias de armazenamento a 2°C (aproximadamente 1 log).

Steinbruegge *et al.* (1988) também constataram aumento de aproximadamente 1 log em alface minimamente processada não irradiada após 14 dias de armazenamento a 5°C, assim como Dhokane *et al.* (2006) em amostras de pepino e cenoura não irradiados ao longo de 8 dias de armazenamento a 10°C (4,5 log e 2,3 log, respectivamente). Estes autores não detectaram *L. monocytogenes* em pepino e cenoura irradiados com 2 kGy, mesmo após 8 dias de armazenamento a 10°C, contrário ao constatado na presente pesquisa em rúcula.

Já para as amostras irradiadas com 2 kGy, verificou-se (Figura 8) redução significativa ($P \leq 0,05$), mas não a completa eliminação da população de *L. monocytogenes* presente nas amostras.

Martins *et al.* (2006), observaram comportamento semelhante para amostras de agrião orgânico irradiado com 2 kGy durante 16 dias de armazenamento a 7°C.

O efeito da composição gasosa no comportamento de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* em rúcula irradiada, pode ser observado através das Figuras 9 e 10, respectivamente.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Figura 9 – Comportamento de *Salmonella* spp. inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob atmosfera modificada e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.

Verifica-se que a aplicação das doses de 1 e 2 kGy reduziu a população de *Salmonella* spp. em aproximadamente 5 e 7 ciclos logarítmicos, respectivamente. Semelhante ao que foi observado nas amostras embaladas sob ar atmosférico, a aplicação de 2 kGy reduziu a contaminação para níveis não detectáveis, permanecendo assim até o final do período de armazenamento (Figura 9).

Após os 16 dias de armazenamento a 5°C, a população presente nas amostras-controle e nas amostras irradiadas com 1 kGy foi reduzida em aproximadamente 1 e 0,5 ciclo logarítmico ($P \leq 0,05$), respectivamente. Entretanto,

essa redução sob o ponto de vista microbiológico, como já foi discutido anteriormente para as amostras embaladas sob ar atmosférico, não pode ser considerada importante, pois mesmo com essa redução, ainda permanece uma população sobrevivente capaz de provocar doenças, caso seja armazenada sob condições que permitam sua multiplicação.

Kakiomenou *et al.* (1998) também verificaram que a embalagem sob atmosfera modificada (4,9% CO₂, 2,1% O₂ e 93% de N₂) promoveu redução de aproximadamente 1 ciclo na população de *S. Enteritidis* inoculada em amostras de alface.

Essa tendência de diminuição da população durante o armazenamento também foi observado por Drosinos *et al.* (2000) em tomates inoculados com *S. Enteritidis*, embalados em 5% de CO₂ e 95% de N₂ e armazenados a 4°C e por Amanatidou *et al.* (1999), os quais verificaram, *in vitro*, a diminuição na população de *Salmonella Enteritidis* e *Escherichia coli* na presença de atmosferas com 10% de CO₂ armazenadas a 8°C. Por outro lado, esses mesmos pesquisadores observaram nestas mesmas condições a multiplicação de *Salmonella Typhimurium*.

A redução na população ao longo do armazenamento pode ser atribuída às características do próprio microrganismo. Por ser mesófilo, sua multiplicação pode não ter ocorrido em função da baixa temperatura de armazenamento utilizada na presente pesquisa (5°C), o que não impede, caso haja abuso de temperatura durante qualquer etapa da cadeia produtiva, a multiplicação deste microrganismo.

É pouco provável, nas condições analisadas neste estudo, que o gás CO₂ tenha promovido qualquer efeito bactericida nos vegetais, pois segundo Sawaya *et al.* (1995) o efeito inibitório na multiplicação de bactérias da família da Enterobacteriaceae ocorre apenas em elevadas concentrações de CO₂.

Verificou-se que as amostras irradiadas (1 e 2 kGy), embaladas sob ar atmosférico e sob atmosfera modificada (Figuras 7 e 9, respectivamente), apresentaram a mesma tendência na redução da população. Dessa forma, pode-se considerar que uma tecnologia não potencializou o efeito da outra.

Para as amostras inoculadas com *L. monocytogenes* e embaladas sob atmosfera modificada observou-se que a irradiação, no primeiro dia de análise, reduziu a população em 5 e 7 log com a aplicação de 1 e 2 kGy, respectivamente

(Figura 10). Estas reduções foram semelhantes às observadas para as amostras inoculadas com *Salmonella* spp. sob as mesmas condições.

No final do período de armazenamento (16º dia), a população de *L. monocytogenes* aumentou significativamente ($P \leq 0,05$) nas amostras não irradiadas em aproximadamente 1 log e, para as amostras irradiadas com 1 kGy, em aproximadamente 2 log. A aplicação da dose de 2 kGy reduziu a população presente para níveis não detectáveis.

Este aumento pode ser resultado da redução da microbiota competitiva deteriorante, além da capacidade de multiplicação deste patógeno sob baixas temperaturas e baixas concentrações de O₂ (Francis e O'Beirne, 1997).

Portanto, verifica-se que a dose de 1 kGy promoveu apenas injúria sub-letal nas bactérias que foram capazes de se recuperar e multiplicar após o 9º dia de armazenamento. Verificou-se também o efeito da concentração inicial da população na taxa de multiplicação ao longo do armazenamento. Na amostra-controle, como a população de *L. monocytogenes* encontrava-se no final da fase exponencial e início da fase estacionária foi observada menor velocidade de multiplicação quando comparada com as amostras irradiadas com 1 kGy.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Figura 10 – Comportamento de *Listeria monocytogenes* inoculada em rúcula minimamente processada embalada sob atmosfera modificada e submetida a diferentes doses de irradiação, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias.

Os resultados apresentados neste estudo são concordantes com dados encontrados na literatura, demonstrando a capacidade de sobrevivência e multiplicação de *L. monocytogenes* quando inoculado em vegetais embalados sob atmosfera modificada e armazenados em temperatura de refrigeração (Carlin *et al.*, 1996; Francis e O'Beirne, 1997; Francis e O'Beirne, 2001).

Carlin *et al.* (1996) avaliaram o efeito da atmosfera modificada no comportamento de *L. monocytogenes* em folhas de endívia e observaram que houve um aumento significativo na população diretamente relacionado à concentração de CO₂ no interior da embalagem (até 50%), durante armazenamento a 10°C por até 7 dias.

O aumento na taxa de multiplicação de *Listeria* sp. também foi observado em alguns vegetais sob diferentes atmosferas, armazenados em temperatura de refrigeração. Amostras de alface embaladas sob atmosferas compostas de 100% de N₂ ou 2-5% de O₂ e 0-15% de CO₂, bem como amostras de chicória embaladas com

0% de CO₂ e 21% de O₂ ou 20% de CO₂ e 0% de O₂ ou ainda 20% de CO₂ e 1,5% de O₂, tiveram a população deste microrganismo aumentada ao longo do armazenamento (Bennik *et al.*, 1996; Francis e O'Beirne, 1997; Francis e O'Beirne, 2001).

Estes resultados demonstram a capacidade de multiplicação deste microrganismo durante o armazenamento refrigerado, independente da composição gasosa no interior da embalagem, tornando a ingestão desses alimentos um sério risco para os consumidores.

Entretanto, outras pesquisas sobre o efeito da atmosfera modificada no comportamento de *L. monocytogenes* contrariam os resultados apresentados na presente pesquisa. Niemira *et al.* (2005) verificaram uma diminuição ou a não alteração na população de *L. monocytogenes* em amostras de endívia irradiadas com 0,3 e 0,6 kGy embaladas sob atmosfera modificada (5% CO₂ e 5% O₂ ou 10% CO₂ e 10% O₂, completadas com N₂) ao longo dos 19 dias de armazenamento.

Berrang *et al.* (1989) observaram que a multiplicação de *L. monocytogenes* em aspargo, brócolis e couve-flor embaladas sob atmosferas compostas de 6% CO₂/15% O₂, 10% CO₂/11% O₂ e 3% CO₂/18% O₂, respectivamente, não foi afetada mesmo após o armazenamento por 21 dias a 4°C ou 10 dias a 15°C.

Beuchat e Brackett (1991) também constataram que a multiplicação deste microrganismo em tomates inteiros embalados com 3% de O₂ e 97% de N₂, não foi influenciada pela presença da atmosfera modificada mesmo após 20 dias de armazenamento a 10°C.

Dessa forma, é possível afirmar que o comportamento de *Salmonella* spp e *L. monocytogenes* dependerá, principalmente das características fisiológicas do vegetal em que foi inoculado, da composição gasosa presente no interior da embalagem, da temperatura de armazenamento, do inóculo inicial, da população deteriorante competidora presente e da dose de radiação utilizada.

É importante observar que a utilização de atmosfera modificada tem como objetivo prolongar a vida de prateleira, alterando os processos metabólicos dos vegetais, entretanto, verificou-se através do presente trabalho e da literatura existente que a utilização da atmosfera modificada não foi capaz de controlar a população de *L. monocytogenes* no interior da embalagem. Sendo assim, a associação com outras tecnologias, como a irradiação (2 kGy) pode ser vantajoso para prevenir surtos de origem alimentar.

4.4 Avaliação do teor de flavonóides em rúcula minimamente processada irradiada

A presença de compostos bioativos como flavonóides, carotenóides, fibras insolúveis e ácido ascórbico e a associação de hábitos saudáveis de alimentação, tornaram os vegetais um dos alimentos mais consumidos atualmente. Entretanto, os diferentes processamentos aos quais os alimentos são submetidos, podem aumentar ou diminuir a quantidade destes compostos.

A Tabela 3 mostra o efeito da irradiação no teor de flavonóides em rúcula minimamente processada. Verifica-se que o teor de quempferol aumentou independente da dose de irradiação aplicada, sendo este conteúdo 4 e, aproximadamente, 3 vezes superior quando as amostras foram expostas a 1 e 2 kGy, respectivamente. O conteúdo de quercetina aproximadamente duplicou quando aplicado 1 kGy, porém quando a rúcula foi exposta a 2 kGy, o teor não diferiu da amostra controle.

Estes resultados indicam que o processo de irradiação induz à extratibilidade de outros compostos associados à biosíntese de flavonóides pelo vegetal, provavelmente devido ao aumento da atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL), considerado um evento primário, provocado pelo estresse causado por essa tecnologia. Esta enzima catalisa a desaminação da L-fenilalanina para formar o ácido trans-cinâmico, que é o precursor dos flavonóides (metabólito secundário) (Ismail e Brown, 1979).

O processo de irradiação não alterou ($P>0,05$) o teor de umidade das amostras de rúcula, independente da dose aplicada (Tabela 4). A não influência da irradiação no teor de umidade concorda com o relatado por Thomas *et al.* (2008) em chá preto. Sendo assim, a umidade não pode ser considerada fator determinante na variação da quantidade de flavonóides presente em rúcula, e sim apenas o processo de irradiação.

Tabela 3 – Conteúdo de flavonóides^a – quempferol e quercetina - em amostras de rúcula expostas às doses de 1 kGy e 2 kGy.

Dose de radiação (kGy)	Flavonóides (mg.100g ⁻¹ de amostra em b.u*.)	
	Quempferol	Quercetina
0	20,2±0,2	8,0±0,1
1	88,0±2,0	15,1±0,2
2	55,2±0,8	8,00±0,07

*b.u base úmida

^a valores médios ± DP.Tabela 4 – Teor de umidade^a (%) em amostras de rúcula expostas às doses de 1 kGy e 2 kGy.

Dose de radiação (kGy)	Teor de umidade (%)
0	92,6±0,7 ^a
1	92,9±0,1 ^a
2	92,9±0,2 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

^a valores médios ± DP.

Bennett *et al.* (2006) também verificaram que os flavonóides predominantes na espécie *Eruca sativa*, não irradiada, foram o quempferol e a quercetina.

Arabbi *et al.* (2004) analisaram o teor de flavonóides em uma variedade de vegetais normalmente consumidos no Brasil e verificaram que as principais fontes de flavonóides foram laranja (70%), alface (9%) e tomate (2,5%). O composto mais freqüente foi a quercetina.

Os resultados do presente trabalho são concordantes com os obtidos por Vanamala *et al.* (2005) que constataram aumento no conteúdo dos flavonóides naringina e narirutina em amostras de *grapefruit* irradiadas (300 Gy) e liofilizadas, quando comparado com as amostras não irradiadas. Esse mesmo aumento foi constatado por Variyar *et al.* (2004) quando expuseram soja às doses de 0,5 e 5 kGy verificando maior aumento nas amostras irradiadas com 5 kGy, e por Oufedjikh *et al.* (1998) quando expuseram clementina a 0,3 kGy e verificaram que o teor de flavonóides foi significativamente maior nas frutas irradiadas após o 14º dia de armazenamento.

Por outro lado, a irradiação pode, algumas vezes, não alterar o conteúdo de flavonóides, como observado por Breitfellner *et al.* (2002) em morangos expostos a dose de 3 kGy. Essa dose, aprovada em muitos países como a adequada para ser aplicada nesse alimento, não resultou em redução significativa desses compostos, o que não causou, portanto, impacto algum em suas propriedades antioxidantes.

4.5 Avaliação dos teores de ácido ascórbico reduzido, ácido dehidroascórbico e ácido ascórbico total em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 5°C durante 16 dias

De uma forma geral, pode-se afirmar que o processo de irradiação e o período de estocagem afetaram significativamente ($P \leq 0,05$) os teores de ácido ascórbico reduzido (AR), ácido dehidroascórbico (AOX) e ácido ascórbico total (AT) em amostras de rúcula minimamente processadas armazenadas a 5°C durante 16 dias (Figura 11).

A Figura 11A mostra o teor de ácido ascórbico reduzido em rúcula minimamente processada armazenada a 5°C. Verifica-se que o teor presente nas amostras controle (41,3 mg.100g⁻¹) foi significativamente superior ($P \leq 0,05$) ao das amostras irradiadas com 1 e 2 kGy (32,1 e 36,4 mg.100g⁻¹, respectivamente), provavelmente devido ao alto estresse oxidativo provocado pelo processo de irradiação.

A partir do 9º dia não foi mais observado efeito significativo ($P > 0,05$) da dose (1 e 2 kGy) em relação aos teores de ácido ascórbico reduzido.

Verificou-se também que o tempo de armazenamento influenciou significativamente na diminuição dos teores de AR ($P \leq 0,05$) tanto para as amostras controle quanto para as amostras irradiadas, atingindo níveis não detectáveis no 16º dia de armazenamento para todos os tratamentos. É possível observar que essa diminuição foi mais acentuada nas amostras não irradiadas do que nas amostras irradiadas.

Contrariamente ao observado no presente trabalho, Reyes e Cisneros-Zevallos (2007) verificaram que o teor de AR em mangas só foi reduzido significativamente ($P \leq 0,05$) no 18º dia de armazenamento com a aplicação de 3,1 kGy.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si ($P > 0,05$) em relação ao tempo de armazenamento;
 Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si ($P > 0,05$) em relação à dose de irradiação aplicada.

Figura 11 – Teores de ácido ascórbico reduzido (A), ácido dehidroascórbico (B) e ácido ascórbico total (C) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 5°C durante 16 dias.

Por ser produto de oxidação do ácido ascórbico, era esperado que o teor do ácido dehidroascórbico aumentasse nas amostras irradiadas, assim como foi observado por Graham e Stevenson (1997) em morangos. Entretanto, na presente pesquisa, os teores de AOX foram significativamente reduzidos ($P \leq 0,05$) a partir do 9º dia de armazenamento (Figura 11B). Provavelmente, houve uma rápida oxidação do AOX para a forma ácido 2,3-dicetogulônico, a qual não possui mais atividade de vitamina C não sendo, portanto, detectada através das análises (Tannenbaum *et al.*, 1985).

O período de armazenamento reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) os teores de AOX independente da dose aplicada. Assim como observado para o ácido ascórbico reduzido, os teores de AOX não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$) no 16º dia de armazenamento, independente da dose aplicada, com valores muito próximos de zero.

A diminuição observada nos teores de ácido ascórbico total (Figura 11C), tanto nas amostras irradiadas quanto nas não irradiadas, foi superior à diminuição observada nos teores de ácido ascórbico reduzido, isso porque o ácido ascórbico total é o produto da soma do ácido ascórbico reduzido e do ácido dehidroascórbico.

Através da Figura 11C observa-se uma diminuição significativa ($P \leq 0,05$) dos teores de AT com o aumento do período de estocagem a 5°C tanto para as amostras controle quanto para as irradiadas. A dose também influenciou significativamente ($P \leq 0,05$) a redução dos teores de AT até o 5º dia. A partir do 9º dia esses teores não foram diferentes entre si ($P > 0,05$), independente da dose de 1 ou 2 kGy.

Como era de se esperar, no 16º dia, não foi detectado AT em nenhuma das amostras analisadas. Isto ocorreu, provavelmente, devido a não biosíntese desta vitamina durante o armazenamento, além da transformação do AOX em ácido 2,3-dicetogulônico. Aliado a estes fatores, ainda pode ter havido a neutralização dos produtos radiolíticos pela atividade antioxidante da vitamina C (Tannenbaum *et al.*, 1985; Klein, 1987).

Graham e Stevenson (1997) observaram, assim como no presente trabalho, que os teores de AT e AR em morangos foram significativamente reduzidos pelo processo de irradiação. Entretanto, verificaram que o período de armazenamento aumentou os teores destes ácidos, fato não observado em rúcula minimamente processada. Fan e Sokorai (2007) também observaram redução do teor de vitamina

C em milho e ervilha congelados, irradiados (1,8 e 4,5 kGy) e armazenados durante 12 meses.

Por outro lado, embora Lu *et al.* (2005) tenham também observado redução nos teores de ácido ascórbico total em amostras de aipo não irradiadas e irradiadas (1 kGy) ao longo do período de estocagem, eles constataram que as amostras irradiadas tinham maiores teores que as não irradiadas. Entretanto, a diferença entre os teores das amostras desapareceu no final do período de armazenamento (9º dia). Comportamento semelhante foi observado por Zhang *et al.* (2006) em alface irradiada com 1 kGy, porém o teor de AT da amostra irradiada foi significativamente maior até o último dia de armazenamento (9º dia).

Nem sempre o processo de irradiação altera o teor de vitamina C presente nos vegetais. Hajare *et al.* (2006b; 2007) verificaram que nem a dose de 2 kGy ou o período de estocagem (16 dias) afetaram significativamente o teor do ácido ascórbico total em pepino, cenoura, ou grão de bico. Hajare *et al.* (2006a) também observaram que a vitamina C presente em abacaxi não foi significativamente alterada pelo processo de irradiação, entretanto, houve uma diminuição nos teores tanto nas amostras-controle quanto nas irradiadas ao longo do período de estocagem (12 dias a 8-10°C). Fan *et al.* (2003b) também não encontraram qualquer diferença no teor de ácido ascórbico total em alface americana durante 21 dias de armazenamento independente da dose aplicada (0,5; 1 e 2 kGy), embora esse teor tenha diminuído linearmente em função do período de estocagem.

Embora os flavonóides e a vitamina C possuam atividade antioxidante, o comportamento destes dois compostos foi antagônico, isto por que foi observada biossíntese dos flavonóides em função da irradiação, fato não observado com a vitamina C.

4.6 Avaliação dos teores de carotenóides com atividade pró-vitamina A em rúcula minimamente processada irradiada e armazenada a 4°C durante 13 dias

Os resultados apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7 representam o efeito da irradiação nos principais carotenóides com atividade pró-vitamina A, β -criptoxantina, α -caroteno e β -caroteno, respectivamente, encontrados nas amostras de rúcula analisadas.

Verifica-se que o teor de β -criptoxantina (Tabela 5) não foi afetado significativamente ($P>0,05$) pelo processo de irradiação ao longo do período de armazenamento a $4\pm1^\circ\text{C}$. Porém, durante esse período, observa-se uma redução significativa do dia 7 para o dia 13 nas amostras tratadas com 2 kGy. De uma forma geral, foram observadas reduções não significativas ($P>0,05$) de 7,8%, 3,1% e 9,4% no teor desse carotenóide para as amostras-controle e tratadas com 1 e 2 kGy, respectivamente, no final do período de armazenamento.

Contrariamente ao constatado por nós no dia 0, Topuz e Ozdemir (2003) verificaram uma diminuição no teor de β -criptoxantina em páprica em pó, tratada com 2,5 kGy e 5 kGy quando comparado ao controle.

Tabela 5 – Teor de β -criptoxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.

Dose (kGy)	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	3	7	10	13
0	$1,28\pm0,03^{aA}$	$1,26\pm0,01^{aA}$	$1,22\pm0,01^{aA}$	$1,29\pm0,06^{aA}$	$1,18\pm0,02^{aA}$
1	$1,30\pm0,04^{aA}$	$1,26\pm0,07^{aA}$	$1,20\pm0,05^{aA}$	$1,24\pm0,09^{aA}$	$1,26\pm0,13^{aA}$
2	$1,28\pm0,01^{aAB}$	$1,31\pm0,01^{aAB}$	$1,33\pm0,08^{aB}$	$1,33\pm0,01^{aB}$	$1,16\pm0,01^{aA}$

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

A Tabela 6 mostra que o teor de α -caroteno encontrado nas amostras de rúcula foi significativamente aumentado ($P\leq0,05$) quando tratada com 2 kGy. Fan *et al.* (2003a) também verificaram o aumento no teor de carotenóide conforme aumento da dose, em folhas de cebolinha armazenadas a 3°C por 14 dias. Segundo estes autores, esse aumento pode ser uma resposta ao estresse provocado pelos radicais livres gerados durante a irradiação. Uma outra hipótese, seria a facilidade de extração da substância devido a sua liberação no meio celular. Ainda pela Tabela 6, observa-se que houve uma redução de 100% ($P\leq0,05$) no teor de α -caroteno ao longo do período de armazenamento sendo que para a amostra-controle e a irradiada com 1kGy isso ocorreu já no 3º dia e, para a amostra exposta a 2 kGy somente no 10º dia.

Tabela 6 – Teor de α -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.

Dose (kGy)	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	3	7	10	13
0	0,52±0,03 ^{aA}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}
1	0,35±0,10 ^{aA}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}
2	0,65±0,11 ^{aAB}	0,53±0,14 ^{bA}	0,33±0,01 ^{bA}	0,0±0,0 ^{aB}	0,0±0,0 ^{aB}

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Em relação ao β -caroteno (Tabela 7), a exposição das amostras às doses de 1 ou 2 kGy não influenciou significativamente os teores deste carotenóide ($P>0,05$), durante o armazenamento, exceto para o 3º dia de armazenamento. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Sebastião *et al.* (2002) em folhas de salsinha desidratada e tratadas com dose de 20 kGy e por Koseki *et al.* (2002) que trabalharam com manjerição doce, alcachofra e alecrim desidratados e irradiados com diferentes doses (10, 20 e 30 kGy). Wen *et al.* (2006) também não observaram redução desse carotenóide em lycium (*Lycium chinense* Mill.) desidratada e irradiada com até 14 kGy. Por outro lado, Topuz e Ozdemir (2003) observaram redução também para esse carotenóide em páprica em pó irradiada com 2,5 kGy.

Foi observado, mesmo que não significativamente diferente ($P>0,05$), uma redução no teor de β -caroteno que foi maior nas amostras irradiadas com 2 kGy (19,4%), seguido pelas tratadas com 1 kGy e pela amostra controle (16,7% e 6,8%, respectivamente), ao final do período de armazenamento.

Tabela 7 – Teor de β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.

Dose (kGy)	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	3	7	10	13
0	59,31 $\pm$ 3,06 ^{aA}	66,66 $\pm$ 3,17 ^{aA}	64,34 $\pm$ 7,23 ^{aA}	60,7 $\pm$ 6,19 ^{aA}	55,27 $\pm$ 3,44 ^{aA}
1	53,89 $\pm$ 6,58 ^{aA}	47,29 $\pm$ 4,99 ^{abA}	47,79 $\pm$ 5,67 ^{aA}	54,1 $\pm$ 3,13 ^{aA}	44,87 $\pm$ 4,05 ^{aA}
2	62,31 $\pm$ 3,33 ^{aA}	62,12 $\pm$ 5,00 ^{bA}	50,46 $\pm$ 5,59 ^{aA}	48,4 $\pm$ 3,73 ^{aA}	50,21 $\pm$ 0,24 ^{aA}

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Segundo Kovács e Keresztes (2002), a estabilidade observada para esse carotenóide em relação à irradiação pode ser devido à sua concentração em pequenos glóbulos lipídicos localizados no interior do cloroplasto o que sugere uma proteção contra o efeito da irradiação.

Através da Tabela 8 é possível observar que não houve efeito significativo ($P>0,05$) da dose de irradiação nos teores dos carotenóides pró-vitâmicos totais (CPVT) ao longo do período de armazenamento, exceto no 3º dia de armazenamento. Os resultados do 13º dia mostraram redução, não significativa ($P>0,05$), de aproximadamente 7,6% na concentração de CPVT nas amostras não irradiadas e redução de 16,6% e 20,3% nas amostras irradiadas com 1 e 2 kGy, respectivamente.

Tabela 8 – Teor de carotenóides pró-vitâmicos totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em amostras de rúcula minimamente processadas irradiadas e armazenadas a 4°C durante 13 dias.

Dose (kGy)	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	3	7	10	13
0	61,10 $\pm$ 3,24 ^{aA}	67,93 $\pm$ 3,17 ^{aA}	65,57 $\pm$ 7,23 ^{aA}	61,99 $\pm$ 6,25 ^{aA}	56,45 $\pm$ 3,46 ^{aA}
1	55,54 $\pm$ 6,52 ^{aA}	48,58 $\pm$ 5,06 ^{bA}	49,00 $\pm$ 5,92 ^{aA}	54,34 $\pm$ 3,22 ^{aA}	46,13 $\pm$ 4,18 ^{aA}
2	64,24 $\pm$ 3,42 ^{aA}	63,96 $\pm$ 5,15 ^{abA}	52,11 $\pm$ 5,66 ^{aA}	49,74 $\pm$ 3,71 ^{aA}	51,37 $\pm$ 0,24 ^{aA}

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação ao tempo de armazenamento;

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si no nível de significância de 5% em relação à dose de irradiação aplicada.

Observando-se as Tabelas 5, 6, 7 e 8 verifica-se que o β -caroteno é majoritário (97%) entre aqueles com atividade pró-vitamina A encontrado na rúcula. Os outros dois analisados β -criptoxantina e α -caroteno correspondem aos 3% restantes.

Independente do carotenóide analisado, a redução em função do tempo de armazenamento ocorre, provavelmente, devido à exposição destes pigmentos à luz e ao oxigênio.

Pesquisas realizadas por Hajare et al. (2006a, 2006b e 2007) mostraram que a exposição a dose de 2 kGy não alterou o teor de carotenóides totais presente em pepino, cenoura, abacaxi, grão de bico verde e broto de ervilha.

Segundo Swant *et al.* (1970), a influência da dose de irradiação na concentração dos carotenóides presentes nos alimentos, pode ocorrer devido às diferenças na sua estrutura, ao teor inicial do carotenóide e à interação com os outros compostos presentes no alimento que podem exercer uma ação protetora impedindo sua degradação.

4.7 Análise sensorial de rúcula minimamente processada

4.7.1 Teste de Aceitação

Embora saiba-se que a irradiação aumenta a segurança microbiológica de vegetais minimamente processados, esta tecnologia pode, algumas vezes, provocar mudanças sensoriais indesejáveis em vegetais, dependendo da dose utilizada. No caso da rúcula, entretanto, as médias de aceitação (Tabela 9) indicaram que tanto as amostras controle quanto as irradiadas (2 e 4 kGy) foram aceitas. Entretanto, a utilização de 4 kGy reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) a aceitação desta hortaliça quando comparada com as amostras não irradiadas.

Semelhante à presente pesquisa, Martins *et al.* (2004) não encontraram diferença significativa na aceitabilidade inicial de agrião minimamente processado irradiado com 1, 3 e 4 kGy, assim como Fan *et al.* (2003a) que não observaram diferença significativa na qualidade global de amostras de cebolinha irradiadas com 1, 2 e 3 kGy. Hajare *et al.* (2007) também não encontraram diferenças entre as amostras de grão de bico irradiadas com 1 e 2 kGy e ao avaliarem a aplicação de 2 kGy em abacaxi, verificaram que não houve diferença entre as amostras controle e as irradiadas (Hajare *et al.*, 2006a). Chaudry *et al.* (2004), mesmo observando que

cenouras minimamente processadas irradiadas com 2,5 kGy tiveram uma pior avaliação na aparência e no sabor quando comparadas com as amostras controle, elas foram aceitas pelos provadores. Fan *et al* (2003b) verificaram que a aceitabilidade das amostras de alface americana irradiadas foi maior que das amostras-controle durante 21 dias de armazenamento.

Por outro lado, Goularte *et al.* (2004) observaram que a dose de 1,1 kGy afetou significativamente a textura de alface americana, sendo rejeitada pelos provadores.

Tabela 9 – Média de aceitação sensorial de rúcula minimamente processada exposta a diferentes doses de radiação gama.

	Dose de radiação (kGy)		
	0 kGy	2 kGy	4 kGy
Média de aceitação	7,1 ^a	6,3 ^{ab}	6,0 ^b

Médias com letras iguais não apresentam diferença significativa, em nível de 95% de significância

Os comentários dos provadores na ficha de avaliação sensorial (Anexo 2), sobre a aparência da rúcula foram bem contraditórios, pois ao mesmo tempo em que a amostra-controle foi discriminada como a de “melhor” aparência, ela também foi citada como apresentando uma aparência “ruim”. Em relação aos atributos de sabor, aroma e textura, as amostras irradiadas tiveram comentários mais depreciativos quando comparadas com as amostras controle.

Enquanto a amostra não irradiada obteve um maior número de observações descritas como sabor “bom” e “característico”, as irradiadas foram descritas como “amarga”, “forte”, “picante”, provavelmente em função do teor de glicosinolato. Por outro lado, a amostra irradiada com 2 kGy também foi descrita como a amostra que possuía o sabor mais “suave”. Constata-se, portanto, que a característica individual é importante na aceitação de um produto.

4.7.2 Avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados

O experimento foi conduzido na cidade de São Paulo, cuja população está estimada em aproximadamente 11 milhões de habitantes, equivalendo a 6% da população nacional. Por ser formada por pessoas de várias etnias e oriundas de

todas as regiões do Brasil, esta cidade pode ser uma boa representante da população do País.

O perfil dos entrevistados nesta pesquisa pode ser visto na Tabela 10. Verifica-se que a maioria da população entrevistada tinha entre 18 e 25 anos, com alto grau de escolaridade e com bom nível econômico.

Tabela 10 – Perfil sócio-econômico e demográfico dos entrevistados sobre a atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados.

Características	%
Sexo	
masculino	54%
feminino	46%
Faixa etária	
18-25 anos	56,9%
26-40 anos	25,4%
41-60 anos	15,7%
>60 anos	2%
Grau de escolaridade	
1º Grau	5%
2º Grau	33,3%
Superior	61,7%
Filhos	
Sim	21%
Não	79%
Faixa etária dos filhos	
0 – 10 anos	33%
11 – 18 anos	33%
> 18 anos	34%
Idosos ou pessoas com problemas crônicos de saúde com dieta especial na família	
Sim	31,5%
não	68,5%
idosos	40%
Problemas crônicos	60%
Renda média familiar/mês*	
Até 3 salários mínimos	13,8%
3,1 – 10 salários mínimos	41,3%
> 10 salários mínimos	44,9%

*Salário mínimo (set/2006): R\$350,00. Fonte. IBGE (2006)

Das duzentas entrevistas obtidas, 198 foram consideradas válidas para as análises estatísticas. Deste total, 98 entrevistas foram respondidas pelas pessoas que receberam apenas a informação positiva sobre a irradiação de alimentos (*folder*) e as outras 100 foram respondidas pelas pessoas que receberam além deste material, um outro informativo do Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor (IDEC) que continha as informações contrárias ao processo de irradiação.

Verificou-se que das 198 pessoas entrevistadas, 36,9% sabiam o que significava alimento irradiado, valor este que pode ser considerado satisfatório, já que no Brasil, este é um tema que não tem ampla divulgação. Destes 36,9%, a grande maioria (62%) se considerava totalmente desinformada e apenas 5% se considerava suficientemente informada. Os outros 32,5% da população possuía algum conhecimento a respeito do assunto.

O efeito da influência das informações positiva e positiva mais negativas na atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados pode ser observado nas Tabelas 11 e 12, respectivamente.

Verificou-se que a informação positiva alterou de forma significativa ($P < 0,05$) as respostas dos entrevistados em alguns itens abordados (Tabela 11). Aumentou o nível de informação (item 1), melhorou a atitude em relação aos alimentos irradiados (item 2), aumentou a percepção de segurança alimentar (item 4) e aumentou a intenção de compra (item 10), por outro lado, aumentou a sensação de elevação de custo do alimento após a irradiação (item 5). Também foi possível observar que a apresentação do *folder* com informações positivas diminuiu a percepção de risco desta tecnologia (item 3) e aumentou a influência do grupo no consumo de alimentos irradiados (item 11), talvez em parte atribuída à diminuição do risco.

Em relação aos outros itens abordados nesta pesquisa, como a influência do governo, das universidades, da ANVISA e das indústrias de alimentos na confiabilidade do processo de irradiação, não foi verificada diferença estatística ($P > 0,05$) antes e após a leitura. Entretanto, é possível observar (pelas médias obtidas) que as universidades e a ANVISA foram consideradas instituições confiáveis em relação ao fornecimento de informações verdadeiras sobre o processo de irradiação. Contrário a opinião em relação ao governo do Brasil e as indústrias de alimentos, onde os entrevistados tiveram sensação duvidosa em relação a estas instituições, classificando-as nem como confiáveis nem como não confiáveis em relação ao processo de irradiação.

Dessa forma, verifica-se que a informação positiva foi bem assimilada pelos entrevistados, melhorando a atitude em relação aos alimentos irradiados, de forma geral.

Esta atitude em relação aos alimentos irradiados concorda com trabalho de Oliveira e Sabato (2004). Estes pesquisadores ao analisarem a opinião de alunos do ensino médio (entre 16 e 18 anos) sobre a irradiação de alimentos verificaram, assim como na presente pesquisa, que o fornecimento da informação positiva (vídeo produzido pela Agência Internacional de Energia Atômica) diminuiu o nível de preocupação destes alunos em relação à irradiação de forma significativa.

Por outro lado, é possível observar na Tabela 12, a influência da informação positiva associada à informação negativa na opinião dos consumidores em relação aos alimentos irradiados.

No texto que apresentava informações negativas ao processo de irradiação (artigo do IDEC), há relatos sobre a formação de substâncias citotóxicas nos alimentos e sobre as perdas nutricionais durante o processo de irradiação. Também afirmam que os órgãos de fiscalização brasileiros não teriam condições de acompanhar, controlar e fiscalizar o processo de irradiação.

Dessa forma, o grupo de entrevistados que recebeu a informação positiva seguida da informação negativa, teve a confiabilidade no governo, nas universidades e nas indústrias de alimentos diminuída de forma significativa ($P \leq 0,05$) (itens 6, 7 e 9, respectivamente). Mesmo assim, verifica-se, de modo similar ao observado na Tabela 11, a forte imagem de confiabilidade que as universidades e a ANVISA têm perante a população, ao contrário da imagem do governo ou das indústrias de alimentos.

As informações negativas superaram as informações positivas em relação à intenção de compra, diminuindo significativamente ($P \leq 0,05$) a possibilidade de compra de alimentos irradiados.

Entretanto, assim como para o primeiro grupo pesquisado (os que receberam apenas informação positiva) verificou-se o aumento significativo ($P \leq 0,05$) em dois itens avaliados, no nível de informação adquirida (item 1) e no preço final dos alimentos irradiados (item 5).

As respostas em relação à percepção de risco (item 3) e à percepção de segurança alimentar (item 4) não foram influenciadas pelas informações obtidas.

Tais resultados demonstram a importância do fornecimento de informações corretas para o aumento de aceitação de uma nova tecnologia, isto porque há a diminuição da sensação de risco e aumento do número de benefícios que este processamento pode trazer.

Tabela 11 – Avaliação da opinião dos consumidores e comparação estatística de médias dos itens avaliados antes e após a informação positiva sobre a irradiação de alimentos. (N=98 respondentes)

Itens	Antes da informação		Após a informação		Diferença entre as médias	Valor t*	Nível de significância
	Média ± DP		Média ± DP				
1. O quão você se considera informado?	1,95 ±1,67		5,30±1,36		-3,35	-17,69	<0,001**
2. Atitude	0,98±8,81		7,45±9,48		-6,48	-6,42	<0,001**
3. "Acho arriscado consumir alimentos irradiados"	3,85±1,92		2,95±1,90		0,90	-5,11	<0,001**
4. "Por usar radiação no processo, os alimentos irradiados se tornam mais saudáveis"	3,28±1,59		4,27±1,98		-0,99	-6,67	<0,001**
5. "Consumir alimentos irradiados significa ter que pagar mais"	3,74±1,84		5,13±1,82		-1,39	-1,09	<0,001**
6. "Eu confiaria no governo do Brasil se ele incentivasse o consumo de alimentos irradiados"	4,14±2,07		4,36±1,93		-0,22	-1,09	0,280
7. "Eu acreditaria nas universidades brasileiras se divulgassem a tecnologia de irradiação de alimentos"	5,67±1,62		5,58±1,66		0,09	0,59	0,553
8. "Eu confiaria na ANVISA se ela afirmasse que os alimentos irradiados são bons para o consumo"	5,44±1,66		5,31±1,80		0,13	0,64	0,526
9. "Eu confiaria nas indústrias de alimentos se lançassem alimentos irradiados no mercado"	4,01±1,96		4,47±1,91		-0,46	-1,59	0,116
10. "Se eu encontrasse alimentos irradiados à venda e não houvesse nenhuma restrição à compra, a não ser minha vontade e capacidade de escolha, eu:" (intenção de compra)	4,18±1,94		4,73±1,99		-0,55	-3,03	0,003**
11. "Se eu visse outros consumidores comprando alimentos irradiados, eu acabaria comprando esses produtos"	3,15±2,00		3,67±2,02		-0,52	-3,50	0,001**

* teste t de Student para amostras dependentes, (gl = 97).

** Diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

Tabela 12 – Avaliação da opinião dos consumidores e comparação estatística de médias dos itens avaliados antes e após a informação positiva seguida de informação negativa sobre a irradiação de alimentos. (N=100 respondentes).

Itens	Antes da informação	Após a informação	Diferença entre as médias	Valor t*	Nível de significância
	Média	Média			
1. O quão você se considera informado?	2,36±1,91	5,24±1,34	-2,88	-15,57	<0,001**
2. Atitude	2,16±7,95	2,07±9,19	0,09	0,09	0,929
3. "Acho arriscado consumir alimentos irradiados"	3,57±1,82	3,84±1,83	-0,27	-1,30	0,198
4. "Por usar radiação no processo, os alimentos irradiados se tornam mais saudáveis"	3,29±1,42	3,42±1,83	-0,13	-0,65	0,518
5. "Consumir alimentos irradiados significa ter que pagar mais"	4,01±1,72	5,18±1,43	-1,17	-5,99	<0,001**
6. "Eu confiaria no governo do Brasil se ele incentivasse o consumo de alimentos irradiados"	3,86±1,66	3,28±1,88	0,58	3,21	0,002**
7. "Eu acreditaria nas universidades brasileiras se divulgassem a tecnologia de irradiação de alimentos"	5,76±1,47	5,12±1,81	0,64	3,47	0,001**
8. "Eu confiaria na ANVISA se ela afirmasse que os alimentos irradiados são bons para o consumo"	5,25±1,59	4,82±1,84	0,43	1,89	0,062
9. "Eu confiaria nas indústrias de alimentos se lançassem alimentos irradiados no mercado"	4,06±1,88	3,40±1,94	0,66	2,08	0,040**
10. "Se eu encontrasse alimentos irradiados à venda e não houvesse nenhuma restrição à compra, a não ser minha vontade e capacidade de escolha, eu:" (intenção de compra)	4,61±1,97	4,13±2,09	0,48	2,27	0,025**
11. "Se eu visse outros consumidores comprando alimentos irradiados, eu acabaria comprando esses produtos"	3,45±1,92	3,24±2,15	0,21	1,01	0,316

* teste t de Student para amostras dependentes, (gl = 99).

** Diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

Através da Tabela 13 é possível analisar comparativamente apenas a influência da informação nas respostas dos dois grupos de consumidores entrevistados (informação positiva e informação positiva mais negativa). Verifica-se que a informação negativa exerceu maior influência do que a informação positiva, reduzindo de modo significativo ($P \leq 0,05$) a atitude do consumidor frente aos alimentos irradiados (item 2), a percepção de segurança alimentar (item 4), a confiabilidade no governo e nas indústrias de alimentos (item 6 e 9, respectivamente) e a intenção de compra (item 10). Observou-se, ainda, um aumento significativo na percepção de risco ($P \leq 0,05$) (item 3) em relação aos alimentos irradiados.

Estes resultados demonstram que o efeito negativo sobre a atitude, a percepção de risco e a intenção de compra de alimentos irradiados relacionou-se mais à desconfiança no governo e nas indústrias de alimentos do que nas universidades, como órgãos de pesquisa, e na ANVISA, como órgão de fiscalização.

Isto ocorre, pois a posição do IDEC, um instituto criado em defesa do consumidor e bem conhecido pela população, é extremamente rígida contra o processo de irradiação, sendo, algumas vezes, até incoerente. Como esta é uma tecnologia desconhecida por grande parte da população e esta não está adequadamente informada sobre os seus benefícios, a percepção de risco é aumentada e o informativo do IDEC ganha mais força que as informações contidas no *folder*, exercendo, desta forma, uma maior influência sobre a atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados.

Tabela 13 – Comparação da avaliação da opinião dos consumidores, através dos escores médios dos itens avaliados pelo grupo que recebeu informação positiva e pelo grupo que recebeu informação positiva seguida de negativa sobre a irradiação de alimentos.

Itens	Grupo de informação positiva (N=98)	Grupo de informação positiva + negativa (N=100)	Diferença entre as médias	Valor t*	Nível de significância
	Média	Média			
1. O quão você se considera informado?	5,30±1,36	5,24±1,34	0,06	0,29	0,772
2. Atitude	7,45±9,48	2,07±9,19	5,39	4,06	<0,001**
3. "Acho arriscado consumir alimentos irradiados"	2,95±1,90	3,84±1,83	-0,89	-3,36	0,001**
4. "Por usar radiação no processo, os alimentos irradiados se tornam mais saudáveis"	4,27±1,98	3,42±1,83	0,85	3,16	0,002**
5. "Consumir alimentos irradiados significa ter que pagar mais"	5,13±1,82	5,18±1,43	-0,05	-0,204	0,839
6. "Eu confiaria no governo do Brasil se ele incentivasse o consumo de alimentos irradiados"	4,36±1,93	3,28±1,88	1,08	3,97	<0,001**
7. "Eu acreditaria nas universidades brasileiras se divulgassem a tecnologia de irradiação de alimentos"	5,58±1,66	5,12±1,81	0,46	1,87	0,063
8. "Eu confiaria na ANVISA se ela afirmasse que os alimentos irradiados são bons para o consumo"	5,31±1,80	4,82±1,84	0,49	1,88	0,062
9. "Eu confiaria nas indústrias de alimentos se lançassem alimentos irradiados no mercado"	4,47±1,91	3,40±1,94	1,07	3,91	<0,001**
10. "Se eu encontrasse alimentos irradiados à venda e não houvesse nenhuma restrição à compra, a não ser minha vontade e capacidade de escolha, eu:" (intenção de compra)	4,73±1,99	4,13±2,09	0,60	2,08	0,039**
11. "Se eu visse outros consumidores comprando alimentos irradiados, eu acabaria comprando esses produtos"	3,67±2,02	3,24±2,15	0,43	1,46	0,147

* teste t de Student para amostras independentes, considerando variâncias equivalentes (gl = 196). ** Diferença significativa entre as médias (p≤0,05)

Deste modo, é possível verificar que as informações negativas aliadas à falta de conhecimento, proporcionam um aumento da percepção de risco e conseqüentemente uma diminuição na intenção de compra. Assim sendo, é extremamente importante que as informações sobre a nova tecnologia sejam corretas e claras a respeito da segurança e dos benefícios do processo, de forma a aumentar a intenção de compra.

Segundo Bruhn (2007) para descrever uma nova tecnologia é necessário utilizar terminologia leiga, e comparar esta tecnologia a uma similar, mais conhecida pelos consumidores. Os benefícios devem ser enfatizados, mas o risco, como em qualquer tecnologia, nunca poderá ser completamente eliminado.

5 Conclusões

Baseado nas condições em que esta pesquisa foi desenvolvida, podemos concluir que:

- O processamento mínimo do vegetal sanificado com ozônio (0,08 ppm) não garantiu uma redução para níveis seguros da população existente nas amostras (psicrotróficos, *Pseudomonas*, bactérias láticas e mesófilos), reduzindo desta forma a vida útil de rúcula e tornando-se necessário a associação com outras tecnologias, mesmo que microrganismos patogênicos não tenham sido detectados;
- A irradiação (2 kGy) combinada à atmosfera modificada (15% de O₂, 5% de CO₂ e 80% de N₂) e às Boas Práticas de Fabricação é efetiva na redução de patógenos reduzindo o risco ao consumidor;
- O comportamento de *Listeria monocytogenes* na atmosfera modificada utilizada demonstra a importância da não recontaminação deste patógeno após o processamento mínimo;
- O processo de irradiação aumentou o teor de flavonóides, entretanto para o teor de vitamina C, verificou-se, no final do período de armazenamento, que as amostras-controle não diferiram das amostras irradiadas;
- O teor de carotenóides pró-vitamínicos totais não foi afetado adversamente pelo processo de irradiação;
- A irradiação não afetou negativamente a aceitação de rúcula minimamente processada, mesmo após a aplicação de 2 kGy;
- A percepção da população sobre o risco da irradiação de alimentos é influenciada pelo tipo de informação adquirida.

6 Referências Bibliográficas

ABADIAS, M.; USALL, J.; ANGUERA, M.; SOLSONA, C.; VIÑAS, I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology** (2008), doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013. Acesso em: 24 fev. 2008.

AHN, H.J.; KIM, J.H.; KIM, J.K.; KIM, D.H.; YOON, 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, p.589-597, 2005.

ALLENDE, A.; TOMÁS-BABERÁN, F.A.; GIL, M.I. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science and Technology**, v.17, p.513-519, 2006.

AMANATIDOU, A.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable-associated microorganisms. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.429-438, 1999.

ANDREWS W.H. FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J. BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.37, p.357-380.

ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16.ed., 3ª rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.

ARAB, L.; STECK, S. Lycopene and cardiovascular disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.71 (supl.), p.1691S-5S, 2000.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated by Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.1124-1131, 2004

ARUSCAVAGE, D.; LEE, K.; MILLER, S.; LeJEUNE, J.T. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. **Journal of Food Science**, v.71, p.R89-R-95, 2006.

AURELI, P.; FIORUCCI, G.C.; CAROLI, D.; MARCHIARO, G.; NOVARA, O.; LEONE, L.; SALMASO, S. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. **The New England Journal of Medicine**, v.342, n.17, p.1236-1241, 2000.

BACK, S., ENZELL, C.R. Mass Spectrometry. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H., eds. **Carotenoids: Spectroscopy**. Birkhäuser: Basel, 1995. vol1B, p.261-320.

BARI, M.L.; NAKAUMA, M.; TODORIKI, S.; JUNEJA, V.K.; ISSHIKI, K.; KAWAMOTO, S. Effectiveness of irradiation treatments in inactivating *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables at refrigeration temperature. **Journal of Food Protection**, v.68, p.318–323, 2005.

BAUR, S.; KLAIBER, R.; HAMMES, W.P.; CARLE, R. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, p.45-55, 2004.

BEATTY, M.E.; LaPORTE, T.N.; PHAN, Q.; Van DUYNE, S.V.; BRADEN, C. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, p.1337-1338, 2004.

BELTRÁN, D.; SELMA, M.V.; MARÍN, A.; GIL, M.I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.5654-5663, 2005

BENNETT, R.N., MELLON, F.A., KROON, P. Screening crucifer seeds as sources of specific intact glucosinolates using ion-pair high-performance liquid chromatography negative ion electrospray mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.428–438, 2004.

BENNETT, R.N., ROSA, E.A.S.; MELLON, F.A., KROON, P.A. Ontogenic profiling of glucosinolates, flavonoids, and other secondary metabolites in *Eruca sativa* (salad rocket), *Diplotaxis erucoides* (wall rocket), *Diplotaxis tenuifolia* (wild rocket), and *Bunias orientalis* (turkish rocket). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4005–4015, 2006.

BENNIK, M.H.J.; PEPPELENBOS, H.W.; NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Microbiology of minimally processed, modified atmosphere packaged chicory endive. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, p.209-221, 1996.

BERRANG, M.E., BRACKETT R.E. AND BEUCHAT, L.R. Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under controlled atmosphere. **Journal of Food Protection**, v.52, p.702-705, 1989.

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

BEUCHAT, L.R. *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. **Food Control**, v.7, p.223-228, 1996b.

BEUCHAT, L.R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and infection**, v.4, p.413-423, 2002.

BEUCHAT, L.R.; BRACKETT, R.E. Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated into raw tomatoes and processed tomato products. **Applied And Environmental Microbiology**, p.1367-1371 v.57, 1991.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad cut lettuce. **Journal of Food Science**, v.56, p.60 –62 (67), 1991.

BRACKETT, R.E. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, v.10, p.195-206, 1987.

BRACKETT, R.E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, p.305-311, 1999.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.21, de 26 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos, constante do Anexo desta Resolução**. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=161> Acesso em: 25 jan. 2008.

BRAVO, L.B. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutritional Review**, v.56, p.317–33, 1998.

BREITFELLNER, F.; SOLAR, S.; SONTAG, G. Effect of gamma irradiation on flavonoids in strawberries. **European Food Research and Technology**, v.215, p.28-31, 2002.

BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H., eds. **Carotenoids: Spectroscopy**. Birkhäuser: Basel, 1995. vol 1B, p.13-62.

BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S., PFANDER, H., 2004. **Carotenoids Handbook**. Birkhäuser: Basel, 2004. 660p.

BRUHN, C.M. Strategies for communicating the facts on food irradiation to consumers. **Journal of Food Protection**, v.58, p.213-216, 1995.

BRUHN, C.M. Enhancing consumer acceptance of new processing technologies. **Innovative Food Science and Emerging Technology**, v.8, n.4, p.555-558, 2007.

CANTWELL, M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. eds. **Postharvest technology of horticultural crops**. Oakland, California: University of California, 1992. cap.32, p.277-281.

CARLIN, F.; NGUYEN-THE, C.; SILVA, A.A.; COCHET, C. Effects of carbon dioxide on the fate of *Listeria monocytogenes*, of aerobic bacteria and on the development of spoilage in minimally processed fresh endive. **International Journal of Food Microbiology**, v.32, p.159-172, 1996.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Preliminary foodnet data on the incidence of foodborne illnesses: selected sites, United States, 2001. **MMRW. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.51, n.15, p.325-329, 2002a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Multistate Outbreaks of *Salmonella* Serotype Poona Infections Associated with Eating Cantaloupe from Mexico – United States and Canada, 2000-2002. **MMRW. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.51, n.46, p.1044-1047, 2002b.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach, September 19, 2006a.** Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/091906.htm>. Acesso em: 28 set. 2006.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Multistate Outbreak of *E. coli* 0157 Infections, November-December 2006b.** Disponível em: <http://www2a.cdc.gov/HAN/ArchiveSys/ViewMsgV.asp?AlertNum=00256>. Acesso em: 10 jan. 2007.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Salmonella* Oranienburg Infections Associated with Fruit Salad Served in Health-Care Facilities - Northeastern United States and Canada, 2006. **MMRW. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.56, n.39, 1025-1028, 2007.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Investigation of Outbreak of Infections Caused by *Salmonella* Saintpaul.** Disponível em: <http://www.cdc.gov/salmonella/saintpaul/archive/070808.html>. Acesso em: 9 jul. 2008.

CHANG, J.-M.; FANG, T.J. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* enterica serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. **Food Microbiology**, v. 24, p.745–751, 2007.

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, p.169–173, 2004.

CHITARRA, M.I.F., coord. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 88p.

COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASSAVADA, P.C. Psychrotrophic microorganisms (capítulo 13). In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. p.159-166.

DAVEY, M.W.; VAN MONTAGU, M.; INZE, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIE, I.J.J.; STRAIN, J.J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects on processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p.825-860, 2000.

DELAQUIS, P. Fresh-cut vegetables. In: SAPERS, G.M.; GORNY, J.R.; YOUSEF, A.E. (Eds). **Microbiology of fruits and vegetables**. Boca Raton: CRC Taylor e Francis, 2006. cap.11, p.253-265.

DELAQUIS, P.; BACH, S.; DINU, L-D. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in leafy vegetables. **Journal of Food Protection**, v.70, p.1966-1974, 2007.

De ROEVER, C. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. **Food Control**, v.9, p.321-347, 1998.

De ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.5062-5072, 2007a.

DE ROSSO, V.V., MERCADANTE, A.Z. HPLC-PDA-MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, p.9135-9141, 2007b.

DHOKANE, V.S.; HAJARE, S.; SHASHIDAR, R.; SHARMA, A.; BANDEKAR, J.R. Radiation processing to ensure safety of minimally processed carrot (*Daucus carota*) and cucumber (*Cucumis sativus*): optimization of dose for the elimination of *SalmonellaTyphimurium* and *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v.69, p.444-448, 2006.

DIAS, J.C.S. **Rocket in Portugal: botany, cultivation, uses and potential**. In: Rocket A Mediterranean crop for the world. p.81-85, 1996. Disponível em: http://www.nnfcc.co.uk/metadot/index.pl?id=2644;isa=DBRow;op=show;dbview_id=2329 Acesso em: 26 jan. 2008.

DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods**. Marcel Dekker:New York, 1990. 345p.

DROSINOS, E.H.; TASSOU, C.; KAKIOMENOU, K.; NYCHAS, G.-J.E. Microbiological, physico-chemical and organoleptic attributes of a country tomato salad and fate of *Salmonella enteritidis* during storage under aerobic or modified packaging conditions at 4°C and 10°C. **Food Control**, v.11, p.131-135, 2000.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. **Nutrition Research**, v.24, p.851-874, 2004.

EUROSURVEILLANCE. **E-alert: outbreak of Salmonella Thompson infections caused by contaminated rucola (rocket) salad**. 2004. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2594>. Acesso em: 20 ago. 2008.

EUROSURVEILLANCE. **Outbreak of salmonellosis in a restaurant in stockholm, Sweden, september – october 2006**. 2007. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=749>. Acesso em 20 ago. 2008.

EUSTICE, R.F.; BRUHN C.M. 2006. Consumer acceptance and marketing of irradiated foods. In: SOMMERS, C.H.; FAN, X., eds. **Food irradiation: research and technology**. Ames, Iowa: Blackwell Publishing and Institute of Food Technologists, 2006. cap.5, p 63–83.

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, 2003a.

FAN, X.; TOIVONEN, P.M.A.; RAJKOWSKI, K.T.; SOKORAI, K.J.B. Warm water treatment in combination with modified atmosphere packaging reduces undesirable effects of irradiation on the quality of fresh-cut iceberg lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1231-1236, 2003b.

FAN, X.; SOKORAI, K.J.B. Effects of ionizing radiation on sensorial, chemical and microbial quality of frozen corn and peas. **Journal of Food Protection**, v.70, p.1901-1908, 2007.

FANG, C.Y.; TSENG, M.; DALY, M.B. Correlates of soy food consumption in women at increased risk for breast cancer. **Journal of the American Dietetic Association**, v.105, p.1552-1558, 2005.

FARKAS, J.; SÁRAY, T.; MOHÁCSI-FARKAS, C.; HORTI, K.; ANDRÁSSY, E. Effects of low-dose gamma radiation on shelf-life and microbiological safety of pre-cut/prepared vegetables. **Advances in Food Sciences**, v.19, p.111–119, 1997.

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

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook**, 1992. Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>. Acesso em: 16 jul. 2008.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. **Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce, capítulo V. Methods to reduce /eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce**, 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-5.html>. Acesso em: 11 nov. 2007.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. **Letter to state regulatory agencies and firms that produce treated (but not pasteurized) and untreated juice and cider**, 2005. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/juicgu14.html>. Acesso em: 16 jul. 2008.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. **Irradiation: a safe measure for safer iceberg lettuce and spinach**, 2008. Disponível em: <http://www.fda.gov/consumer/updates/irradiation082208.html>. Acesso em: 01 set. 2008.

FOOD SAFETY NETWORK - FSNET. 2007 Jan. 11/07 II. FSAN product recall: florette watercress and florette spinach, watercress and rocket. Disponível em: http://www.fsai.ie/news/press/pr_07/pr20070111.asp. Acesso em: 12 jan. 2007.

FRANCESCHI, S.; BIDOLI, E.; VECCHIA, C.; TALAMINI, R.; D'AVANZO, B.; NEGRI, E. Tomatoes and risk of digestive-tract cancers. **International Journal of Cancer**, v.59, p.181-184, 1994.

FRANCIS, G.A.; O'BEIRNE, D. Effects of gas atmosphere, antimicrobial dip and temperature on the fate of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed lettuce. **International Journal of Food Science and Technology**, v.32, p.141-151, 1997.

FRANCIS, G.A.; O'BEIRNE, D. Effects of acid adaptation on the survival of *Listeria monocytogenes* on modified atmosphere packaged vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v.36, p.477-487, 2001.

FRANCIS, G.A.; O'BEIRNE, D. Effects of vegetable type and antimicrobial dipping on survival and growth of *Listeria innocua* and *E. coli*. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.711-718, 2002.

FRODER, H. ; MARTINS, C. G. ; SOUZA, K. L. O. ; LANDGRAF, M. ; FRANCO, B. D. G. M. ; DESTRO, M. T. Minimally Processed Vegetable Salads: Microbial Quality Evaluation. **Journal of Food Protection**, v.70, p.1277-1280, 2007

GADAGA, T.H.; SAMENDE, B.K.; MUSUNA, C.; CHIBANDA, D. The microbiological quality of informally vended foods in Harare, Zimbabwe. **Food Control** (2007), doi:10.1016/j.foodcont.2007.07.016. Acessado em 24 de fevereiro de 2008.

GARCIA, A.; MOUNT, J.R.; DAVIDSON, P.M. Ozone and chlorine treatment of minimally processed lettuce. **Journal of Food Science**, v.68, p.2747-2751, 2003.

GARCÍA-GIMENO, R.M.; ZURERA-COSANO, G. Determination of ready-to-eat salad shelf-life. **Interantional Journal of Food Microbiology**, v.36, p.31-38, 1997.

GELLI, D.S. Programas de segurança em pós-colheita de frutas e hortaliças. IV encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças. I Simpósio Ibero-americano de vegetais frescos cortados. São Pedro, 2006. p.33-40. Piracicaba:USP/ESALQ.

GLEESON, E.; O'BEIRNE, D. Effects of porcess severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. **Food Control**, v.16, p.677-685, 2005.

GORNY, J. Microbial contamination of fresh fruits and vegetables. In: SAPERS, G.M.; GORNY, J.R.; YOUSEF, A.E. (Eds). **Microbiology of fruits and vegetables**. Boca Raton: CRC Taylor e Francis, 2006. cap.1, p.3-32.

GOULARTE, L. Aplicação de processos combinados – processamento mínimo e radiação ionizante (^{60}Co) – visando o aumento da segurança microbiológica de alface (*Lactuca sativa*, L.). São Paulo, 2003. 79p. Tese de doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

GOULARTE, L.; MARTINS, C.G.; MORALES-AIZPURÚA, I.C; DESTRO, M.T.; FRANCO, B.D.G.M, VIZEU, D.M.; HUTZLER, B.; LANDGRAF, M. Combination of minimal processing and irradiation to improve the microbiological safety of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, p.155-159, 2004.

GRAHAM, W.D.; STEVENSON, M.H. Effect of irradiation on vitamin c content of strawberries and potatoes in combination with storage and with further cooking in potatoes. **Journal of the Science and Food Agriculture**, v.75, p.371-377, 1997.

GUERZONI, M.E.; GIANOTTI, A. CORBO, M.R.; SINIGAGLIA, M. Shelf-life modeling for fresh-cut vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, p. 195-207, 1996.

GUNES, G.; TEKIN, M.D. Consumer awareness and acceptance of irradiated foods: Results of a survey conduct on Turkish consumers. **LWT-Food Science and Technology**, v.39, p.443-447, 2006.

HAJARE, S.N.; DHOKANE, V.S.; SHASHIDHAR, R.; SAROJ, S.; SHARMA, A.; BANDEKAR, J.R. Radiation processing of minimally processed pineapple (*Ananas comosus* Merr.): Effect on nutritional and sensory quality. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.S501-S505, 2006a.

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.S198-S203, 2006b.

HAJARE, S.N.; SAROJ, S.; DHOKANE, V.S.; SHASHIDHAR, R.; BANDEKAR, J.R. Effect of radiation processing on nutritional and sensory quality of minimally processed green gram and garden pea sprouts. **Radiation Physics and Chemistry**, v.76, p.1642-1649, 2007.

HALL, P.A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R.S. Acid-producing microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.19, p.201-207.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? **Lancet**, v.344, p.721-724, 1994.

HAO, Y.Y.; BRACKETT, R.E. Influence of modified atmosphere on growth of vegetable spoilage bacteria in media. **Journal of Food Protection**, v.56, p.223-228, 1993.

HENSON, S. Demand-side constraints on the introduction of new food technologies: the case of food irradiation. **Food Policy**, v.20, p.111-127, 1995.

HITCHINS, A.D. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. **Bacteriological Analytical Manual**. USDA. 2003. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-10.htm> Acesso em: 20 mai. 2005

HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v.51, p.305-310, 1997.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1994. 787p.

HUXSOLL, C.C.; BOLIN, H.R. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, v.43, p.124-128, 1989.

IGNARRO, L.J.; BALESTRIERI, M.L.; NAPOLI, C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: An update. **Cardiovascular Research**, v.73, p.326–340, 2007.

ISMAIL, M.A.; BROWN, G.E. Postharvest wound healing in citrus fruit: Induction of phenylalanine ammonia-lyase in injured 'Valencia' orange flavedo. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.104, p.129-129, 1979.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. **International Journal of Food Microbiology**, v.71, p. 197-210, 2001.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; RAGAERT, P.; VANNEST, E.; DEBEVERE, J. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. **International Journal of Food Microbiology**, v.83, p. 263-280, 2003.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. 6 ed. Maryland: Aspen Publication, 2000. cap.8, p.131-161.

KAKIOMENOU, K.; TASSOU, C.; NYCHAS, G.-J. Survival of *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes* on salad vegetables. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.14, p.383-387, 1998.

KANG, D. H.; FUNG, D. Y. C. Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v.62, p.1346-1349, 1999.

KARACA, H.; VELIOGLU, Y.S. Ozone applications in fruit and vegetable processing. **Food Reviews International**, v.23, p.91-106, 2007.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Mineral profile of raw and cooked leafy vegetables consumed in Southern Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.605-611, 2003.

KETTERINGHAM, L.; GAUSSERES, R.; JAMES, S.J.; JAMES, C. Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Engineering**, v.76, p.104–111, 2006.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, v.49, p.157-164, 1994.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A.E.; CHISM, G.W. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **Journal of Food Safety**, v.19, p.17-34, 1999.

KING, A.D.; MAGNUSON, J.A.; TOROK, T.; GOODMAN, N. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce. **Journal of Food Science**, v.56, p.459-461, 1991.

KLEIN, B. P. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, v. 10, p.179-193, 1987.

KOMANAPALLI, I.R.; LAU, B.H.S. Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.46, p.610-614, 1996.

KOPSELL, D.A.; KOPSELL, D.E. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. **Trends in Plant Science**, v.10, p.499-507, 2006.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, Coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.8, p.69-82.

KOSEKI, P.M.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; BRITO, M.S.; NAHME, L.C.; SEBASTIÃO, K.I.; RELA, P.R.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; MANCINI-FILHO, J.; FREITAS, P.C.D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. **Radiation Physics and Chemistry**, v.63, p.681-684, 2002.

KOSEKI, S.; ISOBE, S. Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Protection**, v.69, p.154-160, 2006.

KOVÁCS, E.; KERESZTES, Á. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. **Micron**, v.33, p.199-210, 2002.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.207-220, 2000.

LEE, N.Y.; JO, C.; SHIN, D.H.; KIM, W.G.; BYUN, M.W. Effect of γ -irradiation on pathogens inoculated into ready-to-use vegetables. **Food Microbiology**, v.23, p.649-656, 2006.

LU, Z.; YU, Z.; GAO, X.; LU, F.; ZHANG, L. Preservation effects of gamma irradiation on fresh-cut celery. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.347-351, 2005.

LUND, B.M. Ecosystems in vegetable foods. **Journal of Applied Bacteriology**, v.73, p.S115-S126, 1992.

MARCHETTI, R.; CASADEI, M.A.; GUERZONI, M.E. Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. **Italian Journal of Food Science**, v.2, p.97-108, 1992.

MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; ALLENDE, A.; BENNETT, R.N.; FERRERES, F.; GIL, M.I. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p.86–97, 2006.

MARTINS, C.G.; BEHRENS, J.H.; DESTRO, M.T.; FRANCO, B.D.G.M; VIZEU, D.M.; HUTZLER, B.; LANDGRAF, M. Gamma radiation in the reduction of *Salmonella* spp. inoculated on minimally processed watercress (*Nasturtium officinalis*). **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, p.87-91, 2004.

MARTINS, C.G.; NUNES, T.P.; ARAGON-ALEGRO, L.; SOUZA, K.L.O.; RIBEIRO, C.; DESTRO, M.T.; FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. Análise da cadeia produtiva de agrião orgânico minimamente processado. In: **XII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 15-19 de Outubro de 2007, São Paulo/São Paulo**, 2005.

MARTINS, C.G.; NUNES, T.P.; SOUZA, K.L.O.; FRANCO, B.D.G.M.; DESTRO, M.T.; HUTZLER, B.; LANDGRAF, M. Fate of *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. on irradiated minimally processed organic watercress during refrigerated shelf life. In: **93rd Annual Meeting – International Association for Food Protection, 13-16 de Agosto de 2006, Calgary/Canadá**, 2006.

McCANN, M.J.; GILL, C.I.R.; O' BRIEN, G.; RAO, J.R.; McROBERTS, W.C.; HUGHES, P.; McENTEE, R.; ROWLAND, I.R. Anti-cancer properties of phenolics from apple waste on colon carcinogenesis *in vitro*. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, p.1224–1230, 2007.

MEAD, G.C.; ADAMS, B.W. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. **British Poultry Science**, v.18, p.661-667, 1977.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, p.607-625, 1999.

MERKER, R.; EDELSON-MAMMEL, S.; DAVIS, V.; BUCHANAN, R.L. **Preliminary experiments on the effect of temperature differences on dye uptake by oranges and grapefruit**. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 1999. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/%7Ecomm/juicexp.html>. Acesso em: 13 jul. 2008.

MINTIER, A.M.; FOLEY, D.M. Electron beam and gamma irradiation effectively reduce *Listeria monocytogenes* populations on chopped romaine lettuce. **Journal of Food Protection**, v.69, p.570–574, 2006.

MOHLE-BOETANI, J.C.; FARRAR, J.A.; WERNER, S.B.; MINASSIAN, D.; BRYANT, R.; ABBOTT, S.; SLUTSKER, L.; VUGIA, D.J. *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* infections associated with sprouts in California, 1996–1998. **Annals of Internal Medicine**, v.135, n.4, p.239-247, 2001

MORETTI, C.L.; MACHADO, C.M.M. Aproveitamento de resíduos sólidos do processamento mínimo de frutas e hortaliças. IV encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças. I Simpósio Ibero-americano de vegetais frescos cortados. São Pedro, 2006. p.25-32. Piracicaba:USP/ESALQ.

MORETTI, C.L.; PUSCHMANN, R. Processamento mínimo de hortaliças. IV encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças. I Simpósio Ibero-americano de vegetais frescos cortados. São Pedro, 2006. p.234-239. Piracicaba:USP/ESALQ.

MOREHOUSE, K.M.; KOMOLPRASERT, V. Irradiation of Food and Packaging: An Overview. 2004. Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/irraover.html> Acesso em: 20 nov. 2006.

MORTON, D.R. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.37, p.63-67.

NANTES, J.F.D.; KANESIRO, M.A.; OLIVEIRA, J.E.D. Tendências de consumo de alimentos. **Nutrição em Pauta**, v.1, p.36-39, 1999.

NANTES, J.F.D.; LEONELLI, F.C.V. A estruturação da cadeia produtiva de vegetais minimamente processados. **Revista FAE, Curitiba**, v.3, n.3, p.61-69, set./dez. 2000.

NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seed. **International Journal of Food Microbiology**, v.52, p.123-153, 1999.

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.

NGUZ, K.; SHINDANO, J.; SAMAPUNDO, S.; HUYGHEBAERT, A. Microbiological evaluation of fresh-cut organic vegetables produced in Zambia. **Food Control**, v.16, p.623-628, 2005.

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

NIEMIRA, B.A. Radiation sensitivity and recoverability of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* on 4 lettuce types. **Journal of Food Science**, v.68, p.2784-2787, 2003a.

NIEMIRA, B.A.; FAN, X.; SOKORAI, K.J.B.; SOMMERS, C.H. Ionizing radiation sensitivity of *L. monocytogenes* ATCC49594 and *L. Innocua* ATCC51742 inoculated on endive (*Chicorium endive*). **Journal of Food Protection**, v.66, p.993-998, 2003b.

NIEMIRA, B.A.; FAN, X.; SOKORAI, K.J.B. Irradiation and modified atmosphere packaging of endive influences survival and regrowth of *Listeria monocytogenes* and product sensory qualities. **Radiation Physics and Chemistry**, v.72, p.41-48, 2005.

NIEMIRA, B.A. Relative efficacy of sodium hypochlorite wash versus irradiation to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 internalized in leaves of romaine lettuce and baby spinach. **Journal of Food Protection**, v.70, n.11, p.2526-2532, 2007.

OLIVEIRA, I.B.; SABATO, S.F. Dissemination of the food irradiation process on different opportunities in Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, p.493-497, 2004.

ORNELLAS, C.B.D.; GONÇALVES, M.P.J.; SILVA, P.R.; MARTINS, R.T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.211-213, 2006.

OSTERHOLM, M.T.; NORGAN, A.P. The role of irradiation in food safety. **The New England Journal of Medicine**, v. 350, p.1898-1901, 2004.

OUFEDJIKH, H.; MAHROUZ, M.; LACROIX, M.; AMIOT, M.J.; TACCINI, M. The influence of gamma irradiation on flavonoid content during storage of irradiated clementina. **Radiation Physics and Chemistry**, v.52, p.107-112, 1998.

PASTERNAK, T.; POTTERS G.; CAUBERGS, R.; JANSEN, M.A.K. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.418, p.1991-2001, 2005.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science and Technology**, v.40, p.1-11, 2007.

PRAKASH, A.; INTHAJAK, P.; HUIBREGTSE, H.; CAPORASO, F.; FOLEY, D.M. Effects of low-dose gamma irradiation and conventional treatments on shelf life and quality characteristics of diced celery. **Journal of Food Science**, v.65, p.1070-1075, 2000.

PRICE, K.R.; PROSSER, T.; RICHETIN, A.M.F.; RHODES, M.J.C. A comparison of the flavonol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; distribution within the fruit and effect of juicing. **Food Chemistry**, v.66, p.489-494, 1999.

RAGAERT, P.; VERBEKE, W.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. **Food Quality and Preference**, v.15, p.259-270, 2004.

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

RAI, P.K.; TRIPATHI, B.D. Microbial contamination in vegetables due to irrigation with partially treated municipal wastewater in a tropical city. **International Journal of Environmental Health Research**, v.17, p.389-395, 2007.

RAJKOWSKI, K.T.; BOYD, G.; THAYER, D.W. Irradiation D-values for *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. On inoculated broccoli seeds and effects of irradiation on broccoli sprout, keeping quality and seed viability. **Journal of Food Protection**, v.66, p.760-766, 2003.

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v.55, p.207-216, 2007.

REYES, L.F.; CISNEROS-ZEVALLOS, Electron-beam ionizing radiation stress effects on mango fruit (*Mangifera indica* L.) antioxidant constituents before and during postharvest storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.6132-6139, 2007.

RICE-EVANS, C.; SAMPSON, J.; BRAMLEY, P.M.; HOLLOWAY, D.E. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo. **Free Radical Research**, v.26, p.381-398, 1997.

ROSS, J.A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.

RUIZ, B.G.; VARGAS, R.G.; GARCIA-VILLANOVA, R. Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing. **International Journal of food Microbiology**, v.4, p.285-291, 1987.

SANZ, E. **Irradiação de alimentos pode aumentar exportações de frutas brasileiras.** 1996. Disponível em: http://www.radiobras.gov.br/ct/1996/materia_270996_12.htm. Acesso em: 15 out. 2007.

SAWAYA, W.N.; ELNAWAWY, A.S.; ADU-RUWAIDA, A.S.; KWALAFAWA, S.; SASHTI, B. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage conditions. **Journal of Food Safety**, v.15, p.35-51, 1995.

SCHLECH, LAVIGNE, P.M.; BORTOLUSSI, R.A.; ALLEN, A.C.; HALDANE, E.V.; WORT, A.J.; HIGHTOWER, A.W.; JOHNSON, S.E.; KING, S.H.; NICHOLLS, E.S.; BROOME, C.V. Epidemic listeriosis – evidence for transmission by food. **The New England Journal of Medicine**, v.308, n.4, p.203-206, 1983.

SEBASTIÃO, K.I.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; ROMANELLI, M.F.; KOSEKI, P.M.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Effect of gamma-irradiation on the levels of total and *cis/trans* isomers of beta-carotene in dehydrated parsley. **Radiation Physics and Chemistry**, v.63, p.333–335, 2002.

SELMA, M.V.; BELTRÁN, D.; ALLENDE, A.; CHACÓN-VERA, E.; GIL, M.I. Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water. **Food Microbiology**, v.24, p.492–499, 2007.

SHASHIDHAR, R.; DHOKANE, V.S.; HAJARE, S.; SHARMA, A.; BANDEKAR, J.R. Effectiveness of radiation processing for elimination of *Salmonella* Typhimurium from minimally processed pineapple (*Ananas comosus* Merr.). **Journal of Food Science**, v.72, p.M98-M101, 2007.

SIEGRIST, M.; CVETKOVICH, G.; ROTH, C. Salient value similarity, social trust and risk/benefit perception. **Risk Analysis**, v.20, n.3, p.353-362, 2000.

SIGRIST, J.M.A. **Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processadas**. Piracicaba, 2002. 112p. Tese de doutorado – Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz – Universidade de São Paulo.

SIMONS, L. K.; SANGUANSRI, P. Advances in the washing of minimally processed vegetables. **Food Australia**, v.49, p.75 –80, 1997.

SIVAPALASINGAM, S.; BARRETT, E.; KIMURA, A.; VAN DUYN, S.; DE WITT, W.; YING, M.; FRISCH, A.; PHAN, Q.; GOULD, E.; SHILLAM, P.; REDDY, V.; COOPER, T.; HOEKSTRA, M.; HIGGINS, C.; SANDERS, J.P.; TAUXE, R.V.; SLUTSKER, L. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfection technology. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, p.1585–1590, 2003.

SIVAPALASINGAM, S.; FRIEDMAN, C.R.; COHEN, L.; TAUXE, R.V. Fresh produce: a growing case of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. **Journal of Food Protection**, v.67, p.2342-2353, 2004.

STEINBRUEGGE, E.G.; MAXCY, R.B.; LIEWEN, M.B. Fate of *Listeria monocytogenes* on ready-to-serve lettuce. **Journal of Food Protection**, v.51, p.596-599, 1988.

SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes and Infection**, v.9, p.1236-1243, 2007.

SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.6, p.53-62.

SAWANT, P.L.; RAMAKRISHNAN, T.V.; KUMTA, U.S. Radiation sensitivity studies of plant pigments. II. Effects of radiation on carotenoid fractions of orange juice and mango pulp. **Radiation Botany**, v.10, p.169-174, 1970.

TANNENBAUM, S.R.; YOUNG, V.R.; ARCHER, M.C. Vitamins and minerals. In: FENNEMA, O.R. (Ed). **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. cap.7, p.477-544.

THANE, C.; REDDY, S. Processing of fruit and vegetables: effect on carotenoids. **Nutrition and Food Science**, n.2, p.58-65, 1997.

THAYER, D.W.; RAJKOWSKY, K.T. Development in irradiation of fresh fruits and vegetables. **Food Technology**, v.53, p.62-65, 1999.

THOMAS, J.; SENTHILKUMAR, R.S.; KUMAR, R.R.; MANDAL, A.K.A.; MURALEEDHARAN, N. Induction of c irradiation for decontamination and to increase the storage stability of black teas. **Food Chemistry**, v.106, p.180–184, 2008

THUNBERG, R.L.; TRAN, T.T.; BENNET, R.W.; MATTHEWS, R.N.; BELAY, N. Microbial evaluation of selected fresh produce obtained at retail markets. **Journal of Food Protection**, v.65, p.677-682, 2002.

TOPUZ, A.; OZDEMIR, F. Influences of γ -irradiation and storage on the carotenoids of sun-dried and dehydrated paprika. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4972-4977, 2003.

TRANI, P.E.; PASSOS, F.A. Rúcula (Pinchão). In: FAHL, J.I.; CAMARGO, M.B.P.de; PIZINATTO, M.A.; BETTI, J.A.; MELO, A.M.T.de; DEMARIA I.C.; FRURLANI, A.M.C. (Ed.) **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas: IAC, 1998. p.241-242. (IAC. Boletim, 200).

TSUHAKO, V.P. **Irradiação de alface (*Lactuca sativa* L.): aspectos microbiológicos e sensoriais**. São Paulo, 2005. 53p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

VANAMALA, J.; COBB, G.; TURNER, N.D.; LUPTON, J.R.; YOO, K.S.; PIKE, L.M.; PATIL, B.S. Bioactive Compounds of grapefruit (*Citrus paradisi* Cv. Rio red) respond differently to postharvest irradiation, storage, and freeze drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.3980-3985, 2005.

VARIYAR, P.S.; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation-Induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine Max* Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.3385-3388, 2004.

VICTORIN, K. Review of the genotoxicity of ozone. **Mutation Research**, v.277, p.221-238, 1992.

VILLANUEVA, N.D.M.; PETENATE, A.J.; SILVA, M.A.A.P. Performance of three affective methods and diagnosis of the ANOVA model. **Food Quality and Preference**, v.11, p.363–370, 2000.

WEN, H-W.; CHUNG, H-P.; CHOU, F.I.; LIN, I-h.; HSIEH, P-C. Effect of gamma irradiation on microbial decontamination, and chemical and sensory characteristic of lycium fruit. **Radiation Physics and Chemistry**, v.75, p.596–603, 2006.

WERNER, B.G.; HOTCHKISS, J.H. Modified atmosphere packaging. In: SAPERS, G.M.; GORNY, J.R.; YOUSEF, A.E. (Eds). **Microbiology of fruits and vegetables**. Boca Raton: CRC Taylor e Francis, 2006. cap.19, p.437–459.

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

ZHANG, S.; FABER, J.M. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh cut vegetables. **Food Microbiology**, v.13, p.311–321, 1996.

ZHANG, L.; LU, Z.; LU, F.; BIE, X. Effect of c irradiation on quality-maintaining of fresh-cut lettuce. **Food Control**, v.17, p.225–228, 2006.

ZHUANG, R.Y.; BEUCHAT, L.R.; ANGULO, F.J. Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. **Journal of Food Protection**, v.61, p.2127–2131, 1995.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer de aprovação concedido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER Nº 1773/2005

Registro CONEP: 12307 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

CAAE – 0028.0 018.000-03

Processo nº 25600.137398/2005-82

Projeto de Pesquisa: "Efeito da irradiação combinada à atmosfera modificada na qualidade de rúcula minimamente processada"

Pesquisador Responsável: Dra. Tatyana Pacheco Nunes

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacéuticas/USP

Área Temática Especial: Cooperação estrangeira.

Objetivos

1. Avaliar as interações entre o efeito da dose e do tipo de embalagem na resistência à irradiação de *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes* inoculados à rúcula, na composição gasosa no interior das embalagens, na cor, textura, teor de flavonoides, pH, teor ácido ascórbico e desidroascórbico, teor de beta-caroteno.
2. Avaliar a aceitação sensorial de rúculas minimamente processadas embaladas em atmosfera modificada, irradiadas ou não.

Sumário/comentários:

Trata-se de uma tese de doutorado para avaliação das alterações ocorridas na rúcula após a submissão do vegetal à radiação e será financiada pela Agência Internacional de Energia Atômica, daí a participação estrangeira nesse estudo.

A participação de seres humanos ocorrerá no painel sensorial, do qual participaram de 25 a 30 provadores não treinados, consumidores potenciais do produto, com idade entre 20 e 55 anos, que avaliarão a aceitação global, aparência, aroma, sabor, textura (sensação das folhas e dos talos ao mastigar o vegetal). Serão excluídos indivíduos com problemas de saúde ou em uso de algum medicamento que altere o paladar.

As amostras serão avaliadas nos dias 0, 5, 11, 16, 21 e 24 dias após o tratamento. As amostras serão submetidas a ensaios previstos pela ANVISA, RDC 12 de 2001. Em cada uma das sessões, serão servidas a cada provador 3 amostras tratadas e uma amostra testemunha. O maior benefício desta pesquisa é provar que alimentos expostos a radiação são inócuos além de serem aceitos sensorialmente. A pesquisadora considera seu projeto de risco mínimo.

O Comitê de Ética solicitou adequações ao protocolo tendo havido retorno adequado aos questionamentos pela pesquisadora.

Considerações

- a) As informações enviadas atendem aos aspectos fundamentais da Resolução CNS 196/96 sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos;
- b) O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição supracitada.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado

Brasília, 3 de novembro de 2005

WILLIAM SAAD HOSSNE
Coordenador da CONEP/CNS/MS

Anexo 2 – Ficha utilizada na análise sensorial para o teste de aceitação de rúcula minimamente processada irradiada.

Avaliação sensorial de rúcula minimamente processada

Nome: _____ Data: ____/____/2006.

Você está recebendo uma amostra codificada de rúcula minimamente processada. Tempere-a ao seu gosto com sal, prove-a avaliando sua aparência, aroma, sabor e textura (sensação das folhas e dos talos ao mastigar o vegetal) e marque com um “X” na escala abaixo o lugar (inclusive entre os pontos) que melhor represente o quanto você gostou ou desgostou da amostra, DE UMA FORMA GERAL:

Comentários:

MUITO OBRIGADA POR SUA PARTICIPAÇÃO!

Anexo 3 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU LEGAL RESPONSÁVEL

Nome:.....

Documento de Identidade Nº :..... Sexo: () M () F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:.....Apto:.....

Bairro:.....Cidade:.....

CEP:.....Telefone:.....

* Grau de escolaridade:

() 1º.Grau () 2º. Grau () Superior

* Você tem filhos? () SIM () NÃO

Em caso positivo, com qual idade? () 0-10 anos () 11-18 anos () Maior(es) de 18 anos

* Na sua família, residindo na mesma casa e compartilhando refeições, há:

() Pessoas com problemas crônicos de saúde ou fazendo tratamento médico (dieta especial)

() Idosos (acima dos 60 anos)

* Qual a renda média de sua casa? (com base no salário mínimo de R\$ 410,00)

() Até 3 salários mínimos () De 3,1 a 10 salários mínimos () Mais que 10 salários mínimos

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Protocolo de Pesquisa: **ATITUDE, EXPECTATIVA E ACEITABILIDADE DE ALIMENTOS IRRADIADOS PELO CONSUMIDOR DA CIDADE DE SÃO PAULO.**

1. Pesquisador: Tatiana Pacheco Nunes

Cargo/Função: doutorando (No. USP 3244130)

Departamento da FCF/USP: Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA

Risco Mínimo (x) Risco Médio ()

Risco Baixo () Risco Maior ()

3. Duração da Pesquisa: 14 meses; 1 mês para avaliações sensoriais

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO SOBRE A PESQUISA:

Estamos realizando uma pesquisa de opinião sobre alimentos irradiados. Para tanto, utilizamos um questionário composto de algumas questões relacionadas ao assunto para os quais pedimos, caso o senhor/senhora esteja disposto(a) a responder, que indique seu grau de concordância ou discordância com cada item: 1 – discordo muito; 2 – discordo moderadamente; 3 – não concordo, nem discordo; 4 - concordo moderadamente; 5 – concordo muito.

A sua opinião será muito importante para entendermos o comportamento do consumidor paulistano e sua atitude em relação à irradiação de alimentos.

IV – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Não haverá remuneração financeira. A manifestação em responder o questionário será voluntária. O indivíduo poderá desistir em responder a pesquisa em qualquer momento, sem nenhum ônus. Todas as informações pessoais serão sigilosas, garantindo a privacidade. Caso o indivíduo queira se inteirar mais sobre a tecnologia da irradiação e sobre os seus possíveis efeitos sobre a saúde, nosso grupo de pesquisa estará à disposição para dar explicações a respeito e/ou fornecer literatura científica apropriada sobre o assunto.

V – INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

TATIANA PACHECO NUNES. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Av. Prof. Lineu Prestes, 580, bloco 13B, CEP 05508-000 São Paulo-SP.
Telefone: 11-3091-2191

MARIZA LANDGRAF. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Av. Prof. Lineu Prestes, 580, bloco 13B, CEP 05508-000 São Paulo-SP.
Telefone: 11-3091-2191

VI – OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

.....

VII – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de 2006.

Assinatura do sujeito de pesquisa
ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

Anexo 4 – Questionário utilizado na análise sensorial para a avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados.

Q1

No.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL

Nome: _____

Somos um grupo de pesquisa da Faculdade de Farmácia da USP e desejamos conhecer a opinião de consumidores da Cidade de São Paulo sobre alimentos irradiados. Gostaríamos de contar com a sua colaboração respondendo as perguntas abaixo, marcando com um "X" o número correspondente à sua avaliação:

1. Você sabe o que são ALIMENTOS IRRADIADOS?

() Sim () Não

2. Em caso afirmativo, o quão informado em relação à irradiação de alimentos você se considera:

1	2	3	4	5	6	7
Totalmente desinformado						Suficientement e informado

3. Neste momento, qual seria a sua atitude em relação a um alimento irradiado? Observe o produto apresentado e considere seus sentimentos em relação a ele:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Desgosto muitíssimo								Gosto muitíssimo

4. Na sua opinião, o quão bom ou ruim seria para você consumir alimentos irradiados:

-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
Extremament e ruim						Extremamente bom

5. Quando você compra alimentos para seu próprio consumo ou de sua família, você considera a opinião de pessoas importantes para você (familiares, amigos, namorada(o), etc), o que eles acham que você deva consumir?

1	2	3	4	5	6	7
É extremamente improvável						É extremamente provável

6. O quanto você considera a opinião dos outros (familiares, amigos, namorada(o), etc)?:

-3	-2	-1	0	1	2	3
Nunca						Sempre

Agora, indique o seu grau de concordância ou discordância com as idéias expostas abaixo:

7. "Por receber radiação no processamento, os alimentos irradiados se tornam mais saudáveis":

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
8. "Comprar alimentos irradiados significaria ter que pagar mais":
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
9. "Acho arriscado consumir alimentos irradiados":
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
10. "Eu acreditaria **nas universidades brasileiras** se elas divulgassem a tecnologia de irradiação de alimentos com benefícios às pessoas":
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
11. "A **ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)** ofereceria credibilidade aos alimentos irradiados se promovesse seu consumo":
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
12. "Eu confiaria no **Governo do Brasil** se ele incentivasse o consumo de alimentos irradiados":
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
13. "Se as **indústrias de alimentos** lançassem alimentos irradiados no mercado, eu desconfiaria de suas intenções".
- 1 2 3 4 5 6 7
- Discordo
fortemente
- Concordo
fortemente
14. Se eu encontrasse alimentos irradiados a venda no mercado, e se não houvesse nenhuma restrição à compra a não ser a minha vontade, minha escolha, eu:
- 1 2 3 4 5 6 7
- Certamente não
compraria
- Certamente
compraria
15. Se eu visse outros consumidores comprando alimentos irradiados eu também acabaria comprando esses produtos:
- 1 2 3 4 5 6 7
- É
extremamente
improvável
- É
extremamente
provável
16. Pense na expressão "ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO". Use até cinco (5) palavras para descrever seus sentimentos sobre esta expressão:
1. _____ 2. _____ 3. _____
4. _____ 5. _____

O alimento irradiado custará mais caro?

Como qualquer processamento de alimento, a irradiação poderá adicionar um custo extra ao produto final. Segundo pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) e do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), estima-se que o custo para vegetais acrescentará R\$0,50/Kg, e para carnes e peixes, R\$0,60 a R\$1,00/Kg. Esse aumento não seria significativo, levando em conta o valor agregado pelo aumento da segurança microbiológica e do prazo de validade do alimento.

A irradiação é um processo seguro?

SIM. De fato, muitas pessoas comparam a exposição do alimento à fonte de radiação com o que ocorre nos aeroportos quando uma mala é exposta aos raios-x. O processo de irradiação não torna o alimento radioativo. Por efeito do processamento, são gerados subprodutos chamados radiolíticos, mas em quantidades extremamente reduzidas e inofensivas à saúde humana. Essas substâncias, inclusive, permitem identificar se um alimento foi irradiado. Além disso, doses altas de radiação não são empregadas em alimentos.

Os alimentos irradiados são permitidos em aproximadamente 40 países e a tecnologia é aprovada pela FAO, Organização Mundial de Saúde - órgão da ONU-, Associação Médica Americana e no Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) regulamenta o processo em alimentos. Por mais de 40 anos a segurança de alimentos irradiados para consumo humano vem sendo avaliada por cientistas do mundo todo, que concluíram que a irradiação é segura e pode ser utilizada em diversos alimentos.

As plantas de irradiação são seguras para os funcionários e comunidades vizinhas?

Os irradiadores são projetados com diversos níveis de proteção para detectar qualquer defeito no seu funcionamento. Por essa razão, funcionários e pessoas vizinhas a essas instalações são protegidas de exposição accidental à radiação. No Brasil, a CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear) fiscaliza periodicamente estabelecimentos irradiadores e presta contas à IAEA (Agência Internacional de Energia Atômica), um órgão diretamente ligado à ONU.

Pesquisa realizada na Universidade de São Paulo – USP, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – FCF

IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

Alimentos mais saudáveis para você e sua família

O que é o processo de irradiação de alimentos?

O processo de irradiação consiste na exposição do alimento a doses controladas de radiação ionizante. A radiação ionizante é um tipo de energia similar às ondas de rádio e televisão, microondas e mesmo a radiação solar. Durante o processo, o alimento não entra em contato direto com a fonte de radiação: as ondas de energia passam através do alimento e reduzem o número de microrganismos que causam a deterioração ou que provocam doenças, tais como bactérias e fungos. A irradiação também retarda o amadurecimento de frutas e legumes em função da inibição da divisão celular.

Como funciona o processo de irradiação?

Os alimentos, já embalados, são colocados no equipamento onde serão irradiados. Dentro desse equipamento o alimento é exposto a uma fonte de energia radiante - cobalto - ou então feixe de elétrons, e a quantidade de energia a ser aplicada dependerá do tipo de alimento. As ondas de energia ou os elétrons passam através do alimento e encontrando microrganismos ou larvas ou ovos de insetos, causarão a

morte dos microrganismos ou a incapacidade de reprodução dos insetos. O alimento permanecerá inalterado, mas livre de bactérias patogênicas como Salmonella, entre outras. Além disso, o prazo de validade do produto pode aumentar devido à diminuição significativa dos microrganismos deteriorantes.

A irradiação causa mudanças nutricionais nos alimentos?

Todo o processamento causa, via de regra, mudanças nutricionais nos alimentos, porém as mudanças ocasionadas pela irradiação são similares às que ocorrem em outros tipos de processamento como a pasteurização, o cozimento e o enlatamento. O alimento irradiado fica com o mesmo aspecto de antes de ser irradiado.

Como eu posso saber que um alimento foi irradiado?

A legislação exige que os alimentos irradiados sejam rotulados com os dizeres “ALIMENTO TRATADO POR IRRADIAÇÃO”, sendo optativo o uso do logotipo internacional conhecido como símbolo da radura.

www.abouthnuclear.org

Símbolo da radura

Anexo 6 – Material explicativo com informações contrárias ao processo de irradiação.

Serviço:

Os riscos da irradiação

Tecnologia de conservação dos alimentos desperta controvérsias sobre segurança

É possível que grande parte da população brasileira pouco ou nada escute falar sobre irradiação de alimentos. O processo, pelo qual os alimentos recebem doses de radiação ou energia ionizante proveniente principalmente do cobalto 60 ou césio 137, apesar de recomendado pela Food and Agriculture Organization (FAO), órgão da Organização Mundial de Saúde, e por outras entidades, pode representar ameaça à saúde. Questão controversa entre os profissionais dedicados à segurança alimentar, a irradiação de gêneros alimentícios é uma realidade mundial.

A irradiação estabelece uma reação em cadeia nos alimentos, geralmente modificando sua estrutura molecular e seu conteúdo nutricional. Os que a defendem alegam que o alimento se torna mais seguro matando bactérias, insetos, fungos e leveduras. No entanto, sua aplicação cria componentes químicos nem sempre identificados que nunca foram comprovados como seguros para o consumo humano. Pelo contrário. O tema vem sendo objeto de pesquisas desde a década de 50. Um dos efeitos dos alimentos irradiados apontado em pesquisas é a perda de vitaminas, proteínas e carboidratos contidos nos alimentos. De acordo com essas pesquisas, a irradiação destrói 10% da vitamina C do suco de laranja, entre 70% e 95% da vitamina B em beterraba, pêssegos e carne e 3% da vitamina B do ovo. Outro motivo de perda de nutrientes é que esse processo prolonga o tempo de vida de prateleira do produto a ser consumido e interrompe o brotamento de batatas, cebolas, alho e outros alimentos. Como a maioria das vitaminas são instáveis quimicamente, tendem a diminuir com maior tempo de armazenamento ou exposição para a venda dos alimentos. Depois de um mês armazenados, ovos irradiados perdem 90% da vitamina A, por exemplo.

O Public Citizen, órgão de defesa do consumidor dos Estados Unidos, relata que cientistas europeus e norte-americanos encontraram animais de laboratório que comeram alimentos irradiados em sérias condições de saúde, incluindo morte prematura, deformidades genéticas, problemas reprodutivos, sistemas imunológicos reprimidos e muitas outras doenças. Evidências recentes ligam subprodutos químicos formados em alimentos irradiados ao desenvolvimento de câncer e tumores em ratos e anomalias genéticas em células humanas. Há relatos também dando conta de que quando alimentos com gordura são irradiados, ocorre a formação de 2-DCB (2 dodecildiclobutanona), uma substância que possui propriedades citotóxicas (capacidade de gerar alterações celulares).

Regulamentação

O decreto federal 72.718 de 29/08/1973 conferiu as primeiras diretrizes sobre a produção, transporte e comercialização de alimentos irradiados no Brasil. Além desse instrumento, a única norma em vigor sobre o assunto é a Resolução RDC da Anvisa no 21 de 26/01/2001. Essa medida é baseada em normas e relatórios da OMS sobre a irradiação de alimentos e em documentação do International Consultative Group on Food Irradiation (ICGFI) – Grupo Consultivo Internacional em Irradiação de Alimentos. Não contempla a utilização como material de apoio ou fonte de informação os trabalhos

científicos existentes sobre os efeitos da irradiação. À época em que a resolução 21 ainda estava em consulta pública, o Idec apresentou diversos questionamentos, abordando as reais necessidades dessa tecnologia, evidências que garantam segurança, métodos de controle de identificação de alimentos irradiados e outros. Nenhum deles reverteu em resultados para o texto da resolução.

Há dificuldades de fiscalização

A norma brasileira não define as doses máxima e mínima de irradiação. Limita-se a afirmar que não poderão ser maiores do que aquelas a garantir a integridade do alimento, nem menor do que a necessária para a finalidade proposta. Os alimentos podem ser irradiados, portanto, com quaisquer doses. Além disso, tecnicamente, os órgãos de fiscalização brasileiros não têm condições de avaliar ou medir a intensidade de irradiação após o alimento ter recebido o tratamento, o que impossibilita a inspeção desses produtos.

Segundo a FAO, ao recomendar o processo baseou-se em trabalhos científicos que atestavam a segurança dessa tecnologia para o homem, produtos e o meio ambiente. Sua utilização se justificaria pela eliminação de organismos patogênicos, atraso na decomposição e aumento da vida útil dos alimentos. Nenhuma tecnologia conhecida, no entanto, poderá substituir as boas práticas higiênicas de fabricação e manipulação. A irradiação pode matar bactérias, mas não retira sujidades e matérias estranhas dos alimentos.

O Public Citizen alerta, ainda, que o alimento que passou por esse processo pode voltar a ser contaminado por bactérias, que se propagam rapidamente pois as “boas” bactérias que trabalham como defesa dos alimentos também são eliminadas pela irradiação. Os estudos sobre os efeitos de longo prazo da ingestão de alimentos irradiados ainda não são suficientes.

Posição do Idec

O Idec adota uma posição de cautela em relação a essa tecnologia tendo em vista as vãs incertezas da ciência e pondera que as agências reguladoras tanto internacionais (FAO e outras) como as de âmbito interno de cada país (a Anvisa no Brasil) necessitam de uma postura mais crítica e menos crêdula quanto ao que é disseminado como “conhecimento científico”.

Interesses econômicos

O Public Citizen destaca o interesse de grupos econômicos para quem a irradiação é uma ferramenta vital de aumento de lucros: “A irradiação pode estender drasticamente a vida de prateleira dos alimentos, matar insetos invasores e mascarar a contaminação dos produtos da carne. Isso facilita o comércio internacional de alimentos e eleva os lucros dos grandes produtores industrializados.”

Ainda do ponto de vista econômico, essa tecnologia representa o domínio de grandes corporações sobre pequenas empresas, as quais não possuem recursos para arcar com os altos custos do processo. As pequenas e, possivelmente, as médias empresas, terão consideráveis dificuldades em manter-se competitivas, gerando um mercado com características de oligopólio. De acordo com o Public Citizen, “a irradiação, ao favorecer grandes fazendas corporativas, faz avançar a industrialização agrícola. A agricultura industrializada usa quantidades massivas de herbicidas e antibióticos para aumentar a produção. Pequenas fazendas, que não produzem de forma barata a granel, são expulsas do mercado. A irradiação dá mais poder ao agribusiness corporativo sobre o fornecimento global de alimentos.”

Segundo a entidade, são líderes da indústria de irradiação as empresas: Titan/Surebeam – baseada em San Diego na Califórnia – a Surebeam, que se originou como uma subsidiária de irradiação da Titan, comercializa irradiadores em todo o mundo, inclusive no Brasil; Tech Ion – é a companhia líder em irradiação operando no Brasil. Usa o cobalto 60 radioativo em suas unidades; Gammaster – fundada em 1968, na Holanda, tem unidades de irradiação em todo o mundo, incluindo França, Alemanha, Irlanda, Suécia e Holanda; IBA – controla metade do mercado de irradiação internacional

(um faturamento global de aproximadamente 225 milhões de euros) com 37 unidades nos Estados Unidos, Europa e Ásia. Além da Tech Ion Industrial Brasil S.A., existem duas outras empresas que operam ou estão em fase de implantação de unidades irradiadoras no Brasil: Companhia Brasileira de Esterilização (CBE) e Empresa Brasileira de Radiações (Embrarad).

Fonte: Revista do Instituto de Defesa do Consumidor (IDEC). <http://www.idec.org.br/Materia> veiculada em 13/12/2004.

Anexo 7 – Questionário final utilizado na análise sensorial para a avaliação da atitude do consumidor em relação aos alimentos irradiados.

Q2

No.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL

Nome: _____

Após ter recebido as informações sobre alimentos irradiados e feito uma degustação, por favor, responda as questões abaixo, marcando com um "X" o número correspondente à sua avaliação:

1. Agora, o quão informado em relação à irradiação de alimentos você se considera:

1	2	3	4	5	6	7
Totalmente desinformado						Suficientement e informado

2. Neste momento, qual é a sua atitude em relação a um alimento irradiado? Considere seus sentimentos após ter degustado:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Desgosto muitíssimo								Gosto muitíssimo

3. Avalie o quão bom ou ruim seria para você consumir alimentos irradiados:

-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
Extremament e ruim						Extremamente bom

Agora, indique o seu grau de concordância ou discordância com as idéias expostas abaixo:

4. "Acho arriscado consumir alimentos irradiados":

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

5. "Por usar radiação no processamento, os alimentos irradiados se tornam mais saudáveis":

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

6. "Consumir alimentos irradiados significa ter que pagar mais":

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

7. "Eu confiaria no **Governo do Brasil** se ele incentivasse o consumo de alimentos irradiados":

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

8. "Eu acreditaria **nas universidades brasileiras** se elas divulgassem a tecnologia de irradiação de alimentos":

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

9. "Eu confiaria na **ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)** se ela afirmasse que os alimentos irradiados são bons para o consumo"

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

10. "Eu confiaria nas **indústrias de alimentos** se lançassem alimentos irradiados no mercado".

1	2	3	4	5	6	7
Discordo fortemente						Concordo fortemente

11. Se eu encontrasse alimentos irradiados a venda no mercado, e se não houvesse nenhuma restrição à compra a não ser a minha vontade e capacidade de escolha, eu:

1	2	3	4	5	6	7
Certamente não compraria						Certamente compraria

12. Se eu visse outros consumidores comprando alimentos irradiados eu também acabaria comprando esses produtos:

1	2	3	4	5	6	7
É extremamente improvável						É extremamente provável

13. Pense novamente na expressão "ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO", considerando as informações lidas sobre o processo. Use até cinco (5) palavras para descrever seus sentimentos sobre esta expressão:

1. _____ 2. _____ 3. _____
4. _____ 5. _____