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

Avaliação do potencial de aplicação do processo de irradiação na redução da população de *Salmonella* sp. inoculada em hambúrguer de carne de frango: aspectos sensoriais e vida-de-prateleira.

Vanessa dos Santos Vieira

Tese para obtenção
do grau de Doutor

Orientador: Prof^a. Assoc. Mariza Landgraf

SÃO PAULO
2005

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

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

Avaliação do potencial de aplicação do processo de irradiação na redução da população de *Salmonella* sp. inoculada em hambúrguer de carne de frango: aspectos sensoriais e vida-de-prateleira.

Vanessa dos Santos Vieira

Tese para obtenção
do grau de Doutor

Orientador: Prof^a. Assoc. Mariza Landgraf

SÃO PAULO
2005

18.390

DEDALUS - Acervo - CQ

30100011466

Ficha Catalográfica

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

Vieira, Vanessa dos Santos

V657a Avaliação do potencial de aplicação do processo de
irradiação na redução da população de *Salmonella* sp
inoculada em hambúrguer de carne de frango: aspectos
sensoriais e vida-de-prateleira / Vanessa dos Santos
Vieira. -- São Paulo, 2005.
51p.

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

Orientador: Landgraf, Mariza

I. Análise sensorial : Ciência dos alimentos 2. Irradiação :
Preservação : Tecnologia de alimentos 3. Microbiologia de
alimentos I. T. II. Landgraf, Mariza, orientador

641 CDD

Vanessa dos Santos Vieira

Avaliação do potencial de aplicação do processo de irradiação na redução da população de *Salmonella* sp. inoculada em hambúrguer de carne de frango: aspectos sensoriais e vida-de-prateleira.

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Dra. Mariza Landgraf
orientador/presidente

1º Examinador

2º Examinador

3º Examinador

4º Examinador

São Paulo, 15 de Jun de 2005.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e incentivo constante.

Aos meus irmãos, pelo carinho e paciência.

Agradecimentos

- ❖ À prof^a Dr^a Mariza Landgraf, muito obrigada pela confiança, orientação e amizade.
- ❖ À prof^a Dr^a Maria Teresa Destro pelas sugestões e amizade.
- ❖ À prof^a Dr^a Bernadette D. G. M. Franco pelo apoio e incentivo.
- ❖ Ao prof. Dirceu Martins Vizeu pelo constante apoio, orientação e sugestões.
- ❖ Ao Dr Jorge Behrens pela amizade e colaboração.
- ❖ Aos tios Jacira e Olair Isepon pelo apoio e orientação.
- ❖ Aos professores Leo e Cynthia Kunigk, Eliana P. Ribeiro e Edison Triboli pela amizade, apoio e incentivo.
- ❖ À prof^a Edilene Adell pela amizade, apoio e colaboração.
- ❖ Aos senhores Rodrigo Otávio Teixeira Neto e Rubens Carvalho pela amizade, apoio e incentivo.
- ❖ Às queridas Lúcia e Kátia pela prestatividade.
- ❖ Às pessoas do laboratório de Microbiologia de Alimentos.
- ❖ À Capes pela bolsa *inicial de mestrado*.
- ❖ Ao CNPq pela bolsa de doutorado direto.
- ❖ À FAPESP pelo financiamento do projeto.
- ❖ Ao IPEN e à EMBRARAD por cederem suas instalações e pessoal técnico.
- ❖ À SADIA S/A, por intermédio da Dr^a Ivone Delazari, pelo fornecimento dos hambúrgueres.
- ❖ Ao pessoal da Secretaria do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, da Secretaria de pós-graduação da FCF e da biblioteca do Conjunto das Químicas.
- ❖ A todos os participantes da Análise Sensorial dos hambúrgueres.

Índice

Índice Figuras.....	i
Índice Tabelas.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
1. Introdução.....	1
1.1. <i>Salmonella</i> sp em Saúde Pública.....	1
1.2. Irradiação de Alimentos.....	5
1.3. Avaliação da aceitação de produto irradiado pela Avaliação Sensorial	8
2. Objetivos.....	10
3. Materiais e métodos.....	11
3.1. Materiais.....	11
3.2. Método	12
4. Resultados e Discussão	22
4.1. Avaliação microbiológica da matéria-prima	22
4.2. Determinação do valor D ₁₀ de <i>Salmonella</i> sp em hambúrgueres de carne de frango	23
4.3. Avaliação sensorial.....	29
5. Conclusões.....	39
6. Referências Bibliográficas	40
7. Anexos	48

Índice figuras

Figura 1:	Representação esquemática das etapas realizadas durante o experimento	17
Figura 2:	Representação esquemática das etapas realizadas durante a avaliação sensorial	19
Figura 3:	Ficha de avaliação sensorial de hambúrguer de frango	21
Figura 4:	Redução da população de <i>Salmonella</i> sp. em hambúrgueres congelados de carne de frango após exposição a raios gama (Experimentos A e B)	24
Figura 5:	Redução da população de <i>Salmonella</i> sp. em hambúrgueres congelados de carne de frango após exposição a raios gama (Experimentos C e D)	24
Figura 6:	Aceitação das amostras de hambúrguer de carne de frango não expostas à radiação e expostas às doses de 5,0 e 7,0 kGy, ao longo do período de estocagem (120 dias).	33
Figura 7:	Aceitação das amostras de hambúrguer de carne de frango não expostas à radiação e expostas às doses de 5,0 e 7,0 kGy.	35

Índice de tabelas

Tabela 1:	Populações médias de bactérias láticas, <i>Enterobacteriaceae</i> , microrganismos psicrotróficos e <i>Pseudomonas</i> sp em amostras de hambúrguer de frango antes de serem expostas à irradiação	23
Tabela 2	Populações médias (log UFC/g) de <i>Salmonella</i> sp sobreviventes à radiação gama, em quatro experimentos (A, B, C, D).	23
Tabela 3:	Valores D_{10} (kGy) para <i>Salmonella</i> sp inoculada em hambúrguer de frango congelado submetido a irradiação gama	25
Tabela 4	Avaliação dosimétrica dos experimentos.	25
Tabela 5:	Médias de aceitação de hambúrgueres de carne de frango não irradiado e irradiado nas doses 2, 5 e 8 kGy	30
Tabela 6:	Médias de aceitação (27 provadores) dos hambúrgueres de carne de frango congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy de radiação gama e amostras-controle	31
Tabela 7:	Análise de Variância da aceitação de hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle, fixando-se o tempo.	32
Tabela 8:	Análise de Variância da aceitação de hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy de radiação gama e amostras-controle, variando-se o tratamento	34

Resumo

A preocupação constante com a inocuidade e a qualidade dos alimentos irradiados, aliada à tendência de se estudar os aspectos sensoriais desses alimentos, foram a motivação para o desenvolvimento deste trabalho que teve como objetivos verificar os efeitos da radiação ionizante produzida pelo ^{60}Co na sobrevivência de *Salmonella* sp em hambúrgueres de carne de frango congelados e verificar a aceitação do produto irradiado durante o seu período de estocagem. Amostras de hambúrguer de carne de frango congelados, inoculados com quatro cepas diferentes de *Salmonella* sp foram expostos a níveis de radiação com doses variando entre 0 e 3,5 kGy para verificação da sobrevivência da população de *Salmonella* sp presente. Amostras não inoculadas e irradiadas com doses de 0, 5 e 7 kGy foram submetidas à avaliação sensorial por painel não treinado, pelo período de 120 dias, com o intuito de se verificar o decaimento da qualidade do produto. Os valores D_{10} encontrados para *Salmonella* sp variaram entre 1,02 e 1,32 kGy, portanto, as doses de 5 e 7 kGy, utilizadas nas fases seguintes do experimento, seriam suficientes para reduzir a população de *Salmonella* sp no produto em 5-6 ciclos logarítmicos. A exposição às doses de 5 e 7 kGy não afetou as características sensoriais do produto. A vida de prateleira do hambúrguer de carne de frango congelado e irradiado com doses de 5 e 7 kGy foi de, no mínimo, 120 dias, ou seja, igual à do produto não irradiado.

Abstract

Safety and quality of irradiated foods are still of great concern to researchers and consumers, in general. The aims of this research were to study the effects of ionizing radiation from ^{60}Co on the population of *Salmonella* sp inoculated in frozen chicken meat patties as well as on their sensory characteristics during the storage period. Samples of frozen chicken meat patties, inoculated with a pool of four strains of *Salmonella* sp., were exposed to irradiation doses varying from 0 to 3.5 kGy in order to determine their sensitivity (D_{10}). Non inoculated samples of frozen chicken meat patties exposed to 5 and 7 kGy and a non inoculated and non irradiated sample were submitted to sensory evaluation by a non-trained panel. D_{10} values varied from 1.02 to 1.32 kGy. Samples exposed to 5 and 7 kGy did not showed appreciable changes during the storage period of 120 days. Therefore, irradiation can be applied to chicken meat patties in order to improve their safety during a storage period of, at least, 120 days.

1. Introdução

Dentre os vários tipos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA), encontram-se aquelas que têm como agente causador uma bactéria patogênica. Como exemplos de agentes causadores pode-se citar *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* e *Vibrio cholerae*. Os agentes causadores de ETA podem causar a doença no homem por meio de infecções (*Salmonella*), intoxicação (*Staphylococcus aureus*) ou toxinfecção (*Clostridium perfringens*).

As ETA constituem uma preocupação mundial, que direciona a atenção de pesquisadores para os patógenos que as causam, os alimentos que os veiculam e medidas que visam garantir a inocuidade de tais alimentos.

1.1. *Salmonella* sp em Saúde Pública

De todos os microrganismos estudados por TODD (1989), *Salmonella* foi, nos Estados Unidos, o agente de ETA que apresentou o maior custo (US\$ 4 bilhões), seguido por *Staphylococcus aureus* (US\$ 1,5 bilhões) e *Listeria monocytogenes* (US\$ 3,3 bilhões). Entre os 22 maiores surtos ocorridos entre 1981 e 1993, listados por SHARP e REILLY (1994), 7 (31,8%) deles foram causados por *Salmonella*.

Estimativas realizadas pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos apontam que essas doenças afetam de 6 a 80 milhões de pessoas, causam 9000 mortes e têm um custo estimado de 5 bilhões de dólares (CDC, 2001).

Não só nos EUA, mas também em outros países, como Reino Unido e Itália, *Salmonella* é um dos microrganismos mais freqüentemente envolvidos em casos e surtos de ETA (BEAN & GRIFFIN, 1990; BEAN *et al.*, 1997; PHLS, 1999; SCUDERI *et al.*, 1996), apesar de se ter observado, nos EUA, um declínio no número de casos no último ano (CDC, 2004).

No Brasil, segundo dados relatados pela PANALIMENTOS (2003), a ETA que mais tem acometido consumidores nos últimos anos é a salmonelose. No período de 1994 a 1997, na grande São Paulo, do total relatado de enfermidades transmitidas por alimentos, 13 (72,2%) foram causadas por

Salmonella sp. (JAKABI *et al.* 1999). Entre 1995 e 1996, das cepas de *Salmonella* isoladas no Estado de São Paulo, 34% foram provenientes de carnes vermelhas e derivados, 31,5% de aves e derivados e 10,6% de ovos e derivados.

As variações de sintomatologia (diarréia, febre, dores abdominais e vômitos), período de incubação do microrganismo (12 a 36 horas) e duração da doença (1 a 4 dias) (FRANCO & LANDGRAF, 1996) são provenientes de diversos fatores tais como condições físicas do indivíduo afetado, população do microrganismo presente no alimento, quantidade e composição do alimento ingerido (SAYLERS & WHITT, 1994; MORRIS & POTTER, 1997). Após uma infecção por *Salmonella*, o indivíduo afetado pode se tornar um portador, excretando o microrganismo nas fezes por períodos que podem chegar a anos (LE MINOR, 1984; SAYLERS & WHITT, 1994; D'AOUST, 2001).

Salmonella sp é o microrganismo responsável pela enfermidade e tem como características morfológicas ser um bacilo Gram negativo, anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Quase todos os membros do gênero são móveis devido aos flagelos peritríquios. *Salmonella* é um microrganismo quimiorganotrófico, com habilidade de metabolizar nutrientes pelas vias respiratória e fermentativa. Multiplica-se bem a 37 °C e cataboliza D-glucose e outros carboidratos, produzindo ácido e gás. É oxidase negativa e catalase positiva, tem a capacidade de utilizar citrato como única fonte de nitrogênio. Geralmente produz sulfeto de hidrogênio, lisina descarboxilase e não hidrolisa uréia (LE MINOR, 1984). O gênero *Salmonella* adapta-se rapidamente a condições ambientais hostis, por exemplo, à temperatura e pH (D'AOUST, 2001).

Entre os diversos tipos de carne, a de frango tem sido a mais comumente implicada nos surtos de salmonelose e sua importância como principal veículo de *Salmonella* relaciona-se a diversos fatores, entre eles o difícil controle da contaminação das matrizes, o aumento do consumo de carne de frango, a alta proporção de frangos assados contaminados e o aumento do uso de frango fresco, que pode ser uma fonte de contaminação cruzada nas cozinhas. Além disso, na Inglaterra e, de maneira geral, no Reino Unido, o consumo elevado desse tipo de carne, ao se comparar com o de outras carnes, nos meses de verão quando a temperatura mais alta aumenta os riscos

associados com o transporte inadequado, manuseio, cozimento e estocagem, também é um fator a ser considerado (SOCKETT, 1995).

Apesar de o mecanismo pelo qual *Salmonella* coloniza o frango não estar completamente elucidado, sabe-se que os principais sítios de colonização encontram-se no ceco (BRYAN & DOYLE, 1995; D'AOUST, 2001).

Durante o processamento das carcaças, ocorre a contaminação entre elas. Dentro das plantas de processamento, as carcaças passam por uma série de operações onde pode ocorrer a contaminação tanto do próprio ambiente como dos equipamentos da planta, mãos dos trabalhadores e contaminação cruzada de outras aves contaminadas. As etapas de escaldamento, depenagem e evisceração e os miúdos são os maiores pontos de transferência de microrganismos (BRYAN & DOYLE, 1995).

SCHLOSSER *et al.* (2000) relataram que, entre junho de 1997 e agosto de 1998, nos Estados Unidos, os sorotipos mais comuns de *Salmonella* isolados de carcaças de frango foram Heidelberg, Kentucky, Hadar e Typhimurium. De carne crua de frango moída foram Heidelberg, Kentucky, Schwarzengrund e Infantis. Já os sorotipos mais comuns entre isolados humanos em 1997, segundo o PHLIS (Public Healthy Laboratory Information System, 1999) nos EUA, foram *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*. Na tentativa de justificar essa discordância, foi levantada a hipótese de que os sorotipos menos freqüentes em animais (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*) poderiam ser mais virulentos para os seres humanos do que os de maior freqüência em animais.

MACHADO *et al.* (1994), estudando a ocorrência de *Salmonella* sp. e *Campylobacter* sp em frangos coletados logo após o abate e no produto final de uma planta processadora localizada em Santa Catarina, constataram que as amostras de ceco examinadas logo após o abate apresentavam 56,6% e 10% para *Campylobacter* sp e *Salmonella* sp, respectivamente. Na linha de processamento, a porcentagem de *Campylobacter* sp na superfície do produto foi de 50% e na água de escaldamento foi de 13,3% para *Salmonella* sp.

TAVECHIO *et al.* (1996) verificaram que no estado de São Paulo, Brasil, no período de 1991 a 1995, *S. Enteritidis* foi o sorotipo mais freqüente entre os isolados de fontes não humanas. O aparecimento deste sorotipo nos alimentos foi verificado em 1993, associado com surtos de ETA, principalmente devido ao

consumo de ovos e alimentos preparados com ovos crus contaminados (JAKABI *et al.*, 1999).

Em estudo sobre a ocorrência de *Salmonella* sp em sobrecoxas de frango adquiridas em açougues e feiras livres da cidade de São Paulo, 44% das 41 amostras analisadas foram positivas. O sorotipo mais freqüente foi o Enteritidis (WORCMAN – BARNINKA *et al.*, 2001).

A população de *Salmonella* em carcaças de frango é normalmente baixa (cerca de 1 a 30 células), enquanto na pele pode atingir, ocasionalmente, 10⁴ UFC/100 g (TOKUMARU *et al.*, 1990).

Apesar de as carcaças de frango apresentarem uma baixa contaminação no início do processamento, o microrganismo dissemina-se no tanque de escaldamento devido à ação mecânica, na evisceração e, mais ainda, no final do processamento onde há permanência e até mesmo o aumento no número desse microrganismo por contaminação proveniente de outras carcaças (LILLARD, 1990).

Em 2003, o Brasil ocupava o segundo lugar mundial nas exportações de carne de frango. Obteve receita de US\$ 1,3 bilhão em 2001 detendo o menor custo de produção do mundo. Em volume de produção, em 2003, o Brasil ocupou o terceiro lugar no cenário mundial. No mercado interno, o consumo aumentou nas últimas décadas de 6 kg/habitante/ano para 33 kg/habitante/ano em 2003 (ABEF, 2004). Estimativas para o ano base 2004, prevêem o fechamento como o maior produtor mundial de carne de frango, tanto em receita cambial como em volume de exportação. O Brasil embarcou 2,4 milhões de toneladas de carne de frango com receita cambial de US\$ 2,5 bilhões, para 130 países destino (ABEF, 2005).

Entre os diversos produtos derivados de carne de frango, as almôndegas e os hambúrgueres estão ganhando a preferência do consumidor das diversas classes sociais. No entanto, esses alimentos podem veicular *Salmonella*, como verificado em estudo realizado por nós. De 30 amostras analisadas de hambúrguer de carne de frango de diferentes procedências analisadas, 2 (7%) apresentaram resultado positivo para *Salmonella* sp. (VIEIRA *et al.*, 2003). Portanto, deve-se tomar muito cuidado no momento da sua cocção em domicílio.

1.2. Irradiação de Alimentos

Na tentativa de tornar os alimentos mais seguros do ponto de vista microbiológico, vários métodos de conservação têm sido utilizados ou ainda estão em estudo. Entre estes últimos, os métodos não-térmicos de conservação estão merecendo grande atenção por parte dos pesquisadores e, entre eles, o emprego da radiação é o que tem recebido maior destaque.

A eficácia da irradiação para eliminar bactérias patogênicas em alimentos já está bem estabelecida (OLSON, 1998). O Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos aprovou em 1997 a radiação ionizante para carne não cozida, refrigerada e congelada, para controlar patógenos e estender a vida-de-prateleira do produto (FDA, 1997).

No Brasil, Portaria de janeiro de 2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) permite a irradiação de qualquer alimento com qualquer dose desde que suas características organolépticas não sejam alteradas (BRASIL, 2001).

A radiação é um fenômeno físico no qual a energia atravessa o espaço ou a matéria enquanto a irradiação é o processo de aplicação dessa energia em um material. No caso de sua aplicação em alimentos, tem como objetivo a esterilização ou pasteurização dos mesmos. A unidade de medida da radiação é o Gray (Gy). A radiação gama e o emprego de elétrons acelerados constituem as duas formas de irradiação de alimentos mais utilizadas (DIEHL, 1995).

O cobalto 60, fonte dos raios gama, é produzido via bombardeamento de nêutrons do elemento não radioativo ^{59}Co . Raios gama com energia de 1,17 e 1,33 MeV provêm da desintegração desse elemento não estável. A maior vantagem da radiação gama é seu alto poder de penetração, facilitando seu uso no tratamento de itens volumosos como, por exemplo, o frango (KILCAST, 1994).

Os elétrons acelerados são provenientes de feixes de elétrons de alta energia gerados em máquinas. Esse tipo de radiação tem a vantagem de poder ser desligado quando não está sendo utilizado. Porém, seu uso em alimentos é limitado, pois tem baixo poder de penetração em comparação com a radiação gama (KILCAST, 1994).

A irradiação de alimentos, além de reduzir o número de patógenos não formadores de esporos, aumenta a vida útil do produto, de forma a torná-lo mais acessível para um número maior de pessoas. Tal fato resulta no aumento da quantidade de alimentos que circula no comércio internacional, reduzindo os custos dos mesmos pelo aumento da oferta (LOAHARANU, 1995). Além disso, já está confirmado que alimentos irradiados permanecem saudáveis e nutritivos (LAGUNAS-SOLAR, 1995).

A maior vantagem do processo de irradiação de alimentos consiste nas poucas alterações que ocorrem nos componentes do alimento, muitas vezes imperceptíveis. Além disso, muitas dessas alterações ocorrem também em outros processos, não sendo únicas à irradiação.

As alterações mais importantes ocorrem nos lipídios dos alimentos devido à oxidação e reações com produtos radiolíticos. Proteínas, carboidratos e vitaminas também são afetados, mas em menor escala que os lipídios.

URBAIN (1986) referencia que o efeito da irradiação sobre os lipídios é de interesse em termos de suas características funcionais, nutricionais, sensoriais e toxicológicas. Ao contrário dos carboidratos e das proteínas, os lípidos estão presentes nos alimentos em uma fase distinta, totalmente separada dos sistemas aquosos. Mesmo assim, estão sujeitos aos efeitos diretos e indiretos da irradiação como outros sistemas. O oxigênio tem um papel importante, pois certos lipídios oxidam rapidamente na sua presença e a irradiação pode acelerar este processo. Se há a presença de oxigênio durante ou após a irradiação, a autooxidação é acelerada pela radiação. Os produtos finais da autooxidação são semelhantes àqueles que ocorrem sem radiação. Por exemplo, os triglicerídeos sofrem uma sequência de eventos similar à dos ácidos graxos. As quebras ocorrem preferencialmente nas ligações vizinhas ao grupo carbonila. Os radicais livres formados geram produtos finais estáveis através de várias formas como dissociação ou recombinação.

Como alternativa tecnológica para o controle das reações de oxidação dos lipídios, provenientes ou não da irradiação, lança-se mão da utilização de substâncias antioxidantes. Os antioxidantes presentes num produto podem ser intencionalmente adicionados (p. ex. ascorbato, ácido ascórbico, α -tocoferol) ou podem estar presentes na composição do produto (extratos de plantas

adicionados como condimentos), sendo adicionados com outra finalidade (GIROUX *et al.*, 2001).

Dependendo da dose a que o alimento é exposto, podem ocorrer alterações nas características organolépticas. Há vários dados conflitantes relativos aos efeitos da irradiação nas propriedades sensoriais de carne bovina (THAYER, 1990). Esses resultados provavelmente vêm do fato de que o desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis em carne irradiada podem ser afetados por uma série de fatores, incluindo temperatura, ambiente dentro da embalagem, material de embalagem, dose de radiação, tempo de estocagem pós-irradiação e condições da carne antes da irradiação. Por isso, tem-se recomendado irradiar carnes no estado congelado, com baixo teor de oxigênio ou atmosferas livres de oxigênio (OLSON, 1998).

SUDARMADJI & URBAIN (1972) observaram o desenvolvimento de odores desagradáveis e a destruição de certos nutrientes em carne de frango exposta a doses superiores a 2,5 kGy. O desenvolvimento de odor desagradável também foi constatado por HANIS *et al.* (1989). No entanto, esse odor, que se acentuava com o aumento da dose, desaparecia após a fritura ou cocção dessa carne.

Com o desenvolvimento dos aceleradores de elétrons, nos últimos anos, alguns estudos têm sido realizados com esses equipamentos, com a finalidade de verificar sua eficiência quando comparado à irradiação com raios gama.

CHUNG *et al.* (2000) estudaram a sobrevivência de *Pseudomonas fluorescens* e *Salmonella Typhimurium* em carne bovina refrigerada após irradiação com raios gama e feixe de elétrons e observaram que o tratamento com raio gama foi mais eficiente na redução da população de bactérias mesófilas do que o tratamento com feixe de elétrons. *S. Typhimurium* não foi detectada após os dois tratamentos e *P. fluorescens* o foi após o tratamento com feixe de elétrons.

Com a crescente preocupação em produzir alimentos seguros (como carne de frango com número extremamente reduzido de *Salmonella* sp.) utilizando tecnologias alternativas, há a necessidade de se estudar os efeitos das radiações ionizantes aplicadas em hambúrgueres de frango congelados, por ser um produto extensamente consumido, principalmente pela população mais jovem, que engloba as crianças.

Os estudos dos efeitos da radiação aplicada a alimentos que devem ser observados são os de natureza de saúde pública, tanto de segurança microbiológica do produto como de características nutricionais, como aqueles de aceitação por parte dos consumidores, tanto do ponto de vista de consentimento quanto à utilização da tecnologia como de aceitação da palatabilidade do produto.

1.3. Avaliação da aceitação de produto irradiado pela Avaliação Sensorial

A qualidade de um produto vem sendo determinada de várias maneiras diferentes (LAWLESS, 1995). Muitos pesquisadores têm considerado como uma medida de qualidade a satisfação do consumidor (CARDELLO, 1995; MOSKOWITZ, 1995), apesar de existir uma tradição um tanto distinta deste conceito.

Um requerimento básico de qualquer sistema de controle da qualidade sensorial de um produto é a definição de padrões ou limites de tolerância em termos sensoriais para um determinado produto (LAWLESS & HEYMANN, 1999).

A percepção e a atitude do consumidor são de grande importância na determinação da qualidade sensorial de um produto. Para tanto, o parâmetro avaliado é a queda da aceitação do produto durante o armazenamento, a qual pode ser medida através de uma escala hedônica que avalia o quanto o consumidor “gosta” ou “desgosta” do produto, de maneira global, nos diferentes tempos de armazenamento. Os participantes de teste de aceitação devem ser qualificados em função de critérios demográficos, frequência de consumo do produto, idade, sexo, renda e atitude, e não serem treinados (MEILGAARD et al., 1999).

A grande diferença entre os testes sensoriais e os ensaios que podem mensurar certos parâmetros nos alimentos, é que nestes ensaios, um único parâmetro pode ser medido em centenas de produtos e fornecer uma única medida final. Já na análise sensorial, uma amostragem de cada produto pode

fornecer medidas de vários parâmetros, que somente os seres humanos conseguem fornecer (LAWLESS & HEYMANN, 1999).

Com base nesses diversos parâmetros, BISHOP *et al.* (1984) propuseram um critério para se definir o final da vida-de-prateleira, baseado na obtenção de valores iguais ou inferiores a 5 na escala hedônica de nove pontos por três julgadores, sendo o dia anterior considerado o final da vida-de-prateleira.

2. Objetivos

A presente pesquisa teve como objetivos:

- verificar os efeitos da radiação ionizante na sobrevivência de *Salmonella* sp em hambúrgueres de frango congelados;
- verificar a aceitação do produto irradiado durante o seu período de estocagem;
- o estudo da viabilidade tecnológica do emprego do processo de irradiação para aumentar a segurança microbiológica de hambúrguer de carne de frango congelado.

3. Materiais e métodos

3.1. Materiais

Amostras

Hambúrgueres de carne de frango congelados, sempre de uma mesma marca comercial, foram adquiridos no comércio varejista local e levados ao laboratório de microbiologia de alimentos da Universidade de São Paulo em caixas térmicas com gelo. Os hambúrgueres foram mantidos congelados a -18 °C até o momento das análises. O produto possui prazo de validade de quatro meses. Segundo o especificado na embalagem, apresentam a seguinte composição:

- carnes de coxa, sobrecoxa e peito de frango;
- água;
- gordura vegetal hidrogenada;
- proteína texturizada de soja;
- maltodextrina;
- sal;
- condimentos naturais;
- aroma natural de pimenta branca;
- regularizador de acidez lactato de sódio;
- estabilizante polifosfato de sódio;
- realçador de sabor glutamato monossódico.

As amostras utilizadas no teste sensorial foram gentilmente cedidas por uma empresa processadora de hambúrgueres de carne de frango congelados. As amostras pertenciam todas ao mesmo lote de fabricação e eram da mesma marca utilizada nos testes de irradiação.

Culturas microbianas

Nesta pesquisa foi utilizado um “pool” de bactérias, a saber: *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Tiphymurium ATCC 14028, pertencentes ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; *Salmonella* Infantis e *Salmonella* Enteritidis, isoladas de surtos alimentares, gentilmente cedidas pelo Instituto

Adolfo Lutz de São Paulo. Essas cepas foram marcadas com ácido nalidíxico (50 µg/mL) (NA, SIGMA Química Ltda, Saint Louis, USA), através de seleção natural, segundo metodologia descrita por BLACKBURN & DAVIES, 1994.

As cepas foram mantidas em ágar Soja Triptona (TSA, OXOID, Basingstoke, UK) suplementado com 0,6 % de extrato de levedura (YE. OXOID) e com 50 µg/mL de ácido nalidíxico (TSAYENA) a 4 °C até o momento da utilização.

3.2. Método

3.2.1 Avaliação microbiológica da matéria-prima

Foram realizados os ensaios: enumerações de *Pseudomonas* sp, microrganismos psicrotróficos, *Enterobacteriaceae*, bactérias láticas e pesquisa de *Salmonella* sp para se conhecer a microbiota do produto. As contagens foram realizadas em cada um dos quatro lotes utilizados no ensaio de inoculação.

3.2.1.1 Preparo das amostras

Quatro unidades de hambúrguer foram homogeneizadas e desta mistura foram pesados 25 g aos quais foram adicionados 225 mL de água peptonada 0,1%. Após a homogeneização por 1 minuto, em velocidade normal, em homogeneizador Stomacher 400 (Seward, London, UK), foram realizadas diluições decimais sucessivas em solução salina (NaCl 0,85%, Synth). Este homogeneizado foi utilizado nos ensaios de enumerações de *Pseudomonas* sp, microrganismos psicrotróficos, bactérias láticas e *Enterobacteriaceae*.

3.2.1.1.1 Contagem de *Pseudomonas* sp. (MEAD & ADAMS, 1977):

0,1 mL de cada diluição, citada em 3.2.1.1, foi semeado na superfície de placas de Petri contendo ágar base *Pseudomonas* (CM 559, Oxoid, Basingstoke, UK) adicionado do suplemento específico para *Pseudomonas* sp (SR103, Oxoid) e espalhado com o auxílio de alça de Drigalski. Após a absorção completa do inóculo pelo ágar, as placas foram incubadas em

posição invertida a 25 °C por 48 horas. Posteriormente, as colônias características (cor de palha, levemente verdes ou marrons) foram examinadas sob luz branca e as placas com número de colônias entre 25 e 250 foram contadas. Os resultados, após aplicação dos respectivos fatores de correção das diluições, foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama de produto (UFC/g).

3.2.1.1.2 Contagem de microrganismos psicrotróficos (COUSIN *et al*, 2001-modificado):

A partir das mesmas diluições decimais citadas em 3.2.1.1, foi semeado em placa de Petri 1 mL do inóculo e adicionado o ágar padrão para contagem (CM 325, OXOID) à temperatura de 45-46 °C. Após homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas em posição invertida a 6-8 °C por 10 dias. Após esse período, as colônias presentes nas placas foram contadas e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em UFC/g do produto.

3.2.1.1.3 Contagem de *Enterobacteriaceae* (KORNACKI & JOHNSON, 2001):

A partir das mesmas diluições decimais citadas em 3.2.1.1, foi semeado 1 mL das diluições acima em placa de Petri e adicionado cerca de 15 mL do ágar violeta vermelho bile lactose (CM107, Oxoid) suplementado com glicose (LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil) 10 g/L (VRBG), à temperatura de 45-46 °C. Após homogeneização e solidificação do meio, foi adicionada uma sobrecamada de 10 mL do mesmo meio e as placas foram incubadas, após a solidificação do meio, em posição invertida a 35-37 °C por 18 a 24 horas. Após a incubação foram contadas as colônias características (coloração vermelho-púrpura) das placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção de diluição. Os resultados foram expressos em UFC/g de produto.

3.2.1.1.4 Contagem de bactérias lácticas (VEDAMUTHU *et al*, 1992):

A partir das mesmas diluições decimais citadas em 3.2.1.1, foi semeado em placa de Petri 1 mL do inóculo e adicionados cerca de 15 mL do ágar MRS

(CM 361, OXOID) à temperatura de 45-46 °C. Após homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerogen. Oxoid) a 25 °C por 3 dias. Após esse período, placas com número de colônias entre 25 e 250 foram contadas e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em UFC/g do produto.

3.2.1.2 Pesquisa de *Salmonella* sp. (ANDREWS et al, 2001):

Quatro unidades de hambúrguer foram homogeneizadas e desta mistura foram pesados 25 g aos quais foram adicionados 225 mL de caldo lactosado (CM 137, OXOID) e incubados a 35-37 °C por 20-24 horas. Decorrido esse período, 0,1 mL do caldo lactosado foi transferido para 10 mL do caldo de enriquecimento Rappaport-Vassiliadis (CM 669, OXOID) e incubado a 41-42 °C por 24 horas. Paralelamente, foi adicionado 1 mL do caldo lactosado a 10 mL do caldo tetrionato de Kauffman (0104-17, Difco, Detroit, EUA) e incubado a 35-37 °C por 24 horas. Decorrido esse período, eles foram semeados em ágar Hektoen Enteric (CM 149, OXOID) e ágar bismuto sulfito (CM 201, OXOID). As placas inoculadas foram incubadas a 35-37 °C por 20-24 horas. As colônias suspeitas foram semeadas em ágar ferro lisina (LIA, OXOID) e ágar triplice açúcar ferro (TSI, OXOID) e incubados a 35-37 °C por 24 horas. Posteriormente, as colônias suspeitas foram semeadas em ágares EPM, Mili e Citrato de Simmons (PROBAC do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda, São Paulo, Brasil) e incubados a 35-37 °C por 24 horas. Por fim, as colônias que apresentaram reações positivas para *Salmonella* nos testes bioquímicos foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella* (PROBAC do Brasil, São Paulo, Brasil).

3.2.2 Avaliação da sobrevivência de *Salmonella* sp inoculada em hambúrgueres de carne de frango, após processo de irradiação

Preparo do Inóculo

Para ativação das culturas, as quatro culturas-estoque de *Salmonella*, mantidas sob refrigeração, foram transferidas, separadamente, para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo Soja Triptona (TSB, OXOID) suplementado

com 50 µg/mL de ácido nalidíxico (TSBNA) e incubadas a 37 °C por 18 a 24 h. Posteriormente, essas culturas foram semeadas, separadamente, em placas de TSA suplementado com 50 µg/mL de ácido nalidíxico (TSANA) e incubadas a 35-37°C por 18 a 24 horas com a finalidade de se obter colônias isoladas.

Após o período de incubação, de cada placa foram transferidas 5 colônias para erlenmeyers contendo 50 mL de TSBNA cada e estes foram incubados a 35-37 °C sob agitação a 140 rpm (Innova 4000, New Brunswick Scientific, Nova Iorque, EUA) por 14 h. Após esse período, a absorbância de cada cultura era lida em espectrofotômetro (modelo Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech, EUA) com comprimento de onda de 540 nm para verificar a absorbância correspondente à concentração de 10^{10} UFC/mL (unidades formadoras de colônia por mL), conforme curva de crescimento realizada previamente.

Após a leitura da absorbância, os caldos inoculados foram homogeneizados de modo a se obter um inóculo composto de uma mistura das quatro cepas utilizadas. Foram efetuadas diluições decimais desse "pool" de cepas de *Salmonella* sp em solução salina (NaCl 0,85 %, LABSYNTH) das quais foram utilizadas alíquotas de modo a se obter uma concentração de células de *Salmonella* sp nos hambúrgueres da ordem de 10^5 UFC/g de hambúrguer.

Para se confirmar a população de *Salmonella* do inóculo, foi semeado 1 mL do caldo contendo o "pool" de células em placas de Petri e adicionado aproximadamente 20 mL de TSANA. As placas foram incubadas a 35-37 °C por 20-24 h, quando as colônias presentes nas placas foram contadas.

Inoculação dos hambúrgueres de carne de frango

Para a inoculação, os hambúrgueres que eram mantidos congelados a -18 °C, foram previamente descongelados em temperatura de refrigeração por duas horas. A quantidade total utilizada foi homogeneizada com a suspensão de *Salmonella* sp. A partir dessa massa, novos hambúrgueres foram formatados, resultando em amostras com espessura de 10 ± 1 mm.

Os hambúrgueres foram embalados individualmente em filme de polietileno selado em seladora térmica (mod. 300T, Barbi Ind. Mecânica Ltda,

ltu. BR). As amostras foram congeladas a -18 °C e assim mantidas até o momento da irradiação. Esse período nunca ultrapassou 24 horas.

Irradiação

Os hambúrgueres foram transportados ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) em caixas de material termoisolante com gelo. As amostras, quatro unidades por dose, foram irradiadas congeladas, em temperatura ambiente, com doses de 1,5 kGy, 2,0 kGy, 2,5 kGy, 3,0 kGy e 3.5 kGy com radiação gama (irradiador Gamma Cell-220, Atomic Energy of Canada, LTD, Kanata, CA), pertencente ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN, São Paulo) onde as irradiações foram realizadas.

Uma amostra inoculada, acompanhou os experimentos mas não foi exposta à radiação (dose 0,0 kGy). Após o processamento, as amostras foram mantidas em freezer a -18 °C. Os hambúrgueres foram transportados ao laboratório de microbiologia de alimentos em caixas termoisolantes com gelo.

Este processo foi realizado em quatro ocasiões diferentes (A, B, C, D).

Dosimetria

Foram utilizados os dosímetros Gammachrome YR Batch 6 (Harwell, Oxfordshire, Reino Unido) nos experimentos 1 e 2 e Amber 3042 Batch H (Harwell – Oxfordshire, Reino Unido) nos experimentos 3 e 4. Os dosímetros foram colocados entre os hambúrgueres centrais de cada batelada de quatro unidades.

O preparo do estudo dosimétrico foi realizado nas dependências do IPEN, por pessoal do próprio Instituto. Após a irradiação, procedeu-se à leitura dos dosímetros.

Enumeração de *Salmonella* sp. após irradiação

As amostras foram analisadas no dia subsequente à irradiação. Os hambúrgueres foram descongelados e homogeneizados entre si, para cada dose separadamente.

Porções de 25 g foram homogeneizadas em 225 mL de TSB suplementado com 0,6 % de extrato de levedura (TSBYE) em embalagens de

polietileno estéril (10^{-1}). Para a recuperação de possíveis danos sub-letais, as amostras foram incubadas a 37 °C por 1 h (RAY, 1989).

Após a incubação, foram realizadas diluições decimais sucessivas (até a diluição 10^{-5}) em solução salina. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram semeadas em duplicata em placas de Petri, sobre as quais foram adicionados, aproximadamente, 20 mL de TSAYEG (Ágar Soja Triptona suplementado com 0,3% de Extrato de Levedura, 0,5 % de glicose e 50 µg/mL de ácido nalidíxico). Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas na posição invertida a 35–37 °C por 20-24 horas. Posteriormente, realizou-se a contagem das colônias e aplicou-se os respectivos fatores de correção das diluições. O resultado foi expresso em UFC/g, da média das populações e, posteriormente, transformado em $\log_{10}$ UFC/g.

Na Figura 1 tem-se a representação esquemática das etapas realizadas.

Figura 1: Representação esquemática das etapas realizadas durante o experimento.

Cálculo do Valor D_{10}

O valor D_{10} foi calculado através da equação da reta de redução decimal da população de *Salmonella* sp. A partir da equação modelo de reta decrescente $y = -bx + a$, obteve-se o valor D_{10} através da seguinte equação:

$$D_{10} = 1/b.$$

3.2.3 Avaliação sensorial

O teste sensorial escolhido foi o Teste de Aceitação com utilização de escala hedônica híbrida não estruturada de 10 cm (VILLANUEVA *et al.*, 2000). Nesta escala hedônica, a pontuação zero representa os atributos que menos agradaram e a pontuação dez representa os atributos que mais agradaram.

Os provadores foram selecionados através de questionário (Anexo I) que verificou, por exemplo, os hábitos alimentares, faixa etária e sexo do provador. O questionário empregado não teve a finalidade de excluir qualquer provador. Os dados colhidos com este questionário serviram para se ter uma idéia da população amostral com a qual se estava trabalhando. O questionário informava aos participantes que se tratava de um painel sensorial para avaliação de hambúrguer de carne de frango congelado e irradiado.

A representação esquemática das etapas realizadas durante a avaliação sensorial encontra-se na Figura 2.

Figura 2: Representação esquemática das etapas realizadas durante a avaliação sensorial.

O transporte das amostras até o laboratório de Microbiologia de Alimentos, foi realizado em caixas de material termoisolante com gelo. Lá chegando, foram acondicionadas em freezer a -18 °C até o dia seguinte quando foram submetidas ao processo de irradiação. As amostras apresentavam prazo de validade de 120 dias.

As amostras utilizadas no estudo sensorial foram irradiadas em suas embalagens originais: filme de polipropileno (embalagem primária) e cartucho (embalagem secundária ou unidade de comercialização).

Os hambúrgueres foram expostos às doses de 5,0 e 7,0 kGy de radiação gama, na Empresa Brasileira de Radiação (EMBRARAD – Cotia, SP, Brasil). Durante todo o transporte e todo o processo, as amostras foram mantidas em caixas de material termoisolante com gelo. O processo de irradiação foi acompanhado por estudo dosimétrico. Amostras não irradiadas acompanharam todo o procedimento realizado, servindo como controle.

As amostras foram armazenadas no laboratório de Microbiologia de alimentos em freezer a -18 °C e, no dia seguinte à irradiação (tempo zero) e a cada 30 dias, durante 120 dias, foram submetidas à avaliação por membros do painel sensorial de aproximadamente 27 provadores.

As amostras foram oferecidas aos provadores de forma monádica, após fritura e porcionamento, seguindo as normas de Boas Práticas de Manipulação. A forma monádica de apresentação das amostras consiste em entregar uma amostra e aguardar que esta seja avaliada antes de se oferecer a próxima amostra. Tal procedimento visa minimizar os efeitos de comparação das amostras entre si, o que acontece involuntariamente nos seres humanos.

Os hambúrgueres foram fritos em chapa elétrica (Espaço Heizen, São Paulo, BR) à temperatura de 150 °C, com uma leve camada de óleo de soja (Soya, Bunge Alimentos S. A., BR). As amostras foram fritas por 2 minutos de cada lado, conforme instruções contidas na embalagem do produto. Após a fritura, os hambúrgueres foram acondicionados em potes plásticos e estes, por sua vez, em caixa de material termoisolante com almofadas de gel aquecidas, até o momento de servir. As amostras foram servidas à temperatura de, aproximadamente, 75 °C.

Cada provador recebeu 3 amostras, de forma monádica, de ¼ de unidade cada, de hambúrguer de frango exposto às doses de 5,0 kGy, 7,0 kGy

4. Resultados e Discussão

A seleção natural das cepas de *Salmonella* resistentes ao ácido nalidíxico foi realizada com o intuito de separar as possíveis endógenas das inoculadas, uma vez que aquelas são sensíveis ao antibiótico.

BLACKBURN & DAVIES (1994) observaram redução na recuperação de células com injúria sub-letal em alguns meios seletivos e diferenciais. Segundo HURST (1977), essa redução na recuperação é uma das características da injúria sub-letal. Isto é particularmente importante em estudos de sobrevivência bacteriana. Para corrigir essa deficiência na recuperação das células resistentes ao antibiótico ácido nalidíxico, inoculadas no hambúrguer e expostas à radiação gama, optou-se por fazer o reparo do dano sub-letal de acordo com RAY (1979), que consistiu em manter a alíquota da amostra em caldo soja tripton, adicionado de extrato de levedura, por 30 min a 37 °C, antes de inoculá-la em meio seletivo.

4.1. Avaliação microbiológica da matéria-prima

Na Tabela 1 são apresentadas as médias das duplicatas das populações de bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*, microrganismos psicrotróficos e *Pseudomonas* sp dos experimentos A, B, C e D.

Foram estudados esses grupos de microrganismos para se ter conhecimento da população bacteriana presente nas amostras de hambúrguer de carne de frango com as quais foram realizadas a inoculação e a irradiação.

Salmonella sp foi isolada em uma das quatro amostras (amostra B) empregadas na avaliação microbiológica dos hambúrgueres de carne de frango utilizados, o que demonstrou ser este alimento um veículo adequado para a sua transmissão. Tal resultado reafirma a importância do desenvolvimento deste trabalho para a saúde pública.

A presença de uma população de *Enterobacteriaceae* na amostra B, superior a das demais amostras, pode ser indicativo de uma qualidade higiênico-sanitária inferior a das demais amostras, uma vez que *Salmonella* foi isolada nesta mesma amostra.

As demais amostras analisadas apresentaram contaminação microbiana que pode ser considerada compatível com as Boas Práticas de Fabricação.

Tabela 1: Populações médias de bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*, microrganismos psicrotróficos e *Pseudomonas* sp em amostras de hambúrguer de carne de frango antes de serem expostas à irradiação.

Grupos de Microrganismos	Populações (Log UFC/g)*			
	A	B	C	D
Bactérias lácticas	4,14	4,97	3,24	4,16
Enterobacteriaceae	1,65	3,44	0,70	1,95
Psicrotróficos	4,19	4,30	2,39	4,27
<i>Pseudomonas</i> sp	3,16	2,40	0,70	1,81

* A, B, C, e D: experimentos independentes

4.2. Determinação do valor D_{10} de *Salmonella* sp em hambúrgueres de carne de frango

Na Tabela 2 são apresentadas as médias das duplicatas das populações de *Salmonella* sp sobreviventes ao tratamento com radiação gama. Nota-se que nos quatro experimentos realizados há tendência de queda no número de organismos sobreviventes quando se aumenta a dose de radiação empregada (Figuras 4 e 5). Constata-se que com a dose de 3,5 kGy há uma redução média de 4 ciclos logarítmicos.

Tabela 2: Populações médias (log UFC/g) de *Salmonella* sp sobreviventes à radiação gama, em quatro experimentos (A, B, C, D).

Dose (kGy)	Experimento (Log UFC/g)			
	A	B	C	D
0,0	5,4	5,3	5,0	5,0
1,5	3,9	3,9	2,8	3,5
2,0	3,4	3,2	2,8	2,9
2,5	2,7	2,9	2,2	2,9
3,0	1,4	2,6	1,4	2,7
3,5	ND ^a	1,2	0,8	1,3

^a: não determinado

Figura 4: Redução da população de *Salmonella* sp. em hambúrgueres congelados de carne de frango após exposição a raios gama (experimentos A e B).

Figura 5: Redução da população de *Salmonella* sp. em hambúrgueres congelados de carne de frango após exposição a raios gama (experimentos C e D).

Na Tabela 3 são apresentados os valores D_{10} (kGy) encontrados nos experimentos A, B, C e D, as equações da reta e o r^2 .

Tabela 3: Valores D_{10} (kGy) para *Salmonella* sp inoculada em hambúrguer de carne de frango congelado submetido à radiação gama.

Experimento*	D_{10} (kGy)	Equação	r^2
A	1,09	$y = -0,797x + 5,8636$	0,9496
B	1,02	$y = -0,6093x + 5,4187$	0,9271
C	1,07	$y = -0,5738x + 4,7547$	0,7926
D	1,32	$y = -0,5063x + 4,9244$	0,8642

* A, B, C, e D: experimentos independentes

A Tabela 4 mostra a avaliação dosimétrica dos experimentos realizados. Pode-se observar que o percentual de desvio em relação à média das doses obtidas variou de 2,9 % a 13,1 %.

Tabela 4: Avaliação dosimétrica dos experimentos realizados.

Dose pretendida (kGy)	Dose obtida (kGy)						
	Experimento*				Média	Desvio Padrão	Desvio (%)
	A	B	C	D			
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
1,5	2,0	1,6	1,6	1,5	1,6	0,2	12,6
2,0	2,6	1,9	2,2	2,0	2,1	0,3	13,1
2,5	3,0	2,3	2,7	2,5	2,6	0,3	10,2
3,0	3,7	3,1	3,1	3,0	3,2	0,3	9,3
3,5	ND*	3,3	3,5	3,5	3,5	0,1	2,9

*ND: não determinado

* A, B, C, e D: experimentos independentes

A finalidade dessa avaliação é o conhecimento da dose real a que o alimento foi exposto.

O estudo dosimétrico é de suma importância uma vez que a etapa de irradiação pode ser considerada um Ponto Crítico de Controle, no sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP). É através dos dados de variação dosimétrica referentes às doses necessárias para se eliminar o perigo microbiológico, que serão estabelecidos os limites críticos para o controle do perigo.

Dessa forma, pode-se considerar como limite inferior a dose necessária para garantir a inocuidade do produto e, como limite superior, a dose de tolerância do produto.

Uma área com falhas consideráveis relativas ao programa HACCP é o controle de microrganismos patogênicos em matéria-prima agrícola. No processamento de carne de frango e derivados há uma ou mais etapas de desinfecção das carcaças que são capazes de reduzir a população de patógenos em até dois ciclos logarítmicos. Uma evisceração correta previne a contaminação do alimento (BUCHANAN & WHITING, 1998). Mas no caso do produto estudado, hambúrguer de carne de frango, não há nenhuma etapa que elimine o perigo microbiológico a não ser o cozimento ou fritura no domicílio do consumidor. A irradiação, torna-se, portanto, uma alternativa plausível, já que não altera a condição de alimento cru e o produto é submetido ao processo já na embalagem final.

Os valores D_{10} obtidos para *Salmonella* no presente estudo são superiores a todos os relatados na literatura consultada, até o momento, para esse microrganismo. Neste estudo, o valor D_{10} para *Salmonella* sp inoculada em hambúrguer de carne de frango congelado, submetido à radiação gama, variou de 1,02 a 1,32 kGy (Tabela 3).

Microrganismos pertencentes a uma mesma espécie, gênero e família podem apresentar valores D_{10} diferentes. Essa diferença está relacionada com características inerentes a cada cepa, espécie, gênero e também com o meio em que o microrganismo se encontra e condições ambientais. Assim, microrganismos Gram positivos apresentam D_{10} diferentes dos Gram negativos, bactérias são menos resistentes que vírus e bolores e leveduras apresentam resistência próxima à das bactérias. Microrganismos em meios líquidos são mais sensíveis que em matrizes sólidas ou mais complexas como já foi constatado por diversos autores (SAITO, 2003; SANTOS *et al*, 2003; SHAMSUZZAMAN *et al*, 1969; THAYER *et al*, 1990).

SAITO (2003) observou que o valor D_{10} para *Salmonella* sp inoculada em almôndegas congeladas de carne de frango, produto com composição semelhante ao utilizado por nós, variou de 0,68 a 1,14 kGy.

Outros estudos, no entanto, apresentam valores D_{10} bem inferiores aos nossos, como o constatado por SANTOS *et al* (2003), que encontraram valores

de D_{10} entre 0,24 e 0,48 kGy para *S. Typhimurium* ATCC 14028 inoculada em sobrecoxa de frango e submetida ao processo de irradiação.

Em estudo realizado por SHAMSUZZAMAN *et al* (1989), observou-se que os valores D_{10} para *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311 e K1-2B), resistentes ao ácido nalidíxico, inoculadas em tampão fosfato, caldo nutriente e coxas de frango, foram, respectivamente, 0,20 kGy; 0,57 kGy e 0,53 kGy para a linhagem ATCC 13311 e 0,21 kGy; 0,40 kGy e 0,32 kGy para a linhagem K1-2B. Os autores verificaram que essas linhagens eram mais sensíveis à radiação em tampão fosfato do que em caldo nutriente e que em coxa de frango apresentaram uma radiosensibilidade intermediária.

Thayer *et al* (1990) determinaram o valor D_{10} de seis espécies de *Salmonella* inoculadas em tampão fosfato, caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e carne de frango mecanicamente desossada, sob diferentes temperaturas e ausência ou presença de oxigênio. A resistência dos microrganismos foi maior quando inoculados em carne de frango e a presença ou ausência de oxigênio não apresentou diferença nos valores D_{10} dos microrganismos. Os autores observaram, no entanto, uma maior resistência dos microrganismos quando irradiados no frango congelado.

A diferença entre os valores obtidos anteriormente e os obtidos nesta pesquisa, pode ter origem nas diferenças de composição dos produtos empregados. Como diferenças básicas entre eles podem ser citadas a adição de condimentos ao hambúrguer de frango, que pode mascarar a presença de sabores ou odores indesejados, e a quantidade de gordura presente neste, que também varia em relação à carne de frango mecanicamente desossada.

THAYER *et al* (1991) verificaram que o aquecimento do alimento (carne de frango mecanicamente desossada) antes de irradiá-lo, não aumentou a sensibilidade de *S. Typhimurium* quando exposta à radiação. No entanto, a exposição à radiação e posterior aquecimento, aumentou a sensibilidade do microrganismo ao aquecimento.

Em estudo realizado por KAMAT *et al.* (1991), cujo objetivo foi higienizar carne de frango fresca e congelada através da aplicação da radiação ionizante, foi observado que a sensibilidade de *Salmonella* sp. à irradiação diferiu quando em tampão fosfato e em homogeneizado de frango. No segundo caso foi notada uma proteção às células microbianas duas vezes maior que no

primeiro. Os resultados obtidos por esses autores sugerem dose de 2 kGy para reduzir a níveis não detectáveis as populações de *Salmonella* presentes em carne de frango naturalmente contaminada ($3 \times 10^1 - 2,1 \times 10^2$ UFC/g) e dose de 4 a 5 kGy para reduzir em torno de 8 ciclos logarítmicos uma contaminação em torno de 10^8 células por grama.

Valores de D_{10} na faixa de 0,11 a 0,57 kGy para *S. Enteritidis* foram encontrados por KALOYANOV *et al.* (1989) em meio de cultura sólido empregando-se irradiação com acelerador de elétrons.

A composição da atmosfera que envolve o alimento também afeta a radiosensibilidade do microrganismo.

LÓPEZ-GONZÁLEZ *et al.* (1999) compararam a influência de três filmes de embalagem com permeabilidades diferentes à umidade e ao oxigênio, nas condições de aerobiose e anaerobiose, na sobrevivência de *E. coli* O157:H7 inoculada em hambúrguer de carne bovina a 5 e -15 °C. As amostras foram submetidas à irradiação com raios gama (^{60}Co) e feixe de elétrons. Os autores constataram que o valor D_{10} dessa bactéria sofria uma influência conjunta da fonte empregada e da temperatura, variando de 0,27 a 0,63 kGy. O maior valor de D_{10} foi obtido com a utilização do filme que possuía a menor permeabilidade ao oxigênio, a -15 °C, irradiado com feixe de elétrons. O fator conjunto de baixo teor de oxigênio e temperatura baixa preveniu a migração fácil dos radicais livres formados. Os autores observaram ainda que raios gama com taxa de dose de 1,0 kGy/h forneciam valores de D_{10} superiores aos obtidos quando se utilizava o feixe de elétrons com taxa de dose de 17,0 kGy/min, numa temperatura de -15 °C. Tal fato ocorre porque em taxas de dose baixas as enzimas microbianas possuem mais tempo para reparar os danos celulares durante a irradiação (DEWEY, 1969).

Variações nos valores D_{10} para um mesmo gênero e até mesmo espécie podem ser constatadas em diversas pesquisas. Em ovo líquido, *S. Enteritidis* apresentou valores D_{10} de 0,39 kGy (KAREM, 2001), enquanto KAMAT & THOMAS (1998) obtiveram valores de D_{10} de 0,1 e 0,15 kGy para *S. Typhimurium* em peixe. GRANT & PATTERSON (1992) encontraram uma variação no valor D_{10} de *S. Enteritidis* de 0,37 a 0,70 kGy em refeição cozida e resfriada composta por rosbife, batata, couve-flor e molho; HAU *et al.* (1992) obtiveram valor D_{10} igual a 0,48 kGy para o mesmo sorotipo em camarão

irradiado e RAJAGOPALAN *et al.* (1990) determinaram o valor D_{10} para vários sorotipos de *Salmonella* isolados de pernas de rãs processadas congeladas e encontraram variação de 0,35 kGy (S. Concord) a 0,70 kGy (S. Hvittfoss).

Como foi citado, os valores D_{10} encontrados no presente estudo são superiores aos dos descritos nos estudos apresentados, inclusive daqueles que utilizaram carne de frango mecanicamente desossada. O fato dos hambúrgueres apresentarem-se congelados no momento da irradiação, indisponibiliza a água presente na formulação, diminuindo a difusão dos radicais livres formados. Por este motivo, são necessárias doses mais altas para se alcançar a redução da população de *Salmonella* sp. Além disso, a quantidade de gorduras e proteínas presentes na formulação podem exercer um efeito protetor sobre a população de *Salmonella* sp, elevando assim a dose necessária para a redução desta população.

4.3. Avaliação sensorial

A avaliação sensorial do hambúrguer de frango congelado e irradiado foi realizada com vistas ao cumprimento da RDC 21 de 26 de janeiro de 2001 DOU de 29 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) item 4.3 b) onde se lê: “b) A dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento.”.

Além do cumprimento à legislação específica da área que regulamenta a irradiação de alimentos no Brasil, essa análise teve o objetivo de avaliar o decaimento de qualidade do produto irradiado em função do tempo. Tal avaliação se fez necessária uma vez que alterações nos atributos sensoriais de um alimento irradiado podem ser percebidas apenas depois de decorrido um período de estocagem e não imediatamente após o processo, como constatado em estudo realizado por MOURA (2002).

Por se tratar de um produto que é mantido congelado para sua conservação, deve-se observar que sua estabilidade durante o prazo da vida de prateleira depende de vários fatores como: população microbiana inicial e tipo de microrganismos presentes, reações físico-químicas, mobilidade das moléculas de gelo, tolerância ao binômio tempo-temperatura e fatores relativos à qualidade do produto, processamento e embalagem (SYMONS, 1996).

A perda de qualidade em produtos congelados é um processo gradual, com modificações lentas, cumulativas e irreversíveis. A vida de prateleira prática é um conceito altamente subjetivo e difícil de mensurar por procedimentos de avaliação sensorial. Os alimentos são sistemas biológicos complexos que não geram equações matemáticas que possam ser aplicadas a uma grande variedade de produtos (SYMONS, 1996).

Foi realizado um estudo sensorial prévio à realizada durante o prazo de vida de prateleira do produto, com o objetivo de se verificar a aceitação do produto irradiado, no dia seguinte à sua irradiação. Tal estudo se fez necessário uma vez que não se tinha idéia da aceitação do hambúrguer de carne de frango irradiado. O estudo foi constituído por um painel de 28 provadores, que responderam às questões da ficha de avaliação (Anexo II). Os resultados estão apresentados na Tabela 5. Como pode-se observar as médias de aceitação apresentaram-se acima da nota de corte (5,0). Com base na aprovação do produto irradiado por esse estudo prévio, deu-se prosseguimento à avaliação sensorial do produto durante seu período de estocagem.

Tabela 5: Médias de aceitação de hambúrgueres de carne de frango não irradiado e irradiado nas doses 2, 5 e 8 kGy.

Dose (kGy)	Médias de aceitação
0	6,9
2	7,5
5	6,9
8	7,4

Conforme se pode constatar pelos resultados apresentados na Tabela 6, não houve diferença na aceitação dos hambúrgueres de carne de frango irradiados e a amostra não irradiada. As médias das notas atribuídas às amostras ficaram muito próximas umas das outras ao longo do tempo (vida-de-prateleira), o que indica que não houve diminuição na qualidade do produto irradiado ao longo do tempo estudado.

Tabela 6: Médias de aceitação (27 provadores) dos hambúrgueres de carne de frango congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle.

Dose (kGy)	Tempo (dias)				
	0	30	60	90	120
0,0	7,9	8,0	7,1	8,1	7,1
5,0	7,3	7,4	7,8	7,5	7,0
7,0	7,2	7,2	7,8	7,6	7,6

A Tabela 7 mostra a Análise de Variância da aceitação dos hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle, comparando-se os três tratamentos dentro de cada tempo avaliado (0, 30, 60, 90 e 120 dias). Pode-se verificar que dentro do intervalo de tempo total estudado, 4 meses, não houve diferença significativa ao nível de significância de 5 % no nível de aceitação do produto, tanto irradiado como das amostras-controle.

Tabela 7: Análise de Variância da aceitação de hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle, fixando-se o tempo.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F crítico</i>
Tempo 0						
Provadores	110,982	26	4,269	1,918	0,023	1,710
Amostras	7,838	2	3,919	1,761	0,182	3,175
Erro	115,722	52	2,225			
Total	234,542	80				
30 dias						
Provadores	104,020	26	4,001	2,377	0,004	1,710
Amostras	8,759	2	4,379	2,602	0,084	3,175
Erro	87,528	52	1,683			
Total	200,306	80				
60 dias						
Provadores	157,802	26	6,069	3,776	0,000	1,710
Amostras	9,055	2	4,528	2,817	0,069	3,175
Erro	83,585	52	1,607			
Total	250,442	80				
90 dias						
Provadores	120,069	26	4,618	2,949	0,000	1,710
Amostras	5,787	2	2,893	1,848	0,168	3,175
Erro	81,420	52	1,566			
Total	207,276	80				
120 dias						
Provadores	245,601	26	9,446	3,440	0,000	1,710
Amostras	5,996	2	2,998	1,092	0,343	3,175
Erro	142,804	52	2,746			
Total	394,401	80				

SQ: soma dos quadrados

Gl: graus de liberdade

MQ: quadrado médio

F: significância, valor observado da estatística

p: probabilidade

F_{crítico}: valor tabelado para $\alpha=0,05$

Observa-se na Figura 6 que a aceitação dos três tratamentos (0, 5 e 7 kGy) nos cinco momentos estudados (0, 30, 60, 90, 120 dias) permanece na mesma faixa de variação, entre 7,0 e 8,1.

Figura 6: Aceitação das amostras de hambúrguer de carne de frango não expostas à radiação e expostas às doses de 5,0 e 7,0 kGy, ao longo do período de estocagem (120) dias.

A Tabela 8 mostra a Análise de Variância da aceitação dos hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle, tendo como fonte de variação o tempo dentro de

cada tratamento empregado. Observa-se que não houve diferença significativa ao nível de significância de 5 % na aceitação em nenhum dos tratamentos ao longo do tempo.

Além disso, pode-se observar, também, que não houve tendência de queda na aceitação do produto, irradiado e não irradiado, ao longo do tempo, o que é mais facilmente observado na Figura 7.

Tabela 8: Análise de Variância da aceitação de hambúrgueres de carne de frango irradiados congelados e expostos a 5,0 e 7,0 kGy e amostras-controle, variando-se o tratamento.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F crítico</i>
Dose 0						
Provadores	76,577	26	2,945	1,072	0,387	1,602
Amostras	24,040	4	6,010	2,188	0,075	2,459
Erro	285,720	104	2,747			
Total	386,337	134				
Dose 5						
Provadores	114,366	26	4,399	1,271	0,197	1,602
Amostras	11,255	4	2,814	0,813	0,519	2,459
Erro	359,785	104	3,459			
Total	485,406	134				
Dose 7						
Provadores	141,159	26	5,429	1,522	0,071	1,602
Amostras	14,470	4	3,617	1,014	0,404	2,459
Erro	371,070	104	3,568			
Total	526,699	134

Figura 7: Aceitação das amostras de hambúrguer de carne de frango não expostas à radiação e expostas às doses de 5,0 e 7,0 kGy.

O processo de congelamento contribui para uma diminuição na cinética das reações químicas e bioquímicas presentes neste produto, o que poderia explicar em parte a estabilidade do produto ao longo do tempo. Apesar da formação de radicais-livres durante a etapa de irradiação, o congelamento protege tanto o produto quanto as células microbianas das reações secundárias advindas da irradiação, por indisponibilizar as moléculas de água que se encontram na forma sólida.

Como já era de se esperar, durante a vida-de-prateleira do produto em estudo, não houve diminuição na sua aceitação. As notas de aceitação variaram dentro de uma faixa estreita de notas, entre 7,0 e 8,1, o que demonstra um comportamento quase constante no período estudado. A constância deste comportamento não permite fazer uma previsão do término da vida-de-prateleira deste produto, pois não se consegue obter uma equação matemática que possa prever o comportamento do produto ao longo do tempo.

A composição química do produto também contribui para a estabilidade durante sua vida-de-prateleira. O teor e o tipo de gorduras presentes influenciam os odores de rancificação que podem ser percebidos no produto irradiado com maior ou menor intensidade. Gorduras insaturadas são mais suscetíveis à rancificação pela radiação do que as gorduras saturadas. No entanto, a presença de condimentos pode mascarar a ocorrência de possíveis produtos desagradáveis causados pela irradiação.

Garantir a qualidade de um produto em termos sensoriais é uma ferramenta muito importante num ambiente competitivo. Os consumidores possuem expectativas pré-determinadas e poderão tornar-se desleais se experimentarem um produto com padrão de qualidade inferior àquele que esperam (LAWLESS & HEYMANN, 1999).

Diversos estudos (WEESE *et al.*, 1997; MURANO *et al.*, 1997) sobre o efeito da irradiação na qualidade de carne têm sido realizados em vários produtos cárneos, incluindo frango inteiro e moído, pedaços de frango, lombo e pedaços de porco, bifes de carne, carne moída de peru, porco e bovino e almôndegas de frango. Os resultados desses estudos indicam que níveis baixos de radiação não provocaram problemas no odor e no sabor.

Os resultados obtidos até o momento, em estudos delineados para avaliar a qualidade sensorial de carne moída, são variados. WEESE *et al.* (1997) estudaram hambúrgueres de carne bovina moída expostos a 1, 3, 5 e 7 kGy e estocados a -18 °C por 6 semanas. A avaliação pelo painel treinado foi realizada semanalmente. Não foram detectadas diferenças significativas entre as amostras irradiadas e as não irradiadas até a quinta semana de estocagem sob congelamento. Após 6 semanas de estocagem, apenas a dose de 7 kGy apresentou um forte sabor residual em relação aos controles.

Os membros treinados do painel sensorial utilizado por MURANO *et al.* (1997) foram capazes de distinguir as amostras irradiadas de carne de porco e bovino das não irradiadas quando estocadas em aerobiose mas não quando sob vácuo. Por outro lado, esses membros não distinguiram a amostra irradiada da não irradiada para amostras de carne de peru.

Estudando carne moída irradiada com doses de 1; 2,5 e 5 kGy e estocadas por 16 dias a 4 °C, avaliada por um painel não-treinado de 10 membros, LEFEBVRE *et al* (1994) detectaram odor desagradável no produto cru irradiado (todas as doses), embora esse efeito tenha sido menos perceptível após o cozimento e ocorrido apenas para as doses de 2,5 e 5 kGy. Esses dados discordam dos obtidos por nós uma vez que não foi detectado odor desagradável no nosso estudo.

OLSON (1998), na sua revisão, comenta que muitos sabores estranhos induzidos pela irradiação parecem ser reduzidos ou eliminados após a cocção e, portanto, não se tornam um problema.

Avaliando os efeitos da radiação gama em hambúrgueres de bovino embalados sob vácuo, congelados e irradiados, através de análise sensorial utilizando painel treinado e teste de consumidores (100 membros), WHEELER *et al* (1999) verificaram que, apesar de alguns consumidores terem notado diferenças consideradas pequenas, os produtos irradiados com doses de 3,0 e 4,5 kGy foram aceitos, o que concorda com os nossos resultados.

Em hambúrgueres de carne bovina um atributo crítico de qualidade pode ser uma falha no balanço das especiarias presentes. O aroma de pimenta persiste bem em ambiente frio de conservação enquanto outras especiarias têm sua intensidade diminuída. Uma forte nota de pimenta pode ser indicativo dessa falha no balanço (mesmo que intencional) pois persiste por um bom tempo antes que a rancificação possa ser percebida (EVANS & JAMES, 1993).

Na presente pesquisa, as amostras comerciais utilizadas apresentavam em sua composição adição de condimentos naturais (não especificados na embalagem), aroma natural de pimenta branca e realçador de sabor glutamato monossódico, ingredientes estes que possuem influência no balanço de sabor do produto. Após o processamento por radiação, alguns condimentos podem ser realçados, mascarando possíveis alterações sensoriais indesejáveis no produto final, garantindo, assim, uma maior aceitação do produto.

A presença dos condimentos naturais, que não estão especificados na embalagem, pode ter influenciado positivamente no processo de oxidação de lipídeos, uma vez que muitos condimentos possuem propriedades antioxidantes.

Carne moída e irradiada, estudada por EMMERSON *et al* (1998), apresentou valores mais altos de ácido tiobarbitúrico que os controles e, portanto, maior oxidação. Entretanto, eles concluíram que a presença de antioxidantes (alecrim, vitamina E e eritorbato) reduziu o efeito da irradiação sobre os lipídeos do produto estudado e que esses compostos podem retardar a oxidação induzida pela irradiação.

Em estudo realizado por KITAZURU *et al* (2004) sobre os efeitos da irradiação nos compostos antioxidantes naturais da canela (*Cinnamomum zeylanicum* N.), foi observado que a irradiação não diminuiu a atividade antioxidante dessa especiaria quando utilizadas doses normalmente empregadas. Foi notada uma pequena diminuição nessa atividade, somente com doses de 20 a 25 kGy, consideradas doses altas para aplicação em alimentos.

A adição de ácido ascórbico (0,01%, p/p) mostrou-se eficaz na estabilização da cor de carne irradiada. Já a combinação de α -tocoferol e óleo de gergelim (100 ppm cada) foi muito efetiva na redução da oxidação lipídica. Esses resultados foram verificados por AHN & NAM (2004), que recomendaram a utilização combinada de ácido ascórbico, óleo de gergelim e α -tocoferol para controlar alterações na qualidade de carne irradiada durante o período de estocagem.

5. Conclusões

Nas condições utilizadas neste estudo pode-se concluir que:

- ✎ a dose de 5,0 kGy de radiação gama reduziu a população de *Salmonella* sp inoculada em hambúrgueres comerciais de carne de frango em 5 ciclos logarítmicos;
- ✎ a exposição de hambúrgueres de carne de frango congelados às doses de 5 e 7 kGy não afetou as características sensoriais do produto;
- ✎ a vida de prateleira do hambúrguer de carne de frango congelado e irradiado com doses de 5 e 7 kGy foi de, no mínimo, 120 dias, igual à do produto não irradiado.

Portanto, a irradiação apresenta-se como um processo tecnológico adequado para ser aplicado em hambúrguer de carne de frango congelado, uma vez que a exposição do produto à dose de 7 kGy, além de satisfazer o objetivo de inocuidade do alimento, apresenta vida de prateleira de, no mínimo, 120 dias.

6. Referências Bibliográficas

- ABEF. Associação Brasileira dos Exportadores de Frango. [On line] Available: <http://www.abef.com.br/> [2004, July 05].
- ABEF. Associação Brasileira dos Exportadores de Frango. [On line] Available: http://www.abef.com.br/Abef_numeros.pdf [2005, April].
- ANDREWS, W.H., FLOWERS, R.S., SILLIKER, J., BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th Ed. DOWLES, F. P. & ITO, K. (eds.) APHA-American Public Health Association. Washington, DC. 2001. p.357-380.
- AHN, D. U.; NAM, K. C. Effects of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. **Rad. Phys. Chem**, Oxford, v. 71, p.151-156, 2004.
- BEAN, N. H., GOULDING, J. S., DANIELS, M. T., ANGULO, F. J. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 1988-1992. **J. Food Prot.**, Ames, v.60, n.10, p. 1265-1286, 1997.
- BEAN, N. H., GRIFFIN, P. M. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles and trends. **J. Food Prot.**, Ames, v.53, n.9, p.804-817, 1990.
- BISHOP, J. R.; WHITE, C. H.; FIRSTENBERG-EDEN, R. Rapid impedimetric method for determining the potencial shelf-life of pasteurized whole milk. **J. Food Protect.**, Ames , v.47, n.5, p. 471-475, 1984.
- BLACKBURN, C. de W.; DAVIES, A. R. Development of antibiotic-resistant strains for the enumeration of foodborne pathogenic bacteria in stored foods. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam,n. 24, p.125-136, 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1ª.parte da Resolução – RDC nº.12, de 2 de janeiro de 2001.
- BRYAN, F. L. & DOYLE, M. P. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **J. Food Prot.**, Ames, v. 58, n. 3, p. 326-344, 1995.

- BUCHANAN, R.L.; WHITING, R.C. Risk assessment: a means for linking HACCP plans and public health. **J. Food Prot.**, Ames, v.61, n.11, p. 1531-1534, 1998.
- CARDELLO, A.V. Food quality: relativity, context and consumer expectations. **Food. Qual. Pref.**, Oxford, v.6, p.163-170, 1995.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). Emerging Foodborne Diseases. **Emerging Inf. Dis.**, Atlanta, v.3, n.3, 1997. [Online] Available: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/pastcon.htm> [2001, September 17].
- CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). Summary of Notifiable Diseases – United States, 2002. [On line] Available: <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm5153.pdf> [2004, July 05].
- CHUNG, M-S.; KO, Y-T.; KIM, W-S. Survival of *Pseudomonas fluorescens* and *Salmonella* Typhimurium after electron beam and gamma irradiation of refrigerated beef. **J. Food Prot.**, Ames, v. 63, n. 2, p. 162-166, 2000.
- COUSIN, M.A., JAY, J.M., VASSAVADA, P.C. Psychrotropic Microorganisms. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th Ed. DOWLES, F. P. & ITO, K. (eds.). APHA-American Public Health Association. Washington, DC. 2001. p.159-166.
- D'AOUST, J. Y. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R., MONTVILLE, T. J. (eds.). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. 2nd ed., Washington: ASM, 2001. P.129-158.
- DEWEY, D.L. An oxygen-dependent X-ray dose-rate effect on *Serratia marcescens*. **Rad. Res.**, V.38, p. 467-474, 1969.
- DIEHL, J.F. **Safety of Irradiated Foods**. Marcel Drekker Inc., New York:, 1995, 345 p.
- EMMERSON, E.P.; SEBRANEK, J.G.; OLSON, D.G. Evaluation of antioxidant effectiveness for improving quality of irradiated ground beef. Proc. Recip. Meat Conf., n.51, p.177-178. In WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Trained sensory panel and consumer evaluation of the effects of gamma irradiation on palatability of vacuum-packaged frozen ground beef patties. **J. Anim. Sci.**, Savoy, 77:3219-3224, 1999.

- EVANS, J.; JAMES, S. Freezing and meat quality in *Food Technology International Europe*, Sterling, London, 1993 in SYMONS, H. Frozen foods. Shelf life evaluation of foods. Edited by C.M.D Man and A.A. Jones. Chapman & Hall. 1994.
- FDA. 21 CFR Part 179. Irradiation in the production, processing, and handling of food. Fed. Reg., Washington, 62:64107-64121.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 1996.
- GIROUX, M.; OUATTARA, B.; YEFSAH, R.; SMORAGIEWICZ, W.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. **J. Agric. Food Chem.**, 49: 919-925, 2001.
- GRANT, I.R.; PATTERSON, M.F. Sensitivity of foodborne pathogens to irradiation in the components of a chilled ready meat. **Food Microbiol.**, London, v.9, n.2, p. 95-103, 1992.
- HANIS, T.; JELEN, P.; KLIR, P.; MNUKOVA, J.; PEREZ, B.; PESEK, M. Poultry meat irradiation - Effect of temperature on chemical changes and inactivation of microorganisms. **J. Food Prot.**, Ames, v. 52, n. 1, p. 26-29, 1989.
- HAU, L.B.; LIEW, M.H.; YEH, L.T. Preservation of grass prawns by ionizing radiation. **J. Food Prot.**, Ames, v.55, n.3, p. 198-202, 1992.
- HURST, A. Bacterial injury: a review. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, V. 23, p. 935-944, 1977.
- JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp, ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.
- KALOYANOV, I.; GYUROV, B.; SPASOV, S.; DIMITROVA, V. Viability of various bacteria after accelerated-electron radiation. **Vet. Sbirka**, v.87, n.10, p. 22-24, 1989.

- KAMAT, A.; THOMAS, P. Radiation inactivation of some food-borne pathogens in fish as influenced by fat levels. **J. Appl. Microbiol.**, Washington, v.84, n.4, p. 478-484, 1998.
- KAMAT, A.S.; ALUR, M.D.; NERKAR, D.P.; NAIR, P.M. Hygienization of Indian chicken meat by ionizing radiation. **J. Food Saf.**, Malden, v.12, n.1, p. 59-71, 1991.
- KAREM, H.A.; MATTAR, Z. Heat resistance and growth of *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* in whole liquid egg. **Acta Microbiol Pol.**, v.50, n.1, p.27-35.
- KILCAST, D. Effect of irradiation vitamins. **Food Chem.**, London, v. 49, p. 157-164, 1994.
- KITAZURU, E.R.; MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H Effects of irradiation on natural antioxidants of cinnamon. **Rad. Phys. Chem.**, Oxford, v.71, p. 39-41, 2004.
- KORNACKI, J.L., JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: : **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th Ed. DOWLES, F. P. & ITO, K. (eds.) APHA-American Public Health Association. Washington, DC. 2001. p.69-82.
- LAGUNAS-SOLAR, M.C. Radiation processing of foods: an overview of scientific principles and current status. **J. Food Prot.**, Ames, v.58, p.186-192, 1995.
- LAWLESS, H.T. Dimensions of quality: a critique. Food Quality and Preference. 6, 191-196, 1995; in LAWLESS, H.T.; HEYMANM, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. New York: Aspen publication, 1999, p. 548-584.
- LAWLESS, H.T.; HEYMANM, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. New York: Aspen publication, 1999, p. 548-584.
- LE MINOR, L. *Salmonella*. In: KRIEG, N. R., HOLT, J. G., eds. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Williams & Wilkins, London, 1984, p.427-458.

- LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. **J. Food Prot.**, Ames, v. 53, n. 3, p. 202-204, 1990.
- LEFEBVRE, N.; THIBAUT, Chantal; CHARBONNEAU, R.; PIETTE, J.-P.G. Improvement of shelf-life and wholesomeness of ground beef by irradiation – 2. Chemical analysis and sensory evaluation. **Meat Science**, Great Britain, n.36, p.371-380, 1994.
- LOAHARANU, P. Global status of commercialization and developments on international trade in irradiated food. **Rad. Phys. Chem.**, Oxford, v.46, n.4-6, 1995.
- LÓPEZ-GONZALES, V.; MURANO, P. S.; BRENNAN, R. E.; MURANO, E. A. Influence of various commercial packaging conditions on survival of *Escherichia coli* O157: H7 to irradiation by electron beam versus gamma rays. **J. Food Prot.**, Ames, v. 62, n. 1, p. 10-15, 1999.
- MACHADO, R. A., TOSIN, I., LEITÃO, M. F. F. Occurrence of *Salmonella* sp. and *Campylobacter* sp. in chickens during industrial processing. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 25, p. 239-244, 1994.
- MEAD, G.C.; ADAMS, B.W. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. **Brit. Poultry Sci.**, London, v.18, n.6, p. 661-670, 1977.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. CRC Press, 3rd ed., 1999.
- MORRIS, J. G., POTTER, M. Emergence of new pathogens as a function of changes in host susceptibility. **Emerging Infect. Dis.**, Atlanta, v.3, n.4, p.435-441, 1997.
- MOSKOWITZ, H.R. Food quality: conceptual and sensory aspects. **Food Qual. Pref.**, Oxford, v.6, p. 157-162, 1995.
- MOURA, A. F. P.; TENUTA FILHO, A. Ocorrência de produtos da oxidação do colesterol em hambúrguer de frango irradiado durante estocagem sob congelamento. Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF-USP; 2002 : São Paulo.
- MURANO, E.A.; MURANO, P.S.; OLSON, D.G. Quality characteristics and sensory evaluation of meats irradiated under various packaging conditions.

- Proc. 41st Annu. Int. Congr. Meat Sci. Technol. n.41, p.276-277, 1997. In: WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHARAIE, M. Trained sensory panel and consumer evaluation of the effects of gamma irradiation on palatability of vacuum-packaged frozen ground beef patties. **J. Anim. Sci.**, 77:3219-3224, 1999.
- OLSON, D.G. Irradiation of food. **Food Technol.**, Chicago, 52:56-62, 1998.
- PANALIMENTOS. Sistema de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos – SIRVETA [On line] Available: http://www.panalimentos.org/sirveta/e/report_eta01.asp. [2004, July 05].
- PUBLIC HEALTH LABORATORY SERVICE (PHLS). Infectious Intestinal diseases general outbreaks, England and Wales, by organism, 1992-1998. [Online] Available: <http://www.phls.co.uk/facts/iid-t01.htm> [1999, Sept., 14].
- RAJAGOPALAN, D.; DESHPANDE, C.K.; JOSHI, L. Estimation of D₁₀ value for *Salmonella* serotypes isolated from processed frozen frog legs. **Fishery Technol.**, v.27, n.2, p. 160-161, 1990.
- RAY, B. **Injured index and pathogenic bacteria: occurrence and detection in foods, water and feeds**. Boca Raton, CRC Press, 231 p., 1989.
- SAITO, J. Radiações ionizantes provenientes de ⁶⁰Co e acelerador de elétrons na redução da população de *Salmonella* sp. inoculada em almôndegas congeladas de frango: avaliação da aceitação do produto pelo consumidor. São Paulo, 56 p., 2003. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].
- 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 carnes de frango. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2, p. 200-205, 2003.
- SAYLERS, A. A., WHITT, D. D. *Salmonella* infections. In: **Bacterial pathogenesis: a molecular approach**. Washington: ASM, 1994. P.229-244.
- SCHLOSSER, W.; HOGUE, A.; EBEL, E.; ROSE, B.; UMHOLTZ, R.; FERRIS, K.; JAMES, W. Analysis of *Salmonella* serotypes from selected carcasses and raw ground products sampled prior to implementation of the Pathogen

- Reduction: Hazard Analysis and Critical Control Point Final Rule in the US. **Int. J. Food Microb.** Amsterdam, n. 58, p. 107-111, 2000.
- SCUDERI, G., FANTASIA, M., FILETICI, E., ANASTASIO, M. P. Foodborne outbreaks caused by *Salmonella* in Italy, 1991-4. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, n.116, p.257-265, 1996.
- SHAMSUZZAMAN, K.; GOODWIN, M.; GEORGE, I.; SINGH, H. Radiation survival of two nalidixic acid resistant strains of *Salmonella typhimurium* in various media. **Radiat. Phys. Chem.**, Oxford, v.34, n.6, p.985-989, 1989.
- SHARP, J. C. M., REILLY, W. J. Recent trends in foodborne infections in Europe and North America. **Br. Food J.**, Birmingham, v. 96, p. 25-34, 1994.
- SOCKETT, P. N. The epidemiology and costs of diseases of public health significance, in relation to meat and meat products. **J. Food Safety**, Malden, v. 15, n. 2, p. 91-112, 1995.
- SUDARMADJI, S.; URBAIN, W. M. Flavor sensitivity of selected animal protein food to gamma radiation. **J Food Sci.**, Chicago, v. 37, p. 671-672, 1972.
- SYMONS, H. Frozen foods. Shelf life evaluation of foods. C.M.D Man and A.A. Jones (eds.). Chapman & Hall. 1994.
- TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S. A.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 315-322, 1996.
- THAYER, D.W.; BOYD, G.; MULLER, W.S.; LIPSON, C.A.; HAYNE, W.C.; BAER, S.H. Radiation resistance of *Salmonella*. **J. Ind. Microbiol.**, Amsterdam, v.5, p. 383-390, 1990.
- THAYER, D.W.; SONGPRASERTCHAI, S.; BOYD, G. Effects of heat and ionizing radiation on *Salmonella typhimurium* in mechanically deboned chicken meat. **J. Food Prot.**, Ames, v.54, n.9, p. 718-724, 1991.
- TODD, E. C. D. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. **J. Food Prot.**, Ames, v. 52, n. 8, p. 595-601. 1989.
- TOKUMARU, M.; KONUMA, H.; UMESAKO, M.; KONNO, S.; SHINAGAWA, K. Rates of detection of *Salmonella* and *Campylobacter* in meats in response to sample size and the infection level of each species. **Int. J. Food. Microbiol.**, Amsterdam, v.13, p. 41-46, 1990.

- URBAIN, W.M. Food irradiation. Orlando. Academic Press, 1986. 351 p..
- VEDAMUTHU, E.R., RACCACH, M., GLATZ, B.A., SEITZ, E.W., REDDY, M.S. Acid-producing microorganisms. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 225-238.
- VIEIRA, V.S.; AZEDO, R.; FRANCO, B.D.G.M.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M. Ocorrência de *Salmonella* sp em hambúrguer de carne de frango congelado. XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis, Brasil. Publicado nos Anais do Congresso, 2003.
- VILLANUEVA, N.D.M.; PETENATE, A.J.; SILVA, M.A.A.P. da. Performance of three affective methods and diagnosis of the ANOVA model. **Food Qual. Preference**, v.11, n.5, p. 363-370, 2000.
- WEESE, J.O.; JOHNSON, J.H.; ROBERTS, W.T. Sensory changes of irradiated ground beef through six weeks of storage. Proc. 84th Int. Assoc. Milk Food Environ. Sanit. (Suppl. A) 84:42, 1997. In WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Trained sensory panel and consumer evaluation of the effects of gamma irradiation on palatability of vacuum-packaged frozen ground beef patties. **J. Anim. Sci.**, Savoy, 77:3219-3224, 1999.
- WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Trained sensory panel and consumer evaluation of the effects of gamma irradiation on palatability of vacuum-packaged frozen ground beef patties. **J. Anim. Sci.**, 77:3219-3224, 1999.
- WORCMAN-BARNINKA, D.; FERNANDES, S. A.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) for the detection of *Salmonella* from foods. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 64, p. 387-393, 2001.

Anexos

Anexo I

CADASTRO DE CONSUMIDORES ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS

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

As datas e horários serão definidos e informados com antecedência e a duração do teste é de aproximadamente 6 (seis) meses, sendo que os testes serão realizados uma vez por mês. Se você estiver interessado em participar voluntariamente, por favor, preencha o questionário abaixo.

Nome: _____

Telefone / Ramal: _____

e-mail: _____

Sexo: ☐ masculino ☐ feminino

Idade:

☐ 18 a 24

☐ 25 a 30

☐ 31 a 34

☐ 35 a 44

☐ 45 a 54

☐ acima de 55 anos

Grau de escolaridade:

☐ superior completo

☐ superior incompleto

☐ segundo grau (colegial)

☐ primeiro grau

Você permanecerá na USP até dezembro/2004?

☐ sim

☐ não

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

Você passa no momento por algum problema de saúde?

☐ sim

☐ não

Em caso positivo, especifique:

Está fazendo uso de algum medicamento?

☐ sim

☐ não

Em caso positivo, especifique:

Está fazendo algum tipo especial de dieta?

☐ sim

☐ não

Em caso positivo, especifique:

É fumante?

☐ sim

☐ não

Seu ambiente de trabalho possui odores fortes?

☐ Frequentemente

☐ Raramente

☐ Nunca

Costuma consumir hambúrguer de frango?

☐ sim

☐ não

Em caso positivo, indique na escala abaixo o quanto você gosta ou desgosta de hambúrgueres de frango:

☐ gosto muitíssimo

☐ gosto muito

☐ gosto moderadamente

☐ gosto ligeiramente

☐ não gosto / nem desgosto

☐ desgosto ligeiramente

- ☐) desgosto moderadamente
- ☐) desgosto muito
- ☐) desgosto muitíssimo

Com que frequência você consome hambúrguer de frango

- ☐) diariamente
- ☐) de 2 a 5 vezes por semana
- ☐) 1 vez por semana
- ☐) ocasionalmente (menos de 1 vez por semana, na média)
- ☐) nunca experimentei

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

R.G.: _____

Anexo II

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE HAMBÚRGUERES DE FRANGO

Nome: _____

Amostra: _____

Você está recebendo uma amostra codificada de **hambúrguer de frango**. Por favor, avalie a amostra e marque (com um X) o quanto você gostou ou desgostou na escala abaixo:

DE UM MODO GERAL:

- () gostei muitíssimo
- () gostei muito
- () gostei moderadamente
- () gostei ligeiramente
- () não gostei/ nem desgostei
- () desgostei ligeiramente
- () desgostei moderadamente
- () desgostei muito
- () desgostei muitíssimo

Diga o que você **mais gostou no hambúrguer**:

Diga o que você **menos gostou no hambúrguer**:

Baseando-se na qualidade do hambúrguer que você acabou de provar, se você encontrasse este produto à venda:

- () certamente compraria
- () provavelmente compraria
- () talvez compraria / talvez não compraria
- () provavelmente não compraria
- () certamente não compraria

Comentários:

O B R I G A D O P O R P A R T I C I P A R !