

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

**Efeitos da radiação gama na microbiota e no teor
de vitamina C de agrião (*Nasturtium officinale*)
orgânico minimamente processado: aceitação e
intenção de compra do produto irradiado**

Cecília Geraldine Martins

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Profa. Assoc. Mariza Landgraf

Orientador

São Paulo
2008

19281

DEDALUS - Acervo - CQ



30100013891

Ficha Catalográfica

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

Martins, Cecília Geraldês
M386e Efeitos da radiação gama na microbiota e no teor de vitamina
C de agrião (*Nasturtium officinale*) orgânico minimamente
processado: aceitação e intenção de compra do produto irradiado /
Cecília Geraldês Martins. -- São Paulo, 2008.
103p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental
Orientador: Landgraf, Mariza

1. Microbiologia de alimentos 2. Irradiação : Vegetais :
Tecnologia de alimentos I. T. II. Landgraf, Mariza, orientador.

664.07 CDD

Cecília Geraldine Martins

**Efeitos da radiação gama na microbiota e no teor de vitamina C de
agrião (*Nasturtium officinale*) orgânico minimamente processado:
aceitação e intenção de compra do produto irradiado**

Comissão Julgadora

da

Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Assoc. Mariza Landgraf

Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva

1º. examinador

Laercio Goularte

2º. examinador

Anna Lucia Casañas Haasis Villavicencio

3º. examinador

Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco

4º. examinador

São Paulo, 17 de outubro de 2008

“Todo caminho é resvaloso.
Mas também, cair não prejudica
demais – a gente levanta, a gente sobe,
a gente volta!...
O correr da vida embrulha tudo,
a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí
afrouxa, sossega e depois
desinquieta.
O que ela da gente é CORAGEM.”
João Guimarães Rosa

Dedico esta dissertação,

Aos meus ANJOS DA GUARDA.....

Não tenho palavras para minha imensidão gratidão
por tudo que fizeram e ainda fazem por mim
pois não importa a distância continuam sempre ao meu lado.

Ao Rodrigo, namorado, pelo auxílio,
estímulo, pelo amor e compreensão
em todos os momentos desta jornada.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Mariza Landgraf, meu obrigada pela confiança, incentivo, amizade, paciência, compreensão pelos momentos difíceis que passei e orientação.

Ao Prof. Dr. Jorge H. Behrens, pela inestimável orientação na elaboração e desenvolvimento do projeto de análise sensorial.

À Profa. Dra. Maria Teresa Destro, pelas valiosas sugestões e pela amizade.

À Profa. Dra. Bernadete D. G. M. Franco, pela amizade.

À minha família, por serem pessoas maravilhosas e que sempre estiveram ao meu lado.

As minhas VERDADEIRAS amigas fiéis e companheiras de todos as horas, Aninha, Kátinha, Gabi, Lininha, Tati e Vanessa. Obrigada!!!! Eu não teria chegado até aqui sem vocês.

Ao Paulo, pelo análise estatística das amostras.

A Lúcia, pela ajuda na análise de vitamina C das amostras.

Aos amigos que ficam ou passaram pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos: Angela, Toninho, Lúcia, Marildes, Mônica, Matheus, Vinícius e demais pela amizade, colaboração, e troca de conhecimentos.

À Empresa EMBRARAD, em especial a Beatriz M. Hutzler, ao Prof. Dr. Dirceu M. Vizeu, ao Eduardo, e a todos os operadores, pela colaboração, disponibilidade e carinho.

Ao IPEN, em especial a Yasko, Paulo, Ethel

À empresa Horta e Arte Ltda pelo fornecimento do agrião para realização de parte deste trabalho.

Aos novos amigos do Instituto Adolfo Lutz pelo apoio e incentivo.

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

À Fundação de Amparo de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudo.

Às secretárias do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental pelos serviços prestados.

À Elaine e Jorge da secretaria de Pós-graduação pela atenção prestada.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e que não foram aqui mencionados.

MUITO OBRIGADA!!!!!!

Índice

Resumo	XVI
Abstract	XVIII
1. Introdução	01
2. Objetivos	16
3. Material e Métodos	17
3.1. Material	17
3.2. Métodos	17
3.2.1. Análise microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (água, agrião: campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e irradiação)	17
3.2.1.1. Preparo das amostras de água para análise microbiológica	20
3.2.1.2. Processamento mínimo das amostras de agrião orgânico	20
3.2.1.3. Irradiação do agrião orgânico minimamente processado	20
3.2.1.4. Preparo das amostras para análise microbiológica	21
3.2.1.5. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes (Tubos múltiplos) e <i>Escherichia coli</i>	21
3.2.1.6. Contagem total de aeróbios psicrotróficos em amostras de agrião	22
3.2.1.7. Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em amostras de agrião	22
3.2.1.8. <i>Pseudomonas</i> spp em amostras de agrião	22
3.2.1.9. Enumeração de coliformes termotolerantes em amostras de agrião	23
3.2.1.10. Enumeração de <i>Escherichia coli</i> em amostras de agrião	23
3.2.1.11. Contagem de bactérias lácticas em amostras de agrião	24
3.2.1.12. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em amostras de agrião	24
3.2.1.13. Pesquisa de <i>Listeria</i> spp em amostras de agrião	25

3.2.1.14. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 em amostras de agrião	25
3.2.1.15. Análise Estatística	26
3.2.2. Avaliação do comportamento de <i>Salmonella</i> spp e <i>L. monocytogenes</i> ao longo da vida-de-prateleira do agrião orgânico minimamente processado irradiado e refrigerado	26
3.2.2.1. Preparo do inóculo de <i>Salmonella</i> spp para contaminação das amostras de agrião a serem irradiadas	26
3.2.2.2. Preparo do inóculo de <i>Listeria monocytogenes</i> para contaminação das amostras de agrião a serem irradiadas	27
3.2.2.3. Processamento mínimo das amostras de agrião orgânico	27
3.2.2.4. Inoculação das amostras de agrião para o processo de irradiação	28
3.2.2.5. Irradiação do agrião orgânico minimamente processado inoculado com <i>Salmonella</i> spp e <i>Listeria monocytogenes</i>	28
3.2.2.6. Quantificação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> spp em agrião orgânico minimamente processado ao longo do período de armazenamento	29
3.2.2.7. Quantificação da população sobrevivente de <i>Listeria monocytogenes</i> em agrião minimamente processado ao longo do período de armazenamento	30
3.2.2.8. Análise estatística	30
3.2.3. Análise de ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C total nas amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e pós irradiação) e durante 16 dias de armazenamento a 7°C	31
3.2.3.1. Análise Estatística	32
3.2.4. Avaliação sensorial	32
3.2.4.1. Recrutamento dos provadores	32

3.2.4.2. Teste de Aceitação e Intenção de compra	33
3.2.4.3. Análise Estatística	35
4. Resultados	36
4.1. Análise microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (água, agrião: campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e irradiação)	36
4.2. Comportamento de <i>Salmonella</i> spp e <i>L. monocytogenes</i> ao longo da vida-de-prateleira do agrião orgânico minimamente processado irradiado e refrigerado	54
4.3. Análise de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico nas amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e pós irradiação) e durante 16 dias de armazenamento a 7°C	61
4.4. Avaliação sensorial	67
5. Conclusão	74
Referências Bibliográficas	76

Índice de Tabelas

Tabela 1: Número de surtos e casos de enfermidades transmitidas por vegetais ocorridos nos Estados Unidos, no período de 1990 a 2005	09
Tabela 2: Teor de vitamina C em alguns alimentos	14
Tabela 3: Faixa de população (NMP/ml) de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> presente na água empregada na cadeia produtiva de agrião orgânico	38
Tabela 4: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva, no período de novembro de 2005 a março de 2007	41
Tabela 5: Comportamento da população (log UFC/g) de <i>Listeria monocytogenes</i> inoculada em amostras de agrião orgânico minimamente processado, sobreviventes ao processo de irradiação, durante o armazenamento a 7°C por 16 dias	56
Tabela 6: Comportamento da população (log UFC/g) de <i>Salmonella</i> spp inoculada em amostras de agrião orgânico minimamente processado, sobreviventes ao processo de irradiação, durante o armazenamento a 7°C por 16 dias	58
Tabela 7: Variação no teor de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico em amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva	62
Tabela 8: Teor de vitamina C em amostras de agrião minimamente processado expostas a diferentes doses de irradiação e armazenadas a 7°C durante 16 dias	63
Tabela 9: Perfil dos consumidores participantes do estudo	67
Tabela 10: Aceitação média (controle/irradiada 2kGy) separada por condições de identificação e informação sobre as amostras	69

Tabela 11: Intenção de compra média (controle/irradiada 2kGy) 69
separada por condições de identificação e informação sobre as
amostras

Índice de Figuras

Figura 1: Principais patógenos envolvidos em surtos alimentares em hortaliças e legumes, no período de 1990 a 2005, nos Estados Unidos	10
Figura 2: Principais patógenos envolvidos em surtos alimentares em frutas, no período de 1990 a 2005, nos Estados Unidos	10
Figura 3: Fluxograma das etapas de amostragem de agrião orgânico minimamente processado	19
Figura 4: Apresentação das amostras para o teste de aceitação e de intenção de compra	34
Figura 5: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo das etapas de processamento, no período de novembro de 2005 a março de 2007	49
Figura 6: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo das estações do ano, no período de novembro de 2005 a março de 2007	50
Figura 7: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico submetidas à combinação de tratamento – processamento mínimo e irradiação, no período de novembro de 2005 a março de 2007	51
Figura 8: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico submetidas à combinação de tratamento – processamento mínimo e irradiação ao longo das estações do ano, no período de novembro de 2005 a março de 2007	52
Figura 9: Comportamento de <i>Listeria monocytogenes</i> em agrião orgânico minimamente processado exposto à radiação gama durante 16 dias e mantido sob refrigeração (7°C)	56
Figura 10: Comportamento de <i>Salmonella</i> spp em agrião orgânico minimamente processado exposto à radiação gama durante 16 dias e mantido sob refrigeração (7°C)	58

Figura 11: Variação nos teores de vitamina C, ácido ascórbico e 64 ácido dehidroascórbico em amostras de agrião orgânico expostas a 1, 2 e 3 kGy e amostra controle ao longo da vida-de-prateleira a 7°C

Índice de Anexos

Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	97
Anexo 2: Questionário para recrutamento e seleção de provadores para a análise sensorial de agrião orgânico minimamente processado irradiado	98
Anexo 3: Modelo de ficha utilizado no teste de acetição e intenção de compra para as amostras de agrião orgânico minimamente processado irradiado	99
Anexo 4: Modelo de ficha utilizado no teste de acetição e intenção de compra para as amostras de agrião orgânico minimamente processado irradiado	100
Anexo 5: Folder ilustrativo sobre o processo de radiação gama	101
Anexo 6: Carta de agradecimento recebido por cada provador ao fim da análise sensorial.	103

Resumo

O aumento do consumo de vegetais frescos e a globalização do mercado de hortaliças e frutas frescas provocaram um aumento na preocupação com as enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) associadas a esses produtos. No Brasil, a produção de hortaliças orgânicas vem crescendo, aproximadamente 40% ao ano. Considerando o exposto, foram analisadas 108 amostras de agrião orgânico minimamente processado e irradiado coletadas, aleatoriamente, em produtores da região de São Roque, São Paulo, no período de novembro de 2005 a março de 2007, para avaliar a ecologia microbiana e a concentração de vitamina C ao longo da cadeia produtiva. As amostras de agrião orgânico coletadas no campo e as de minimamente processado apresentaram populações superiores a 3,0 log UFC/g para aeróbios mesófilos, aeróbios psicrotróficos, *Pseudomonas* spp, coliformes termotolerantes e *E. coli*. *Salmonella* spp, *E. coli* O157:H7 e *L. monocytogenes* não foram detectadas ao longo da cadeia produtiva. Comparando o processo mínimo com a combinação processo mínimo e irradiação constata-se que a combinação é mais eficiente uma vez que o processo mínimo seguido de exposição à dose de 1 kGy foi suficiente para reduzir de maneira significativa os diversos grupos de microrganismos no agrião. As concentrações de ácido ascórbico, ácido dehidroáscorbico e de vitamina C variaram em todas as etapas de processamento do agrião orgânico minimamente processado e irradiado. Ao longo da vida-de-prateleira de agrião orgânico minimamente processado e irradiado, a população de *L. monocytogenes* foi reduzida em, aproximadamente, 4,5, 5,5 e 5,9 ciclos log de acordo com as doses de 1 kGy, 2 kGy e 3 kGy, respectivamente. Comportamento similar pode ser constatado para a população de *Salmonella* spp,. Os resultados da análise sensorial mostraram que o conhecimento ou não do processo de

irradiação pelo consumidor não prejudica a aceitação e a intenção de compra do produto irradiado. Portanto o processo de irradiação visando a melhoria da qualidade de agrião orgânico é factível desde que sejam seguidas as Boas Práticas Agrícolas, Boas Práticas de Produção e Boas Práticas do Processo de Irradiação.

Abstract

With the increase in the consumption of fresh vegetables and the globalization of the market for fresh fruits and vegetables, the concern with foodborne diseases associated with these products has also increased. In Brazil, the production of organic vegetables has increased approximately 40% per year in the last decade. Considering the above, 108 samples of irradiated, minimally processed, organic watercress from producers in the region of São Roque, São Paulo, were collected through November 2005 to March 2007, to assess the microbial ecology and vitamin C content. Samples of organic watercress collected at the farm level and at the industry level showed populations higher than 3,0 UFC/g for aerobic mesophilic, psychrotrophic, *Pseudomonas* spp, fecal coliforms and *E. coli*. *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* were not detected along the production chain. Comparing the minimal process and the combination of minimal process and irradiation, the combination was more efficient since even the lower dose (1 kGy) was sufficient to reduce the population of the various groups of microorganisms. The ascorbic acid, dehydroascorbic acid and vitamin C content varied at all stages of minimal processing as well as with the exposed doses of irradiation (1, 2 and 3 kGy). The population of *L. monocytogenes* decreased approximately 4.5, 5.5, and 5.9 log cycles, depending on the exposed doses, throughout the shelf life of irradiated minimally processed organic watercress. Similar behavior was showed by the *Salmonella* population. Sensory evaluation results showed that previous knowledge or none by consumers does not interfere with the acceptance and intention of purchase of irradiated minimally processed organic watercress. Thus the process of irradiation to improve the microbiological quality of minimally processed organic watercress is

feasible provided that Good Agricultural Practice, Good Practice Production and Good Irradiation Practice are followed.

1. Introdução

A produção de hortaliças orgânicas vêm crescendo, nas últimas décadas, aproximadamente 40% por ano, no Brasil. Por serem, em sua maioria, produtos consumidos *in natura*, deveriam ser puros e saudáveis, sendo esta uma exigência crescente da sociedade (Ascom Epagri, 2008). As hortaliças mais consumidas no Brasil são as saladas verdes como alface, rucúla e agrião. A alface lisa é o cultivar de maior preferência, seguido pelo agrião. A rucúla, apesar de ser um vegetal com sabor picante, ocupa o terceiro lugar na preferência dos consumidores (Kawashima et al., 2003).

A agricultura orgânica surgiu e se consolidou no mundo no início da década de 60, como resposta aos questionamentos dos rumos tomados pela agricultura moderna, para a qual são apontadas diversas correlações negativas, tais como os seus efeitos nocivos à saúde, ocasionados pelo uso de diversos insumos químicos, a eliminação de predadores naturais, reduzindo a biodiversidade, o desequilíbrio nutricional e quebra da resistência das plantas cultivadas, o aumento da erosão dos solos e a exclusão socioeconômica dos pequenos produtores, entre outros aspectos (Harkaly, 1995 apud Junqueira & Luengo, 1999).

A agricultura orgânica é definida como a produção de alimentos de origem vegetal e animal sem a utilização de agrotóxicos e adubos químicos sintéticos ou outros agentes contaminantes, através de um conjunto de sistemas de produção com enfoque holístico, que busca a maximização dos benefícios sociais, a auto-sustentação, a redução/eliminação da dependência de insumos, energia não renovável e

a preservação do meio ambiente, por meio da otimização do uso de recursos naturais e sócio-econômicos disponíveis (Decreto 6323, 27/12/2007).

Orgânico é um termo de rotulagem que indica que os produtos são produzidos de acordo com as normas da produção orgânica, e que estão certificados por uma estrutura ou autoridade de certificação devidamente constituída. A agricultura orgânica está baseada no emprego mínimo de insumos externos. Devido à contaminação por pesticidas, as práticas de agricultura orgânica não podem garantir a ausência total de resíduos (FAO/OMS, 1999).

Há um amplo mercado para os produtos orgânicos, uma vez que existe grande preocupação da população em adquirir e consumir determinados produtos convencionais, tais como tomate, morango e batata, onde são empregadas grandes quantidades de agrotóxicos em suas plantações (Borguini et al., 2003).

O mercado mundial de orgânicos movimentava cerca de US\$ 23,5 bilhões de dólares por ano, e há uma expectativa de crescimento da ordem de 20% ao ano. Neste mercado incluem-se produtos frescos, industrializados e até artigos de higiene pessoal, fabricados com matérias-primas produzidas sob o sistema orgânico (Guivant, 2003). De acordo com dados de Yussefi e Willer (2003), o mercado varejista mundial de alimentos e bebidas orgânicas aumentou de US\$ 10 bilhões de dólares para US\$ 17,5 bilhões entre 1999 e 2000 (crescimento de 58% ao ano), estimado em US\$ 21 bilhões no ano de 2001, com uma taxa média de crescimento anual de 20%. Os números apresentados são expressivos mas, mesmo considerando o rápido crescimento dos últimos anos, o segmento de alimentos orgânicos ainda é um nicho de mercado que representa não mais do que 4% do total de alimentos vendidos (Brixius, 2003).

O risco de ocorrência de doenças associadas ao consumo de alimentos contendo aditivos, pesticidas, hormônios, toxinas naturais ou

outras substâncias, tem contribuído para gerar insegurança e despertar preocupação no consumidor. As exigências dos consumidores em adquirir produtos isentos de risco aumentam a cada dia. A inocuidade alimentar, com ênfase em aspectos qualitativos, pode ser entendida como a aquisição, pelo consumidor, de alimentos com boa qualidade, livre de perigos de natureza química, biológica, física ou qualquer substância que possa acarretar problemas à saúde (Spers & Kassouf, 1996).

Todo vegetal apresenta uma microbiota natural e variável, concentrada principalmente na superfície, embora os tecidos internos possam apresentar formas microbianas viáveis, dependendo dos cuidados durante as diversas etapas desde o cultivo até o processamento final. Durante estes períodos, os produtos estarão sujeitos a injúrias e exposição à contaminação por diversos microrganismos provenientes da manipulação inadequada e do contato com equipamentos, superfícies e utensílios, além das condições ambientais de temperatura, umidade e ventilação, que poderão favorecer a sua proliferação.

Portanto, a contaminação dos vegetais por microrganismos deve-se aos seguintes aspectos:

- contaminação fecal cruzada devido à presença de animais nas proximidades da área de plantio (Tauxe, 1997);
- enchentes, pois a água contamina a produção por cobrir as pastagens e trazer microrganismos para a área de produção de vegetais (Brackett, 1999);
- qualidade da água e tipo de irrigação empregada (Brackett, 1999);
- higiene dos trabalhadores e condições sanitárias do local da produção, devendo haver, portanto, treinamento para os trabalhadores (Brackett, 1999);
- transporte que deve ser feito de maneira adequada e sob condições de higiene e de temperatura próprias para o produto (Brackett, 1999).

Segundo Sigrist (1998), a qualidade dos produtos hortícolas é originada no campo e, dependendo desta qualidade, tem-se a determinação da vida útil do produto. Desta forma o cuidado no setor produtivo torna-se essencial. Portanto, a aplicação de boas práticas agrícolas (BPA) é fundamental para a obtenção de um produto minimamente processado seguro e de qualidade, considerando-se os seguintes fatores: análises periódicas da água de irrigação, por influenciar o grau de contaminação inicial da matéria-prima; compostagem ou fermentação dos adubos orgânicos, pois determinam a microbiota da matéria-prima; cultivo sobre plásticos, limitando a contaminação; ponto de colheita ideal e o descarte das folhas mais externas (mais contaminadas) ainda no campo; sanitização freqüente das caixas de colheita, limitando a fonte de contaminação; transporte rápido e lonado, tomando-se o cuidado para não abafar a matéria-prima.

O processo mínimo inclui todas as operações de limpeza, lavagem, seleção, descascamento, corte, embalagem e armazenamento (O'Connor-Shaw et al., 1994; Schlimme, 1995; Chitarra, 1998). Assim, as operações envolvidas na produção de vegetais minimamente processados incluem:

- pré-seleção e lavagem para remoção de terra, insetos, produtos agroquímicos e matérias estranhas;
- aplicação de um agente antimicrobiano (fungicida, cloro, sanitizante, ar ou água quente);
- remoção de partes injuriadas;
- remoção de partes não comestíveis (casca);
- corte;
- remoção da água de lavagem (centrifugação);
- incorporação de aditivos para o ajuste de pH (ácido ascórbico/cítrico), para o controle microbiológico (benzoato de sódio e sorbato de potássio), controle de oxidação (ácido ascórbico,

bissulfito, ácido eritrórbico e cisteína) e para a modificação na textura (cálcio) (O'Connor-Shaw et al. 1994).

O processamento mínimo, que acarreta uma série de danos físicos, traz como conseqüências o aumento da atividade respiratória e, conseqüentemente, a aceleração do metabolismo, o escurecimento enzimático precoce, a maior perda de umidade, além do aumento da produção de etileno, como resposta à condição de estresse proveniente do corte do tecido vegetal (Darezzo, 2004). King & Bolin (1989) relataram como principais entraves à extensão da vida útil de produtos minimamente processados, a aceleração do metabolismo, que provoca alterações das características sensoriais e acelera a senescência e a proliferação microbiana. O controle das mudanças fisiológicas e da multiplicação microbiana é crítico para estes produtos. Normalmente, enzimas e substratos encontram-se em diferentes compartimentos celulares, sendo a união enzima-substrato minuciosamente controlada. Porém, com o preparo do produto originam-se rupturas celulares que permitem a união enzima-substrato, promovendo a perda da qualidade e a deterioração, além de favorecerem a contaminação microbiana (Darezzo, 2004).

Os produtos perecíveis apresentam maior suscetibilidade à contaminação microbiológica à medida que se aproximam da senescência, visto que com o decorrer da maturação há uma perda da integridade das membranas. De acordo com King & Bolin (1989), tanto a atividade fisiológica quanto a microbiológica promovem mudanças bioquímicas que conduzem à perda da qualidade e do valor comercial de produtos minimamente processados. Para esta classe de produtos, que atingem a fase de senescência em um período de tempo relativamente curto, a multiplicação microbiana é extremamente favorecida, pois com o corte dos tecidos há a rápida alteração da textura e a liberação dos exsudados celulares que representam um meio propício à multiplicação

microbiana, além das injúrias servirem como portas de entrada para microrganismos deterioradores e patogênicos.

Brackett (1992) alerta para o risco de produtos minimamente processados conterem alta população de microrganismos deteriorantes e patogênicos embora pareçam atrativos e saudáveis aos olhos do consumidor. O mesmo autor ressalta a necessidade de se empregar no processamento, matérias-primas de alta qualidade e com nível mínimo de contaminação, e a utilização de técnicas de manuseio e sanitização adequadas, por estarem diretamente relacionadas à melhor conservação da qualidade do produto minimamente processado, além de reduzir o risco à saúde do consumidor.

Em algumas operações de processamento mínimo como lavagem, secagem, seleção e acondicionamento, o manuseio aumenta o risco de contaminação por microrganismos deteriorantes ou patogênicos. Nestes casos, se as boas práticas de fabricação (BPF) não forem seguidas, o manipulador pode tornar-se um vetor na transmissão desses microrganismos, pois *Salmonella* spp e *Listeria* spp sobrevivem nas luvas dos operadores, demonstrando a importância da higienização das mãos e luvas (Kerr et al., 1993).

Graças à racionalização dos métodos de conservação empregados no processamento dos alimentos, tornou-se possível manter e melhorar a sua qualidade ao longo dos anos. Assim, diversos procedimentos de manipulação e processamento pós-colheita são pesquisados com a finalidade de manutenção do valor nutricional, bem como no aumento da vida-útil dos produtos (Shewfelt, 1990).

Além da qualidade sensorial, a qualidade microbiológica das hortaliças frescas minimamente processadas precisa ser garantida e é dependente da microbiota presente na matéria-prima, da contaminação em cada etapa do processo e das condições de manutenção do produto, que podem permitir a multiplicação microbiana. O manuseio inadequado e os equipamentos não sanitizados contribuem para o aumento da

população de microrganismos nas hortaliças, aumentando os riscos de patógenos e deterioradores nesses produtos (Fantuzzi et al., 2004). O controle da microbiota contaminante é, portanto, fator determinante na manutenção da vida-de-prateleira e segurança do produto fresco.

Com o aumento do consumo de hortaliças e frutas frescas e a globalização desse mercado, a preocupação com as doenças transmitidas por alimentos associadas a esses produtos também aumentou (Beuchat, 1996; Tauxe et al., 1997; Thayer & Rajkowski, 1999).

A contaminação desses produtos já é bem conhecida. No Brasil, o conhecimento da poluição fecal de hortaliças, especialmente alfaces é antiga. Em 1958, Christóvão, demonstrou a existência desse problema em alfaces comercializadas no Estado de São Paulo. No final da década de 70, novos estudos apontaram alta contaminação fecal em 54% das amostras de hortaliças analisadas, especialmente alfaces, coletadas no Estado de São Paulo (Gelli et. al., 1979). Atualmente, produtos como tomates, alface, salsinha, couve e sucos de frutas como laranja e maçã, são, mundialmente, as hortifrutículas mais incriminadas em surtos de doenças transmitidas por alimentos, especialmente por terem sido veículos de patógenos como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp, *Listeria* spp, e *Shigella* spp, bem como de parasitas e vírus da hepatite A (Beuchat, 1999; FDA, 2006; FSNET, 2007).

Fröder et al. (2007) analisaram, no período de abril a julho de 2003, 133 amostras de vegetais folhosos minimamente processados, adquiridas nos supermercados de São Paulo. As populações de coliformes totais, coliformes termotolerantes, microrganismos psicrófilos e *Enterobacteriaceae* atingiram patamares de 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC/g). *Salmonella* spp foi detectado em 4 (3%) amostras (agrião, escarola, alface mimosa e salada fantasia) e *L. monocytogenes* em 1 (0,8%) amostra de espinafre.

McMahon & Wilson (2001), na Irlanda do Norte, constataram a presença de *Aeromonas* spp em 34% das amostras de vegetais orgânicos analisados, mas não detectaram *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157 e *Listeria* nessas amostras.

Lin et al. (1996), na Flórida, EUA, relataram a presença de *E. coli* em 8 amostras de salada de vegetais e verificaram que apenas 1 amostra estava contaminada por *L. monocytogenes* das 63 amostras de saladas de vegetais analisadas. Não foi detectada a presença de *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp nessas amostras.

Além desses, há outros estudos que relatam surtos de enfermidades transmitidas por alimentos envolvendo hortaliças e frutas provenientes de agricultura orgânica como veículo de *Salmonella* (CDC, 2002), *L. monocytogenes* (Beuchat, 1996), *E. coli* O157:H7 (CDC, 1994; FDA, 2006; FSNET, 2007).

Em setembro de 2006, um grande surto causado por *E. coli* O157:H7 ocorreu nos Estados Unidos abrangendo 26 Estados, segundo informações do FDA. Foram relatados 205 casos com 103 hospitalizações e 3 óbitos, 31 desenvolveram síndrome urêmica hemolítica. O alimento incriminado foi espinafre fresco orgânico comercializado em embalagens plásticas. A origem da contaminação foi a água de irrigação ou fezes de animais (FDA, 2006).

Em novembro de 2006, um outro grande surto causado por *E. coli* O157:H7 presente em alface americana, cortada, servida pela rede de restaurantes Taco Bell, ocorreu no mesmo país atingindo cinco Estados. Foram relatados 71 casos com 53 hospitalizados e 8 com evolução para síndrome urêmica hemolítica (FDA, 2006).

Em janeiro de 2007, na Irlanda, houve um recolhimento (“recall”) de agrião e espinafre devido à contaminação por *Salmonella* (FSNET, 2007).

De 1990 a 2005 foram relatados 277 surtos com 10.747 casos cujo veículo foram as hortaliças enquanto as frutas causaram 38 surtos com 2.774 casos (Tabela 1, Figura 1 e 2) (DeWaal e Bhuiya, 2007).

Tabela 1: Número de surtos e casos de enfermidades transmitidas por vegetais ocorridos nos Estados Unidos, no período de 1990 a 2005.

Rank	Alimentos	Patógenos	Surtos	Casos	% surtos
1	Saladas Verdes	Norovírus	144	5.353	20,2%
2	Alface	Norovírus	30	1.025	4,2%
3	Brotos	<i>Samonella</i>	24	1.875	3,4%
4	Frutas	Norovírus	22	1.636	3,1%
5	Saladas Verdes	<i>Samonella</i>	20	1.033	2,8%
6	Melão	<i>Salmonella</i>	16	1.137	2,2%
7	Cogumelo	Químico/toxinas	16	82	2,2%
8	Saladas Verdes	<i>E. coli</i>	15	791	2,1%
9	Alface	<i>E.coli</i>	14	382	2,0%
10	Batata	<i>Salmonella</i>	14	206	2,0%

Fonte: DeWaal e Bhuiya, 2007

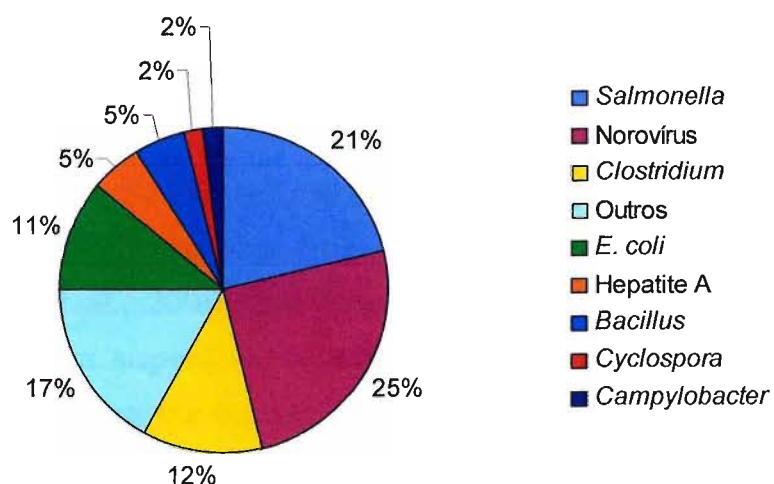


Figura 1: Principais patógenos envolvidos em surtos alimentares em hortaliças e legumes, no período de 1990 a 2005, nos Estados Unidos (Fonte: DeWaal e Bhuiya, 2007).

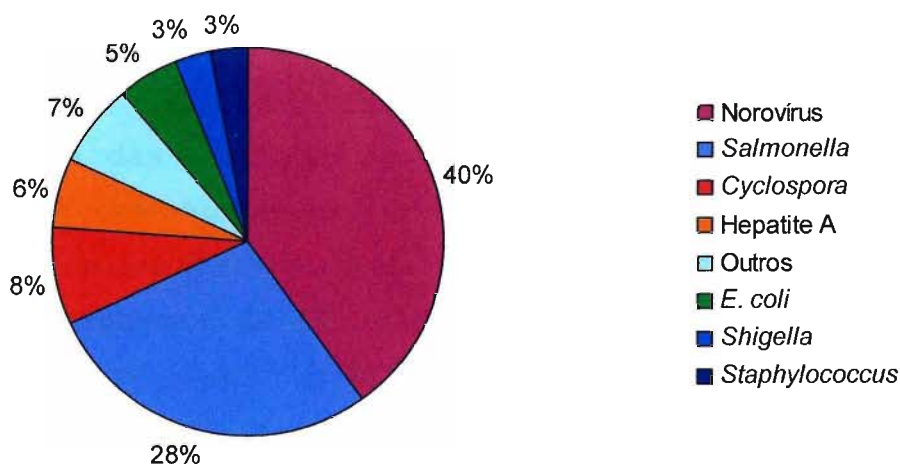


Figura 2: Principais patógenos envolvidos em surtos alimentares em frutas, no período de 1990 a 2005, nos Estados Unidos (Fonte: DeWaal e Bhuiya, 2007).

A ineficiência dos agentes de sanitização e outros antimicrobianos na remoção dos microrganismos em vegetais pode ser explicada pelos mecanismos que folhas, frutos e sementes fornecem aos microrganismos para sua sobrevivência. Além da internalização através do estômato, pedúnculo e cálice, estudos demonstram que as bactérias podem sobreviver no interior das frutas e vegetais por vários dias ou semanas (Riordan et al., 2000; Takeuchi e Frank, 2000). A presença de biofilmes formados na superfície de folhas de vegetais também reduz a eficiência de sanificantes ou outros agentes antimicrobianos (Morris et al., 1997; Felt, 2000). Neste sentido, a irradiação é um processo que pode solucionar ou minimizar o problema tendo em vista que a radiação ionizante é capaz de penetrar nas diferentes partes do vegetal inativando o microrganismo aí presente.

No Brasil, a legislação permite o emprego da radiação para o controle sanitário dos alimentos, conforme resolução da ANVISA (Brasil, 2001). Essa resolução abrange definições do que é irradiação, dose, alimentos irradiados, aspectos relacionados com a rotulagem do alimento submetido ao processo, além de aspectos físicos relativos ao local para irradiar o alimento.

Algumas das aplicações da radiação na conservação dos alimentos são a descontaminação de ingredientes, a inativação de *Salmonella* em frangos (Santos et al., 2003), a inativação de *E. coli* O157:H7 em carnes vermelhas (Worcman-Barninka, 2003), a inativação de *Vibrio* spp em ostras (Jakabi et al., 2003); além de empregada também para aumentar o tempo de armazenamento de frutos e inibir a germinação de cebolas e batatas (Diehl, 1995).

Em frutas a irradiação é utilizada como forma de desinfecção, ou seja, tratamento fitossanitário. No entanto, mais recentemente, estudos têm relatados o seu emprego com o intuito de reduzir as populações de microrganismos patogênicos para níveis não detectáveis e,

conforme a dose usada, prolongar a sua vida de prateleira (Howard et al., 1995, Ross e Engeljohn, 2000).

O processo representa um benefício econômico para a agricultura, através da redução de perdas pós-colheita, desde que estejam em conformidade com as normas de Boas Práticas de Produção (BPP) e Boas Práticas do Processo de Irradiação (GIPs), referentes às condições de manipulação, armazenagem e transporte, estabelecidos pelas autoridades nacionais ou internacionais. Estudos sobre o armazenamento, durante 6-8 meses em condições ambientais, de alimentos de origem vegetal submetidos ao processo de irradiação, mostram uma redução de 30-45% nas perdas pós-colheita de cebolas e de 12-22% nas de leguminosas (Matin et al., 1996).

O uso da irradiação, no entanto, deve ser analisado cuidadosamente pois, dependendo da dose e do alimento, pode haver o aparecimento de efeitos indesejáveis no alimento tais como alteração de cor, de sabor, de odor ou mesmo de outras propriedades químicas ou físicas. Em frutas e hortaliças, além do possível desenvolvimento de odor e sabor desagradáveis, uma das principais conseqüências é o amolecimento desses produtos devido à degradação da pectina e da celulose, que são responsáveis pela estrutura da parede celular dos vegetais (Diehl, 1995).

Nos últimos anos, o interesse em pesquisas sobre a presença de diversos compostos antioxidantes e nutrientes essenciais em vegetais levou a recomendações no sentido de um maior consumo de frutas e hortaliças, visando à melhoria na saúde pública. Um exemplo é o ácido ascórbico que é fornecido em mais de 90% da quantidade diária recomendada para a dieta humana, através destes alimentos, uma vez que não é sintetizado no organismo humano devido à ausência da enzima L-gulonolactona oxidase (Smirnoff et al., 2001; Yahia et al., 2001; Lee & Kader, 2000).

Nos vegetais, a vitamina C é o antioxidante mais abundante e suas funções fisiológicas são baseadas em três propriedades principais: antioxidante, cofator enzimático e precursor da síntese de oxalato e tartarato. O ácido ascórbico exerce papéis fundamentais nos processos de fotossíntese, fotoproteção, crescimento da parede celular, resistência a estresses ambientais, e na síntese de etileno, giberelinas, antocianinas, hidroxiprolina e hidroxilisina (Smirnoff, 2000; Smirnoff & Wheeler, 2000; Fry, 1998).

A vitamina C ou ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, sintetizada por plantas e por quase todos os animais, exceto os humanos, alguns roedores e pássaros. Assim, para esses, ela deve ser fornecida pela dieta. Quando há deficiência prolongada dessa vitamina na dieta dos humanos, pode ocorrer o desenvolvimento do escorbuto. Ela normalmente resulta da falta de frutas frescas que, juntamente com os vegetais verdes, são fontes ricas de vitamina C (Voet & Voet, 1994).

O ácido ascórbico, nos vegetais, é encontrado na forma reduzida (ácido ascórbico) ou na forma oxidada reversível (ácido dehidroascórbico), ambos apresentando atividade vitamínica C em todos os tecidos vivos (Bauernfeind, 1978).

A vitamina C é muito suscetível à oxidação química e enzimática que ocorre durante o processamento, cozimento e estocagem dos alimentos. Por isso, grande quantidade de vitamina C está presente nas dietas na forma de ácido dehidroascórbico (Lee & Kader, 2000). Assim, o conteúdo de ácido ascórbico das frutas e dos vegetais varia de acordo com o grau de maturação, com as condições sob as quais foram preparados, além do tipo de alimento (Tabela 2).

Tabela 2: Teor de vitamina C em alguns alimentos.

Alimento	Teor (mg/100g)
Banana	10
Goiaba	302
Morango	60
Limão	50
Laranja	47
Pimentão verde	720
Repolho	50
Chicória	11
Salsa	193
Batata	17
Cebola	24
Brócolis	109
Agrião	79
Espinafre	51
Ervilha	8
Couve	128

Fonte: Davies et al.,1991; Schanderl,1970.

Apesar das alterações causadas pela radiação ionizante nos principais componentes químicos dos alimentos não afetarem, dependendo da dose, o valor nutricional, elas podem alterar atributos sensoriais como cor, odor, sabor, textura, viscosidade, etc., tornando o alimento inaceitável para o consumidor. Para avaliação deste último aspecto e para verificar se a aplicação do processo de irradiação é viável é aconselhado que se realize estudos de avaliação sensorial com o alimento irradiado. Essa avaliação também é utilizada para determinação da vida-de-prateleira de produtos alimentícios (Meilgaard et al., 1999).

A contaminação microbiana ou por insetos, reações de oxidação, hidrólise e reversão de gorduras, oxidação de pigmentos, o escurecimento não-enzimático, alterações devido ao ganho de umidade, interações com os recipientes e perda da qualidade estética são parâmetros que interferem no tempo de armazenamento do produto (Cabral et al., 1980). Esses parâmetros são efetivamente determinados pela recusa de compra do produto pelos consumidores em função de características sensoriais que no momento da compra não satisfazem as suas expectativas (Clemente, 1998).

O tempo de vida-útil difere entre os tipos de produtos minimamente processados, mas varia entre 7 a 20 dias, quando mantidos nas temperaturas recomendadas (Watada e Qi, 1999). A extensão desse período é uma das metas da pesquisa pós-colheita e umas das formas para alcançá-la é a otimização das condições ambientais visando a diminuição da respiração do vegetal e a multiplicação microbiana (Shewfelt, 1986). O principal fator que controla as atividades respiratórias, metabólicas, enzimáticas, a transpiração e a multiplicação microbiana é a temperatura.

Os vegetais minimamente processados são extremamente perecíveis e conseqüentemente apresentam um alto risco de contaminação microbiológica, seja ela por um microrganismo deteriorante ou patogênico. Por essa razão, observou-se a necessidade de avaliar a qualidade do agrão ao longo da cadeia produtiva com o intuito de verificar a contaminação inicial da matéria-prima e sua possível origem. Além disso, estes alimentos necessitam de estratégias para redução da sua contaminação, sem que ocorra perdas nutricionais e sensoriais. A irradiação pode ser uma dessas estratégias.

2. Objetivos

Os objetivos da presente pesquisa foram:

- Avaliar a ecologia microbiana de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (campo, processamento mínimo e radiação gama);
- Avaliar o comportamento de *Salmonella* spp e *L. monocytogenes* ao longo da vida-de-prateleira de agrião orgânico minimamente processado irradiado e refrigerado.
- Avaliar a concentração de vitamina C ao longo da cadeia produtiva por um período de 1 ano, durante a vida-de-prateleira, além do efeito da radiação gama no conteúdo de vitamina C.
- Avaliar a aceitação e intenção de compra dos consumidores de agrião orgânico minimamente processado e irradiado.

3. Material e Métodos

3.1. Material:

Microorganismos: *Salmonella* Infantis, gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, *Salmonella* Thyphimurium ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076; *Listeria monocytogenes* (Lm.) cepa isolada de espinafre, cepa isolada de carne moída, Lm. ATCC 7644 e Lm. ATCC 19115.

Alimento: maços de agrião (*Nasturtium officinale*) orgânico pré e pós processamento mínimo. As amostras foram adquiridas com intervalo de 6 h e 24 h após colheita em uma planta processadora da região de São Roque, Estado de São Paulo.

3.2. Métodos

3.2.1 Análise microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (água, agrião: campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e irradiação)

Foram realizadas 18 coletas em produtores da região de São Roque, São Paulo, no período de novembro de 2005 a março de 2007, da seguinte maneira:

- amostras de água:

- irrigação (campo); após lavagem das hortaliças (campo); pré-lavagem (indústria); após lavagem (indústria) e sanitização (indústria).
- amostras de agrião:
- no campo: foram coletados 3 a 4 maços de agrião na colheita e na etapa seguinte – após transporte para a indústria – 200 g por amostra de agrião.
 - na indústria: após o processamento mínimo foram coletadas, de maneira aleatória, 800 g por amostra de agrião. Destes 600 g foram encaminhados para o processo de irradiação divididos em embalagens de 200 g para cada dose de irradiação (1, 2 e 3 kGy).

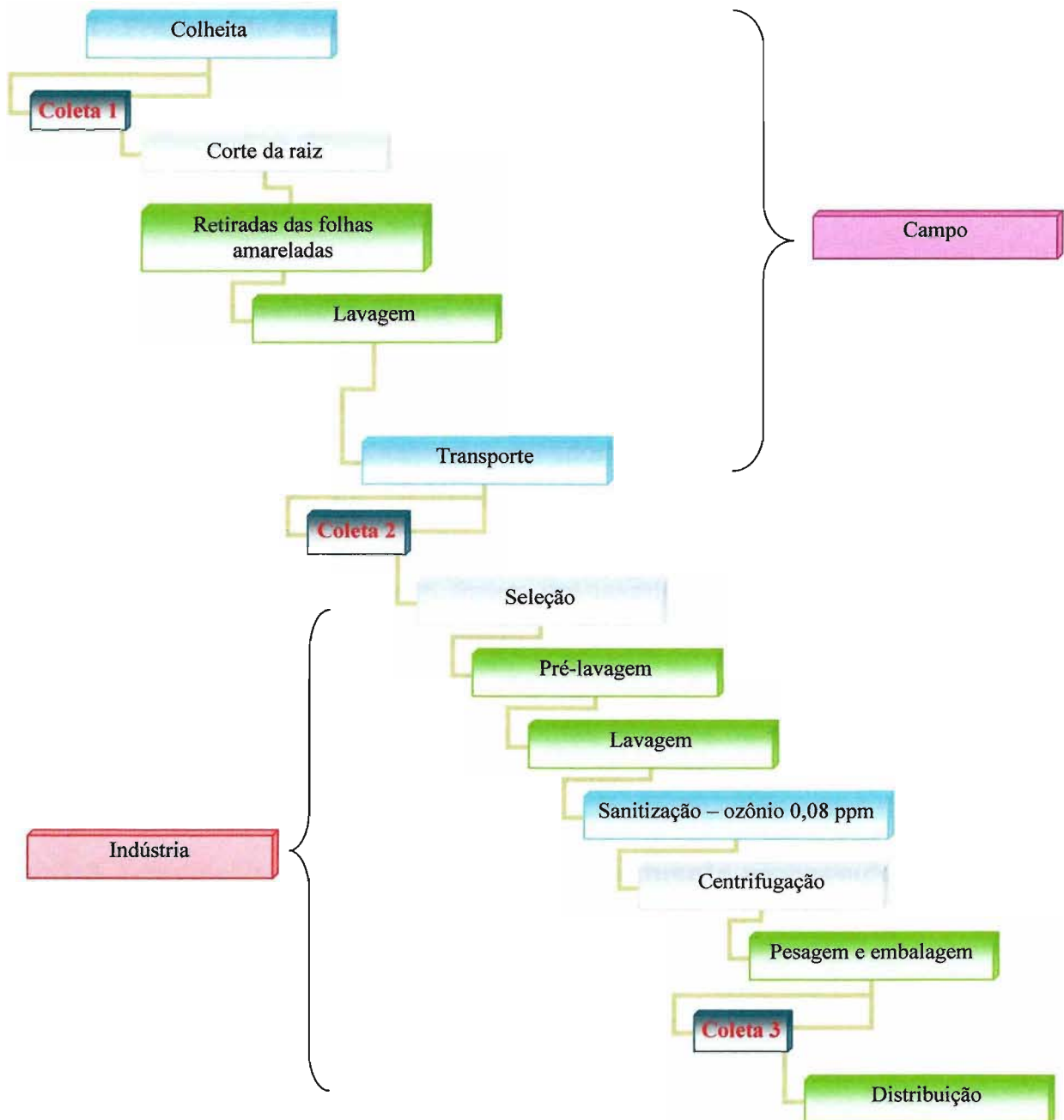


Figura 3: Fluxograma das etapas de amostragem de agrião orgânico minimamente processado.

3.2.1.1. Preparo das amostras de água para análise microbiológica

A coleta da água foi feita manualmente, utilizando-se um frasco estéril. As amostras foram transportadas em caixa de material termoisolante com gelo até o local da análise.

3.2.1.2. Processamento mínimo das amostras de agrião orgânico

As amostras de agrião orgânico minimamente processado foram coletadas em uma planta processadora da região da grande São Paulo. Primeiramente, foi realizada a seleção (retirada das folhas danificadas e amareladas) dessas hortaliças e então as folhas foram homogeneizadas. Posteriormente, foram pré-lavadas, em água ozonizada, por esteira. A etapa seguinte consistiu na lavagem das folhas em água ozonizada e por último a sanitização, imergindo-se as folhas em solução de ozônio 0,08 ppm por 5 minutos. As folhas foram, então, submetidas à centrifugação para retirada do excesso de água.

3.2.1.3. Irradiação do agrião orgânico minimamente processado

Fonte de Irradiação: irradiador multipropósito, tendo como fonte radioativa ^{60}Co com uma atividade de 92 kCi, cuja taxa de dose média é de 2,0 kGy/hora, pertencente ao IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. SP. A calibração do canal foi feita com dosímetro Harwell Amber padronizado pelo National Physics Laboratory, Inglaterra.

As amostras de agrião orgânico minimamente processado foram transportadas para a planta de irradiação em caixa de material termoisolante com gelo. As amostras foram submetidas às doses de 1,0 kGy; 2,0 kGy e 3,0 kGy.

3.2.1.4. Preparo das amostras para análise microbiológica

As embalagens do vegetal (campo, após lavagem no campo, pós processamento mínimo e pós irradiação) foram abertas e o conteúdo colocado em uma bandeja, higienizada com solução de álcool 70%, para homogeneização das folhas.

Pesaram-se 25 g das amostras que foram adicionadas a 225 mL de solução salina esterilizada (NaCl 0,85% - LabSynth, Diadema, Brasil) e homogeneizadas em aparelho Stomacher-400 (Seward – London, UK). A partir desse homogeneizado foram realizadas diluições decimais, usando como diluente solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada.

3.2.1.5. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes (Tubos múltiplos) e *Escherichia coli* (Kornacki et al., 2001) nas amostras de água

A partir das amostras obtidas em 3.2.1.1., 10 mL foram inoculados em uma série de três tubos de caldo lauril sulfato triptose concentração dupla (LST – Oxoid, Basingstoke, UK). Em seguida, 1 mL foi inoculado em uma série de três tubos de caldo lauril sulfato triptose (LST – Oxoid). Simultaneamente, foram realizadas diluições seriadas e 1 mL foi inoculado em uma série de três tubos de caldo lauril sulfato triptose (LST – Oxoid) por diluição. Os tubos foram incubados a 37°C por 48 horas. A partir de tubos apresentando crescimento e produção de gás, transferiu-se um inóculo para tubos de caldo EC (EC- Oxoid) que foram incubados em banho-maria a 44,5 °C por 24 horas. A partir dos tubos que apresentaram turvação e produção de gás foi calculado o número mais provável por grama (NMP/mL), utilizando a tabela de NMP para 3 séries de 3 tubos, conforme Swanson et al. (2001). Dos tubos positivos transferiu-se um inóculo para placas de petri contendo Agar Eosina de Metileno (EMBA – Oxoid) que foram incubados a 37 °C por 24 horas. As

colônias suspeitas de *E. coli* foram inoculadas em EPM, Milli e Citrato (Enterokit B – Probac do Brasil, São Paulo, Brasil) que foram incubados a 37°C por 24 horas. Os resultados foram expressos em NMP/mL.

3.2.1.6. Contagem total de aeróbios psicotróficos em amostras de agrião (Cousin *et al.*, 2001)

A partir de cada diluição obtida em 3.2.1.4., semeou-se 0,1 mL na superfície de placas de Petri previamente preparadas com Ágar Padrão para Contagem (PCA – Oxoid) e, usando uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio. A seguir, incubaram-se as placas a 7°C por 10 dias. Após a incubação, foram contadas as placas com 15 a 150 colônias e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de unidades formadoras de colônia por grama do agrião (UFC/g).

3.2.1.7. Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em amostras de agrião (Morton, 2001)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.4., semeou-se 1 mL em placa de Petri, sobre a qual foi adicionado ágar para contagem padrão (PCA - Oxoid). Após a homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas a 37°C por 48 h. Após a incubação, foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de UFC/g de agrião.

3.2.1.8. *Pseudomonas* spp em amostras de agrião (Mead & Adams, 1977)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.4., semeou-se 0,1 mL de na superfície de Agar Base *Pseudomonas* (Oxoid) suplementado com 5

mL de glicerol (Synth) e Pseudomonas suplemento seletivo C.N. (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. Após a incubação, foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de UFC/g de agrião.

3.2.1.9. Enumeração de coliformes termotolerantes em amostras de agrião (Kornacki et al., 2001)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.4., semeou-se 1 mL na superfície de placas Petrifilm™ para contagem de coliformes (3M, USA). As placas foram incubadas a $\pm 44,5^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após a incubação, foram contadas as placas com até 150 colônias vermelhas com e sem gás e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de UFC/g de agrião.

3.2.1.10. Enumeração de *Escherichia coli* em amostras de agrião (Kornacki et al., 2001)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.4., semeou-se 1 mL na superfície de placas Petrifilm™ para contagem de *Escherichia coli* (3M, USA). As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, foram contadas as placas com até 150 colônias azuis ou vermelhos-azulados com gás associado próximo às colônias e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de UFC/g de agrião.

3.2.1.11. Contagem de bactérias lácticas em amostras de agrião (Hall et al., 2001)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.4., semeou-se 1 mL em placas de Petri, sobre o qual foi adicionado ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS - Oxoid). Após homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas, em anaerobiose (Anaerogen, Oxoid), a 30°C por 3 dias. Após esse período, placas com número de colônias entre 25 e 250 foram contadas e de acordo com a diluição decimal calculou-se o número de UFC/g de agrião.

3.2.1.12. Pesquisa de *Salmonella* spp em amostras de agrião (Andrews et al., 2001)

Foram homogeneizadas 25 g da amostra em 225 mL de caldo lactosado em aparelho stomacher-400 (Seward - London, UK) e incubados a 37°C por 24 horas. Decorrido esse período, 0,1 mL do caldo lactosado foi transferido para 10 mL do caldo de enriquecimento Rappaport-Vassiliadis (Oxoid) e incubado a 42°C por 24 horas. Simultaneamente, foi adicionado 1 mL do caldo lactosado a 10 mL do caldo tetracionato (Difco, EUA) e incubados a 37°C por 24 horas. Decorridas 24 horas de incubação, os dois caldos foram semeados com alça de níquel cromo em placas de ágar Hektoen Enteric (HE - Oxoid) e ágar Manitol Lysine Crystal Violet Brillhant Green (MLCB - Oxoid), de maneira a se obter colônias isoladas. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias com características de *Salmonella* spp nesses meios foram inoculadas em tubos contendo ágar ferro lisina (LIA - Oxoid) e ágar tríplice açúcar ferro (TSI - Oxoid) com incubação a 37°C por 24 horas. As colônias que apresentaram reações características para *Salmonella* foram também submetidas a outras provas bioquímicas em meios EPM, Mili e Citrato (Enterokit B - Probac do Brasil, São Paulo,

Brasil) e de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella* (Probac do Brasil).

3.2.1.13. Pesquisa de *Listeria spp* em amostras de agrião (Hitchins, 2003)

Uma porção de 25 g da amostra foi homogeneizada em 225 mL de caldo BLEB (Buffered *Listeria* Enrichment Broth - Oxoid) e incubada a 30°C por 4 horas; após este período, adicionou-se o suplemento “*Listeria* selective enrichment supplement” (Oxoid) e o homogeneizado foi re-incubado por mais 20 horas a 30°C. Posteriormente, o homogeneizado foi semeado com alça de níquel cromo, de maneira a se obter colônias isoladas, em placas de ágar Palcam (Oxoid) e de ágar Oxford (Oxoid) que foram incubadas por 48 horas a 37°C. O homogeneizado foi reincubado por mais 24 horas a 30°C e, após esse período fez-se nova semeadura em ágar Palcam e ágar Oxford conforme descrito anteriormente. Três a 5 colônias apresentando características para *Listeria spp*, em cada meio, foram re-isoladas em placas de ágar tripticase soja (TSA, Oxoid) adicionado de 0,6 % de extrato de levedura (YE, Oxoid) para verificação de sua pureza. Posteriormente, as colônias suspeitas de *L. monocytogenes* foram submetidas à identificação bioquímica através dos testes de produção de catalase e β -hemólise; fermentação de carboidratos (xilose, manitol, ramnose e dextrose) e motilidade.

3.2.1.14. Pesquisa de *Escherichia coli* O157:H7 em amostras de agrião (Meng et al., 2001)

Uma porção de 25 g da amostra foi adicionada a 225 mL de caldo E.C. (Oxoid) suplementado com solução de novobiocina e incubado por 6 horas sob agitação (150 rpm) a 37°C. Passado o período de 6 horas

a mistura foi incubada a 37°C por 18 horas. Após 24 horas de incubação, semeou-se em ágar MacConkey Sorbitol (Oxoid) para obtenção de colônias isoladas e incubou-se a 37°C por 24 horas. As colônias suspeitas de *Escherichia coli* foram inoculadas em tubos contendo EPM, Milli e Citrato (Enterokit B – Probac do Brasil), incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foram submetidos à aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*E. coli* O157 (Probac do Brasil).

3.2.1.15. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey para comparação das médias, ao nível de 5% de significância. As contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli*, em relação às doses de irradiação, foram submetidas à análise de variância não paramétrica.

O software utilizado foi o SAS (Statistical Analytical System; SAS institute, N.C., USA, versão 9.1).

3.2.2. Avaliação do comportamento de *Salmonella* spp e *L. monocytogenes* ao longo da vida-de-prateleira do agrião orgânico minimamente processado irradiado e refrigerado

3.2.2.1. Preparo do inóculo de *Salmonella* spp para contaminação das amostras de agrião a serem irradiadas

A partir de culturas individuais de *S. Infantis*, *S. Thyphimurium*, *S. Enteritidis* em ágar tripticase soja (TSA – Oxoid) foram inoculados, três tubos contendo 5 mL de caldo tripticase soja (TSB - Oxoid) que foram incubados a 37°C. Após 24 horas, transferiu-se um inóculo de cada cultura para um erlenmeyer contendo 100 mL de caldo

tripticase soja (TSB - Oxoid) que foi incubado a 37°C por 20-24 horas. Após esse período, 15 mL de cada cultura de *Salmonella* foram transferidos para um único tubo de centrifuga, totalizando, assim, 45 mL de cultura de *Salmonella* spp sendo esta considerada o “pool” de *Salmonella*. Estes 45 mL foram centrifugados a 3000 rpm (700 x g) (Hettich, Tuttlingen, Germany) por 30 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi re-suspendido com 100 mL de solução salina (0,85%), obtendo-se um inóculo com 10⁸ a 10⁹ UFC/mL. Todo este processo foi realizado em duplicata.

3.2.2.2. Preparo do inóculo de *Listeria monocytogenes* para contaminação das amostras de agrião a serem irradiadas

A partir de culturas individuais de *Listeria monocytogenes* (cepas isoladas de espinafre e de carne moída, ATCC 7644 e ATCC 19115) em ágar tripticase soja suplementado com 0.6% de extrato de levedura (TSA + YE – Oxoid), foram inoculados quatro tubos contendo 5 mL de caldo tripticase soja suplementado com 0,6% de extrato de levedura (TSB + YE - Oxoid) que foram incubados a 37°C. Após 24 horas, transferiu-se o inóculo de cada cultura para um erlenmeyer contendo 100 mL de TSB + 0,6% YE que foi incubado a 37°C por 20-24 horas. Posteriormente, 10 mL de cada cultura foram transferidos para um único tubo de centrifuga, totalizando, assim, 40 mL de cultura de *L. monocytogenes* sendo esta considerada o “pool” de *Listeria*. Estes 40 mL foram centrifugados a 3000 rpm (700 x g) por 30 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi re-suspendido com 100 mL de solução salina (0,85%), obtendo-se um inóculo com 10⁸ a 10⁹ UFC/g. Todo este processo foi realizado em duplicata.

3.2.2.3. Processamento mínimo das amostras de agrião orgânico

Foi realizada de maneira análoga à descrita no item 3.2.1.2.

3.2.2.4. Inoculação das amostras de agrião para o processo de irradiação (Niemira et al., 2002)

Em um recipiente fundo foram colocados, aproximadamente, 8 L de água destilada estéril e adicionado o “pool” das cepas de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, previamente re-suspendidas com solução salina estéril (100mL). Esta mistura foi homogeneizada e retirou-se 1 mL para posterior diluição e semeadura em ágar tripticase soja (TSA - Oxoid) para determinação da população do microrganismo. Em seguida, as folhas de agrião (1,5 kg) foram imersas nessa suspensão onde permaneceram por aproximadamente 10 minutos, durante os quais foram realizados movimentos para a homogeneização da contaminação. A amostra de agrião foi, então, centrifugada em centrífuga doméstica para a secagem e a retirada do excesso do inóculo. Posteriormente, foram pesadas porções de 25 g cada de agrião orgânico minimamente processado.

3.2.2.5. Irradiação do agrião orgânico minimamente processado inoculado com *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes*

Fonte de Irradiação: canal experimental de um irradiador JS-7500 Nordium Inc, tendo como fonte radioativa ^{60}Co , cuja taxa de dose variou, durante o experimento, de 2,0 a 2,2 kGy/hora, pertencente à Embrarad S.A., Cotia, São Paulo. A calibração do canal foi feita com dosímetro Harwell Amber padronizado pelo National Physics Laboratory, laboratório de padronização da Inglaterra.

As amostras de agrião orgânico minimamente processado foram transportadas para a planta de irradiação em caixa de material termoisolante com gelo. Amostras foram submetidas às doses de $1,0 \pm 0,0353$ kGy; $2 \pm 0,0707$ kGy e $3 \pm 0,134350$ kGy. O experimento foi repetido duas vezes.

Após o processo de radiação, as amostras foram armazenadas a 7°C durante 16 dias, de acordo com Martins et al., 2004. As amostras foram acompanhadas por uma amostra testemunha/controle (isto é, não irradiada).

A quantificação das populações de *Salmonella* spp e de *Listeria monocytogenes* foram realizadas nos dias 0, 9, 12, 14 e 16 de armazenamento a 7°C. Foi considerado como tempo zero, o dia seguinte ao processo de irradiação.

3.2.2.6. Quantificação da população sobrevivente de *Salmonella* spp em agrião orgânico minimamente processado ao longo do período de armazenamento

As amostras de agrião expostas à radiação foram transportadas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos em caixa de material termoisolante com gelo. Cada amostra irradiada foi homogeneizada com 225 mL de solução salina (NaCl 0,85%) em aparelho stomacher-400 (Seward - London, UK).

A partir desse homogeneizado foram realizadas diluições decimais, usando como diluente solução salina (NaCl 0,85%), a partir das quais semeou-se 1 mL da diluição, em duplicata e em profundidade, em placas de Petri às quais adicionou-se ágar tripticase soja (TSA - Oxoid). Após homogeneização e solidificação, adicionou-se uma sobrecamada de 5 mL de agar MLCB (Oxoid). Após solidificação desta sobrecamada, essas placas foram incubadas a 37°C por 48 horas sendo

então determinada a população sobrevivente ao processo (UFC/g). O resultado foi a média da contagem das duas placas (Kang & Fung modificado, 1999).

3.2.2.7. Quantificação da população sobrevivente de *Listeria monocytogenes* em agrião minimamente processado ao longo do período de armazenamento

As amostras de agrião expostas à radiação foram transportadas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos em caixa de material termoisolante com gelo. Cada amostra irradiada foi homogeneizada com 225 mL de solução salina (NaCl 0,85%) em aparelho stomacher-400 (Seward - London, UK).

A partir desse homogeneizado foram realizadas diluições decimais, usando como diluente solução salina (NaCl 0,85%), a partir das quais semeou-se 1 mL da diluição, em duplicata e em profundidade, em placas de Petri às quais adicionou-se ágar tripticase soja adicionado de 0,6% de extrato de levedura (TSA + 0,6% YE - Oxoid). Após homogeneização e solidificação, adicionou-se uma sobrecamada de 5 mL de ágar Oxford (Oxoid). Após solidificação desta sobrecamada, essas placas foram incubadas a 37°C por 48 horas sendo então determinada a população sobrevivente ao processo (UFC/g). O resultado foi a média da contagem das duas placas (Kang & Fung modificado, 1999).

3.2.2.8. Análise estatística

Para avaliar a influência da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a população da bactéria foram empregados testes de análise de variância não-paramétrica e de comparações múltiplas, utilizando o software SAS (Statistical Analytical System; SAS institute, N. C., USA, versão 9.1.).

3.2.3. Análise de ácido ascórbico, dehidroascórbico e vitamina C total nas amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e pós irradiação) e durante 16 dias de armazenamento a 7°C (Pasternak et al., 2005)

Foram realizadas 18 coletas em diferentes produtores da região de São Roque, São Paulo, no período de novembro de 2005 a março de 2007. Realizou-se um *pool* das amostras para cada etapa de processamento.

As amostras foram previamente pulverizadas com nitrogênio líquido para posterior extração e mantidas à -70°C até o momento da análise.

Pesou-se aproximadamente 5 mg de amostra, aos quais foram adicionadas 3 mL de solução de ácido metafosfórico a 3% (Sigma, EUA). Essa solução foi homeogeneizada em 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 o preparo dos vials.

Para a determinação de ácido ascórbico reduzido, adicionou-se 250 µL de amostra filtrada, 250 µL de ácido metafosfórico 3% (Sigma) e 500 µL de solução de KCl 2 mM, pH 2,5 (Merck, Alemanha). Para a determinação do ácido ascórbico total, adicionou-se 250 µL de amostra filtrada, 250 µL de solução de ditiotreitól (DTT) (Sigma) 0,5M. Após 30 minutos, adicionou-se 500 µL de KCl 2 mM, pH 2,5 (Merck). Todas estas etapas foram realizadas em banho de gelo.

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

O cromatógrafo utilizado para a identificação e a quantificação do ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico foi o do sistema Hewlett-Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quartenária e detetor de diodos (DAD). A coluna utilizada foi a μ Bondapak C18 300 x 3,6 mm e porosidade 0,5 μ m (Waters, EUA), e a eluição foi realizada por KCl 2 mM pH 2,5(acertado com ácido o-fodfórico).

Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g 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.

3.2.3.1. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância, utilizando o programa STATISTICA (versão 5.5), ao nível de 5% de significância, com o objetivo de verificar a influência da dose de irradiação e do tempo de armazenamento no teor de ácido ascórbico.

3.2.4. Avaliação sensorial

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa com seres humanos da FCF/USP, conforme Anexo 1.

3.2.4.1. Recrutamento dos provadores

Para o recrutamento dos provadores foi desenvolvido um questionário de seleção (Anexo 2) e, depois de respondido o questionário, a seleção dos provadores baseou-se na disponibilidade de tempo e apreciação dos produtos.

Os provadores foram recrutados entre homens e mulheres, com idades entre 18 à 60 anos, das classes sociais A, B e C da região Metropolitana da cidade de São Paulo, segundo o critério demográfico da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP, 2008).

3.2.4.2. Teste de Aceitação e Intenção de compra

Na análise sensorial foram empregados o Teste de Aceitação com escala hedônica de 10 cm (0= desgosta extremamente; 10= gosta extremamente) (Villanueva et al., 2000) e o Teste de Intenção de Compra com escala numérica de 0 a 10 (0= certamente não compraria; 5= talvez compraria/talvez não compraria; 10= certamente compraria) (Anexos 3 e 4).

Embalagens de polietileno contendo 1.000 g de agrião orgânico minimamente processado foram expostas a 2 kGy. Essas embalagens, acompanhadas por uma amostra testemunha/controle (isto é, não irradiada), foram armazenadas a 7°C durante a realização da análise.

O painel sensorial foi composto por 236 provadores não treinados, das diferentes classes sociais (A, B e C), com idade entre 18-60 anos, que avaliaram a aceitação global (aparência, aroma, sabor e textura – sensação das folhas e dos talos ao mastigar o vegetal) e a intenção de compra.

Para avaliação do produto, 118 provadores receberam um folder (Anexo 5) contendo informações sobre o processo de radiação gama. Destes, 59 provadores receberam a ficha sensorial com a identificação da amostra irradiada e os outros 59 provadores receberam a ficha sensorial sem identificação da amostra irradiada. Após leitura do folder, foram servidas, aproximadamente, amostras de 10 gramas expostas à radiação e 10 g de amostra testemunha em pratos brancos descartáveis, codificados com número de três dígitos, acompanhados por

garfo, sal, água e, para minimizar o sabor residual entre uma amostra e outra, os participantes receberam ainda biscoito de água (Figura 4).

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado para os outros 118 provadores que não receberam o folder explicativo.

As amostras foram avaliadas sob luz branca, em mesas individuais, em uma sala comercial na Praça da República, São Paulo.

Após análise do produto, os provadores receberam uma carta de agradecimento (Anexo 6) juntamente com um brinde.



Figura 4: Apresentação das amostras para o teste de aceitação e de intenção de compra.

3.2.4.3. Análise Estatística

Foi realizada análise de variância para determinar diferenças estatisticamente significativas entre as médias de aceitação e intenção de compra, devidas à irradiação, à informação sobre a tecnologia de irradiação e a identificação das amostras de agrião. As anovas foram realizadas através do programa estatístico SPSS (versão 8.0.0), utilizando o módulo *GLM – General factorial* e tendo como modelo: aceitação (intenção de compra) = provadores irradiação informação e os efeitos de interação dos fatores.

Para avaliar a influência da dose de irradiação e do tempo de armazenamento sobre a população da bactéria empregou-se testes de análise de variância não-paramétrica e de comparações múltiplas. Utilizou-se o SAS (Statistical Analytical System; SAS institute, N. C., USA, versão 9.1.).

4. Resultados e Discussão

4.1. Análise microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (água, agrião: campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e irradiação)

A busca por alimentos livres de contaminantes microbiológicos é cada vez mais importante para o ser humano. Dentre os inúmeros microrganismos existentes alguns se destacam por sua importância na indústria. Entre esses, podem ser citados os microrganismos indicadores que quando presentes em um alimento podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre as condições de deterioração e vida-de-prateleira do alimento, além de indicarem condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

As populações de coliformes termotolerantes variaram entre 0,23 e ≥ 24 NMP/mL, a de *E. coli* entre 0,11 e 11 NMP/mL para as amostras de água provenientes do sistema de irrigação. Para as amostras coletadas na lavagem, as populações de coliformes termotolerantes variaram entre $< 0,03$ e 4,6 NMP/mL, a de *E. coli* entre $< 0,03$ e 2,4 NMP/mL (Tabela 3).

No caso das amostras de água coletadas na indústria, as populações de coliformes termotolerantes variaram entre $< 0,03$ e $4,6 \times 10$ NMP/mL e a de *E. coli* variaram entre $< 0,03$ e 0,09 para água da pré-lavagem. Para as amostras da lavagem, as populações de coliformes termotolerantes variaram entre $< 0,03$ e $1,1 \times 10$, e de *E. coli* $< 0,03$ e 0,93 NMP/mL. As populações de coliformes termotolerantes variaram entre

<0,03 e 4,6 e <0,03 e 0,23, respectivamente, para as populações de coliformes termotolerantes e de *E. coli* (Tabela 3).

Os resultados desta pesquisa estão em desacordo com os obtidos por Takayanagui et al. (2006) na cidade de Ribeirão Preto, SP, e por Okafo et al. (2003), na Nigéria, cujas amostras apresentaram populações de 4 a 6,4 log UFC/mL de coliformes termotolerantes.

Nossos resultados estão em desacordo com os obtidos por Chagas et al. (1981) que constataram a presença de altas populações de coliformes totais e coliformes termotolerantes nas 50 amostras de águas de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal, Rio Grande do Norte.

Outros autores (Cruz et al.,2006; Simões et al, 2001) também observaram a baixa qualidade higiênico-sanitária de águas provenientes da irrigação e do processamento na indústria.

Tabela 3: Faixa de população (NMP/ml) de coliformes termotolerantes e *E. coli* presente na água empregada na cadeia produtiva de agrião orgânico.

Local de coleta		Grupo de microrganismos	
		Coliformes termotolerantes (NMP/mL)	<i>E. coli</i> (NMP/mL)
Campo	Irrigação	0,23 - ≥ 24	0,11 - 11
	Lavagem	<0,03 - 4,6	<0,03 - 2,4
	Pré-lavagem	<0,03 - 4,6 x 10	<0,03 - 0,09
Indústria	Lavagem	<0,03 - 1,1 x 10	<0,03 - 0,93
	Sanitização	<0,03 - 4,6	<0,03 - 0,23

Tanto as amostras de agrião orgânico coletadas no campo como as de minimamente processado analisadas neste estudo, apresentaram populações elevadas para aeróbios mesófilos, aeróbios psicotróficos, *Pseudomonas* spp, coliformes termotolerante e *E. coli* (Tabela 4).

Para o agrião orgânico coletado no campo (Coleta 1), as populações de microrganismos aeróbios mesófilos variaram entre 5,0 e 7,87 log UFC/g, a de aeróbios psicotróficos entre 5,0 e 8,7 log UFC/g, a de *Pseudomonas* spp entre 5,0 e 7,84 log UFC/g, a de bactérias lácticas entre 1 e 5,87 log UFC/g, a de coliformes termotolerantes entre 1 e 7,17 log UFC/g e a de *E. coli* entre 1 e 4,64 log UFC/g (Tabela 4). Para as amostras coletadas após transporte para a indústria (Coleta 2), as populações de microrganismos aeróbios mesófilos variaram entre 4,30 e 6,89 log UFC/g, a de aeróbios psicotróficos entre 5,17 e 7,28 log UFC/g, a de *Pseudomonas* spp entre 3,0 e 6,62 log UFC/g, a de bactérias lácticas entre 1 e 4,08 log UFC/g, a de coliformes termotolerantes entre 1 e 5,92 log UFC/g e a de *E. coli* entre 1 e 4,75 log UFC/g (Tabela 4). O

processamento mínimo causou pequena redução nessas populações: a de aeróbios mesófilos variou entre 4 e 6,67 log UFC/g, a de aeróbios psicrotróficos entre 4,58 e 7,04 log UFC/g, a de *Pseudomonas* spp entre 2,60 e 6,53 log UFC/g, a de bactérias lácticas entre 1 e 3,62 log UFC/g, a de coliformes termotolerantes entre 1 e 5,67 log UFC/g e a de *E. coli* entre 1 e 3,87 UFC/g (Tabela 4).

Os resultados obtidos nesta pesquisa são semelhantes aos de Goularte (2003) que detectou populações de mesófilos de até 10^7 UFC/g e de *Enterobacteriaceae* de até 10^6 UFC/g em alface em cabeça. Nossos resultados são ainda similares aos desse autor quando se trata de alface minimamente processada (em folhas) para as populações de psicrotróficos (até $7,3 \times 10^6$ UFC/g), *Enterobacteriaceae* (até $4,0 \times 10^6$ UFC/g), e *Pseudomonas* ($6,0 \times 10^5$ UFC/g). O autor também não detectou *E. coli* O157:H7 e *Salmonella*.

Nossos resultados estão de acordo como os relatados por Martins et al. (2004), para as populações de psicrotróficos, *Pseudomonas* sp, *Enterobacteriaceae*, coliformes termotolerantes, além de pesquisas de *Salmonella* spp e de *E. coli* O157:H7 em 60 amostras de agrião de cultivo convencional sendo 30 minimamente processado e 30 *in natura*, adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo. Apesar de os patógenos não terem sido detectados, a qualidade microbiológica das amostras pode ser considerada marginal por apresentarem elevada população de *Enterobacteriaceae*.

Quando comparamos a presente pesquisa com Goularte (2003) e Martins et al. (2004), observamos que não há diferença na qualidade microbiológica das amostras de agrião orgânico com a do cultivo tradicional.

Podemos observar que a matéria-prima inicial apresentou alta contaminação microbiológica, provavelmente devido aos tipos de fertilizantes utilizados pois, muitas vezes, é empregada a cama de galinha, ou seja, esterco proveniente de fezes de galinhas (informação adquirida

junto aos agricultores). Observamos também que a lavagem, ainda no campo, é pouco eficaz para a redução da carga microbiológica uma vez que a finalidade desta etapa é a retirada do excesso de terra. A água utilizada é de poço, colocada em um tanque e a sua troca só ocorre após a lavagem de todas as hortaliças provenientes do mesmo lote.

Após o processo de irradiação, todas as amostras expostas a 1 kGy, 2 kGy e 3 kGy apresentaram população de coliformes termotolerantes e de *E. coli* de 1 log UFC/g. Para as amostras irradiadas com 1 kGy, as populações de microrganismos aeróbios mesófilos variaram entre 2,61 e 4,80 log UFC/g, psicrotróficos entre 2,78 e 5,38 log UFC/g, *Pseudomonas* spp entre 0 e 3,0 log UFC/g e bactérias lácticas entre 1 e 2,60 log UFC/g. No caso das amostras irradiadas com 2 kGy, as populações de microrganismos aeróbios mesófilos variaram entre 1,48 e 4,30 log UFC/g, psicrotróficos entre 2,48 e 4,17 log UFC/g, *Pseudomonas* spp entre 0 e 3,0 log UFC/g e bactérias lácticas entre 1 e 2,08 log UFC/g. As amostras irradiadas com 3 kGy apresentaram populações de microrganismos aeróbios mesófilos variando entre 1,90 e 3,71 log UFC/g, psicrotróficos entre 3,0 e 4,11 log UFC/g, *Pseudomonas* spp entre 0 e 2,34 log UFC/g e bactérias lácticas entre 1 e 2,17 log UFC/g (Tabela 4).

Salmonella spp, *E. coli* O157:H7 e *L. monocytogenes* não foram detectadas ao longo da cadeia produtiva. A ausência de *L. monocytogenes* também foi observada por Francis e O'Beirne (2006), na Irlanda, em amostras de agrião embaladas em atmosfera modificada e a ausência de *E. coli* O157:H7 foi observada por Sagoo et al. (2003b) na Inglaterra. Entretanto, estes mesmos autores relatam a presença de *L. monocytogenes* em 88 de 3852 amostras analisadas de diversos vegetais embalados e coletados no comércio.

Tabela 4: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva, no período de novembro de 2005 a março de 2007.

Grupo de Microorganismos	Campo			Processamento		
	Colheita	Pós transporte - indústria	Pós Processo Mínimo	1 kGy	2 kGy	3 kGy
Aeróbios mesófilos (Log UFC/g)	4,0 – 7,88	4,30 – 7,59	2,60 – 6,67	2,48 – 4,81	1,48 – 4,29	1,90 – 3,76
Psicrotróficos (Log UFC/g)	4,0 – 8,70	3,0 – 7,28	4,0 – 7,04	<2,0 – 5,38	<2,0 – 4,18	<2,0 – 4,10
<i>Pseudomonas</i> spp (Log UFC/g)	4,0 – 7,43	3,0 – 6,62	3,0 – 6,53	n.d* – 2,0	n.d – 2,0	n.d – 2,33
Bactérias lácticas (Log UFC/g)	<1,0 – 5,87	<1,0 – 5,11	<1,0 – 3,68	<1,0 – 2,60	<1,0 – 2,08	<1,0 – 2,18
Coliformes termotolerantes (Log UFC/g)	<1,0 – 7,17	<1,0 – 5,92	<1,0 – 5,67	<1,0	<1,0	<1,0
<i>E. coli</i> (Log UFC/g)	<1,0 – 4,64	<1,0 – 4,76	<1,0 – 3,88	<1,0 – 1,30	<1,0	<1,0

*n.d = não detectável pela metodologia empregada.

A ausência de microrganismos patogênicos nas amostras analisadas neste estudo pode ser explicada pelas altas populações de bactérias aeróbios mesófilos, psicrotróficos e *Pseudomonas* spp entre outras. Segundo Wei et al. (2006), a microbiota natural das hortaliças exerce um efeito protetor contra microrganismos patogênicos pois essa microbiota compete pelo espaço físico e por nutrientes provocando um efeito antagonista na viabilidade dos patógenos.

Com relação aos resultados obtidos com as amostras coletadas nas coletas 1 e 2 (antes do processamento), os nossos resultados concordam com os de Sagoo et al. (2001), na Inglaterra, que detectaram a presença de *E. coli* em 1,5% (48/3200) das amostras. Não observaram a presença de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp e *E. coli* O157:H7 assim como a de *Campylobacter* spp nas amostras analisadas.

Os resultados desta pesquisa estão de acordo também com os de Barreto et al. (2003) que não detectaram *E. coli* O157:H7 em 70 amostras de hortaliças folhosas “in natura” (alface, coentro, cebolinha, hortelã), coletadas em seis hortas cultivadas e comercializadas em Feira de Santana-Ba.

O comportamento das populações de *E. coli* e de psicrotróficos não diferiu significativamente nas diferentes etapas de coleta no campo e na indústria (Figura 5). Populações de *Pseudomonas* spp, mesófilos, coliformes termotolerantes apresentaram diferença significativa apenas entre as etapas de colheita (Coleta 1) e pós processo mínimo (Coleta 3), enquanto para as bactérias lácticas somente as populações de amostras pós processo mínimo (Coleta 3) apresentaram diferença significativa em relação às demais etapas (Coleta 1 e 2). Portanto, podemos afirmar que a sanitização com ozônio, nesta condição de uso, foi eficiente apenas para reduzir a população de bactérias lácticas.

De maneira geral, nossos resultados são similares aos de Nunes et al. (2008) que usando água ozonizada (0,08 ppm) na sanitização de

rúcula obtiveram reduções de 1 log nas populações de microrganismos estudadas.

No entanto, outros autores observaram reduções das populações de mesófilos (Selma et al., 2006; Koseki e Isobe, 2006; Rodgers et al., 2004) e das populações de psicrotróficos, coliformes e *L. monocytogenes* (Selma et al., 2006) utilizando concentrações de ozônio que variaram de 3 a 10 ppm (Koseki e Isobe, 2006).

Em outra pesquisa, Martins et al. (2004) verificaram a redução de apenas 1 log nas populações de psicrotróficos e de *Pseudomonas* sp. e de menos de 1 log na de *Enterobacteriaceae* em agrião cultivado tradicionalmente, após processamento com 200 ppm de cloro. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (Goularte, 2003; Tshako, 2005) que empregaram o mesmo sanificante.

Minhas et al. (2006), na Índia, obtiveram resultados similares aos encontrados nesta pesquisa uma vez que a população de aeróbios mesófilos variou de 6,30 a 7,54 UFC/g e a de coliformes termotolerantes variou de <0,30 a 5,95 NMP/g para diferentes vegetais, logo após a colheita.

Phillips et al. (2005), na Califórnia, Estados Unidos, constataram que não houve diferença significativa entre o sistema orgânico e o convencional de cultivo para um mix de saladas em relação as populações de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, lácticas, coliformes e de bolores e leveduras.

Nossos resultados estão de acordo com os obtidos por Loncarevic et al. (2005), Noruega, que verificaram que 16 amostras (8-9%) de folhas de alface orgânica apresentaram contaminação por *E. coli* mas não por *E. coli* O157:H7 e *Salmonella*. Em relação a *L. monocytogenes*, os resultados foram discordantes uma vez que a detectaram em 2 amostras.

Mukherjee et al. (2004) avaliaram a presença de coliformes, *E. coli*, *Salmonella* e *E. coli* O157:H7 em frutas e vegetais adquiridos de

fazendas produtoras de vegetais orgânicos e fazendas convencionais em Minesota, Estados Unidos. Bactérias do grupo coliforme foram detectadas em 92% das amostras analisadas e a população média foi de 2,9 log NMP/g, independente do sistema de cultivo empregado. *E. coli* foi isolada de 8% das amostras analisadas com maior prevalência entre as amostras provenientes de fazendas orgânicas. *E. coli* O157:H7 não foi detectada em nenhuma das amostras quer provenientes das fazendas orgânicas quer do sistema convencional. *Salmonella* spp, porém, foi isolada de uma amostra de alface orgânico e de uma amostra de pimenta verde orgânico. Esses resultados são semelhantes aos obtidos nesta pesquisa com exceção da presença de *Salmonella*.

A qualidade microbiológica das amostras *in natura* desta pesquisa é semelhante à qualidade das amostras de alface vermelha, cultivadas em Almería (Espanha) analisadas por Allende et al. (2004) que detectaram população média de aeróbios psicrotrófilos e de coliformes de, aproximadamente, $8,0 \times 10^4$ UFC/g.

De maneira geral, nossos resultados estão de acordo com Nguz et al. (2005) que analisaram a qualidade microbiológica de vegetais orgânicos minimamente processados produzidos em Zâmbia. A população de aeróbios mesófilos variou de 3 a 9,7 log UFC/g, a de coliformes variou de 1 a 7,7 log UFC/g. *E. coli*, detectada apenas no mixed de vegetais, apresentou população variando de 0,6 a 3 log UFC/g enquanto a de *Enterobacteriaceae* variou de 1,6 a 9,8 log UFC/g.

A presença de *E. coli* O157:H7 em hortaliças frescas comercializadas nos supermercados e varejões é rara, conforme relatado em pesquisa com 1.000 amostras para consumo doméstico nos Estados Unidos e em 230 amostras de alface exportadas durante o período de 1999 a 2000 (FDA, 2001). Resultados similares foram relatados em 466 amostras de hortaliças (175 de folhas de alface) e amostras de “swabs” ambientais coletadas em 8 cidades do sul dos Estados Unidos (Johnston et

al., 2006) e em 179 amostras de alface provenientes de fazendas orgânicas da Noruega nos quais *E. coli* O157:H7 não foi detectada. O microrganismo também não foi detectado nos adubos e fertilizantes utilizados em fazendas orgânicas (Loncarevic, 2005).

No município de Ribeirão Preto, SP, das 129 hortas pesquisadas, 22 apresentaram verduras com população de coliformes entre 2,34 a 3,42 log UFC/g e 4 hortas apresentaram amostras contaminadas por *Salmonella* (Takayanagui et al., 2000). Portanto, amostras com qualidade microbiológica semelhantes às por nós analisadas.

Apesar de em nossa pesquisa não termos coletado amostras junto a distribuidores e na fonte de comercialização ao consumidor, alguns trabalhos relatados na literatura são mencionados a seguir.

Os resultados encontrados na presente pesquisa encontram-se no intervalo dos relatados por Valentin-Bon (2008) para aeróbios mesófilos em 28 amostras de espinafre e alface orgânicos, embalados (<4 – 8,3 log UFC/g), porém para *E. coli* inferiores a 3,6 Log NMP/g.

Aycicek et al. (2006), trabalhando com amostras de diversos vegetais “in natura”, coletadas em distribuidores de vilas da Turquia, obtiveram resultados nas mesmas faixas que os aqui relatadas para aeróbios mesófilos, coliformes termotolerantes e *E. coli*.

Santana et al. (2006), em Salvador, Bahia, verificaram que amostras de alface, variedade crespa, independente do sistema de cultivo, apresentaram baixos padrões higiênicos, devido à presença de formas parasitológicas de origem animal ou humana e alta concentração de população de coliformes fecais. As maiores freqüências de contaminação foram observadas nas amostras de cultivo orgânico seguido por amostras de cultivo tradicional e por amostras de cultivo hidropônico.

Os nossos resultados coincidem, também, com os obtidos por Kondo et al. (2006) uma vez que a população de aeróbios mesófilos por eles

relatada variou de 6 a 7 log UFC/g em alface “in natura” e não houve diferença significativa entre as estações do ano (inverno e primavera).

Outro estudo, realizado na Inglaterra (Sagoo et al., 2003a), revelou a presença de *Enterobacteriaceae* ($\geq 10^4$ UFC/g) em 974 amostras de vegetais prontos para o consumo e *E. coli* ($\geq 10^2$ UFC/g) em 87 amostras de salada de vegetais.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os relatados por Romano et al. (2003) em diferentes amostras de vegetais minimamente processados (cenoura, couve e repolho), comercializados na cidade de Maringá-PR. Os autores observaram que, no dia do processamento, 66,7% e 11% das amostras analisadas apresentaram populações de mesófilos e de psicrotrófilos superiores a 10^4 UFC/g, respectivamente. Ao final do prazo de validade, 77,8% das amostras apresentaram população de mesófilos superior a 10^6 UFC/g enquanto a de psicrotrófilos foi superior a 10^5 UFC/g em 55,5% das amostras analisadas. Assim como em nossa pesquisa, *Salmonella* spp não foi constatada nas amostras analisadas.

Na Austrália, Szabo et al. (2000) avaliaram a qualidade microbiológica de 120 amostras de alface picadas e embaladas adquiridas em supermercados e verificaram que a contagem total de aeróbios mesófilos variou de 10^3 a 10^9 UFC/g sendo que 76% das amostras apresentaram uma população de 10^5 a 10^7 UFC/g. *L. monocytogenes* foi isolada em 3 amostras e outros patógenos como *Aeromonas hydrophila* ou *caviae* e *Yersinia enterocolitica* também foram detectados.

Dallaire et al. (2006) monitoraram a população de aeróbios mesófilos, coliformes fecais, *E. coli* e *L. monocytogenes* em amostras de brócolis coletadas no Canadá durante as diversas etapas do seu processamento (“from farm to fork”) e em 60 amostras importadas. Todas apresentaram contagem de aeróbios mesófilos variando de 4 a 6 log UFC/g, portanto, dentro da faixa por nós relatadas. Para as amostras

coletadas no país, não houve diferença significativa para a população de aeróbios mesófilos durante as diferentes etapas de processamento. Coliformes termotolerantes e *E. coli* foram detectados em 22 das 126 amostras de brócolis durante as diversas etapas de processamento. Com relação as 60 amostras importadas, 2 estavam contaminadas com coliformes termotolerantes e *E. coli*. *Listeria monocytogenes* não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas.

Johnston et al. (2005) monitoraram a qualidade microbiológica de vegetais, adquiridos nos Estados Unidos, do campo até a embalagem final. A população de aeróbios mesófilos variou de 4,5 a 6,2 log UFC/g, a de coliformes totais e *Enterococcus* de 1 a 4,3 log UFC/g e a população de *E. coli* variou de 1 a 1,5 log UFC/g para todas os vegetais de folha verde e ervas. Em muitos casos, a carga microbiológica permaneceu constante até a etapa de embalagem, principalmente em mostarda. Porém, a população de coliformes totais aumentou durante o processamento para as amostras de salsa e coentro. *L. monocytogenes* e *E. coli* O157:H7 não foram detectadas nas 398 amostras analisadas, contudo 3 amostras estavam contaminadas por *Salmonella*.

Em relação às estações do ano, as populações de *Pseudomonas* spp e aeróbios mesófilos não apresentaram diferença significativa no período estudado. As demais populações de microrganismos apresentaram comportamentos diferentes conforme pode ser observado na Figura 6.

Ao se comparar as populações de psicrotróficos detectadas no outono, inverno e primavera verifica-se que não há diferença significativa, assim como entre o outono e verão. Porém, essa diferença ocorre quando se comparam as populações encontradas no inverno e primavera com o verão. Pode se considerar este resultado como esperado, uma vez que os microrganismos psicrotróficos multiplicam-se em temperaturas baixas.

Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as populações de bactérias lácticas nos meses quentes e frios (Figura 6). No caso da

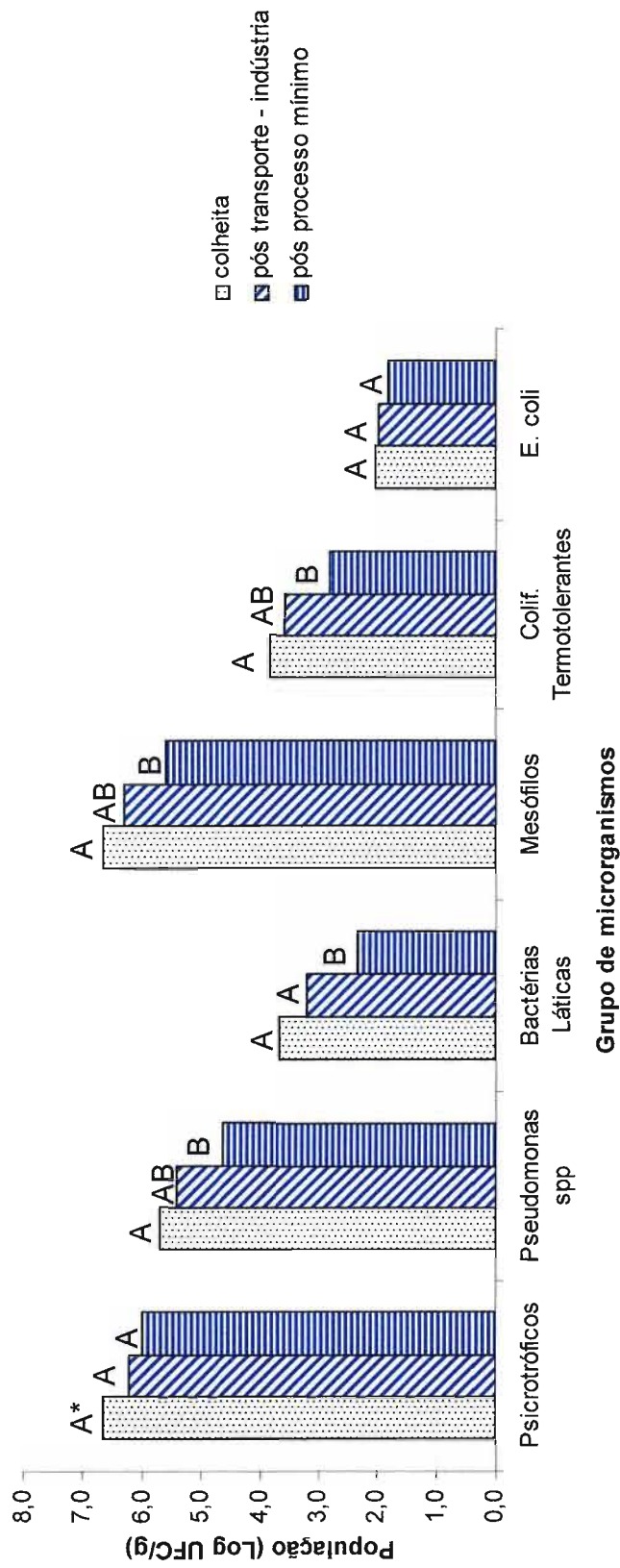
população de coliformes termotolerantes não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a primavera e o verão quando a população desse grupo de microrganismos foi maior (4,45 log UFC/g) do que as encontradas no outono e inverno. As diferenças encontradas entre as populações obtidas no outono-inverno e primavera-verão para bactérias lácticas e coliformes termotolerantes podem, provavelmente, ser explicadas pelas diferentes temperaturas encontradas nessas épocas do ano, apesar de em nosso país as variações de temperatura nem sempre serem significativas ao longo das estações do ano.

As populações de *E. coli* apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre aquelas encontradas na primavera e as das outras estações (Figura 6).

Estudos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos indicam que a prevalência de *E. coli* em hortaliças e frutas apresenta variabilidade sazonal (FDA, 2004).

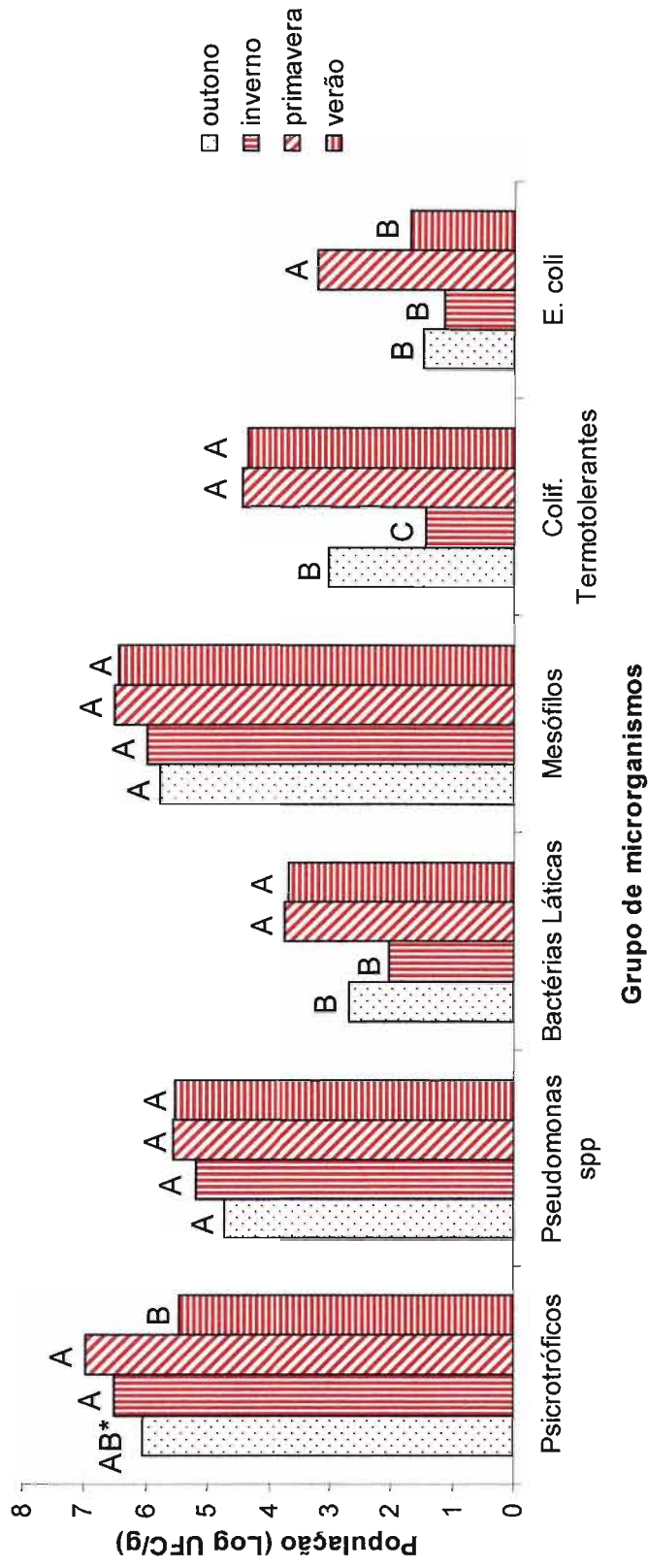
Os nossos resultados não estão de acordo com Ruiz et al. (1987) que avaliaram a qualidade higiênico sanitária de vegetais adquiridos no campo e nos mercados de Granada, Espanha, durante as estações do ano. Estes autores observaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os resultados do inverno em relação aos das outras estações para a população de aeróbios mesófilos das amostras adquiridas no campo. Por outro lado, não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com as amostras adquiridas nos supermercados e aquelas adquiridas em pequenos estabelecimentos, em relação às diferentes estações do ano.

A combinação entre o processo mínimo e a combinação processo mínimo e irradiação mostra que a combinação é mais eficiente uma vez que mesmo a dose mais baixa – 1 kGy – foi suficiente para reduzir, de maneira significativa, os diversos grupos de bactérias (Figura 7). Ainda pela Figura 7, observa-se que o gênero *Pseudomonas* foi o que apresentou maior sensibilidade ao processo.



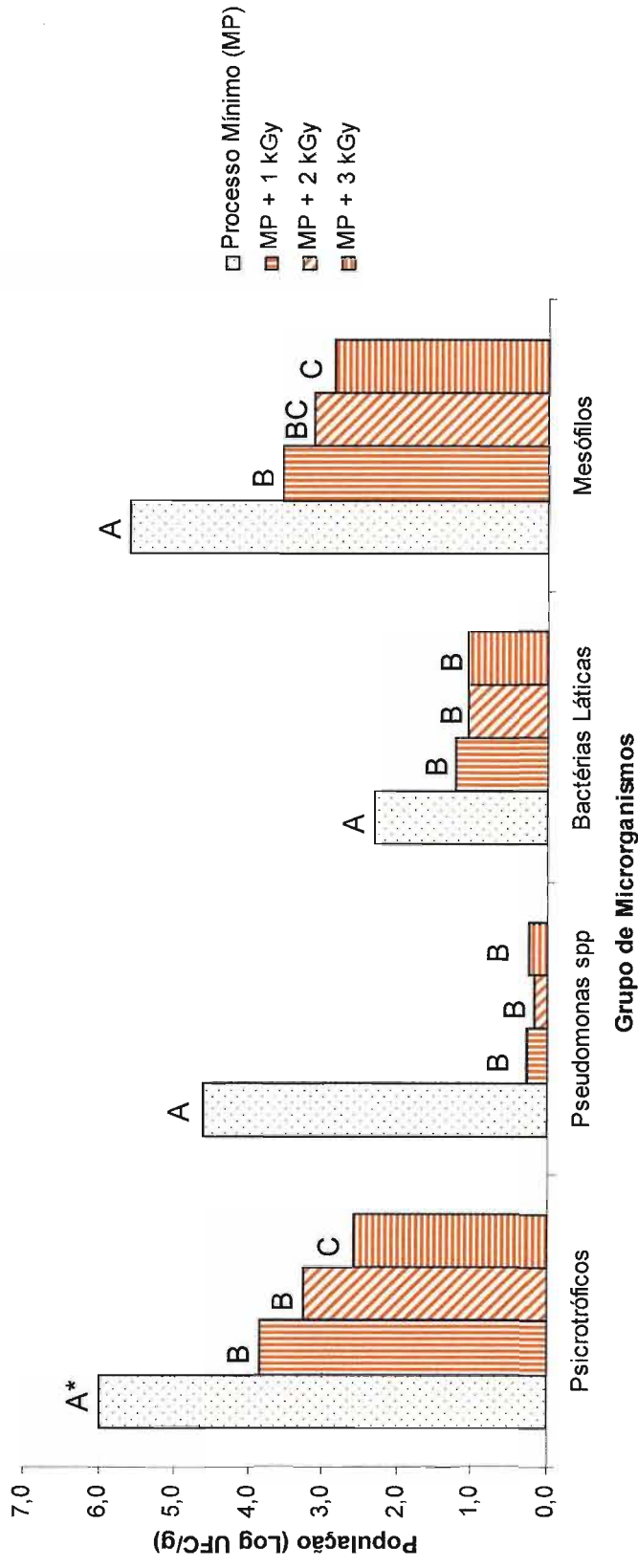
*média das populações com a mesma letra não difere significativamente ($p > 0,05$), de acordo com teste de Tukey.

Figura 5: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo das etapas de processamento, no período de novembro de 2005 a março de 2007.



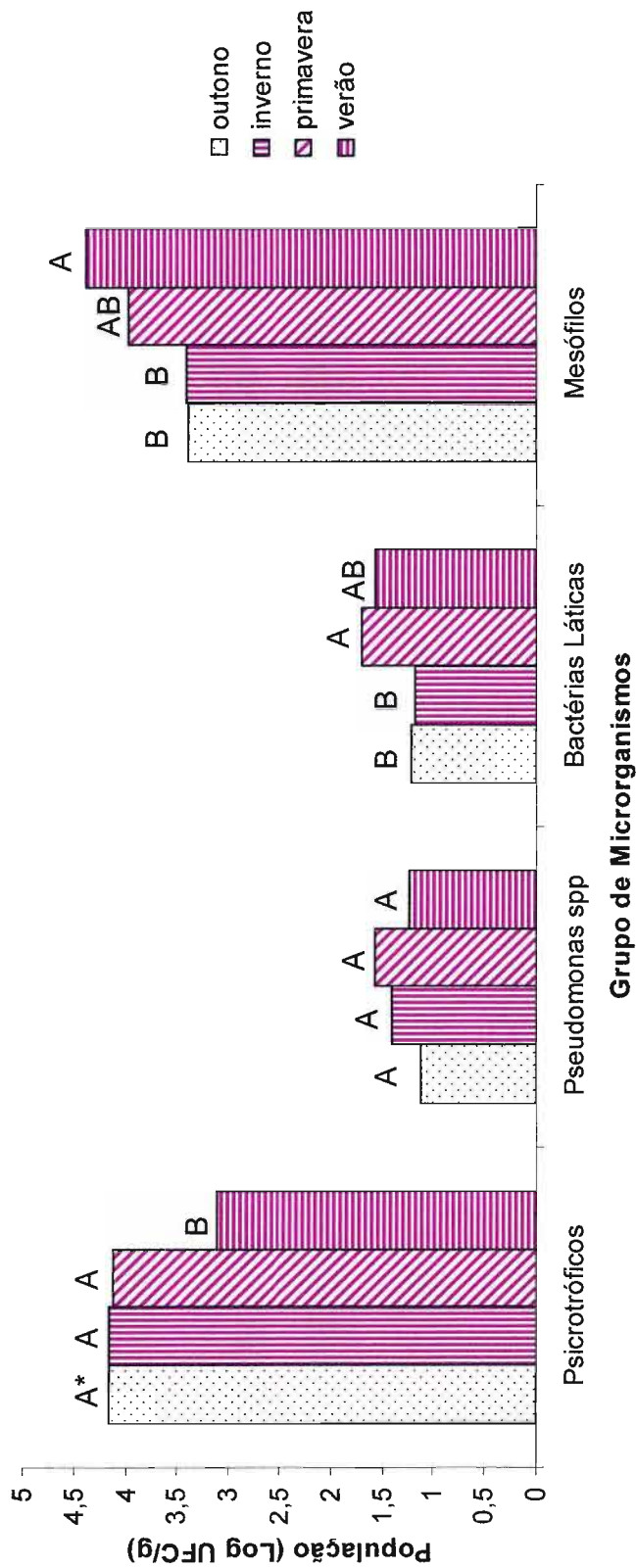
*média das populações com a mesma letra não difere significativamente ($p > 0,05$), de acordo com teste de Tukey.

Figura 6: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico ao longo das estações do ano, no período de novembro de 2005 a março de 2007.



*média das populações com a mesma letra não difere significativamente ($p > ,05$), de acordo com teste de Tukey.

Figura 7: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico submetidas à combinação de tratamento – processamento mínimo e irradiação, no período de novembro de 2005 a março de 2007.



*média das populações com a mesma letra não difere significativamente ($p > 0,05$), de acordo com teste de Tukey.

Figura 8: Avaliação microbiológica das amostras de agrião orgânico submetidas à combinação de tratamento – processamento mínimo e irradiação ao longo das estações do ano, no período de novembro de 2005 a março de 2007.

Esse efeito também foi observado por outros autores (Tsuhaiko, 2005; Martins et al., 2004; Goularte et al., 2004; Foley et al., 2004; Chaudry et al., 2004; Kamat et al., 2003) para diferentes vegetais utilizando a combinação cloro (200 ppm) e irradiação e não água ozonizada e irradiação como na presente pesquisa.

A interação estações do ano x pós processo mínimo x pós irradiação mostra que não há diferença significativa ($p > 0,05$) ao longo do período estudado. Porém, para a população de microrganismos psicrotróficos observa-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre o verão e as demais estações do ano. Para as populações de bactérias lácticas, verifica-se diferença significativa ($p > 0,05$) entre as populações encontradas na primavera e aquelas encontradas no outono e inverno. A população de aeróbios mesófilos não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre o outono, inverno e primavera mas houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) do verão em relação ao outono e inverno (Figura 7).

Em relação à interação pós-processamento mínimo e pós irradiação, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre o processamento mínimo e as doses de irradiação para as populações de coliformes termotolerantes e *E. coli*. Verificou-se que não há diferença significativa ($p > 0,05$) para as populações de coliformes termotolerantes e *E. coli* em relação às estações do ano.

4.2. Comportamento de *Salmonella* spp e *L. monocytogenes* ao longo da vida-de-prateleira do agrião orgânico minimamente processado irradiado e refrigerado

A temperatura é um fator de grande importância na conservação da qualidade de frutos e hortaliças, não só pela influência que exerce na atividade respiratória dos vegetais, como também pela sua influência na velocidade de crescimento microbiano e determinação da biota deteriorante (Rosa e Carvalho, 2000, Ragaert et al., 2007). Em geral, as baixas temperaturas reduzem a velocidade de crescimento da maioria das bactérias e fungos. Porém, essas condições propiciam a multiplicação de microrganismos psicrotóxicos em substituição aos que se desenvolvem à temperatura ambiente.

O abuso da temperatura para temperaturas mais elevadas geralmente é observado no varejo, ou seja, nas gôndolas dos supermercados e varejões. A temperatura e a umidade relativa são dois critérios utilizados para definir o limite crítico no monitoramento durante o HACCP (Paull, 1999).

A combinação do uso de baixas doses de irradiação e das condições ideais de estocagem (temperatura e umidade relativa) é eficaz no controle da deterioração causada tanto pela senescência quanto pela atividade microbiana (Lacroix e Outtara, 2000).

A sensibilidade de um microrganismo à radiação varia consideravelmente uma vez que está relacionada com o substrato em que se encontra, com a temperatura do ambiente em que esse substrato se encontra e a temperatura durante o processo de irradiação, com a atmosfera que envolve o alimento e também com características inerentes do microrganismo.

Baixas doses de irradiação são usadas para aumentar a vida-de-prateleira de muitas frutas e hortaliças, para reduzir a deterioração

microbiana além de reduzir a taxa respiratório de frutas e hortaliças (Lacroix e Outtara, 2000).

Na Tabela 5, pode ser observado que a população de *L. monocytogenes* foi reduzida em , aproximadamente, 4,5, 5,5 e 5,9 ciclos logarítmicos de acordo com as doses de irradiação aplicadas (1 kGy, 2 kGy e 3 kGy, respectivamente). Esse mesmo comportamento pode ser constatado para a população de *Salmonella* spp, porém com maior eficácia.

Na Tabela 5 e Figura 9, verifica-se, ainda, para todas as amostras, que as populações de *L. monocytogenes* não diferiram significativamente durante a sua vida-de-prateleira. A dose de 3 kGy causou a eliminação da população de *L. monocytogenes* para níveis não detectáveis já no dia 0.

Observa-se que não há diferença significativa entre as populações de *L. monocytogenes* detectadas ao longo da vida de prateleira para as amostras expostas a 2 e 3 kGy. Porém, há diferença quando são comparadas as populações da amostra controle com as das amostras expostas a 1, 2 e 3 kGy e mesmo entre as populações da amostra exposta a 1 kGy e as das expostas a 2 e 3 kGy (Tabela 5).

Tabela 5: Comportamento da população (log UFC/g) de *Listeria monocytogenes* inoculada em amostras de agrião orgânico minimamente processado, sobreviventes ao processo de irradiação, durante o armazenamento a 7°C por 16 dias.

Dose (kGy)	Tempo (dias)				
	0	9	12	14	16
Controle	5,89 A*a**	5,68 Aa	5,69 Aa	6,02 Aa	5,97 Aa
1	1,37 Bb	1,26 Bb	1,53 Bb	1,77 Bb	2,66 Bb
2	0,38 Cc	0,41 Cc	0,53 Cc	0,29 Cc	0,27 Cc
3	0,00 Cd	0,00 Cd	0,00 Cd	0,26 Cd	0,00 Cd

*Em uma mesma coluna, duas medianas seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5%.

**Em uma mesma linha, duas medianas seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5%.

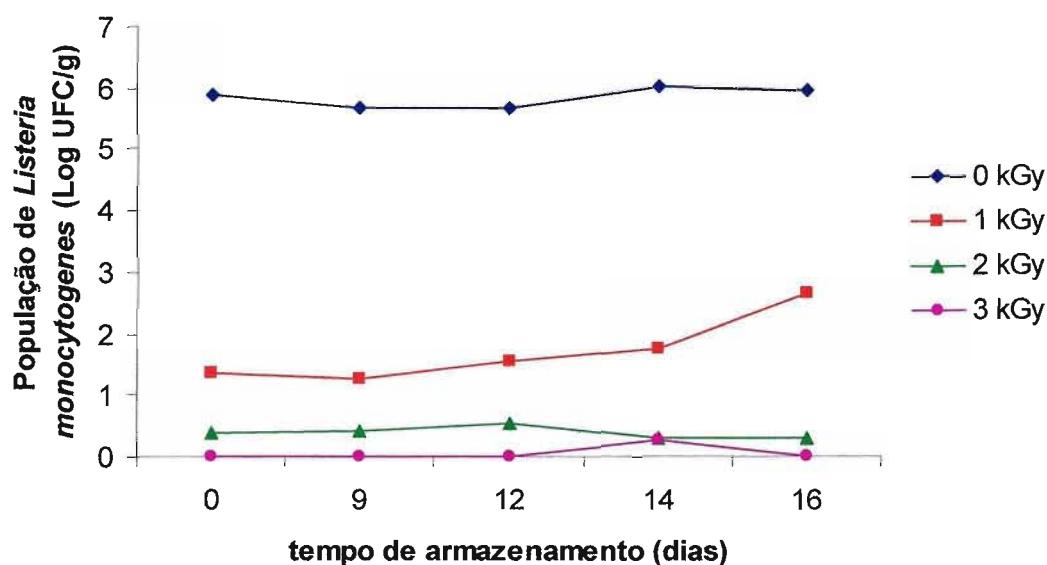


Figura 9: Comportamento de *Listeria monocytogenes* em agrião orgânico minimamente processado exposto à radiação gama durante 16 dias e mantido sob refrigeração (7°C).

No caso da população de *Salmonella* spp, a amostra controle e as irradiadas com 1 kGy e 2 kGy tiveram um aumento da população de aproximadamente, 0,35, 1,15 e 0,52 ciclos logarítmicos (Tabela 6 e Figura 10), respectivamente, durante a vida-de-prateleira sob refrigeração. Quando exposta a 3 kGy, a população foi reduzida para níveis não detectáveis pelo método empregado desde o dia zero (Tabela 6 e Figura 10).

Verificou-se que há diferença na população de *Salmonella* spp entre os níveis de dose de irradiação ($p < 0,05$) em cada tempo de avaliação, no entanto, como ocorrido para *L. monocytogenes*, não foi detectada diferença significativa na população de *Salmonella* spp entre os dias avaliados para cada dose aplicada ($p > 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6: Comportamento da população (log UFC/g) de *Salmonella* spp inoculada em amostras de agrião orgânico minimamente processado, sobreviventes ao processo de irradiação, durante o armazenamento a 7°C por 16 dias.

Dose (kGy)	Tempo (dias)				
	0	9	12	14	16
Controle	6,21 A*a**	6,04 Aa	5,93 Aa	5,87 Aa	6,56 Aa
1	0,82 Bb	1,82 Bb	2,01 Bb	1,85 Bb	1,97 Bb
2	0,21 Cc	0,00 Cc	0,00 Cc	0,21 Cc	0,73 Cc
3	0,00 Cd	0,00 Cd	0,00 Cd	0,00 Cd	0,00 Cd

*Em uma mesma coluna, duas medianas seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5%.

**Em uma mesma linha, duas medianas seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si no nível de significância de 5%.

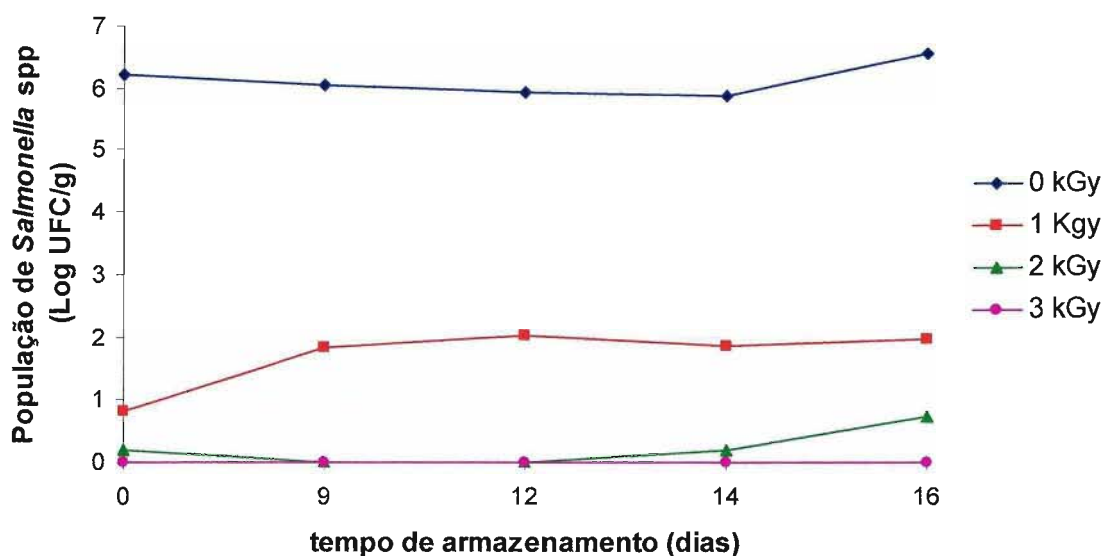


Figura 10: Comportamento de *Salmonella* spp em agrião orgânico minimamente processado exposto à radiação gama durante 16 dias e mantido sob refrigeração (7°C).

Esses resultados estão de acordo com os relatados por Dhokane et al. (2006) que também não observaram a multiplicação a de *S. Typhimirium* e de *L. monocytogenes* a 10°C, após 8 dias de armazenamento em amostras de cenoura e repolho irradiadas com 2 kGy.

O comportamento da população de *L. monocytogenes*, durante a vida-de-prateleira do alimento estudado, é diferente do encontrado por Niemira et al. (2005) em chicória minimamente processada irradiada pois a população desse microrganismo recuperou-se ao longo dos 19 dias de armazenamento a 4°C para as amostras expostas a 0,3 e 0,6 kGy. Em endívia, as populações remanescente de *L. monocytogenes* da exposição a 0,4 multiplicaram ao longo de 19 dias de armazenamento a 2°C enquanto a exposição a 0,8 kGy reduziu para níveis não detectáveis a população inoculada (Niemira et al., 2003)

Os nossos resultados também concordam com os relatados por Bari et al. (2005) que concluíram que a dose de 1 kGy foi eficiente para reduzir a população de *L. monocytogenes* entre 4 e 5 log em diferentes hortaliças (brócolis, broto de feijão, tomate e repolho). Contudo, somente em broto de feijão a população de *L. monocytogenes* aumentou no 3º e 7º dia ou manteve-se constante durante a estocagem por 10 dias a 4°C.

Foley et al. (2002) verificaram que a exposição de alface americana minimamente processada a 0,5 kGy reduziu 5,4 logs a população de *E. coli* O157:H7 e este microrganismo não foi detectado após 7 dias de armazenamento.

Muitas vezes comparamos os nossos resultados com os de outros autores porém este fato é complicado pois há uma grande variabilidade entre os experimentos realizados como: condições ambientais, espécies e cultivares de vegetais e seu grau de maturidade fisiológica, diferentes cepas do microrganismo, delineamento

experimental além de diferentes metodologias analíticas (Delaquis et al., 2007).

4.3. Análise de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico nas amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva (campo, após transporte para a indústria, pós processamento mínimo e pós irradiação) e durante 16 dias de armazenamento a 7°C

Os vegetais pertencentes à família das Crucíferas são de grande importância em nutrição por serem importantes fonte de vitamina C.

No período de coleta no campo a concentração de vitamina C variou de 35,9 mg/100g a 56,5 mg/100g, nas amostras coletadas após transporte para a indústria essa concentração variou de 41,9 a 68,9 mg/100g e após o processamento mínimo a variação foi de 43,3 a 63 mg/100g por um período de um ano. O processo de irradiação parece não ter causado grandes alterações. Assim, amostras expostas a 1 kGy apresentaram concentrações que variaram de 40,2 a 65,6 mg/100g, nas expostas a 2 kGy essas concentrações estiveram entre 37,5 e 66,9 mg/100g e nas expostas a dose de 3 kGy apresentaram variação de 45,8 a 73,2 mg/100g no mesmo período citado (Tabela 7).

Ao longo das etapas de processamento, a concentração de ácido ascórbico variou, respectivamente, de 19,8 a 43,8 mg/100g na etapa de colheita, de 36,5 a 57,4 mg/100g após transporte para a indústria, de 32,5 a 53,1 após o processamento mínimo, de 35,3 a 57,5 para a dose de 1 kGy, de 34,7 a 56,5 para a de 2 kGy e de 21,9 a 54,6 para a de 3 kGy para as amostras colhidas no período de um ano (Tabela 7).

As concentrações de ácido dehidroascórbico também variaram conforme as diferentes etapas de processamento do seguinte modo: 2,8 a 14,3 mg/100g para colheita, 4,5 a 18,3 mg/100g após transporte para a indústria, 7,7 a 15,0 mg/100g para o processamento mínimo, 4,2 a 11,1 para 1 kGy, 5,4 a 10,4 para 2 kGy e de 5,5 a 11,3 para 3 kGy, ao longo do período estudado (Tabela 7).

Tabela 7: Variação no teor de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico em amostras de agrião orgânico ao longo da cadeia produtiva.

Etapas de processamento	Vitamina C Total (mg/100g)	Ácido Ascórbico (mg/100g)	Ácido Dehidroascórbico (mg/100g)
Colheita	31,5 – 56,5	19,8 – 43,8	2,8 – 14,3
Pós transporte - indústria	41,9 – 68,9	36,5 – 57,4	4,5 – 18,3
Pós Processo	43,3 – 63,0	32,5 – 53,1	7,7 – 15,0
Mínimo			
1 kGy	40,2 – 65,6	35,3 – 57,5	4,2 – 11,1
2 kGy	37,5 – 66,9	34,7 – 56,5	5,4 – 10,4
3 kGy	45,8 – 73,2	21,9 – 54,6	5,5 – 11,3

Através da Tabela 8 e Figura 11 observamos que todas as amostras analisadas apresentaram redução na concentração de vitamina C ao longo dos 16 dias de armazenamento a 7°C.

No dia 0, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a amostra controle e a exposta a 3 kGy porém as amostras expostas a 1 e 2 kGy diferiram das demais.

Não houve diferença significativa entre a amostra controle e a exposta a 1 kGy, para o 9° dia de armazenamento a 7°C. Já as amostras expostas a 2 e 3 kGy diferiram significativamente ($p \leq 0,05$).

No 12° dia de armazenamento, todas as amostras analisadas diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$) enquanto no 14° dia não houve diferença significativa entre a amostra controle e a exposta a 1 kGy assim como entre as outras amostras para o armazenamento a 7°C.

No 16° dia, apenas a amostra exposta a 2 kGy diferiu significativamente das demais amostras.

Todas essas diferenças podem, provavelmente, ser explicadas se considerarmos as diferenças fisiológicas entre as amostras analisadas.

Tabela 8: Teor de vitamina C em amostras de agrião minimamente processado expostas a diferentes doses de irradiação e armazenadas a 7°C durante 16 dias.

Dose (kGy)	Tempo (dias)				
	0	9	12	14	16
Controle	66,2Eb	42,9Cc	51,3Dd	33,3Bb	25,0Aa
1	53,6Ea	41,7Dc	39,9CDc	34,3BCb	25,8Aa
2	75,5Ec	31,8Db	28,3BCDb	17,1Aa	30,3CDb
3	66,5Db	27,6Ca	23,5BCa	21,4ABa	24,0BCa

*Em uma mesma coluna, duas médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si (nível de significância de 5%).

**Em uma mesma linha, duas médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem entre si (nível de significância de 5%).

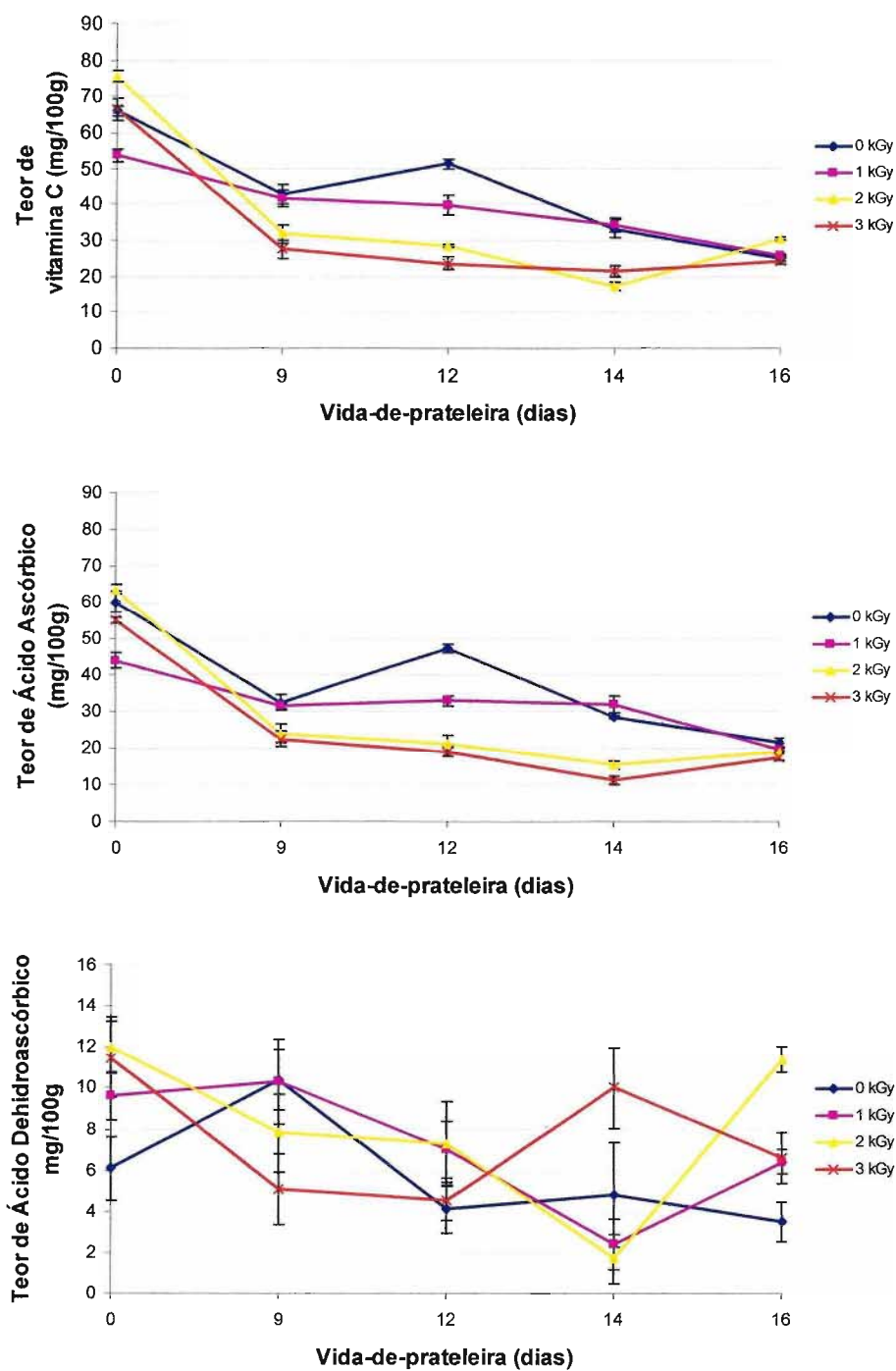


Figura 11: Variação nos teores de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico em amostras de agrião orgânico expostas a 1, 2 e 3 kGy e amostra controle ao longo da vida-de-prateleira a 7°C.

Os resultados aqui apresentados estão de acordo com os da literatura uma vez que houve redução na concentração de vitamina C ao longo dos 16 dias de armazenamento a 7°C. Eles concordam com os obtidos por Lu et al. (2005), na China, para as amostras de aipo irradiadas com 0,5; 1,0 e 1,5 kGy. Neste trabalho, tanto as amostras de aipo irradiadas como as não irradiadas apresentaram redução na concentração de vitamina C ao longo de 9 dias de armazenamento. Graham & Stevenson (1997), na Inglaterra, também verificaram que as concentrações de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico em batatas foram influenciadas pela irradiação, armazenamento e cozimento apresentando decaimento na sua concentração.

A quantidade de vitamina C encontrada no nosso trabalho está de acordo com relatos para outros vegetais como repolho, brócolis, couve flor e couve de bruxelas que apresentaram concentrações entre 40,6 a 107 mg/100g (Sikora et al., 2008), na Polônia, e em repolho chinês, couve flor, repolho, couve de bruxelas e brócolis cuja concentração variou de 9,66 a 52,9 mg/100g, conforme relato de Singh et al. (2007).

Segundo Martínez-Sánchez et al. (2008), a concentração de vitamina C na família *Brassicaceae* pode variar de 64 a 104 mg/100g. Em estudo realizado com agrião e outros vegetais de folhas verdes entre eles rúcula foi observado maior concentração de vitamina C no agrião (104 mg/100g) seguido pela “wild rocket” (103 mg/100g) e salada de rúcula (80 mg/100g).

Os nossos resultados estão de acordo com os obtidos por Zhang et al. (2006) concordam com os nossos uma vez que constataram a redução de vitamina C em amostras de alface picada expostas a 1,5 kGy, ao longo de 9 dias de armazenamento a 4°C. No entanto, Hajare et al. (2007) e Bari et al. (2004) verificaram não ter havido perda significativa de vitamina C em grão de bico e broto de ervilha irradiados com 1 e 2 kGy e armazenados por 12 dias a 4°C e em broto de rabanete irradiado com 1 e 2 kGy e armazenados por 3 dias a 4°C. Nesse Bari et

al. (2004), porém, verificaram a perda no teor dessa vitamina em broto de feijão irradiado.

As variações encontradas na presente pesquisa podem ser explicadas pelos seguinte fatores:

- a quantidade de ácido ascórbico pode variar dependendo de vários fatores, intrínsecos (variações genéticas) e extrínsecos (temperatura, umidade) além das diferentes metodologias de amostragem (Lee & Kader, 2000);
- o grau de maturação na colheita é fator de influência na quantidade de ácido ascórbico. Por razões econômicas, os estágios mais verdes são os mais indicados, por apresentarem firmeza suficiente para melhor tolerarem o transporte, manuseio e armazenamento comumente utilizados, diminuindo a ocorrência de injúrias que, por sua vez, levam à diminuição do conteúdo de ácido ascórbico (Lee & Kader, 2000; Watada, 1987);
- o conteúdo vitamínico fica suscetível a modificações após a colheita, uma vez que os tecidos continuam seus processos fisiológicos (Lee & Kader, 2000; Watada, 1987);
- os radicais livres, os peróxidos e as carbonilas formados durante o processo de irradiação podem reagir com as vitaminas e assim alterar a sua concentração (Klein, 1987).

4.4. Avaliação sensorial

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, a população desta cidade pode ser considerada um bom representante da população do País.

O perfil dos entrevistados sobre a aceitação e intenção de alimentos irradiados pode ser visto na Tabela 9.

Tabela 9: Perfil dos consumidores participantes do estudo.

Características	%
Sexo	
masculino	47,3%
Feminino	51,7%
Faixa etária	
18 -29 anos	37,3%
30 -39 anos	26,7%
40 -49 anos	21,6%
50 - 60 anos	14,4%
Classe social	
A	11%
B	35,6%
C	14,4%
Grau de Escolaridade	
Analfabeto/primário incompleto	2,1%
Primário completo/ginásio incompleto	15,3%
Ginásio completo/colégio incompleto	13,4%
Colégio completo/superior incompleto	47%
Superior completo	21,2%

Pode-se observar que a maioria dos entrevistados encontra-se na faixa etária de 18 a 39 anos (64%), 50% pertencem às classes B e C e conseqüentemente, com menor nível educacional (até o segundo grau completo – 77,8%).

Vários estudos (Thayer, 1999; Hagenmaier & Baker, 1997; Prakash et. al.,2000) indicam que a irradiação de alimentos pode provocar alteração dos atributos sensoriais dos alimentos, dependendo da dose aplicada. Em alguns casos, dependendo da variedade do vegetal, há uma melhora das características e em outros ocorre perda de qualidade. Em cenoura, a radiação melhorou a cor e o sabor, porém a textura ficou comprometida, quando comparada com o tratamento com solução clorada (Cervin & Boisseau, 1994). A alteração da textura está associada à degradação da pectina provocada pela radiação (Yu et al., 1996).

Na Tabela 10, observa-se que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre a amostra controle e a irradiada para o grupo de consumidores que receberam informação sobre o processo de irradiação e amostra identificada. A média de aceitação foi de 5,9 e 6,2 para a amostra controle e irradiada, respectivamente. O mesmo foi observado para o grupo de provadores que receberam as amostras não identificadas com média de aceitação de 6,9 e 6,0 para a amostra controle e irradiada, respectivamente.

Os provadores que não receberam o folder mas receberam a amostra identificada não perceberam diferença significativa entre a amostra controle e a irradiada (6,7 e 6,2, média de aceitação para a amostra controle e irradiada, respectivamente). Fato semelhante foi observado para o grupo que não recebeu as amostras identificadas. Neste caso, a média de aceitação foi de 6,3 para a amostra controle e 6,8 para a amostra irradiada.

Tabela 10: Aceitação* média (controle/irradiada 2kGy) separada por condições de identificação e informação sobre as amostras.

	Identificada	Não identificada
Informação sobre irradiação	5,9/6,2	6,9/6,0
Sem informação sobre irradiação	6,7/6,2	6,3/6,8

*Valores expressos em escala hedônica híbrida de 10cm (0= desgostei muitíssimo; 5 = não gostei, nem desgostei; 10 = gostei muitíssimo)

$F_{\text{identificação}} = 0,514$ ($p=0,47$), $F_{\text{informação}} = 0,718$ ($p=0,39$),

$F_{\text{informação} \times \text{identificação}} = 0,370$ ($p=0,543$)

Conclusões semelhantes foram obtidas sobre a intenção de compra. Embora a intenção de compra da amostra irradiada identificada, porém sem o efeito da informação sobre a tecnologia de irradiação, tenha sido ligeiramente inferior às demais médias, não se observou diferença significativa ($p \geq 0,05$). Assim, a identificação da amostra irradiada e a informação não tiveram efeito sobre a intenção de compra do agrião irradiado (Tabela 11).

Tabela 11: Intenção de compra* média (controle/irradiada 2kGy) separada por condições de identificação e informação sobre as amostras.

	Identificada	Não identificada
Informação sobre irradiação	6,1/6,4	6,4/6,0
Sem informação sobre irradiação	6,2/5,4	6,4/6,5

*Valores expressos em escala de 11 pontos (0 = certamente não compraria; 5 = talvez compraria, talvez não compraria; 10 = certamente compraria).

$F_{\text{identificação}} = 0,514$ ($p=0,47$), $F_{\text{informação}} = 0,718$ ($p=0,39$), $F_{\text{informação} \times \text{identificação}} = 0,370$ ($p=0,543$)

Os comentários relatados pelos provadores foram diversificados mas o mais comentado foi o sabor picante e ardente das amostras (controle e irradiada), independente da condição do teste.

Em relação à condição do teste, alguns comentários considerados por nós como relevantes são citados a seguir:

- sem informação sobre irradiação:
 - amostra controle/não identificada: “caso ocorra melhor aproveitamento de vitaminas compraria o produto”.
 - amostra irradiada/não identificada: “se for realmente modificado para melhor aproveitamento de vitaminas poderia comprá-lo”.
- informação sobre irradiação:
 - amostra controle/não identificada: “a tecnologia é importante já que aumenta a vida útil do produto”; “teria que se ampliar e divulgar melhor a tecnologia pois as pessoas poderiam temê-la além da fiscalização incorreta dos órgãos públicos”; “mesmo lendo o folder e sabendo que não faz mal continuo com medo da irradiação”; “caso a tecnologia seja comprovada, não vejo motivos para não comprar o produto”; “qualidade é o que importa e temos a confiança de pesquisadores da USP”.
 - amostra irradiada/não identificada: “compraria, dependendo do valor agregado”; “ondas de radiação fazem mal a saúde”; “ficar livre de bactérias é muito bom, portanto aprovo a tecnologia”.
 - amostra irradiada/identificada: “para controle bacteriológico estou apto a modificações”; “talvez por desconhecimento a fundo dos processos envolvidos, teria dúvida em comprar, além do símbolo indicando produto à base de irradiação”; “compraria porque é orgânico além de fazer bem a saúde”; “se o processo de irradiação se mostrar eficiente e seguro para o consumo humano seria até melhor consumir alimentos sem microrganismos”; “a alteração do sabor está associado ao

grau de irradiação mas se não fizer mal a saúde não vejo problema algum”.

Além da qualidade sensorial, outros aspectos devem ser considerados no lançamento de um produto irradiado no mercado. Preferências alimentares, cultura, experiências, preço, marca, embalagem, publicidade e informações de rótulo, entre outros, podem influenciar as escolhas do consumidor através da geração de expectativas no indivíduo (Cardello, 1994). De acordo com Deliza & MacFie (1996), na hora da compra, se a expectativa do consumidor for baixa, o produto terá grandes chances de ser ignorado por ele/ela. Por outro lado, se essa expectativa for alta, o produto terá grande possibilidade de ser adquirido. Sob este ponto de vista, a informação sobre um alimento irradiado deve ser devidamente direcionada ao consumidor, de forma a informá-lo sobre a segurança do produto à sua saúde e os benefícios do processo à qualidade do alimento procurando, assim, diminuir a percepção de risco. O trabalho de educação do consumidor é especialmente importante quando o indivíduo tem uma atitude negativa ou percebe algum risco no consumo devido à falta de informação sobre o produto (Lyman, 1989).

Ornellas et al. (2006) realizaram um levantamento sobre o nível de conhecimento e aceitação da irradiação de alimentos, na cidade de Belo Horizonte (MG), bem como para esclarecer o consumidor sobre o real conceito da irradiação de alimentos. Os resultados indicaram que 59,6% dos entrevistados não sabiam que a irradiação é um método de conservação de alimentos e não souberam responder se consumiriam produtos irradiados, 16% acreditam que alimentos irradiados significam o mesmo que alimentos radioativos. Além disso, 89% dos entrevistados consumiriam alimentos irradiados se soubessem que a irradiação aumenta a segurança alimentar.

Estudos de atitude e testes de compra demonstram que, quando a oportunidade é oferecida, os consumidores aceitam alimentos

irradiados. A maioria não tem tido essa opção e seus conhecimentos são limitados sobre essa tecnologia (Bruhn, 1995).

Os resultados desta pesquisa estão de acordo com os relatados por Nunes et al. (2008) que concluíram que tanto as amostras de rúcula não irradiada como as irradiadas (2 e 4 kGy) foram aceitas sensorialmente por 50 provadores não treinados da Universidade de São Paulo.

Martins et al (2008) realizaram um estudo semelhante ao da presente pesquisa mas com abacaxi e melancia minimamente processados e irradiados. As frutas minimamente processadas e submetidas ao processo de irradiação foram aceitas sensorialmente nas doses de 1 e 2,5 kGy. Apesar de não ter sido observada diferença significativa entre a intenção de compra de melancia irradiada e de não irradiada, os resultados sugeriram que ainda há certa relutância do consumidor em adquirir um alimento irradiado motivada, sobretudo, pela falta de informação quanto ao processo da irradiação e sua segurança.

Hajare et al. (2007) também não encontraram diferenças entre as amostras de grão de bico irradiadas com 1 e 2 kGy. O mesmo ocorreu quando expuseram abacaxi a 2 kGy (Hajare et al., 2006b).

Martins et al. (2007) não encontraram diferença significativa na aceitabilidade inicial de agrião minimamente processado irradiado com 1, 3 e 4 kGy, assim como Fan et al. (2003) que não observaram diferença significativa na qualidade global de amostras de cebolinha irradiadas com 1, 2 e 3 kGy.

Fox (2002) discute vários estudos realizados nos Estados Unidos nas últimas décadas que mostram a necessidade de informação adequada do consumidor sobre os benefícios e a segurança de alimentos irradiados. A maioria dos consumidores norte-americanos que participou desses estudos desconhecia o emprego de radiação em alimentos. Quando questionados sobre a intenção de compra de algum produto

irradiado tendiam a buscar mais informação sobre o mesmo. Após serem informados sobre os benefícios e a segurança do processo, e de provar algum produto irradiado, os consumidores desenvolveram uma atitude positiva e mostraram maior intenção de compra (Bruhm & Noell, 1987; Resurrecion et al., 1995; Frenzen et al, 2001). Esses trabalhos evidenciam o poder da informação positiva, seja ela escrita ou audiovisual, na modificação positiva da atitude do consumidor em relação à tecnologia de irradiação.

Este estudo sobre a opinião do consumidor em relação ao alimento irradiado pode ser considerado inédito em nosso país tendo, em vista a metodologia empregada e o número de participantes.

5. Conclusões

Os resultados obtidos nas condições deste estudo permitem concluir que:

- o agrião (*Nasturtium officinale*) orgânico minimamente processado apresenta risco potencial para o consumidor devido às condições de cultivo e às limitações do processamento mínimo que não garante a redução das populações de microrganismos indicadores para níveis considerados seguros quando se utiliza ozônio na concentração de 0,08 ppm na etapa de sanitização.
- o processo de irradiação mostrou ser factível para melhorar a inocuidade de agrião orgânico minimamente processado.
- a temperatura de refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) foi eficiente para controlar a multiplicação das populações remanescentes de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp em agrião exposto à irradiação durante o período de armazenamento – 16 dias.
- as concentrações de ácido ascórbico, ácido dehidroáscorbico e de vitamina C variaram em todas as etapas de processamento do agrião orgânico minimamente processado independentemente do processo de irradiado.
- os teores de vitamina C decaíram ao longo de 16 dias de armazenamento a 7°C , independentemente do tratamento aplicado.

- o conhecimento ou não do processo de irradiação pelo consumidor não prejudica a aceitação e a intenção de compra do produto irradiado.

Portanto, o processo de irradiação visando a melhoria da qualidade de agrião orgânico é factível desde que sejam seguidas as Boas Práticas Agrícolas, as Boas Práticas de Produção e as Boas Práticas do Processo de Irradiação.

Referências Bibliográficas

ABEP - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa 2003 . Dados com base no Levantamento Sócio Econômico - 2000 IBOPE. Acessado em: 03 de março de 2008. Disponível em: <http://www.abep.org>.

ALLENDE, A.; AGUAYO, E.; ARTÉS, F. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. **Int. J. Food Microbiol.**, v.91, p. 109-117, 2004.

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

Ascom Epagri. SC: produção orgânica cresce no Estado. Acessado em: 09 de julho de 2008. Disponível em: http://paginarural.com.br/noticias_detalhes.php?id=88497

AYCICEK, H.; OGUZ, U.; KARCI, K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten from wholesalers in Ankara, Turkey. **Int. J. Hyg. Environ-Health.**, v. 209, p. 197-201, 2006.

BARI, M. L.; AL-HAQ, M. I.; KAWASAKI, T.; NAKAUMA, M.; TODORIKI, S.; KAWAMOTO, S.; ISSHIKI, K. Irradiation to kill *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on ready-to-eat radish and mung bean sprouts. **J. Food Prot.**,v. 67, n.10, p.2263-2268, 2004.

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. **J. Food Prot.**, v.68, n.2, p. 318-323, 2005.

BARRETO, A. M. M.; JESUS, J.L.; COSTA, M. A.; PEREIRA, U. L. T.; BORGES, C. A. M. Quantificação de coliforme fecal e ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em hortaliças folhosas consumidas in natura produzidas comercialmente em Feira de Santana-Ba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22, Florianópolis, 2003. **Programa e resumos**. São Paulo: SBM, 2003. p.154.

BAUERNFEIND, J. C. Vitamins. In: PETERSON, M. S.; JOHNSON, A. H. eds. **Encyclopedia of Food Science**. Wetsport: Avi Publishing Co., 1978. p.788-794, 838-841.

BEUCHAT, L. R. *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. **Food Control**, v 7, n°4/5, p. 223-228, 1996.

BEUCHAT, L. R. Standardization of methods to determine the efficacy of disinfection for raw fruits and vegetables. In: TUIJTELAARS et al., (eds) **Food Microbiology and Food safety into the next millennium. Proceedings of 17th International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH)**, Vindhoven, The Netherlands, 13-17, September, 1999, p. 785-786.

BORGUINI, R. G.; OETTERER, M.; SILVA, M. V. Qualidade nutricional de hortaliças orgânicas. **Bol. SBCTA**, Campinas, v.37, n. 1, p. 28-35, 2003.

BRACKETT, R. E. Microbiological safety of chilled foods current issues. **Trends Food Science & Technology**, n.3, p. 81-85, 1992.

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

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n°21, de 26 de janeiro de 2001.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº6.323, de 27 de dezembro de 2007. Acessado em 20 de junho de 2008. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/PRODUTOS_ORGANICOS/AO_LEGISLACAO/DECRETO%206323.PDF

BRIXIUS, L. Orgânicos certificados. Acessado em 29 de abril de 2008. Disponível em: http://www.paginarural.com.br/colunas_detalhes.asp?subcategoriaid=14&id=629

BRUHM, C., NOELL, J. W. Consumer in-store response to irradiated papaya. **Food Technol**, v. 41, n. 9, p.83-85, 1987.

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

CABRAL, A. C. D.; FERNADES, M. H. C. Aspectos gerais sobre a vida-de-prateleira de produtos alimentícios. **Boletim do Ital**, v. 17, n.4, p. 371-439, 1980.

CARDELLO, A.V. Consumer expectations and their role in food acceptance. In: MacFIE, H.J.H.; THOMSON, D.M.H. (Ed.) **Measurement of Food Preferences**. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1994. p.253-291.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Foodborne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* – Rhode Island and New Hampshire, 1993. **Morb. Mort. Wkly. Rep.**, Atlanta, v.43, p.81, 87-88, 1994.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Outbreak of *Salmonella* serotype Kottbus infections associated with eating alfafa sprouts – Arizona, California, Colorado, and New Mexico, February – April 2001. **Morb. Mort. Wkly. Rep.**, Atlanta, v.51, p.7-9, 2002.

CHAGAS, S. D.; IARIA, S. T.; CARVALHO, J. P. P. Bactérias indicadoras de poluição fecal em águas de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal – Estados do Rio Grande do Norte (Brasil). **Rev Saude Publica.**, v. 15, p. 629-642, 1981.

CHAUDRY, M. A.; BIBI, N.; KHAN, M.; KAHN, M.; BADSHAH, A.; QURESHI, M. J. Irradiation treatment of minimally processed carrots for ensuring microbiological safety. **Radiat. Phys. Chem.**, v.71, p. 169-173, 2004.

CHERVIN, C.; BOISSEAU, P. Quality maintenance of “ready-to-it” shredded carrots by gamma irradiation. **J. Food Sci.**, v.59, n.2, p.359-361, 1994.

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

CHRISTÓVÃO, D. A. **Contaminação de alface (*Lactuca sativa*) por microrganismos de origem fecal: estudo de métodos bacteriológicos para sua determinação, medida de sua intensidade na cidade de São Paulo e eficiência de alguns tratamentos na sua redução.** São Paulo, 1958. – Tesede Cátedra – Faculdade de Higiene e Saúde Pública – Universidade de São Paulo.

CLEMENTE, E. S. Caracterização química, nutricional, física e sensorial de dois cultivares de Brócolis (*Brassica oleracea L. var. itália Baron e Brassica oleracea L. var. itálica* ramoso- Piracicaba): um estudo de vida-de-prateleira. **Tese de Mestrado da Universidade Estadual de Campinas, 1998.**

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

CRUZ, A. G.; CENCI, S. A.; MAIA, M. C. A. Pré-requisitos para implementação do sistema APPCC em uma linha de alface miniamenminimamente processada. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n.1 p. 104-109, jan/mar., 2006.

DALLAIRE, R.; LeBLANC, D. I.; TRANCHANT, C. C.; VASSEUR, L.; DELAQUIS, P.; BEAULILEU, C. Monitoring the microbial populations and temperatures of fresh broccoli from harvest to retail display. **J. Food Prot.**, v. 69, n.5, p. 1118-1125, 2006.

DAREZZO, H. M. Determinação de composição gasosa e sistemas de embalagens adequadas para conservação de alface americana "LORCA" minimamente processada. 2004, 171 p. Tese (Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração Tecnologia pós-colheita) – Faculdade de Engenharia Agrícola – Universidade Estadual de Campinas.

DAVIES, M. B.; AUSTIN, J.; PARTRIGE, D. A. **Vitamin C: in chemistry and biochemistry**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. p.7-25 e 74-82.

DELAQUIS, P.; BACH, S.; DINU, L-D. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in leafy vegetables. **J. Food Prot.**, v. 70, n.8, p. 1966-1974, 2007.

DELIZA, R.; MacFIE, H. J. H. The generation of sensory expectation by external cues and its effect on sensory perception and hedonic ratings: a review. **J Sens Stud**, v.11, p. 103-128, 1996.

DeWAAL, C. S.; BHUIYA, F. Outbreaks by the numbers: fruits and vegetables 1990-2005. Center For Science in the Public Interest, Washington, DC 20009. Acessado em 28 de agosto de 2007. Disponível em: <http://www.csipnet.org/foodsafety/IAFPPOSTER.pdf>

DHOKANE, V. S.; HAJARE, S.; SHASHIDHAR, 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 *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, v.69, n.2, p. 444-448, 2006.

DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods**. 2nd ed. Marcel Dekker, 1995.

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. **J. Food Sci.**, v.68, n.4, p.1478-1483, 2003.

FANTUZZI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.24, n.2, p. 207-211, 2004.

FAO/OMS. **El codex alimentarius:** Directrices para la producción, elaboración, etiquetado y comercialización de alimentos producidos orgánicamente, www.fao.org. 1999.

FELT, W. F. Naturally occurring biofilms on alfafa and other types of sprouts. **J. Food Prot.**, v.63, n. 5, p. 625-632, 2000.

FOLEY, D. M.; DUFOUR, A.; RODRIGUEZ, L.; CAPORASO, F.; PRAKASH, A. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in shredded iceberg lettuce by chlorination and gamma irradiation. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 63, p. 391-396, 2002.

FOLEY, D.; EUPER, M.; CAPORASO, F.; PRAKASH, A. Irradiation and chlorination effectively reduces *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on cilantro (*Coriandrum sativum*) without negatively affecting quality. **J. Food Prot.**, v. 67, n. 10, p. 2092-2098, 2004.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA statement on foodborne *E. coli* O157:H7 outbreak in spinach. outubro 2006. Disponível em: <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2006/NEW01486.html>. Acessado em: 21 janeiro 2007.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Update: *E. coli* O157:H7 outbreak at Taco Bell Restaurants likely over FDA traceback investigation continues. dezembro 2006. Disponível em: <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2006/NEW01527.html>. Acesso em: 21 janeiro 2007.

FOX, J. A. Influences on purchase of irradiated foods. **Food Technol**, v. 56, n. 11, p.34-37, 2002.

FRANCIS, G. A.; O'BEIRNE, D. Isolation and pulsed-field gel electrophoresis typing of *Listeria monocytogenes* from modified atmosphere packaged fresh-cut vegetables collected in Ireland. **J. Food Prot.**, v. 69, n.10, p. 2524-2528, 2006.

FRENZEN, P. D.; DeBESS, E. E.; HEACHEMY, K. E.; KASSENBORH, H.; KENNEDY, M.; McCOMBS, K.; McNESS, A.; FOODNET WORKING GROUP. Consumer acceptance of irradiated meat and poultry in the United States. **J. Food Prot.**, v. 64, n. 12, p.2020-2026, 2001.

FRÖDER, 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. **J. Food Prot.**, v.70, p. 1277-1280, 2007.

FRY, S. C. Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. **Biochem. J.**, v.332, p.507-515, 1998.

FSNET 2007 Jan. 11/07 II. FSAI product recall: florette watercress and florette spinach, watercress & rocket. Disponível em: http://archives.foodsafetynetwork.ca/fsnet/2007/1-2007/fsnet_jan_11-2.htm#story1. Acessado em 12 de janeiro de 2007.

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T.; OLIVEIRA, I. R.; ZAMBONI, C. Q.; PACHECO, J. A.; SPITERI, N. Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas no Estado de São Paulo, Sp, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.39, p.37-43, 1979.

GOULARTE, L. **Aplicação de processos combinados – processamento mínimo e radiação ionizante (Co⁶⁰) – 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. W.; LANDGRAF, M. Combination of minimal processing and irradiation to improve the microbiological safety of lettuce (*Lactuca sativa*, L.). **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, v.71, p.157-161, 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. **J. Sci. F. Agric.**, v. 75, p. 371-377, 1997.

GUIVANT, J. S. Os supermercados na oferta de alimentos orgânicos: apelando ao estilo de vida ego-trip. **Ambiente & Sociedade**, v.VI, n.2, p. 63-81, 2003.

HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Low-dose irradiation of cut iceberg lettuce in modified atmosphere packaging. **J. agric. Food Chem.**, v.45, p. 2864-2868, 1997.

HAJARE, S. N.; SAROJ, S. D.; 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. **Radiat. Phys. Chem.**, 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.

HARKALY, A. Perspectivas da agricultura orgânica no mercado internacional. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 35, 1995, Foz de Iguaçu. Anais: Foz de Iguaçu: SOB, 1995. p. 47. Apud: JUNQUEIRA, A. H.; LUENGO, R. F. A. Mercados Diferenciados de Hortaliças. Circular Técnica, Embrapa Hortaliças, outubro 1999, p. 1-7.

HITCHINS, A. D. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods (Chapter 10). In: **Bacteriological Analytical Manual Online**, January 2003.

HOWARD, L. R.; MILLER, G. A. H.; WAGNER, A. B. Microbiological , chemical, and sensory changes in irradiated pico de gallo. **J. Food Sci.**, v.60, n.3, p. 461-464, 1995.

JAKABI, M.; GELLI, D. S.; TORRE, J. C. M. D.; RODAS, M. A. B.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Inactivation by ionizing radiation of *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Infantis, and *Vibrio parahaemolyticus* in oysters (*Crassostrea brasiliiana*). **J. Food Prot.**, v.66, n.6, p. 1025-1029, 2003.

JOHNSTON, L. M.; JAYKUS, L.A.; MOLL, D.; ANEISO, J.; MORA, B.; MOE, C. L. A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 112, p. 83-95, 2006.

JOHNSTON, L. M.; JAYKUS, L-A.; MOLL, D.; MARTINEZ, M. C.; ANCISO, J.; MORA, B.; MOE, C. L. A field study of the microbiological quality of fresh produce. **J. Food Prot.**, v. 68, n.9, p. 1840-1847, 2005.

KAMAT, A.; PINGULKAR, K.; BHUSHAN, B.; GHOLAP, A.; THOMAS, P. Potential application of low dose gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. **Food Control.**, v.14, p. 529-537, 2003.

KANG, D. H.; FUNG, D. Y. C. Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, v. 62, n. 11, p. 1346-1349. 1999.

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

KERR, G.; BIRKENHEAD, D.; SEALE, K.; MAJOR, J.; HAWKEY, P. M. Prevalence of *Listeria* spp. on the hands of food workers. **J. Food Prot.**, v.56, p. 525-527, 1993.

KING, A. D.; BOLIN, H. R. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technol.**, p. 132-139, 1989.

KLEIN, B. P. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. **J. F. Qual.**, v. 10, p.179-193, 1987.

KONDO, N.; MURATA, M.; ISSHIKI, K. Efficiency of sodium hypochlorite, fumaric acid, and mild heat in killing native microflora and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT 104, and *Staphylococcus aureus* attached to fresh-cut lettuce. **J. Food Prot.**, v. 69, n.2, p. 323-329, 2006.

KORNACHI, 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, S.; ISOBE, S. Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **J. Food Prot.**,v.69, n.1, p. 154-160, 2006.

LACROIX, M.; OUTARRA, B. Combined industrial processed with irradiation to assure innocuity and preservation of food products – a review. **F. Resear. Int.**, v. 33. p. 719-724, 2000.

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

LIN, C-M.; FERNANDO, S. Y.; WEI, C. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in vegetable salads. **Food Control.**, v. 7, n.3, p.135- 140, 1996.

LONCAREVIC, S.; JOHANNESSEN, G. S.; RØRVIK, L. M.; Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. **Letters Appl. Microbiol.**, v. 41, p. 186-189, 2005.

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

LYMAN, B. **A Psychology of Food**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989.

MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M. I.; FERRERES, F. A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C, and antioxidant properties of baby leaf *Brassicaceae* species. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 2330-2340, 2008.

MARTINS, C. G.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; BEHRENS, J. H.; SOUZA, K. L. O.; VIZEU, D. M.; HUTZLER, B. W.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Acceptability of minimally processed and irradiated pineapple and watermelon among Brazilian consumers. **Radiat. Phys. Chem.**, v.77, p. 825-829, 2008.

MARTINS, C. G.; BEHRENS, J. H.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; VIEIRA, V. S.; COSTA-SOBRINHO, P. S.; VIZEU, D. M.; HUTZLER, B.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Shelf life of irradiated minimally processed (MP) watercress (*Nasturtium officinale*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 1, p.44-48, jan.-mar, 2007.

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*). **Radiat. Phys. Chem.**, v.71, p.87-91, 2004.

MARTINS, C. G.; CARLOS, R. B. O.; SOUZA, K. L. O.; COSTA-SOBRINHO, P. S.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Qualidade microbiológica de agrião (*Nasturtium officinalis*) minimamente processado e agrião *in natura*. In: XIX CONGRESSO BARSILEIRO DE

CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Recife, 2004. **Programa e resumos**, sessão 1 – alimentos e produtos de origem vegetal.

MATIN, M. A.; BHUIYA, A. D.; AMIN, M. R.; MALEK, M. A. et al. Irradiation of onions, pulses and dried fish: process control, storage, test marketing and economic analysis of the process. **IAEA – TEC DOC 871**, Vienna, Austria, p. 19-49, 1996.

McMahon, M. A. S.; WILSON, I. G. The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. **Int. J. Food Microbiol.**, v.70, p. 155-162, 2001.

MEAD, G. C.; ADAMS, B. W. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. **Br. Poult. Sci.**, Basingstoke, v.18, n.6, p.661-667, 1977.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 387p.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, M. P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American public Health Association, 2001. cap.35, p.331-341.

MINHAS, P. S.; SHARMA, N.; YADAV, R. K.; JOSHI, P. K. Prevalence and control of pathogenic contamination in some sewage irrigated vegetable, forage and cereal grain crops. **Bioresource Techn.**, v. 97, p. 1174-1178, 2006.

MORRIS, C. E.; MONIER, J.; JAQUES, M. Methods for observing biofilms directly on leaf surfaces and recovering them for isolation of culturable microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.**,v. 63, n.4, p. 1570-1576, 1997.

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.

MUKHERJEE, A.; SPEH, D.; DYCK, E.; DIEZ-GONZALEZ, F. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. **J. Food Prot.**, v.67, n.5, p. 894-900, 2004.

NGUZ, K.; SHINDANO, J.; SAMAPUNDO, S.; HUYGHEBAERT, A. Microbiological evaluation of fresh-cut 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. **J. Food Prot.**, v. 65, n. 9, p. 1388-1393. 2002.

NIEMIRA, B. A.; FAN, X.; SOKORAI, K. J. B.O.; SOMMERS, C. H. Ionizing radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* ATCC 49594 and *Listeria innocua* ATCC 51742 inoculated on endive (*Cichorium endive*). **J. Food Prot.**, v. 66, n. 6, p. 993-998, 2003.

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. **Radiat. Phys. Chem.**, v.72, p.41-48, 2005.

NUNES, T. P.; MARTINS, C. G.; BEHRENS, J. H.; SOUZA, K. L. O.; GENOVESE, M. I.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Radioresistance of *Salmonella* Species and *Listeria monocytogenes* on Minimally Processed Arugula (*Eruca sativa* Mill.): Effect of Irradiation on Flavonoid Content and Acceptability of Irradiated Produce. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, 1264-1268, 2008.

O'CONNOR-SHAW, R. E.;ROBERTS, R.; FORD, A. L.; NOTTINGHAM, S. M. Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. **J. Food Sci.**, v. 59, n. 6, p. 1202-1215, 1994.

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

OKAFO, C. N.; UMOH, V. J.; GALADINA, M. Occurrence of pathogens on vegetables harvested from soils irrigated with contaminated streams. **Sci. Total Environ.**, v. 311, p. 49-56, 2003.

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. **J. Exp. Bot.**, v.56, n.418, p.1991-2001, 2005.

PAULL, R. E. Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 15, p. 263-277, 1999.

PHILLIPS, C. A.; HARRISON, M. A.; Comparison of the microflora on organically and conventionally grown spring mix from a California processor. **J. Food Prot.**, v. 68, n. 6, p. 1143-1146, 2005.

PRAKASH, A. Effects of low-dose gamma irradiation on the shelf-life and quality characteristics of cut Romaine lettuce packaged under modified atmosphere. **J. Food Sci.**, v.65, p. 549-553, 2000.

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

RESURRECCION, A. V. A., GALVEZ, F. C. F.; FLETCHER, S. M.; MISRA, S. K. Consumer attitudes toward irradiated food: results of a new study. **J. Food Prot.**, v. 58, n. 2, p. 193-196, 1995.

RIORDAN, D. C. R.; SAPERS, G. M.; ANNOUS, B. A. The survival of *Escherichia coli* O157:H7 in the presence of *Penicillium expansum* and *Glomerella cingulata* in wounds on apple surfaces. **J. Food Prot.**, v.63, n.12, p.1637-1642, 2000.

RODGERS, S. L.; CASH, J. N.; SIDDIQ, M.; RYSER, E. T. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce,

strawberries, and cantaloupe. **J. Food Prot.**, v. 67, n.4, p. 721-731, 2004.

ROMANO, A. C. B.; MATUMOTO, R. A.; BIDÓIA, A. D.; GULHERMETTI, E.; SILVA, S. C.; SILVA, M. M. S.; OLIVEIRA, M. F.; SVIDIZINSKI, T. I. E.; HERRERO, F.; MIKCHA, J. M. G. Qualidade microbiológica de vegetais minimamente processados comercializados em Maringá-PR. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, Campinas, 2003. **Resumos**. Campinas: UNICAMP, 2003. [Desenvolvimento científico e tecnológico e a inovação na indústria de alimentos].

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Bol. SBCTA.**, v.34, n.2, p. 84-92, 2000.

ROSS, R. T.; ENGELJOHN, D. Food irradiation in the United States: irradiation as a phytosanitary treatment for fresh fruits and vegetables and for the control of microorganisms in meat and poultry. **Radiat. Phys. Chem.**, v.57, p.211-214, 2000.

RUIZ, B. G-V.; VARGAS, R. G.; GARCIA-VILLANOVA, R. Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing. **Int. J. F. Microbiol.**, v. 4, p. 285-291, 1987.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; WARD, L.; GILLESPIE, I.; MITCHELL, R. T. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. **J. Food Prot.**, v.66, n. 3, p. 403-409, 2003a.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; MITCHELL, R. T. Microbiological quality to open ready-to-eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.66, n.9, p.1581-1586, 2003b.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C.L.; MITCHELL, R. T. The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. **Letters Appl. Microbiol.**, v. 33, p. 434-439, 2001.

SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; ALCÂNTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.; RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n.2, p. 264-269, abr-jun., 2006.

SANTOS, A. F.; VIZEU, D. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Determinação da dose de radiação gama para reduzir a população de *Salmonella* spp em carne de frango. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.2, p. 200-205, 2003.

SCHANDERL, S. H. Vitamin Assay. In: **Methods in food analysis. Physical, chemical and instrumental methods of analysis**. JOSLYN, M. A. 2 ed. New York: Academic Press, 1970. p.767-769.

SCHLIMME, D. V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.15-17, 1995.

SELMA, M. V.; BELTRÁN, D.; CHACÓN-VERA, E.; GIL, M. I. Effect of ozone on the inactivation of *Yersinia enterocolitica* and the reduction of natural flora on potatoes. **J. Food Prot.**, v. 69, n. 10, p. 2357-2363, 2006.

SHEWFELT, R. L. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. **Food Technol.**, n.5, p. 70-80, 1986.

SHEWFELT, R. L. Quality of fruits and vegetables. A scientific status summary by the Institute of Food Technologists. **Food Technol**, v.44, n.6, p. 99-106, 1990.

SIGRIST, J. M M. Manuseio pós-colheita de frutas e hortaliças. In: Curso de atualização em tecnologia de resfriamento de frutas e hortaliças, 2, p. 11-18, 1998.

SIKORA, E.; CIESLIK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIEWICZ, A.; PISULEWSKI, P. M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chem.**, v.107, p. 55-59, 2008.

SIMÕES, M.; PISANI, B.; MARQUES, E. G. L.; PRANDI, M. A. G.; MARTINI, M. H.; CHIARINI, P. F. T.; ANTUNES, J. L. F.; NOGUEIRA, A. P. Hygienic-sanitary conditions of vegetables and irrigation water from kitchen gardens in the municipality of Campinas, SP. **Braz. J. Microbiol.**, v. 32, p. 331-333, 2001.

SINGH, J.; UPADHYAY, A. K.; PRASAD, K.; BAHADUR, A.; RAI, M. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in *Brassica* vegetables. **J. F. Composition and Analysis**, v. 20, p.106-112, 2007.

SMIRNOFF, N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. **Curr. Opin. Plant. Biol.**, v.3, p.229-235, 2000.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v.19, n.4, p.267-290, 2000.

SMIRNOFF, N.; CONKLIN, P. L.; LOEWUS, F. A. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.**, v.52, p.437-467, 2001.

SPERS, E. E; KASSOUF, A. L. A abertura do mercado e a preocupação com a segurança dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v.10, n.46, p. 16-26, 1996.

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.

SZABO, E. A.; SCURRAH, K. J.; BURROWS, J. M. Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. **Letters Appl. Microbiol.**, v. 30, p. 456-460, 2000.

TAKAYANAGUI, O. M.; FEBRÔNIO, L. H. P.; BERGAMINI, A. M.; OKINO, M. H. T.; SILVA, A. A. M. C. C.; SANTIAGO, R.; CAPUANO, D. M.; OLIVEIRA M. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Fiscalização de hortas

produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.169-174, 2000.

TAKAYANAGUI, O. M.; CAPUANO, D. M.; OLIVEIRA, C. A. D.; BERGAMINI, A. M. M.; OKINO, M. H. T.; SILVA, A. A. M. C. C.; OLIVEIRA, M. A.; RIBEIRO, E. G. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Análise da cadeia produtiva de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n.2, p. 224-226, mar-abr., 2006.

TAKEUCHI, K.; FRANK, J. F. Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. **J. Food Prot.**, v.63, n.4, p.434-440, 2000.

TAUXE, R.V. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. **Emerging Infect.**, v.3, p.425-434, 1997.

THAYER, D. W.; RAJKOWSKI, K. T. Developments in irradiation of fresh fruits and vegetables. **Food Technol.**, v.53, n. 11, p. 62-65, 1999.

TSUHAKO, V. P. **Irradiação de alface (*Lactuca sativa*, L.): aspectos microbiológicos e sensoriais.** São Paulo, 2005. 53 p. Tese (Mestre em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

U. S. Department of Agriculture. FDA 2001. FDA survey of domestic produce. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/prodsu10.html>. Acessado em 4 de junho de 2008.

U. S. Department of Agriculture. FDA 2004. Progress update and 2002 data summary. Microbial Data Program.. Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/science/mpo/MDPSSumm02.pdf>. Acessado em 4 de junho de 2008.

VALENTIN- BON, I.; JACOBSON, A. MONDAY, S. R.; FENG, P. C. H. Microbiological quality of bagged cut spinach and lettuce mixed. **Appl. Environm. Microbiol.**, v. 74, n. 4, p. 1240-1242, 2008.

VILLANUEVA, N. D. M.; PETENATE, A. J.; SILVA, M. A. A. P. Performance of three affective methods and diagnosis of the ANOVA model. **Food Qual. Prefer.**, v.11, n.5, p.363-370, 2000.

VOET, D.; VOET, J. G. **Biochemistry**. New York: John Wiley, 1994. p.256-257.

WATADA, A. E. Vitamins. In: WEICHMANN, J. ed. Postharvest physiology of vegetables. Marcel Dekker: New York, p. 455-468, 1987.

WATADA, A. L.; QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biol. Technol.**,v.15, p. 201-205, 1999.

WEI, H.; WOLF, G.; HAMMES, W. P. Indigenous microorganisms from iceberg lettuce with adherence and antagonistic for use as protective culture. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 7, p. 294-301, 2006.

WORCMAN-BARNINKA, D. **Hambúrguer congelado de carne bovina exposto à radiação gama: influência da composição e da atmosfera na sensibilidade de *Escherichia coli* O157:H7 e nos atributos sensoriais do produto**. São Paulo, 2003. 81 p. –Tese (Doutor em Ciência dos Alimentos-) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

YAHIA, E. M.; CONTRERAS-PADILLA, M.; GONZALES-AGUIAR, G. Ascorbic acid content in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruits during development, maturation and senescence. **Lebensm. -Wiss. Technol.**, v.34, p.452-457, 2001.

YU, L. C.; REITMEIER, C. A.; LOVE, M. H. Strawberry texture and pectin content as affected by electron beam irradiation. **J. Food Sci.**, n.61, p.844-846, 1996.

YUSSEFI, M & WILLER, H. The World of Organic Agriculture Statistics and Future prospects, 2003. Acessado em 05 de junho de 2007. Disponível em: [http:// www.soel.de/inhaelte/publikationen/s/s_74.pdf](http://www.soel.de/inhaelte/publikationen/s/s_74.pdf)

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

ANEXOS



Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 132/2004

São Paulo, 07 de dezembro de 2004.

Ilmo(a). Sr(a).
Cecília Gerales Martins

Vimos informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 06 de dezembro p.p., **APROVOU** o projeto "Irradiação de agridão orgânico: aspectos microbiológicos, nutricionais e sensoriais" (Protocolo nº 267) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 - item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Valentina Porta
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa da FCF/USPOrientador: Prof. Mariza Landgraf
FBA

Anexo 2: Questionário para recrutamento e seleção de produtores para a análise sensorial de agrião orgânico minimamente processado irradiado.

COOPEME / USP

COOPEME - COOPERATIVA DE PESQUISA DE MERCADO E OPP - Rua Doutor Vila Nova, 67 – cj. 41/42
Higienópolis - SÃO PAULO - Fone: (0**11) 3225-9736 / 3225-0645

PESQUISA ESTUDO DE ACEITABILIDADE

SAÍDA: 04/12/2007

ABORDAGEM

APRESENTAÇÃO: Bom dia/tarde meu nome é _____, e trabalho para **COOPEME**, uma Cooperativa de Pesquisa que está realizando um estudo sobre **ACEITABILIDADE E INTENÇÃO DE COMPRA DE ALIMENTOS** para a **USP**. Antes de continuar, quero que saiba que todas as informações que nos fornecer serão tratadas de forma confidencial e agrupadas às de outras pessoas já entrevistadas e em nenhum momento o Sr(a) será relacionado com as suas respostas. Também gostaria de esclarecer que sou entrevistador e não tenho intenção de lhe vender nenhum produto ou serviço nem cadastrá-lo para posterior venda. Agradeço desde já a sua colaboração.

Nome do entrevistado(a) : _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone residencial ou comercial: _____ Celular: _____

F 1 — O Sr(a) consome
“**agrião**” ?

1. SIM (continue)
2. NÃO (encerre)

	INSTRUÇÃO DA PESSOA QUE MAIS CONTRIBUI NO ORÇAMENTO FAMILIAR	PONTOS
1	Analfabeto/primário incompleto	0
2	Primário completo/ginásio incompleto	1
3	Ginásio completo/colégio incompleto	2
4	Colégio completo/superior incompleto	3
5	Superior completo	5

DADOS DE CLASSIFICAÇÃO

CLASSE

1. Classe A — 25 à 34
2. Classe B — 17 à 24
3. Classe C — 11 à 16

Continua

4. Classes D — 6 à 10
5. Classes E — 0 à 5

Encerre

SEXO:

1. Masculino
2. Feminino

IDADE REAL: _____ anos

1. 18 – 29 anos
2. 30 – 49 anos
3. 50 – 60 anos

ITENS DE CONFORTO	TEM / PONTOS				NÃO TEM
	1	2	3	+ 4	
RADIO	1	2	3	4	0
TV A CORES	2	3	4	5	0
VÍDEO CASSETE ou DVD	2	2	2	2	0
ASPIRADOR DE PÓ ou VAPORETO	1	1	1	1	0
LAVA ROUPAS AUTOMÁTICA (não vale tanquinho)	1	1	1	1	0
BANHEIRO	2	3	4	4	0
EMPREGADA(O) MENSALISTA	2	4	4	4	0
AUTOMÓVEL DE PASSEIO	2	4	5	5	0
GELADEIRA (1 porta)	2	2	2	2	0
GELADEIRA DÚPLEX (2 porta)	3	3	3	3	0
FREEZER	1	1	1	1	0

(Se 1 no F1 e Classe A, B ou C)

Convide a pessoa abordada para degustar um produto ,e responder a entrevista

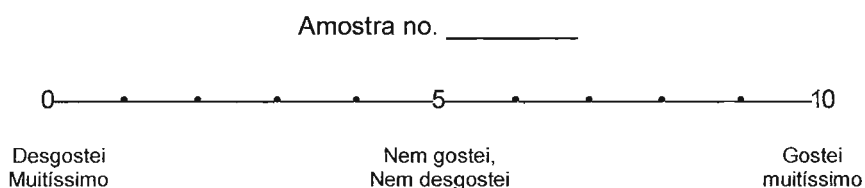
Recrutador(a): _____

Anexo 3: Modelo de ficha utilizado no teste de aceitação e intenção de compra para as amostras de agrião orgânico minimamente processado irradiado.

Avaliação sensorial de agrião

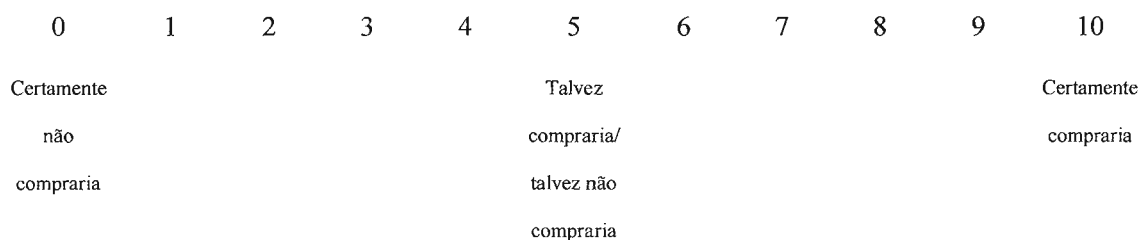
Nome: _____ Data: ___/___/2007.

Você está recebendo uma amostra codificada de AGRIÃO MINIMAMENTE PROCESSADO. 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:

Se você encontrasse esse produto à venda nos supermercados, mercearias e varejões, qual a probabilidade de você comprá-lo?



Comentários:

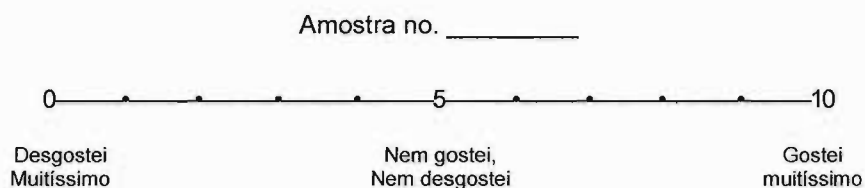
MUITO OBRIGADO POR SUA PARTICIPAÇÃO!

Anexo 4: Modelo de ficha utilizado no teste de aceitação e intenção de compra para as amostras de agrião orgânico minimamente processado irradiado.

Avaliação sensorial de agrião

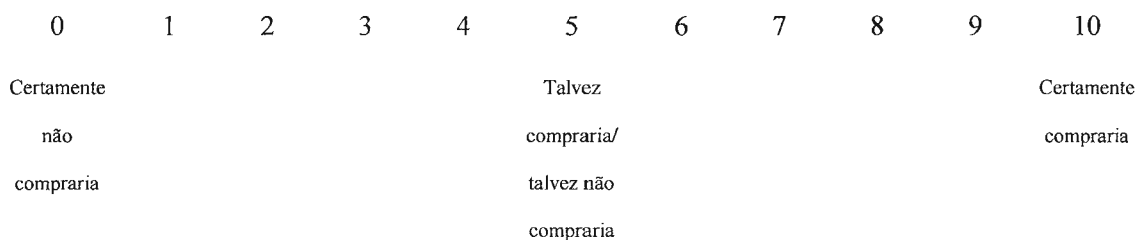
Nome: _____ Data: ___/___/2007.

Você está recebendo uma amostra codificada de AGRIÃO MINIMAMENTE PROCESSADO IRRADIADO. 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:

Se você encontrasse esse produto à venda nos supermercados, mercearias e varejões, qual a probabilidade de você comprá-lo?



Comentários:

MUITO OBRIGADO POR SUA PARTICIPAÇÃO!

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



Como funciona 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 microorganismos 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?

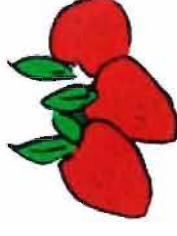
Os alimentos, já embalados, são colocados no equipamento onde serão irradiados. Dentro desse equipamento o alimento é exposto a uma fonte de energia radiante - cobalto - ou então feixe de elétrons, e a

quantidade de energia a ser aplicada dependerá do tipo de alimento. As ondas de energia ou os elétrons passam através do alimento e encontrando microorganismos ou larvas ou ovos de insetos, causarão a morte dos microorganismos 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 microorganismos 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.



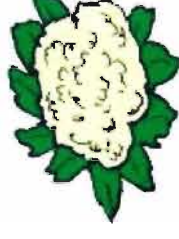
Como eu posso saber que um alimento foi irradiado?

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.aboutnuclear.org

Símbolo da radura



Anexo 6: Carta de agradecimento recebido por cada provador ao fim da análise sensorial.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

Avenida Professor Lineu Prestes, 580 Bloco 14
Cidade Universitária - São Paulo – capital - Cep. 05508 - 900
Fone: (0**11) 3091-2191 Fax: (0**11) 3815 - 4410

Muito obrigado

Agradecemos sua cooperação e o tempo dedicado ao nosso entrevistador.

Todas as informações anotadas serão consideradas inteiramente confidenciais.

Os nomes de todas as pessoas entrevistadas não ficam associados às suas opiniões.

Ninguém virá lhe vender coisa alguma, como consequência desta entrevista.

As pesquisas de opinião pública e de mercado permitem saber o que o público deseja e orientam a adoção de soluções de interesse do povo, a fabricação e a melhor comercialização dos produtos. Por isso, sua gentileza em conceder esta entrevista representa uma contribuição para a vida pública para os políticos, para as indústrias e para a economia do Brasil.

Muito obrigado mais uma vez por sua colaboração.

V.Sa.. foi entrevistado(a) por.

Entrevistador: _____

Observações:

Pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.