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

**Irradiação de agrião (*Nasturtium officinale*)
minimamente processado: aspectos microbiológicos
e sensoriais**

Cecília Geraldine Martins

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Profa. Assoc. Mariza Landgraf
Orientador

São Paulo
2004

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

**Irradiação de agrião (*Nasturtium officinale*)
minimamente processado: aspectos microbiológicos
e sensoriais**

Cecília Geraldine Martins

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Profa. Assoc. Mariza Landgraf
Orientador

São Paulo
2004

Cecília Geraldês Martins

**Irradiação de agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado:
aspectos microbiológicos e sensoriais.**

Comissão Julgadora
Dissertação para obtenção do grau de
Mestre

Profa. Assoc. Mariza Landgraf

Prof. Dr. Dirceu Martins Vizeu

Prof. Dr. Laércio Goularte

São Paulo, de de 2003

“Não sei...se a vida é curta ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos tem sentido, se não tocamos o coração
das pessoas.

Muitas vezes basta ser: Colo que acolhe, Braço que envolve, Palavra que
Conforta, Silêncio que respeita, Alegria que contagia, Lágrima que corre,
Olhar que acaricia, Desejo que sacia, Amor que promove.
E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida. É o que faz
com que ela não seja nem curta, nem longa demais,

Mas que seja intensa, verdadeira, pura.....

Enquanto durar”.

Cora Coralina

Aos meus pais, sem eles eu nada
seria. Obrigada por vocês estarem
sempre ao meu lado e serem pessoas
maravilhosas.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Mariza Landgraf, meu obrigada pela confiança, incentivo, amizade e orientação.

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

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

Ao Prof. Dr. Jorge H. Behrens, pela ajuda e sugestões no desenvolvimento da análise sensorial.

Ao Rodrigo, pela paciência, carinho, incentivo e compreensão.

Aos meus anjinhos da guarda e amigas fiéis, Kátia e Lúcia.

À Lina, pelo incentivo, sugestões e sua maravilhosa e valiosa amizade.

À Ângela e Vanessa Vieira, pela amizade, ajuda e várias dúvidas solucionadas sobre irradiação.

Ao Paulo, pelo carinho e análise estatística das amostras.

Ao João, pela banca caseira e amizade.

À Raphaela, pela grandiosa ajuda em parte deste trabalho.

À Giovanna e ao Sérgio, pela amizade e incentivo.

Ao Antônio (delícia), pela amizade e grandes risadas.

Aos amigos que ficam ou passaram pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos: Alcina, Cristiano, Cristina, Dory, Eb, Gabriela (candurinha), Gunnar, Hans, Jane, Janine, Juliana, Kátia Lima, Laércio, Luciano, Marildes, Mônica, Patrícia Bettini, Patrícia Kary, Vanessa Tsu, Ricardo, 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 físico Ary A. R. Júnior, ao Eduardo, e a todos aos operadores, pela colaboração, disponibilidade e carinho.

À empresa Vegetais Processados Ltda pelo fornecimento do agrião para realização de parte deste trabalho.

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

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

Às secretárias do Departamento Mônica e Tânia 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	XI
Abstract	XII
1. Introdução	1
2. Objetivos	15
3. Material e Métodos	16
3.1. Material	16
3.2. Métodos	16
3.2.1. Determinação das condições higiênico-sanitárias das amostras de agrião minimamente processado e de agrião <i>in natura</i>	16
3.2.1.1. Preparo das amostras para análise microbiológica	16
3.2.1.2. Contagem total de aeróbios psicrotrófilos	17
3.2.1.3. <i>Pseudomonas</i> sp	17
3.2.1.4. Contagem de membros da família <i>Enterobacteriaceae</i>	18
3.2.1.5. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Fecais (tubos múltiplos)	18
3.2.1.6. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp	18
3.2.1.7. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	19
3.2.1.8. Análise estatística	19
3.2.2. Análise microbiológica do agrião pré-processamento e pós-processamento mínimo das amostras de agrião expostas à radiação gama	20
3.2.3. Determinação do valor D_{10} de <i>Salmonella</i> spp em agrião minimamente processado	20
3.2.3.1. Preparo do inóculo de <i>Salmonella</i> spp	20
3.2.3.2. Preparo das amostras de agrião para a sanitização	21
3.2.3.3. Inoculação das amostras de agrião para o processo de irradiação	21

3.2.3.4. Irradiação do agrião minimamente processado inoculado com <i>Salmonella</i> spp	22
3.2.3.5. Quantificação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> spp em agrião minimamente processado	22
3.2.3.6. Cálculo do valor D ₁₀	23
3.2.4. Estudo da vida-de-prateleira de agrião minimamente processado exposto à radiação	23
3.2.4.1. Avaliação sensorial	23
3.2.4.1.1. Recrutamento dos provadores	23
3.2.4.1.2. Teste de Aceitação	26
3.2.5. Análise microbiológica	29
3.2.6. Análise estatística	30
4. Resultados e Discussão	31
4.1. Determinação das condições higiênico-sanitárias das amostras de agrião minimamente processado e de agrião <i>in natura</i>	31
4.2. Análise microbiológica do agrião pré-processamento e pós-processamento mínimo de agrião expostas à radiação gama	36
4.3. Determinação do valor D ₁₀ de <i>Salmonella</i> spp em agrião minimamente processado	37
4.4. Análise sensorial das amostras irradiadas de agrião	41
4.5. Estudo da vida-de-prateleira do alimento irradiado	44
5. Conclusões	46
Referências Bibliográficas	47

Índice de Tabelas

Tabela 1: Número de casos de enfermidades transmitidas por vegetais e frutas ocorridas nos Estados Unidos, no período de 1990 a 2003.	8
Tabela 2: Surtos e casos 1990-2003	9
Tabela 3: Avaliação microbiológica em 30 amostras de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) <i>in natura</i> , adquiridos no comércio da cidade de São Paulo (07 a 08/2003)	34
Tabela 4: Avaliação microbiológica em 30 amostras de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) minimamente processado (embalados em atmosfera modificada e pronto para consumo), adquiridos no comércio da cidade de São Paulo (07 a 08/2003)	35
Tabela 5: População sobrevivente (log UFC/g) de <i>Salmonella</i> spp inoculada em amostras de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) minimamente processada e exposta à radiação	38
Tabela 6: Médias de aceitação (provadores) das amostras de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) exposta à radiação em função do tempo de armazenamento	42
Tabela 7: Avaliação microbiológica das amostras de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) minimamente processado e irradiado durante a sua vida-de-prateleira	45

Índice de Figuras

Figura 1: Questionário para recrutamento e seleção de provadores para o estudo da vida-de-prateleira do agrião minimamente processado	24
Figura 2: Modelo de ficha utilizado no teste de aceitação para as amostras de agrião minimamente processado e irradiado	27
Figura 3: Apresentação das amostras para o teste de aceitação	28
Figura 4: Análise microbiológica do agrião pré-processamento e pós-processamento mínimo das amostras de agrião expostas à radiação gama	36
Figura 5: População de <i>Salmonella</i> spp em agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) minimamente processado exposto à radiação gama	39
Figura 6: Curvas de vida-de-prateleira de agrião (<i>Nasturtium officinale</i>) minimamente processado exposto à dose de 1, 3 e 4 kgy e não irradiado mostrando a redução de aceitabilidade com o tempo	43

Resumo

A demanda por frutas e hortaliças frescas, associada à necessidade de maior praticidade da vida atual, está incentivando o interesse dos consumidores por produtos minimamente processados. Entre os microrganismos patogênicos que podem ser transmitidos por estes vegetais encontram-se principalmente *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* spp. Alguns métodos são utilizados para prevenir e controlar estes microrganismos, entre eles, a irradiação. Amostras de agrião (*Nasturtium officinalis*) minimamente processado foram inoculadas com uma mistura de três cepas de *Salmonella* (*Salmonella* Infantis, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028) e expostos às doses de 0; 0,2; 0,5; 0,7; 1,0; 1,2 e 1,5 kGy. O valor D_{10} para *Salmonella* spp inoculada em agrião minimamente processado submetido à radiação gama variou de 0,29 a 0,43 kGy. Amostras de agrião expostas a doses de 1, 3 e 4 kGy e amostra testemunha, mantidas sob refrigeração, foram utilizadas para avaliação sensorial e vida-de-prateleira. Todas as amostras expostas à radiação foram aceitas pelos julgadores. A vida-de-prateleira da amostra de agrião exposta à 1 kGy foi de 16 dias, um dia e meio a mais que a testemunha. A vida-de-prateleira das amostras expostas à 3 e 4 kGy foi de 9 e 6 dias, respectivamente.

Abstract

Consumer attitudes towards foods have changed in the last two decades increasing requirements for freshlike products. Consequently, less extreme treatments or additives are being required. Minimally processed foods have freshlike characteristics and satisfy this new consumer demand. Besides freshness, the minimally processing also provide convenience required by the market. Salad vegetables can be source of pathogen such as *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. The minimally processing does not reduce the levels of pathogenic microorganisms to safe levels. Therefore, this study was carried out in order to improve the microbiological safety and the shelf-life of minimally processed vegetables using gamma radiation. Minimally processed watercress inoculated with a cocktail of *Salmonella* spp was exposed to 0.0, 0.2, 0.5, 0.7, 1.0, 1.2 and 1.5 kGy. D₁₀ values for *Salmonella* spp inoculated in watercress varied from 0.29 to 0.43 kGy. Samples of watercress exposed of 1, 3 e 4 kGy and non-irradiated sample, stored at 7°C, were submitted to sensory evaluation and their shelf-life was determined. All samples were accepted by members of sensory panel. The shelf-life of sample irradiated with 1 kGy was 16 days (one and half day more than shelf-life of non-irradiated sample) and samples exposed to 3 and 4 kGy presented shelf-life of 9 and 0 days, respectively.

1. Introdução

Nas últimas décadas, tem se constatado uma mudança no comportamento do consumidor, no que se refere principalmente aos padrões de consumo de frutas e hortaliças. Os consumidores têm preferido adquirir frutas e verduras prontas para o consumo devido a maior conveniência e redução de lixo gerado.

A produção de vegetais minimamente processados começou há cerca de 30 anos nos Estados Unidos visando o serviço de bufê e as indústrias de refeições rápidas (fast-food). Atualmente, esse tipo de alimento é encontrado no varejo em vários países, entre eles, Brasil. Na França, a produção aumentou de 400 toneladas em 1985 para 35000 toneladas em 1989. Porém, esse fenômeno não foi constatado em relação à produção de frutas minimamente processadas (Nguyen-The e Carlin., 1994).

No Estados Unidos, Skura e Powrie (1995) constataram o aumento do consumo de frutas e vegetais frescos, pré-preparados baseado no fato de que mais de 50% dos dólares gastos em lojas de alimentos foram dispendidos na aquisição de itens frescos prontos para o consumo.

No Brasil, o processamento mínimo de frutas e hortaliças foi introduzido na década de 1990 por algumas empresas motivadas pelas tendências do mercado, que indicavam o crescimento da demanda por alimentos considerados de conveniência ou de fácil preparo. Vale notar que os setores que vem incorporando, com rapidez, a aquisição desses novos alimentos são os serviços de fornecimento de alimentos prontos para consumo e de preparo rápido (fast food), os hotéis, restaurantes, lanchonetes e redes de supermercados. Estes produtos são considerados de conveniência pois permitem um maior aproveitamento do tempo

decorrente da redução do período de preparo, melhor padronização da qualidade e redução das perdas.

Agregando qualidade e conveniência para o consumidor, o mercado de saladas prontas (“fresh cuts”) vem revelando substancial expansão no Brasil. Uma pesquisa brasileira realizada no ano de 2000 mostrou que oito empresas disputavam um mercado de R\$ 100 milhões por ano. Nos Estados Unidos, esse mercado movimentava em torno de US\$ 10 bilhões por ano, 11% de todo o mercado de frutas, legumes e verduras. O mercado potencial brasileiro no segmento de “Fresh cuts” poderá crescer até cem vezes na primeira década do século XXI (Ferreira, 2000).

O volume comercializado de hortaliças cresceu 20% na última década dos anos 90, segundo dados da Associação Brasileira de Supermercados, e os pedidos para aquisição de hortaliças minimamente processadas, somente quando se considera, por exemplo, a rede Carrefour, aumentaram em 50% em um ano. No Brasil, calcula-se que o volume de vendas deverá chegar a US\$ 150 milhões até 2003 (Pilon et al., 2002a).

Segundo a Produce Marketing Association – PMA, nos Estados Unidos, as vendas de vegetais minimamente processados alcançaram US\$ 7,9 bilhões em 1997, com previsão de crescimento para US\$ 19 bilhões até 2003. Junqueira & Luengo (1999) na época, acreditava-se que estes produtos atualmente representavam 10% de todas as vendas de frutas e hortaliças.

Os alimentos frescos são reconhecidos, por parcela dos consumidores, como aqueles que são mais nutritivos e saborosos, quando comparados aos produtos alimentícios industrializados. Frutas e hortaliças frescas, pré-preparadas, tornam-se cada vez mais populares nos EUA como itens de conveniência, face à praticidade obtida por meio das etapas de pré-preparo que possibilitam a comercialização dos alimentos lavados, descascados, cortados e empacotados (Maistro, 2001).

As hortaliças minimamente processadas constituem uma classe que vem conquistando o consumidor de forma crescente e

consistente. A sua aquisição proporciona ao consumidor, o acesso a um produto muito parecido com o fresco, com uma vida útil prolongada e, ao mesmo tempo, tem garantia de segurança desde que sejam mantidas a boa qualidade nutricional, sanitária e sensorial (Willey, 1997).

O processo mínimo inclui todas as operações de limpeza, lavagem, seleção, descascamento, corte, embalagem e armazenamento (Chitarra, 1998; O'Connor-Shaw et al., 1994; Schlimme, 1995). 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 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 modificação na textura (cálcio) (O'Connor-Shaw et al., 1994).

Entretanto, podem ser verificadas alterações decorrentes do fatiamento que influem na qualidade desses produtos, principalmente na qualidade sensorial dos frutos que difere entre os frutos climatéricos e os não climatéricos e com a idade fisiológica dos frutos climatéricos (Mossel e Garcia, 1983). Sendo assim, produtos minimamente processados são aqueles que apresentam qualidade semelhante ao do produto fresco, mas que sofreram alguma alteração na sua condição natural (Shewfelt, 1987). Normalmente, são produtos crus, facilmente deterioráveis e suas células

estão metabolicamente ativas, o que significa que processos biológicos, tais como respiração, amadurecimento e senescência, continuam ocorrendo.

Os vegetais minimamente processados (frescos, higienizados, descascados e fatiados) encontrados comercialmente são alface, agrião, rúcula, espinafre e outras hortaliças de folha, cenoura, couve-flor, brócolis, cebola, repolho e suas combinações em saladas mistas. Este processo é também usado na comercialização de frutas (Sarantópoulos, 1997). Os vegetais mais consumidos no Brasil são as saladas verdes que são alface, rúcula e agrião. A alface lisa é o cultivar de maior preferência seguido pelo agrião. A rúcula, apesar de ser um vegetal com sabor picante, ocupa o terceiro lugar na preferência dos consumidores (Kawashima et al., 2003).

A embalagem é necessária tanto para limitar danos mecânicos ao produto durante o transporte e a distribuição como também para evitar contaminação e alterações por bolores, leveduras e bactérias (Silva et al., 1994). A especificação de sistemas de embalagem com atmosfera modificada para frutas e hortaliças frescas é muito complexa uma vez que, diferente de outros produtos, elas continuam respirando após a colheita e durante a comercialização. A chave para a conservação desses produtos é o controle dos processos fisiológicos o que pode ser realizado pela embalagem (Sarantópoulos, 1997).

Os alimentos processados minimamente constituem ótimo meio de crescimento para os microrganismos devido à presença de tecidos lesados e do alto teor de umidade dos vegetais acondicionados, o que aumenta o seu potencial de deterioração. Por serem muito manipulados, esses produtos podem ter sua microbiota aumentada e alterada e, eventualmente, veicularem microrganismos patogênicos. A sanitização dos produtos hortícolas minimamente processados desempenha importante papel na manutenção da qualidade do produto, diminuindo o número de microrganismos contaminantes presentes e aumentando o seu período de vida de prateleira (Oliveira et. al., 2000).

Todo vegetal apresenta uma microbiota natural e variável, concentrada principalmente na região superficial, embora os tecidos internos possam eventualmente apresentar formas microbianas viáveis, dependendo dos cuidados durante as diversas etapas de obtenção e processamento. 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 a presença de animais nas proximidades da área de plantio devendo assim haver um histórico da área para a plantação (Tauxe, 1997);
- enchentes, pois a água contamina a produção por cobrir as pastagens e trazer microrganismos para a área de produção de vegetais e frutas (Brackett, 1999);
- qualidade da água e tipo de irrigação empregados (Brackett, 1999);
- higiene dos trabalhadores e às 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).

Tradicionalmente, os produtos frescos não eram alvo de muita preocupação por parte de órgãos regulamentadores, pois eram consumidos no próprio local de preparo. Atualmente, com a tendência ao consumo das hortaliças minimamente processadas, a preocupação com riscos de natureza microbiológica torna-se acentuada, pois muitas operações como corte, lavagem e embalagem são feitas manualmente, aumentando o risco de contaminações dos produtos. Um fator que pode aumentar esse tipo de

risco é o corte das hortaliças que libera fluídos internos celulares e vasculares, ricos em nutrientes, disponibilizando-os aos microrganismos, permitindo que estes se multipliquem e aumentem a carga microbiana inicial. Esse fato contribui sobremaneira para a redução da vida-de-prateleira das hortaliças minimamente processadas que, por sua vez, são produtos prontos para o consumo e devem estar livres de patógenos, especialmente os de importância em saúde pública, cujas fontes potenciais podem estar no manipulador, dejetos de animais, pássaros, insetos e solo (Farber, 1999; Gopal et. al., 1999 apud Berbari et. al., 2001).

Entre os microrganismos que podem ser transmitidos pelas causas acima citadas temos, entre os patogênicos, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, e entre os deteriorantes *Pseudomonas* sp, *Erwinia* sp (Francis et al., 1999; Gimeno e Zurera-Cosano, 1997; Rosa e Carvalho, 2000). Os mais envolvidos em enfermidades transmitidas por alimentos (ETAs) são *Salmonella* (CDC, 2002); *L. monocytogenes* (Schlech et al., 1983) e *E. coli* O157:H7 (CDC, 1994; Michino et al., 1999; Tauxe et al., 1997; Watanabe et al., 1999;).

Salmonella é um microrganismo anaeróbio facultativo, bastonete Gram-negativo pertencente à família Enterobacteriaceae. Tem crescimento ótimo à temperatura de 37°C, não apresenta as enzimas oxidase e catalase e cresce na presença de citrato, como única fonte de carbono (Holt et al., 1994).

Salmonella é um dos microrganismos mais freqüentemente incriminados em surtos de ETAs em diferentes países e envolvendo os mais variados tipos de produtos. As doenças causadas por esse gênero podem ser classificadas em três grupos: febre tifóide, causada pela *S. Typhi*, febres entéricas causadas por *S. Paratyphi* (A, B e C) e as salmoneloses causadas pelas demais salmonelas. A salmonelose é uma enterocolite que inclui diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (Franco

& Landgraf, 1996; ICMSF, 1996). A dose infectante depende do indivíduo, da espécie e sorogrupo do microrganismo e do produto que veicula *Salmonella*. As menores doses necessárias para causar salmonelose estão relacionados com a ingestão de produtos gordurosos onde 50 células foram suficientes para desencadear o processo (Franco & Landgraf, 1996).

O reservatório natural de *Salmonella* é o trato intestinal do homem e de animais, onde as aves têm papel relevante. Está amplamente distribuída na natureza e é transmitida para o homem, principalmente, através de alimentos e água (Franco & landgraf, 1996; ICMSF, 1996).

Muito se tem pesquisado em vários países com relação a contaminação de frutas e hortaliças e surtos de toxinfecções alimentares associados a esses alimentos que continuam a existir.

No Brasil, o conhecimento da poluição fecal de hortaliças, especialmente alfaces, data de 1945, quando alguns pesquisadores encontraram *Escherichia coli* em 29,3% de 252 amostras de diversas hortaliças pesquisadas. 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 as hortifrútículas mais incriminadas em surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente por terem sido incriminados como fonte de patógenos de significância em saúde pública como *Escherichia Coli* O 157:H7, *Salmonella* sp, *Listeria* sp, e *Shigella* sp, bem como de agentes causais da hepatite A e parasitas (Beuchat, 1999 apud Berbari et. al., 2001).

Martins et al. (2003) 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, fecais, microrganismos psicrotrófilos e *Enterobacteriaceae* foram

elevadas tendo variado de 10 a 107 UFC/g. *Salmonella* spp foi detectado em 4 (3%) amostras (agrião, escarola, alface mimosa e salada fantasia) e *Listeria monocytogenes* em 1 (0,8%) amostra de espinafre.

De 1990 a 2003 foram relatados 161 surtos com 8858 casos cujo veículo foram os vegetais enquanto as frutas causaram 82 surtos com 9066 casos (Tabela 1 e 2) (Center for Science in the Public Interest, 2004).

Tabela 1: Número de casos de enfermidades transmitidas por vegetais e frutas ocorridas nos Estados Unidos, no período de 1990 a 2003.

Alimentos	Total de surtos %
Saladas (a base de alface)	35
Cogumelos	3
Legumes enlatados	4
Alface	6
Broto	6
Batata	5
“Berries”	5
Melão	3
Outros vegetais e pratos prontos para consumo	22
Outras Frutas	11

Tabela 2: Surtos e casos 1990-2003

Alimento	Surtos	Casos
Frutas	82	9066
Vegetais	161	8858
Pratos prontos para consumo	189	7899
Total	432	25823

Entre os métodos utilizados para prevenir e controlar os microrganismos podem ser citados:

- lavagem em água: para eliminar resíduos sólidos e escombros de plantas (Nguyen-The e Carlin, 1994);
- cloro: para eliminar microrganismos, porém algumas dessas são resistentes ao cloro, como por exemplo, *Listeria monocytogenes* (Nguyen-The e Carlin, 1994);
- ácidos orgânicos: são tão eficientes quanto a água, isto é, na remoção física dos microrganismos. No entanto, para *Yersinia enterocolitica* são mais eficientes (Nguyen-The e Carlin, 1994);
- irradiação: é usado para aumentar a vida-de-prateleira e para prevenir a deterioração por bolores e minimizar as infestações (Rosa e Carvalho, 2000). Doses de irradiação inferiores a 2 KGy são geralmente mais eficientes do que os outros tratamentos químicos, porém a sensibilidade depende do tipo de microrganismo (Nguyen-The e Carlin, 1994).

A lavagem dos vegetais é a prática mais comum para se obter um produto mais seguro. É de primordial importância, no entanto, que essa água seja, antes de tudo, de boa qualidade. Se esse requisito não for atendido, a água passa a ser fonte de contaminação primária dentro da planta de processamento. A eficácia da operação de lavagem, entretanto, pode ser aumentada com a inclusão de antimicrobianos ou desinfetantes nessa água de lavagem. Segundo Beuchat, 1999 apud Berbari et. al.,

2001, o uso de soluções desinfetantes na água de lavagem de hortaliças minimamente processadas reduz a contaminação e produtos microbiologicamente mais seguros podem ser obtidos. Frank e Takeushi, 1999 apud Berbari et. al., 2001, também afirmam que uma lavagem eficiente de hortaliças, em água adicionada de desinfetantes, é um ponto crítico de controle, utilizado com freqüência em países como os Estados Unidos.

Segundo Lima (2001), existe, no Brasil, um desequilíbrio entre a população e a oferta de alimentos, e o problema da disponibilidade de alimentos é um fato que se agravou nos últimos 20 anos. A redução das perdas pós-colheita que ocorrem anualmente nas diferentes etapas de obtenção dos alimentos, desde a produção até o consumo, é uma medida para alterar o padrão de crescimento deste desequilíbrio. O desperdício de alimentos no Brasil ocorre mesmo nos momentos de crise e alguns estudos estimam em mais de 30% as perdas de produtos hortícolas nas fases de manuseio, transporte, armazenagem e comercialização. Um processo tecnológico que pode minimizar essas perdas é o da irradiação de alimentos.

O processo de irradiação, já aprovado em 34 países para mais de 40 variedades de alimentos, tem, entre os seus objetivos, a desinfestação de grãos de cereais, o controle de microrganismos patogênicos e prolongamento da vida-de-prateleira em carnes, frutas e verduras e a inibição de brotamento em tubérculos e bulbos.

No Brasil, a legislação permite o emprego da irradiação de alimentos 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.

A radiação pode ser definida como sendo a emissão e a propagação da energia ou partículas através do espaço ou da matéria . As

radiações ionizantes caracterizam-se pelo seu alto nível de energia, poder de penetração e ação letal a nível celular (Diehl, 1995).

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 (Worcmann-Barninka, 2003), a inativação de *Vibrio* spp em ostras (Jakabi et al., 2003); é empregada também para aumentar o tempo de armazenamento de frutos e inibir a germinação de cebolas e batatas (Diehl, 1995).

Nos vegetais e frutas minimamente processados, a irradiação é utilizada como forma de desinfecção, ou seja, tratamento fitossanitário (Ross e Engeljohn, 2000), reduzindo as populações microbianas para níveis não detectáveis, conforme a dose usada, além de prolongar a sua vida de prateleira (Howard et al., 1995).

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 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 do processo, no entanto, deve ser analisado cuidadosamente, pois, dependendo da dose e do alimento, pode haver o aparecimento de efeitos indesejáveis traduzidos em alterações de cor, de sabor, de odor ou mesmo de outras propriedades químicas ou físicas. Em frutas e vegetais, 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).

Como já comentado, a irradiação pode prolongar a vida-de-prateleira do produto irradiado. Esse parâmetro é efetivamente determinado 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).

A escolha do teste sensorial a ser utilizado em um estudo de estabilidade de alimentos baseia-se na previsão dos critérios que irão determinar o fim da vida-de-prateleira. Desta forma, três diferentes categorias de testes sensoriais podem ser utilizados: o teste de aceitação, os testes discriminativos e os testes descritivos. Se o critério selecionado para determinar o final da vida-de-prateleira for qualquer alteração perceptível no produto, o teste discriminativo é apropriado. Os testes descritivos são usados quando um ou mais atributos podem definir o final da vida-de-prateleira. Exemplos de testes descritivos incluem o perfil de textura, o perfil de sabor e a análise descritiva quantitativa.

Nos últimos anos, a vida-de-prateleira do alimento tem sido determinada através de testes sensoriais de aceitação. A percepção e atitude do consumidor são de grande importância na determinação da qualidade sensorial de um produto. Neste caso, o parâmetro avaliado é a queda da aceitação do produto durante o armazenamento, que é medida através de uma escala hedônica de nove pontos que avalia o quanto o consumidor “gosta” ou “desgosta” do produto nos diferentes tempos de armazenamento. Os participantes do teste de aceitação devem ser qualificados em função de critérios demográficos, frequência de consumo do produto, idade, sexo, renda e de atitude, e não serem treinados (Meilgaard et al. 1999).

O critério proposto por Bishop et al. (1984) para se definir o final de vida-de-prateleira está baseado na obtenção de valores iguais ou inferiores a 5 na escala hedônica de nove pontos por três julgadores, sendo o dia posterior ao teste considerado como sendo o final da vida-de-prateleira.

Os atributos ou propriedades que tornam os frutos e hortaliças apreciadas como alimento, dizem respeito à aparência, sabor, odor, textura, valor nutritivo e segurança dos produtos (Chitarra, 1990). Uma maior ênfase é dada para a aparência e forma sendo que um produto minimamente processado deve ser consistente, ter aparência fresca, ser de cor aceitável e razoavelmente livre de defeitos (Shewfelt et. al., 1987).

A manutenção de tais atributos, entretanto, torna-se um verdadeiro desafio, uma vez que, logo após a colheita, reações químicas e físicas passam a ocorrer e podem levar ao decréscimo dos atributos de qualidade e aumentar a vulnerabilidade aos microrganismos deteriorantes, diminuindo assim a vida útil do produto (Skura, Powrie, 1995; Ahvenanen, 1996). Além dessas reações, a respiração celular é um processo metabólico envolvendo o desdobramento de compostos orgânicos complexos como açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e ácidos graxos em moléculas de baixo peso molecular, com subsequente produção de energia (ATP e calor) (Pereira et. al., 2001).

A respiração está diretamente associada à conservação das hortaliças, uma vez que afeta os seus parâmetros de qualidade. Tal fenômeno oxidativo requer oxigênio na razão molar proporcional ao gás carbônico liberado. A redução da disponibilidade de oxigênio causa a fermentação e o excesso de gás carbônico pode, em muitos casos, ser altamente prejudicial (Faria, 1990 apud Maistro, 2001).

A respiração de frutas e vegetais é utilizada como um indicador do nível de alterações catabólicas e da deterioração da qualidade. Quando o tecido é danificado pelo descascamento e corte, a razão de respiração pode aumentar apreciavelmente (Skura & Powrie, 1995 citado por Maistro, 2001).

Além da absorção de O₂ e da eliminação de CO₂, calor e água, constata-se, também, no fenômeno respiratório uma eliminação de pequena quantidade de etileno, componentes voláteis, terpenos, álcoois, cetonas e aldeídos, que levam à senescência dos tecidos vegetais, tornando

a resistência aos microrganismos menor (Bolin & Huxsoll, 1991). Firmeza e cor são alguns atributos de qualidade que são afetados pela presença de etileno (Watada et. al., 1990).

Alimentos minimamente processados são extremamente perecíveis e necessitam de cuidados especiais e adoção de estratégias para o prolongamento de sua vida-de-prateleira. A irradiação pode ser uma dessas estratégias.

2. Objetivos

Baseado no exposto, os objetivos desta pesquisa foram:

- 1- avaliar as condições higiênico-sanitárias de agrião *in natura* e agrião minimamente processado.
- 2- avaliar a rádio-resistência de *Salmonella* spp inoculada em agrião minimamente processado;
- 3- avaliar a vida-de-prateleira de agrião minimamente processado exposto à radiação gama.

3. Material e Métodos

3.1. Material:

Microrganismos: *Salmonella* spp (*Salmonella* Infantis – gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, *Salmonella* Thyphimurium – ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis – ATCC 13076).

Alimento: agrião (*Nasturtium officinale*) *in natura* e agrião minimamente processado. Todas as amostras foram adquiridas com intervalo de 24 h após colheita.

3.2. Métodos

3.2.1. Determinação das condições higiênico-sanitárias das amostras de agrião minimamente processado e de agrião *in natura*

Foram analisadas 30 amostras de agrião minimamente processado e 30 amostras de agrião *in natura*, adquiridas de maneira aleatória, em supermercados da cidade de São Paulo, no período de julho a agosto de 2003.

3.2.1.1. Preparo das amostras para análise microbiológica

As embalagens do vegetal minimamente processado foram abertas e o conteúdo colocado em uma bandeja estéril para homogeneização. O mesmo procedimento foi realizado com o vegetal *in natura*.

Porções de 25 g foram homogeneizadas com 225 ml de solução salina (NaCl 0,85% - LabSynth, Diadema, Brasil) em aparelho stomacher-400 (Seward – London, UK). A partir desse homogeneizado foram realizadas diluições decimais, usando como diluente solução salina (NaCl 0,85%).

3.2.1.2. Contagem total de aeróbios psicrotrófilos

A partir de cada diluição obtida em 3.2.1.1, semeou-se 0,1 mL na superfície de placas de Petri previamente preparadas com Ágar Padrão para Contagem (PCA – Oxoid, Basingstoke, UK) e, usando uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio. A seguir, incubou-se as placas a 7°C por 10 dias (Cousin *et al.*, 2001). Após a incubação, foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em Unidades formadoras de colônias por grama do alimento (UFC/g).

3.2.1.3. *Pseudomonas* sp

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, 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 35-37°C por 48 horas. Após a incubação, foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em UFC/g (Mead & Adams, 1977).

3.2.1.4. Contagem de membros da família *Enterobacteriaceae*

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, foi semeado 1 ml em placas de Petri contendo ágar vermelho violeta bile glicose (VRBGA - Oxoid). Após homogeneização e solidificação do meio, foi adicionado uma sobrecamada de 10 ml do mesmo meio e as placas foram incubadas a 35°C por 18 a 24 horas (Kornacki et al., 2001). Após a incubação, foram contadas as placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos UFC/g.

3.2.1.5. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Fecais (tubos múltiplos)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, 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 considerados positivos, isto é, 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. Decorrido esse período, observou-se o crescimento microbiano com produção de gás (Kornacki et al., 2001). A partir dos tubos que apresentaram turvação e produção de gás foi calculado o número mais provável por grama (NMP/g), utilizando a tabela de NMP para 3 séries de 3 tubos, conforme Swanson et al.(2001). Os resultados foram expressos como NMP/g.

3.2.1.6. Pesquisa de *Salmonella* spp

Foram homogeneizadas 25 g de agrião em 225 ml de caldo lactosado em aparelho stomacher-400 (Seward – London, UK) e incubados a 35°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 tetrationato (Oxoid) e incubados a 35°C por 24 horas. Decorridas 24 horas de incubação, os dois caldos, foram semeados em placas de ágar Hektoen Enteric (HE - Oxoid) e ágar MLCB (Oxoid) e incubadas a 35°C por 24 horas. As colônias com características de *Salmonella* spp nesses meios foram inoculadas em ágar ferro lisina (LIA - Oxoid) e ágar triplice açúcar ferro (TSI - Oxoid) e os tubos incubados a 35°C por 24 horas. Posteriormente, as colônias características foram submetidas a outras provas bioquímicas (EPM, Mili e Citrato - Enterokit B - Probac do Brasil) e de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella* (Andrews et al., 2001).

3.2.1.7. Pesquisa de *Escherichia coli* O157:H7

Uma porção de 25 g da amostra foi homogeneizada em 225 ml de caldo E.C. (Oxoid) adicionado de solução de novobiocina e incubados por 6 horas sob agitação (150 rpm) a 37°C e depois incubados a 37°C por 24 horas. Após esse período, 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 EPM, Milli e Citrato (Enterokit B - Probac), incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foram submetidos a aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*E. coli* O157:H7 (Probac do Brasil) (Meng et al., 2001).

3.2.8. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos ao Teste t de “student”, ao nível de 5% de significância.

3.2.2. Análise microbiológica do agrião pré-processamento e pós-processamento mínimo das amostras de agrião expostas à radiação gama

Foram realizadas a contagem total de aeróbios psicrotrófilos, de *Pseudomonas* spp, contagem de membros da família *Enterobacteriaceae* de maneira análoga à descrita nos itens 3.2.1.1 a 3.2.1.4, e para a pesquisa de *Salmonella* no item 3.2.1.6, com exceção do meio MLCB que foi substituído pelo ágar bismuto sulfito (BS – Oxoid).

3.2.3. Determinação do valor D₁₀ de *Salmonella* spp em agrião minimamente processado

3.2.3.1. Preparo do inóculo de *Salmonella* spp

Inoculou-se, com o auxílio de uma alça de níquel cromo, a partir de culturas individuais de *S. Infantis*, *S. Thyphimurium*, *S. Enteritidis* em ágar tripticase soja (TSA – Oxoid), três tubos contendo 5 ml de caldo tripticase soja (TSB - Oxoid) que foram incubados a 37°C por 24 horas. Após 24 horas, semeou-se, a partir de cada cultura, 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 (700g) por 30 minutos. Em seguida, o sedimento foi re-suspendido com 100 ml de solução salina (0,85%), obtendo-se um inóculo com 10⁷ UFC/g. Todo este processo foi realizado em duplicata.

3.2.3.2. Preparo das amostras de agrião para a sanitização

As amostras de agrião foram adquiridas em feiras livres e em varejões da cidade de São Paulo. Primeiramente, foi realizada uma seleção das folhas dessas hortaliças separando-se o talo principal. As folhas foram, então, homogeneizadas independentemente da sua procedência (varejão + feira livre). Posteriormente, as folhas foram lavadas em água corrente tratada e, em seguida, submetidas à centrifugação (centrífuga de uso doméstico) para retirar o excesso de água. A etapa seguinte foi a sanitização, imergindo-se as folhas em solução de cloro livre 200ppm por 15 minutos (Portaria CVS - 6). Após esse período, as folhas de agrião foram enxaguadas 3 vezes em água corrente e depois mergulhadas novamente em água de torneira e em seguida centrifugadas.

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

Em um recipiente fundo foi colocado água destilada estéril (aproximadamente 6,0 l) e adicionado o “pool” das cepas de *Salmonella*, previamente lavadas com solução salina estéril (100ml). Esta solução 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 (900 g a 1Kg) foram imersas nessa suspensão onde permaneceu por aproximadamente 5 minutos, durante os quais foram realizados movimentos para a homogeneização da contaminação. A amostra de agrião foi, então, centrifugada em centrífuga doméstica para secagem e retirada do excesso do inóculo. Posteriormente, foram pesadas 21 porções de 25 g cada de agrião minimamente processado.

3.2.3.4. Irradiação do agrião minimamente processado inoculado com *Salmonella* spp

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

As amostras de agrião minimamente processado foram transportadas em caixa de material termoisolante com gelo para a planta de irradiação. Cada trio de amostras foi submetido a dose de: $0,2 \pm 3\%$ kGy; $0,5 \pm 2\%$ kGy; $0,7 \pm 2\%$ kGy; 1,0 kGy; $1,2 \pm 1,5\%$ kGy; $1,5 \pm 2\%$ kGy. O experimento foi repetido três vezes.

3.2.3.5. Quantificação da população sobrevivente de *Salmonella* spp em agrião minimamente processado

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 contendo ágar tripticase soja (TSA - Oxoid). Após homogeneização e solidificação, essas placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Para confirmação, foi realizado teste de aglutinação em lâmina com anti-soro polivalente para *Salmonella* spp (Probac do Brasil) sendo

então determinado a população sobrevivente ao processo (UFC/g). O resultado foi a média da contagem das duas placas.

3.2.3.6. Cálculo do valor D_{10}

O valor D_{10} foi calculado, graficamente, através da análise de regressão linear.

3.2.4. Estudo da vida-de-prateleira de agrião minimamente processado exposto à radiação

Para o estudo da vida-de-prateleira foram realizadas a análise microbiológica e a avaliação sensorial.

3.2.4.1. Avaliação sensorial

3.2.4.1.1. Recrutamento dos provadores.

Para o recrutamento dos provadores foi desenvolvido um questionário de seleção (Figura 1) e, depois de respondido o questionário, a seleção dos provadores baseou-se na disponibilidade de tempo, condições de saúde e apreciação dos produtos.

Os provadores foram recrutados entre alunos de graduação, pós-graduação, funcionários e professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP.

CADASTRO DE CONSUMIDORES
ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS

Estamos selecionando pessoas para participar de uma equipe de provadores de agrião irradiado, que avaliará a aparência, o sabor, o aroma e a textura (consistência, maciez, etc) do produto e dará a sua opinião sobre ele. O dados serão mantidos em sigilo e você terá total liberdade em desistir da equipe de provadores.

A data, horário (a definir) e a duração do teste (aproximadamente 2 meses). Se você estiver interessado em participar voluntariamente, por favor, preencha o questionário abaixo.

Nome: _____ Data: _____

Telefone p/ contato: _____ E-mail: _____

1- Sexo: () masculino () feminino

2- Idade (faixa etária: 3. Grau de escolaridade:

() 21-25 anos () superior completo

() 25-30 anos () superior incompleto

() 31-34 anos () segundo grau

() 35-44 anos () primeiro grau

() 45-54 anos

() Acima de 55 anos

4. Você permanecerá na USP até dezembro/2003? () Sim () Não

5. Existe algum dia ou horário de preferência para participar das sessões de degustação?
Explique. _____

6. Com que frequência você consome agrião minimamente processado:

() diariamente () de 2 a 5 vezes por semana () 1 vez por semana

() ocasionalmente (menos de 1 vez por semana, na média)

() nunca experimentei

7. Em caso de já ter experimentado agrião minimamente processado, indique na escala abaixo o quanto você gosta ou desgosta deste produto.

9. Gosto muitíssimo

8. Gosto muito

7. Gosto moderadamente

6. Gosto ligeiramente

5. Indiferente

4. Desgosto ligeiramente

3. Desgosto moderadamente

2. Desgosto muito

1. Desgosto muitíssimo		
8. Você passa no momento por algum problema de saúde? () Sim	() Não	Em caso positivo, especifique:_____
9. Está fazendo uso de algum medicamento? () Sim	() Não	Em caso positivo, especifique:_____
10. Está fazendo algum tipo especial de dieta? () Sim	() Não	Em caso positivo, especifique:_____
11. É fumante? () Sim () Não		
Termo de Consentimento:		
Compreendi os objetivos do teste descrito nesta ficha, as informações por mim aqui prestadas são verdadeiras e autorizo os responsáveis pela condução do referido teste a utilizar estas informações na seleção de provadores.		
São Paulo, _____/_____/_____		

Assinatura do candidato e R.G.		

Figura 1: Questionário para recrutamento e seleção de provadores para o estudo da vida-de-prateleira do agrião minimamente processado irradiado.

3.2.4.1.2. Teste de Aceitação

Na análise sensorial foi empregado o Teste de Aceitação com escala hedônica híbrida de 10 cm (0= desgosta extremamente; 10= gosta extremamente) (Villanueva et al., 2000) (Figura 2).

Embalagens de polietileno contendo 400 g de agrião minimamente processado foram expostos a 1, 3 e 4 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 25-30 provadores não treinados, com idade entre 20-55 anos que avaliaram a aceitação global (aparência, aroma, sabor e textura - sensação das folhas e dos talos ao mastigar o vegetal) nos dias 0, 2, 5, 7, 9 e 12 dias após o tratamento, de acordo com a metodologia proposta pela ASTM (American Society for Testing Materials, 1993) a qual recomenda a avaliação a 0%, 25%, 50%, 75%, 100% e 110% da vida-de-prateleira para produtos que não tenham uma história de vida-de-prateleira ou um produto similar que possa servir de base de comparação.

Para a avaliação do produto, foram servidas a cada provador, aproximadamente, 10 gramas das amostras expostas à radiação e amostra testemunha em pratos brancos descartáveis, codificados com número de três dígitos, acompanhados por garfo, sal, água para minimizar o sabor residual entre uma amostra e outra e biscoito de água e sal (Figura 3). As amostras foram avaliadas sob luz branca em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, em São Paulo, SP.

Avaliação sensorial de agrião

Nome: _____ Data: ____/____/2003.

Você está recebendo uma amostra codificada de agrião. 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:

Amostra no. _____

0 ————— 5 ————— 10

Desgostei Nem gostei, Gostei
Muitíssimo Nem desgostei muitíssimo

Comentários:

Figura 2: Modelo de ficha utilizado no teste de aceitação para as amostras de agrião minimamente processado e irradiado.

Figura 3: Apresentação das amostras para o teste de aceitação.

3.2.5. Análise microbiológica

A análise microbiológica seguiu o recomendado pela RDC 12 (Brasil, 2001) que compreende a determinação do Número mais provável de coliformes fecais e pesquisa de *Salmonella*. Para complementar estas análises foram realizadas outras determinações no sentido de avaliar o desenvolvimento de microrganismo deteriorantes, entre eles, população de mesófilos, de psicrotrófilos, de membros da família *Enterobacteriaceae* e de bactérias lácticas.

Para a enumeração de psicrotrófilos e de membros da família *Enterobacteriaceae*, para a determinação do Número Mais provável de coliformes fecais e para a pesquisa de *Salmonella*, as metodologias empregadas foram as descritas nos itens 3.2.1.2. a 3.2.1.6.

A enumeração de mesófilos e de bactérias lácticas foi realizada seguindo-se a metodologia descrita abaixo:

Contagem de microrganismos aeróbios mésofilos: a partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, semeou-se 1 ml de 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 em posição invertida a 35-37°C por 48 h. Os resultados foram expressos em UFC/g (Morton, 2001).

Contagem de bactérias lácticas: 1 mL foi semeado em placa de Petri e adicionou-se ágar 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. Os resultados foram expressos em UFC/g do produto (Hall et al., 2001).

3.2.6. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à Anova de três fatores (amostra, provadores, tempo sem repetição) seguida de teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 5% de significância e regressão linear da aceitação em função do tempo.

4. Resultados e Discussão

4.1. Determinação das condições higiênico-sanitárias das amostras de agrião minimamente processado e de agrião *in natura*

Tanto as amostras de agrião *in natura* como as de minimamente processado apresentaram populações relativamente elevadas para aeróbios psicrotrófilos, *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae* (Tabelas 3 e 4). Para o agrião *in natura*, a população de microrganismos aeróbios psicrotrófilos variou entre $1,2 \times 10^5$ e $3,6 \times 10^7$ UFC/g; a de *Pseudomonas* spp entre $8,1 \times 10^4$ e $7,2 \times 10^7$ UFC/g; a de *Enterobacteriaceae* entre $2,6 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^6$ UFC/g e a de coliformes fecais entre <3 e $\geq 2,4 \times 10^2$ NMP/g. Para as 30 amostras de agrião minimamente processado, as populações de microrganismos aeróbios psicrotrófilos variaram entre $5,8 \times 10^4$ e $2,6 \times 10^7$ UFC/g, as de *Pseudomonas* spp entre $2,2 \times 10^4$ e $2,4 \times 10^7$; as de *Enterobacteriaceae* entre $1,4 \times 10^3$ e $3,0 \times 10^6$ e as de coliformes fecais entre <3 e $2,3 \times 10$ NMP/g. Não foram detectados *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* em nenhuma das amostras de agrião analisadas, isto é, *in natura* ou processada.

No município de Ribeirão Preto, SP, 26 (20,1%) das 129 hortas pesquisadas apresentaram irregularidades: 22 apresentaram verduras com elevada população de coliformes e verduras provenientes de outras 4 hortas apresentaram contaminação com *Salmonella* (Takayanagui et al., 2000), portanto, amostras com qualidade microbiológica inferior às por nós analisadas.

Os resultados desta pesquisa concordam com os de Barreto et al. (2003) que não detectaram *E. coli* O157:H7 em 70 amostras de

hortaliças folhosas (alface, coentro, cebolinha, hortelã miúdo) coletadas em seis hortas cultivadas e comercializadas em Feira de Santana-Ba.

A qualidade microbiológica das amostras *in natura* desta pesquisa é semelhante à qualidade das amostras de alface vermelha 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. McKnight et al. (2003) constataram que 52% das amostras de vegetais minimamente processados estavam contaminados com *Salmonella*, coliformes totais e *E. coli*, na cidade de Piracicaba.

Romano et al. (2003) avaliaram a qualidade microbiológica de vegetais minimamente processados (cenoura, couve e repolho) comercializados na cidade de Maringá-PR e 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. Na data 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.

Outro estudo realizado, na Inglaterra, revelou a presença de *Enterobacteriaceae* ($\geq 10^4$ UFC/g) em 974 amostras de vegetais prontos para o consumo e *Escherichia coli* ($\geq 10^2$ UFC/g) em 87 amostras de salada de vegetais. A presença de *L. monocytogenes* foi observada em 88 amostras analisadas enquanto *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp e *E. coli* O157:H7 não foram observados em nenhuma das 2950 amostras de saladas de vegetais prontas para o consumo (Sagoo et al., 2003).

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 psicrotrófilos

(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 para coliformes fecais, no entanto, discordam dos de Goularte (2003) uma vez que não foram encontrados coliformes fecais em sua pesquisa.

Os resultados das análises microbiológicas obtidas para agrião *in natura* foram comparados através do teste t de Student (Tabela 04), com aqueles obtidos pelo processamento mínimo. Por esse teste constatou-se que o processamento mínimo não foi suficiente para reduzir a microbiota presente nesse vegetal ou que os microrganismos que permaneceram pós-processamento multiplicaram-se durante o período de armazenamento.

Tabela 3: Avaliação microbiológica em 30 amostras de agrião (*Nasturtium officinale*) *in natura* adquiridas no comércio da cidade de São Paulo (07 a 08/2003).

Nº	Psicotrófilos	<i>Pseudomonas</i> spp	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Coliformes fecais</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp
	(UFC/G)	(UFC/G)	(UFC/G)	(NMP/g)	(UFC/G)	(em 25 g)
01	2,0x10 ⁷	9,1x10 ⁶	6,2x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
02	2,4x10 ⁶	7,8x10 ⁵	7,2x10 ⁵	<3	Ausente	Ausente
03	4,0x10 ⁶	8,5x10 ⁶	5,4x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
04	5,1x10 ⁶	1,6x10 ⁶	5,3x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
05	1,7x10 ⁶	7,2x10 ⁵	5,0x10 ³	<3	Ausente	Ausente
06	8,7x10 ⁵	2,8x10 ⁶	8,2x10 ³	3	Ausente	Ausente
07	1,2x10 ⁶	4,1x10 ⁵	2,0x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
08	1,2x10 ⁵	8,1x10 ⁴	4,4x10 ³	<3	Ausente	Ausente
09	2,2x10 ⁶	2,5x10 ⁶	4,1x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
10	7,7x10 ⁵	1,1x10 ⁵	8,4x10 ³	<3	Ausente	Ausente
11	2,0x10 ⁶	3,5x10 ⁶	1,3x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
12	8,9x10 ⁵	2,6x10 ⁷	2,4x10 ⁴	1,5x10	Ausente	Ausente
13	1,1x10 ⁶	2,8x10 ⁶	3,5x10 ⁴	1,2x10 ²	Ausente	Ausente
14	4,6x10 ⁵	9,4x10 ⁵	1,4x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
15	5,7x10 ⁵	4,1x10 ⁵	2,8x10 ⁴	4	Ausente	Ausente
16	1,6x10 ⁶	8,3x10 ⁵	4,5x10 ³	<3	Ausente	Ausente
17	5,6x10 ⁶	1,4x10 ⁶	3,9x10 ³	<3	Ausente	Ausente
18	3,3x10 ⁷	1,2x10 ⁷	4,8x10 ⁴	1,5x10 ²	Ausente	Ausente
19	2,0x10 ⁷	2,1x10 ⁷	1,3x10 ⁵	<3	Ausente	Ausente
20	3,6x10 ⁷	7,2x10 ⁷	1,9x10 ⁵	<3	Ausente	Ausente
21	7,9x10 ⁵	6,8x10 ⁵	8,9x10 ³	<3	Ausente	Ausente
22	2,6x10 ⁶	7,9x10 ⁶	1,1x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
23	6,0x10 ⁶	2,7x10 ⁶	2,2x10 ⁵	<3	Ausente	Ausente
24	7,6x10 ⁶	5,8x10 ⁵	1,4x10 ⁴	9,3x10	Ausente	Ausente
25	3,0x10 ⁶	5,3x10 ⁵	2,6x10 ³	<3	Ausente	Ausente
26	6,1x10 ⁶	2,6x10 ⁶	5,5x10 ⁵	≥2,4x10 ²	Ausente	Ausente
27	1,0x10 ⁶	1,8x10 ⁶	4,4x10 ⁴	1,5x10	Ausente	Ausente
28	1,8x10 ⁶	4,9x10 ⁵	1,1x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
29	1,5x10 ⁷	1,3x10 ⁷	1,2x10 ⁶	4	Ausente	Ausente
30	5,4x10 ⁶	2,3x10 ⁶	7,0x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente

Tabela 4: Avaliação microbiológica em 30 amostras de agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado (embalados em atmosfera modificada e pronto para consumo) adquiridos no comércio da cidade de São Paulo (07 a 08/2003).

Nº	Tempo (dias)		Psicrotrófilos	<i>Pseudomonas</i> spp	Enterobacteriaceae	<i>Coliformes fecais</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp
	fabricação	validade	(UFC/G)	(UFC/G)	(UFC/G)	(NMP/g)	(UFC/G)	(em 25 g)
01	11/07	18/07	5,1x10 ⁵	8,4x10 ⁵	3,4x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
02	09/07	17/07	1,3x10 ⁷	2,1x10 ⁷	5,7x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
03	11/07	16/07	2,1x10 ⁶	1,5x10 ⁶	2,6x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
04	14/07	19/07	4,7x10 ⁶	4,5x10 ⁶	6,4x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
05	10/07	16/07	4,3x10 ⁶	1,7x10 ⁶	3,2x10 ⁵	3	Ausente	Ausente
06	21/07	27/07	6,9x10 ⁵	7,9x10 ⁶	3,0x10 ⁶	<3	Ausente	Ausente
07	21/07	27/07	5,8x10 ⁴	2,2x10 ⁴	5,5x10 ³	<3	Ausente	Ausente
08	20/07	26/07	5,3x10 ⁶	1,8x10 ⁶	1,1x10 ⁵	4	Ausente	Ausente
09	19/07	24/07	4,1x10 ⁶	1,6x10 ⁶	4,8x10 ⁵	1,5x10	Ausente	Ausente
10	18/07	24/07	5,2x10 ⁶	3,0x10 ⁶	1,3x10 ⁶	9	Ausente	Ausente
11	24/07	01/08	1,3x10 ⁷	2,4x10 ⁷	5,1x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
12	26/07	31/07	9,2x10 ⁵	4,6x10 ⁵	2,3x10 ³	<3	Ausente	Ausente
13	25/07	31/07	4,5x10 ⁶	1,3x10 ⁶	2,2x10 ⁴	9	Ausente	Ausente
14	28/07	03/08	8,6x10 ⁵	1,2x10 ⁶	2,9x10 ³	<3	Ausente	Ausente
15	26/07	01/08	1,6x10 ⁶	5,6x10 ⁵	1,2x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
16	04/08	10/08	1,5x10 ⁶	5,0x10 ⁵	4,1x10 ⁴	2,3x10	Ausente	Ausente
17	31/07	06/08	1,7x10 ⁷	1,4x10 ⁷	5,6x10 ⁵	2,3x10	Ausente	Ausente
18	02/08	07/08	2,6x10 ⁷	1,4x10 ⁷	9,9x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
19	03/08	09/08	2,9x10 ⁶	1,2x10 ⁶	3,8x10 ⁴	4	Ausente	Ausente
20	04/08	10/08	1,9x10 ⁶	2,5x10 ⁶	1,6x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
21	16/08	22/08	8,0x10 ⁵	6,4x10 ⁵	1,3x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
22	15/08	21/08	6,1x10 ⁵	3,0x10 ⁵	3,7x10 ³	<3	Ausente	Ausente
23	15/08	21/08	1,0x10 ⁶	5,0x10 ⁶	8,9x10 ³	<3	Ausente	Ausente
24	16/08	21/08	2,1x10 ⁶	5,3x10 ⁵	7,1x10 ³	<3	Ausente	Ausente
25	18/08	23/08	2,1x10 ⁶	1,3x10 ⁶	5,6x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
26	23/08	28/08	1,8x10 ⁶	2,6x10 ⁵	2,7x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
27	21/08	27/08	7,9x10 ⁶	8,8x10 ⁵	3,1x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
28	22/08	27/08	4,6x10 ⁶	1,0x10 ⁷	3,0x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
29	24/08	30/08	3,4x10 ⁶	8,3x10 ⁵	8,4x10 ⁴	<3	Ausente	Ausente
30	25/08	31/08	2,8x10 ⁶	1,4x10 ⁶	1,4x10 ³	<3	Ausente	Ausente

4.2. Análise microbiológica pré processamento e pós processamento mínimo das amostras de agrião expostas à radiação gama

A análise microbiológica das amostras de agrião submetidas à lavagem e higienização (200 ppm de cloro livre por 15 minutos) mostrou redução de aproximadamente 1 ciclo logarítmico para as populações de *Pseudomonas* sp e de psicrotrófilos e de 0,68 log para a população de *Enterobacteriaceae* (Figura 4). *Salmonella* spp não foi detectada em nenhuma das etapas (pré-processamento ou pós-processamento).

Figura 4: Análise microbiológica pré-processamento e pós-processamento mínimo das amostras de agrião (*Nasturtium officinale*) expostas à radiação gama.

Estes dados são similares aos encontrados por Goularte (2003) que avaliou a redução da contaminação microbiológica de alface em uma indústria de processamento mínimo de vegetais, localizada em Taboão da Serra, SP. Os resultados por ele observados foram redução de 0,9 a 1,2 log para a população de coliformes e de 1,0 a 1,6 log para a de *Enterobacteriaceae* que, dentre os microrganismos pesquisados, são

indicadores de contaminação fecal e têm relação com o risco de contaminação por patógenos de origem intestinal como *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, entre outros.

Comparando os resultados obtidos antes do processamento e pós-processamento mínimo, constata-se que a eficiência desse processo está relacionada à contaminação da matéria-prima utilizada.

4.3. Determinação do valor D_{10} de *Salmonella* spp em agrião minimamente processado

Na Tabela 5 são apresentadas as populações sobreviventes (log UFC/g) de *Salmonella* spp inoculada em amostras de agrião minimamente processado, expostas a diferentes doses de radiação gama. Através dessa Tabela, constata-se que o número de sobreviventes diminui com o aumento da dose de radiação, conforme esperado. A redução máxima atingida foi, em média, de 4 ciclos logarítmicos com a dose de 1,5 kGy.

Com base na análise de regressão linear, o valor de D_{10} para *Salmonella* spp inoculada artificialmente em agrião minimamente processado variou de 0,33 a 0,42 kGy, em três repetições verdadeiras, em triplicata (Figura 5) ($D_{10}=1/a$).

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

Ao trabalhar com alface picada minimamente processada, Goularte (2003) obteve valores de D_{10} para *Salmonella* spp menores do que os observados por nós em agrião (0,16 a 0,23 kGy). Para *E. coli* O157:H7, os resultados foram inferiores o que demonstra a alta sensibilidade desse microrganismo. Em broto de rabanete, de alface e brócolis, Rajkowski & Thayer (2000) encontraram uma maior rádio-resistência para *Salmonella*

com valores de D_{10} que variaram de 0,46 a 0,54 kGy. Esses resultados mostram a influência do substrato na resistência do microrganismo.

Tabela 5: População sobrevivente (log UFC/g) de *Salmonella* spp inoculada em agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processada e submetida à irradiação com raios gama.

Dose (kGy)	Número de sobreviventes (log UFC/g)		
	A*	B*	C*
0	6,65	6,52	6,41
0,2 $\pm$ 3%	5,71	5,48	5,68
0,5 $\pm$ 2%	5,0	3,45	4,69
0,7 $\pm$ 2%	3,95	2,60	4,32
1,0	3,22	1,93	3,90
1,2 $\pm$ 1,5%	2,78	1,71	3,32
1,5 $\pm$ 2%	2,49	1,66	2,21

*Experimentos independentes

Figura 5: População de *Salmonella* spp em agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado exposto à radiação gama.

A rádio-sensibilidade de um microrganismo também é influenciada pelas diferentes variedades de um mesmo vegetal, como comprovado por Niemira et. al.(2002) que encontraram D_{10} para *E. coli* O157:H7 de 0,14 kGy em folhas de alface variedade Boston, enquanto na roxa o valor foi de 0,12 kGy. A integridade da folha também influenciou, pois no produto homogeneizado esse valor variou de 0,09 a 0,34 kGy. Para *Salmonella*, Niemira (2003b) verificou que os cultivares lisa, americana, vermelha e Boston apresentaram radiosensibilidade de 0,31 kGy, 0,25 kGy, 0,23 kGy e 0,24 kGy, respectivamente, valores menores do que os encontrados em nosso experimento. No entanto, os autores não detectaram diferença nos valores para *L. monocytogenes*.

A radio-resistência de *Salmonella* spp. determinada por nós em agrião e em brotos de rabanete, de alfafa e de brócolis por Rajkowski & Thayer (2000) foi maior do que a apresentada por *Listeria monocytogenes* inoculada em homogeneizado de folhas de escarola (D_{10} entre 0,20 kGy e 0,21 kGy) ou quando presente em folhas picadas desse mesmo vegetal (0,21 kGy). Estes valores são próximos aos de *L. innocua* que variaram de 0,19 kGy a 0,22 kGy quando presentes em homogeneizados e em pedaços de folhas de escarola, respectivamente (Niemira et al., 2003a).

Devido às diferentes composições químicas dos alimentos, o valor D_{10} para *Salmonella* varia entre 0,10 e 1,29 kGy (Farkas, 1988; Radomyski et al., 1994; Rajkowski & Thayer, 2000; Santos, 2003). A razão da grande variação está relacionada principalmente com a presença de compostos ou que protegem os microrganismos da ação da radiação ou que aumentam a sua radio-resistência, com os fatores que facilitam o surgimento de radicais livres, como tipo de embalagem e, portanto, diminuem a radio-resistência dos microrganismos (Diehl, 1995). Pode variar, ainda, com o planejamento e condução do experimento incluindo, entre outros, a forma de inoculação do microrganismo, isto é, se superficial ou não como demonstrado por Niemira (2003a), com as

características do processo de irradiação e o método de análise empregado para quantificar os microrganismos sobreviventes.

Com isso podemos explicar os dados obtidos neste experimento já que, os valores obtidos de D_{10} são mais altos do que os encontrados na literatura para diferentes vegetais.

4.4. Análise sensorial das amostras irradiadas de agrião

Vários estudos indicam que a irradiação de alimentos provoca alteração dos atributos sensoriais. Em alguns casos, dependendo da variedade do vegetal, melhora as características e em outros provoca a 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).

Niemira et al. (2003b) avaliaram o efeito das doses de radiação em relação à textura e à cor em folhas de endívia. Não houve alteração na coloração e textura das folhas com doses de até 1 kGy; a extremidade da folha, por outro lado, apresentou-se mais escura e verde do que a região mais central.

Em alface americana, Fan et al. (2002) observaram que amostras de alface americana irradiadas com 1 e 2 kGy apresentavam aspecto visual melhor do que a controle, após 14 dias de armazenamento.

Para avaliar o efeito da irradiação sobre o agrião minimamente processado, as amostras foram expostas às doses de 1, 3 e 4 kGy, o que correspondeu a 2, 7 e 9 vezes o valor D_{10} obtido para *Salmonella* spp. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (1999), dos Estados Unidos recomenda que o processamento de vegetais reduza, em geral, a população microbiana em 5 ciclos logarítmicos. De acordo com

os dados desta pesquisa esta dose é de 2,15 kGy ($D_{10} \times 5$, portanto, $0,43 \text{ kGy} \times 5 = 2,15 \text{ kGy}$). Porém, esta dose não foi utilizada, pois em testes preliminares não houve diferença sensorial entre as amostras expostas às doses de 1, 2 e 3 kGy.

Pela Tabela 6 e Figura 6, a vida-de-prateleira de agrião irradiado com 1 kGy, mantido a 7°C, aumentou em um dia em relação à amostra controle que durou 14,5 dias. Amostras irradiadas com 3 e 4 kGy, por sua vez, apresentaram perda de qualidade no 9º e 6º dias, respectivamente. O final da vida-de-prateleira foi determinado por modificações na aparência do talo e da folha traduzidas como amarelecimento, perda da cor verde. Tais alterações foram muito provavelmente decorrentes de reações químicas.

Tabela 6: Médias de aceitação (provadores) das amostras de agrião (*Nasturtium officinale*) irradiadas em função do tempo (em dias) de armazenamento.

Amostras	Tempo* (dias)						r**	Estimativa da vida-de-prateleira (dias)
	0	2	5	7	9	12		
0	6,9a	7,0a	6,8a	5,8a	5,6a	5,5a	-0,91	14,5
1kGy	6,9a	7,1a	6,7a	6,3a	6,1a	5,3a	-0,94	16
3kGy	6,2a	6,5a	6,7a	6,1a	4,8b	3,7b	-0,83	9
4kGy	5,8a	6,3a	4,9b	5,1a	5,0a	3,2b	-0,88	6

*Média de aceitação no dia com a mesma letra não difere significativamente ($p < 0.05$), de acordo com o teste de comparação de médias de Tukey.

**Todos os coeficientes de regressão linear são significantes ($p < 0.05$)

Figura 6: Curvas de vida de prateleira de agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado irradiado e não irradiado mostrando a redução de aceitabilidade com o tempo.

A vida de prateleira de agrião minimamente processado e irradiado foi maior do que a observada para alface picada minimamente processada e exposta a doses de 0,9 e 0,7 kGy, por Goularte (2003), que foi de 2 e 3 dias, respectivamente, devido à alteração na cor.

4.5. Análise microbiológica durante o estudo da vida de prateleira de agrião irradiado

Na Tabela 7 são apresentados os resultados das análises microbiológicas de acompanhamento do estudo da vida de prateleira. As três doses de irradiação – 1, 2 e 3 kGy – reduziram de 3 a 5 ciclos as populações de microrganismos aeróbios mesófilos enquanto as reduções das de psicrotrófilos e de *Enterobacteriaceae* foram menores, entre 2 e 4 ciclos, e entre 1 e 3 ciclos, respectivamente. No caso da população de bactérias lácticas houve redução de 1 a 4 ciclos para as doses de 1, 3 e 4 kGy durante o experimento. A população de coliformes fecais não foi detectada ao longo do experimento, pelo método empregado, assim como *Salmonella* spp.

Goularte (2003) avaliaram a qualidade microbiológica de alface minimamente processada e irradiada com doses de 0,7; 0,9 e 1,1 kGy ao longo da sua vida-de-prateleira, e observaram reduções de 2 a 3 log nas populações de microrganismos mesófilos, menores do que as constatadas em nosso experimento. A mesma redução foi observada para as populações de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*, onde níveis de 10^3 UFC/g foram reduzidos para <10 UFC/g após a irradiação e se mantiveram assim até 3 dias após o tratamento.

Vale registrar a realização de pesquisa, tendo como amostra, cenoura minimamente processada, e que envolveu também, análises físico-químicas e microbiológicas aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento (as cenouras foram embaladas sob ar atmosférico, vácuo e atmosfera modificada e armazenadas sob refrigeração a 1°C). O resultado nas análises microbiológicas das amostras de cenoura minimamente processada foi negativo para coliformes totais e fecais, para anaeróbios mesófilos e para *Salmonella*. Durante apenas o período de armazenamento, quando se considera todos os tratamentos, apenas os psicrotrófilos apresentaram crescimento (Pilon et al., 2002b).

Tabela 7: Avaliação microbiológica nas amostras de agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado e irradiado durante a sua vida-de-prateleira.

Grupo de microrganismo	Tempo*	Doses			
		controle	1 kGy	3 kGy	4 kGy
Aeróbios mesófilos (UFC/g)	Zero	1,4x10 ⁴	<10	<10	<10
	2 dias	5,0x10 ⁴	<10	<10	<10
	5 dias	3,9x10 ⁴	<10	<10	<10
	7 dias	4,0x10 ³	<10	<10	<10
	9 dias	1,6x10 ³	<10	<10	<10
	12 dias	4,5x10 ⁵	2,8x10 ²	<10	<10
Psicrotrófilos (UFC/G)	Zero	7,8x10 ⁴	<10 ²	<10 ²	<10 ²
	2 dias	3,5x10 ⁵	<10 ²	<10 ²	<10 ²
	5 dias	1,8x10 ⁶	<10 ²	<10 ²	<10 ²
	7 dias	2,6x10 ⁶	<10 ²	<10 ²	<10 ²
	9 dias	1,1x10 ⁶	7,5x10 ³	<10 ²	<10 ²
	12 dias	5,6x10 ⁶	<10 ²	<10 ²	<10 ²
<i>Enterobacteriaceae</i> (UFC/g)	Zero	1,3x10 ²	<10	<10	<10
	2 dias	<10	<10	<10	<10
	5 dias	<10	<10	<10	<10
	7 dias	1,7x10 ⁴	<10	<10	<10
	9 dias	1,0x10 ³	<10	<10	<10
	12 dias	1,0x10 ³	<10	<10	<10
Bactérias lácticas (UFC/g)	Zero	1,6x10 ³	<10	<10	<10
	2 dias	6,2x10 ²	<10	<10	<10
	5 dias	2,8x10 ³	<10	<10	<10
	7 dias	4,3x10 ²	<10	<10	<10
	9 dias	2,7x10 ²	<10	<10	<10
	12 dias	1,1x10 ⁵	<10	<10	<10
Coliformes fecais (NMP/g)	Zero	<3	<3	<3	<10
	2 dias	<3	<3	<3	<3
	5 dias	<3	<3	<3	<3
	7 dias	<3	<3	<3	<3
	9 dias	<3	<3	<3	<3
	12 dias	<3	<3	<3	<3
<i>Salmonella</i> spp	Zero	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	2 dias	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	5 dias	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	7 dias	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	9 dias	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	12 dias	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

*tempo de armazenamento, a 7°C, após a irradiação

5. Conclusões

Os resultados obtidos nas condições deste estudo permitem concluir que:

- o agrião (*Nasturtium officinale*) minimamente processado apresenta risco potencial para o consumidor devido provavelmente às condições de cultivo e às limitações do processamento que não garantem a redução das populações de microrganismos indicadores para níveis considerados seguros.
- o processo de irradiação mostrou ser factível para melhorar a segurança microbiológica de agrião minimamente processado pois a dose necessária para reduzir a população de *Salmonella* spp em 5 ciclos logarítmicos é de 2,15 kGy com vida-de-prateleira entre 9 e 16 dias. A dose tolerada é de 3 kGy aceita pelos membros do painel sensorial até o 9º dia, com redução de 7 ciclos logarítmicos.

Referências Bibliográficas

- AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.**, Amsterdam, v.7, n.6, p.179-187, 1996.
- 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.**, Amsterdam, v.91, p.109-117, 2004.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard guide for the shelf life determination of consumer products by sensory evaluation**. Philadelphia, 1993. 10p. (ASTM, E 18.06.07).
- ANDREWS W.H. FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J. BAILEY, J.S. Salmonella. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.37, p.357-380.
- 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.
- 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)**, Vondhoven, The Netherlands, 13-17, September, 1999, p. 785-786. Apud: BERBARI, S.A.G.; PASCHOALINO, J.E.; SILVEIRA, N.F.A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.2, p.197-201, 2001.
- BISHOP, J.R.; WHITE, C.H.; FIRSTENBERG-EDEN, R. Rapid impedimetric method for determining the potential shelf-life of pasteurized whole milk. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.47, n.6, p.471-475, 1984.
- BOLIN, H.R. HUXSOLL, C.C. Effect of preparation producers and storage parameters on quality retention of salad cut lettuce. **J. Food Sci.**, Chicago, v.56, n.1, p.60-67, 1991.
- BRACKETT, R.E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biol. Technol.**, Amsterdam, v.15, p.305-311, 1999.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Foodborne outbreaks 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.
- CENTER FOR SCIENCE IN THE PUBLIC INTEREST. **Outbreak Alert!** 6.ed. mar. 2004. Disponível em: http://cpsinet.org/new/pdf/outbreak_alert_2004.pdf Acesso em: 20 maio 2004.
- CENTRO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. Alimentos. 10/03/1999. **Portaria Estadual CVS-6**. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/download.asp?tipo=zip&arquivo=98pcvs06.zip>. Acesso em: 05 fev. 2002.

- CHERVIN, C.; BOISSEAU, P. Quality maintenance of “ready-to-it” shredded carrots by gamma irradiation. **J. Food Sci.**, Chicago, 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.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: fisiologia e manuseio. São Paulo: Nagy, 1990. 320p.
- CLEMENTE, E. S. **Caracterização química, nutricional, física e sensorial de dois cultivares de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *itálica* baron e *Brassica oleracea* L. var. *itálica* ramoso- Piracicaba)**: um estudo de vida-de-prateleira. Campinas, 1998. 160p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.
- COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASSAVADA, P.C.. Psychrotrophic microorganisms (capítulo 13). In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. p.159-166.
- DIEHL, J.F. **Safety of irradiated foods**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1995. 454p. (Food Science and Technology, 68).
- FAN, X.; SOKORAI, K.J.B. Sensorial and chemical quality of gamma-irradiated fresh-cut iceberg lettuce in modified atmosphere packages. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.65, n.11, p.1760-1765, 2002.
- FARBER, J. Microbiological issues surrounding the safety of fresh cut produce. 10th, **World Congress of Food Science and Technology**. Abstract Book, Sydney, Australia: p.11, 1999. Apud: BERBARI, S.A.G.; PASCHOALINO, J.E.; SILVEIRA, N.F.A. Efeito do cloro na água de lavagem para

- desinfecção de alface minimamente processada. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.2, p.197-201, 2001.
- FARIA, J.A.F. Estabilidade em embalagens plásticas. Apostila da Disciplina TP - 244 - Embalagem e Estabilidade de Alimentos. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, 1990. 84p. Apud: MAISTRO, L.C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.14, n.3, p.219-224, 2001.
- FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: a review. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.44, p.189-204, 1998.
- FERREIRA, M.A. Um mercado fértil para o Brasil. **Frutas Legumes**, São Paulo, v.1, p.8-11, 2000.
- FRANCIS, G.A.; THOMAS, C.; O'BEIRNE, D. The microbiological safety of minimally processed vegetables. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.34, p.1-22, 1999.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p.134-139.
- FRANK, J. F.; TAKEUSHI, K. Direct observation of *Escherichia coli* O157:H7 inactivation on lettuce leaf using confocal scanning laser microscopy. 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)**, Veldhoven, The Netherlands, 13-17, September, 1999, p. 795-797. Apud: BERBARI, S.A.G.; PASCHOALINO, J.E.; SILVEIRA, N.F.A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.2, p.197-201, 2001.
- 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.
- GIMENO, R.M.G.; ZURERA-COSANO, G. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.36, p.31-38, 1997.
- GOPAL, A.; AJLONNI, S.; ROGINSKIF, H.; COVENTRY, J.; WAN, J. Application of non-conventional disinfection techniques to extend the shelf-life of minimally processed foods. 10th, **World Congress of Food Science and Technology**. Abstract Book, Sydney, Australia, 1999. Apud: BERBARI, S.A.G.; PASCHOALINO, J.E.; SILVEIRA, N.F.A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.2, p.197-201, 2001.
- GOULARTE, L. **Aplicação de processos combinados - processamento mínimo e radiação ionizante (60Co) - 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.
- 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.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. In: HOLT, J.G.; BERGEY, D.H.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; WILLIAMS, S.T., eds. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 1994. p.175-289.

- HOWARD, L.R.; MILLER, G.H.; WAGNER, A.B. Microbiological, chemical, and sensory changes in irradiated pico de gallo. **J. Food Sci.**, Chicago, v.60, n.3, p.461-464, 1995.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOOD. **Microorganisms in foods: microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackie Academic and Professional, 1996. p.217-264. (Microbiological specifications of food pathogens, v.5).
- 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 brasiliensis*). **J. Food Prot.**, Des Moines, v.66, n.6, p.1025-1029, 2003.
- JUNQUEIRA, A.H.; LUENGO, R.F.A. **Mercados diferenciados de hortaliças**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1999. p.1-7. (Circular Técnica EMBRAPA, n.17).
- KAWASHIMA, L.M.; SOARES, L.M.V. Mineral profile of raw and cooked leafy vegetables consumed in Southern Brazil. **J. Food Compos. Anal.**, Amsterdam, v.16, p.605-611, 2003.
- 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.
- LIMA, K.S.C.; GROSSI, J.L.S.; LIMA, A.L.S.; ALVES, P.F.M.; CONEGLIAN, R.C.C.; GODOY, R.L.O.; SABAA-SRUR, A.U.O. Efeito da irradiação ionizante na qualidade pós-colheita de cenouras (*Daucus carota* L.) cv. Nantes. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.21, n.2, p.202-208, 2001.
- MARTINS, C.G.; FRÖDER, H.; SOUZA, K.L.O.; FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T. Ecologia microbiana de vegetais folhosos minimamente processados.

- In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22, Florianópolis, 2003. **Programa e resumos**. São Paulo: SBM, 2003. p.154.
- 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. Vienna: IAEA, 1996. p.19-49. (TEC DOC 871).
- MCKNIGHT, I.C.S.; BONAMIN, V.C.; LACERDA, T.H. Estudo dos efeitos inerentes ao processamento mínimo do alface – *Lactuca sativa* embalado em atmosfera modificada passiva. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, Campinas, 2003. **Resumos**. Campinas: UNICAMP, 2003. 1 CD-ROM. [Desenvolvimento científico e tecnológico e a inovação na indústria de alimentos].
- 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.
- MICHINO, H., ARAKI, K., MINAMI, S., TAKAYA, S., SAKAI, N., MIYAZAKI, M., ONO, A., YANAGAWA, H. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.150, p.787-796, 1999.

- 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.
- MOSSEL, D.A.A.; MORENO GARCIA, B. **Microbiología de los alimentos**: fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1983. 375p.
- NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seed. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.52, p.123-153, 1999.
- NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Philadelphia, v.34, n.4, p.371-401, 1994.
- NIEMIRA, B.A., SOMMERS, C.H., FAN, X. Suspending lettuce type influences recoverability and radiation sensitivity of *Escherichia coli* O157:H7. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.65, p.1388-1393, 2002.
- NIEMIRA, B.A.; FAN, X.; SOKORAI, K.J.B.; SOMMERS, C.H. Ionizing radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* ATCC 49594 and *Listeria innocua* ATCC 51742 inoculated on endive (*Cichorium endiva*). **J. Food Prot.**, Des Moines, v.66, p.993-998, 2003a.
- NIEMIRA, B.A. Radiation sensitivity and recoverability of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* on 4 lettuce types. **J. Food Sci.**, Chicago, v.68, n.9, p.2784-2787, 2003b.
- 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.**, Chicago, v.59, n.6, p.1202-1215, 1994.

- OLIVEIRA, E.C.M.; VALLE, R.H.P. Aspectos microbiológicos de produtos hortícolas minimamente processados. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v.44, n.78/79, p.50-54, 2000.
- PEREIRA, J.L.; MIYA, N.; MAISTRO, L.C. Importância da enumeração rápida de bactérias patogênicas em vegetais folhosos minimamente processados: uma análise. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v.15, n.89, p.15-21, 2001.
- PILON, L.; FIGUEIREDO, M.; OETTERER, M.; SILVA, M.V.; STURION, G.L. Diretrizes para implantação de agroindústria para processamento mínimo de hortaliças: cenoura e pimentão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre: SBCTA, 2002a. p.2245-2248.
- PILON, L.; OETTERER, M.; SILVA, M.V.; STURION, G.L.; FIGUEIREDO, M. Otimização do processamento mínimo de cenouras visando manutenção dos nutrientes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre: SBCTA, 2002b. p.1512-1515.
- RADOMYSKI, T.; MURANO, E.A.; OLSON, D.G.; MURANO, P.S. Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.57, n.1, p.73-86, 1994.
- RAJKOWSKI, K.T.; THAYER, D.W. Reduction of *Salmonella* spp. and strains of *Escherichia coli* O157: H7 by gamma radiation of inoculated sprouts. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.63, n.3, p.871-875, 2000.
- 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. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 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.**, Amsterdam, v.57, p.211-214, 2000.
- 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, 2003.
- 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. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2, p.200-205, 2003.
- SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. Especificações para embalagens de vegetais minimamente processados (fresh cut). **Bol. Tec. Tecnol. Embalagens**, v.9, n.5, p.8, 1997.
- SCHLECH, W.F., LAVIGNE, P.M., BOSTOLUSSI, R.A., ALLEN, A.C., HALDANE, E.V., WORT, A.J., HIGHTOWER, A.W., JOHNSON, S.E., KING, S.H., NICHOLS, S.E., BROOME, C.V. Epidemics listeriosis – evidence for transmission by food. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v.308, p.203-206, 1983.
- SCHLIMME, D.V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.15-17, 1995.

- SHEWFELT, R.L. Quality of minimally processed fruits and vegetables. **J. Food Qual.**, Trumbull, v.10, n.3, p.143-156, 1987.
- SHEWFELT, R.L.; HEATON, E.K.; BATAL, K.M. Non destructive color measurement of fresh broccoli. **J. Food Sci.**, Chicago, v.49, n.8, p.1612, 1987.
- SILVA Jr., E.A.; NONAKA, L.; ARRUDA, G.A.; VITALE, W. Observação das características sensoriais e determinação das contagens de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em amostras de vegetais, quando submetidos a pressões reduzidas (vácuo) e baixo teores de oxigênio, em recipientes rígidos. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v.8, n.33, p.27-31, 1994.
- SKURA, B. J.; POWRIE, W. D. Modified atmosphere packing of fruits and vegetables. In: VEGETABLE PROCESSING. New York: VCH Publishers, 1995. 279p. Apud: MAISTRO, L.C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.14, n.3, p.219-224, 2001.
- 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.
- TAUXE, R.V. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. **Emerging Infect.**, Washington, v.3, p.425-434, 1997.
- 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.**, Harlow, v.11, n.5, p.363-370, 2000.
- WATADA, A.E.; KAZUHIRO, A.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technol.**, Chicago, v.44, n.5, p.116-122, 1990.

- WATANABE, Y., OZASA, K., MERNIN, J.H., GRIFFIN, P.M., MASUDA, K., IMASHUKU, S., SAWADA, T. Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. **Emerging Infect. Dis.**, Atlanta, v.5, p.424-428, 1999.
- WILEY, R.C. **Frutas y hortalizas minimamente processadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. 362p.
- 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. 81p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- YU, L.C.; REITMEIER, C.A.; LOVE, M.H. Strawberry texture and pectin content as affected by electron beam irradiation. **J. Food Sci.**, Chicago, n.61, p.844-846, 1996.