

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 para a
redução de *Salmonella* spp. em diferentes variedades de mangas
(*Mangifera indica* L.) minimamente processadas e avaliação da vida-de-
prateleira

Antonio Cestari Junior

Dissertação para obtenção do grau
MESTRE

Orientadora:
Prof.^a Assoc. Mariza Landgraf

São Paulo
2005

DEDALUS - Acervo - CQ



30100011262

Ficha Catalográfica

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

Cestari Junior, Antonio

C422a Avaliação do potencial de aplicação do processo de irradiação para a redução de *Salmonella* spp. em diferentes variedades de mangas (*Mangifera indica* L.) minimamente processadas e avaliação da vida-de-prateleira / Antonio Cestari Junior. -- São Paulo, 2005.

52p.

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

Orientador: Landgraf, Mariza

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

664.0288 CDD

Antonio Cestari Junior

Avaliação do potencial de aplicação do processo de irradiação para a redução de *Salmonella* spp. em diferentes variedades de mangas (*Mangifera indica* L.) minimamente processadas e avaliação da vida-de-prateleira

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Mariza Landgraf
orientadora/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, 27 de set. de 2005

Dedicado a:

Meu pai por me ensinar o melhor jeito de viver
(um dia, amigo, a gente vai se encontrar no céu),
Minha mãe por seu amor e atenção em todas as horas e
Minha esposa pelo amor, apoio e pela paciência.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Mariza Landgraf, agradeço pelo apoio, ensinamentos, amizade e principalmente pela paciência.

À Profa. Dra. Maria Teresa Destro, pela ajuda e pela amizade.

À Profa. Dra. Bernadete D.G.M. Franco pelas sugestões na banca de qualificação e pela amizade.

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

Às “chefes” do laboratório Kátia e Lúcia – valeu pela ajuda e pelas broncas.

Às minhas amigas Cecília e Lina (mãe) pela ajuda nas horas difíceis, pela paciência e, porque não, pelas discussões de vez em quando – crescemos juntos, obrigado! Não esqueçam de Floripa!!!

À Tatiana (Pocahontas) pela amizade e ajuda na análise sensorial.

Ao Paulo pela amizade e ajuda na análise estatística.

Aos amigos que continuam ou já passaram pelo laboratório de Microbiologia de Alimentos (a nata da pesquisa científica!): Alcina, Ana Manuel, Cíntia, Cristiano, Cristina, Daniela, Eb, Gabriela (Bibiela), Gunnar, Hans, Janine, Kátia Lima, Luciano, Monika, Patrícia Bettini, Patrícia Kary, Vanessa Tsu, Vanessa Vieira, Ricardo, Vinícius e demais pela amizade e troca de conhecimentos.

À Empresa EMBRARAD, à Beatriz M. Hutzler, ao Prof. Dr. Dirceu M. Vizeu, ao Eduardo e todos os operadores e auxiliares pela colaboração e atenção em todos os momentos.

À Empresa Vegetais Processados Ltda. (Roberto, Jair e Lígia) pela amizade e presteza no fornecimento das amostras de manga para a realização desse trabalho.

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

Às secretárias do Departamento de Alimentos Mônica e Tânia pela atenção e colaboração.

Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação Elaine e Jorge, valeu pela ajuda e pelas dicas preciosas.

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

MUITO OBRIGADO!!!!

ÍNDICE

Índice de figuras.....	IV
Índice de tabelas e quadros.....	V
Resumo.....	VII
Abstract.....	VIII
Introdução.....	1
Objetivos.....	13
Materiais e métodos.....	14
Materiais.....	14
Amostras.....	14
Microrganismos.....	14
Métodos.....	14
Avaliação das condições higiênico-sanitárias das amostras de manga minimamente processada.....	14
Preparo das amostras para análise microbiológica.....	15
Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos.....	15
Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos.....	15
Contagem de <i>Pseudomonas</i> sp.....	15
Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais (tubos múltiplos).....	16
Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes (tubos múltiplos).....	16
Determinação de bolores e leveduras.....	16
Contagem de bactérias lácticas.....	17
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	17
Determinação do valor D ₁₀ de <i>Salmonella</i> spp em mangas minimamente processadas expostas à radiação.....	18
Preparo do inóculo de <i>Salmonella</i> spp.....	18
Preparo das amostras de manga minimamente processada.....	18
Inoculação das amostras de manga para o processo de irradiação.....	19

Irradiação da manga minimamente processada inoculada com <i>Salmonella</i> spp.....	19
Quantificação da população sobrevivente de <i>Salmonella</i> spp em manga minimamente processada.....	20
Cálculo do valor D ₁₀	20
Estudo da vida-de-prateleira de manga minimamente processada.....	20
Avaliação sensorial.....	21
Recrutamento dos provadores.....	21
Teste de Aceitação.....	21
Análise microbiológica.....	26
Análise estatística.....	26
Resultados e Discussão.....	27
Conclusões.....	41
Referências bibliográficas.....	42

Índice figuras

Figura 1: Questionário para recrutamento e seleção de provadores para o estudo da vida-de-prateleira de manga minimamente processada irradiada.....	22
Figura 2: Ficha de avaliação sensorial de manga minimamente processada.....	24
Figura 3: Embalagem plástica com manga minimamente processada submetida à irradiação.....	25
Figura 4: Esquema de apresentação das amostras para os provadores.....	25
Figura 5: Comportamento da população de <i>Salmonella</i> spp em manga (<i>Mangifera indica</i> L.), variedades Tommy Atkins e Haden minimamente processada exposta à diferentes doses de radiação gama.....	31
Figura 6: Aparência da manga Tommy Atkins minimamente processada após 4 dias de armazenamento a 7°C.....	36
Figura 7: Aparência da manga Haden minimamente processada após 7 dias de armazenamento a 7°C.....	40

Índice de tabelas e quadros

Quadro 1: Dose de irradiação (kGy), produto alimentício e efeito desejado.....	10
Tabela 1: Avaliação microbiológica em 36 amostras de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) minimamente processada adquiridas em empresa da cidade de São Paulo, S.P. entre janeiro e junho de 2004.....	29
Tabela 2: População sobrevivente (log UFC/g) de <i>Salmonella</i> spp inoculada em manga (<i>Mangifera indica</i> L.) minimamente processada e submetida à irradiação com raios gama.....	31
Tabela 3: Médias de aceitação global* obtidas por amostras de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.....	33
Tabela 4: Médias de aceitação textura* obtidas por amostras de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.....	34
Tabela 5: Populações de microrganismos mesófilos (log ₁₀ UFC/g), psicrotróficos (log ₁₀ UFC/g), coliformes a 35°C (log ₁₀ NMP/g coliformes a 45°C (log ₁₀ NMP/g fungos (log ₁₀ UFC/g bactérias lácticas (log ₁₀ UFC/ge <i>Pseudomonas</i> (log ₁₀ UFC/g) em amostras de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) variedade Tommy Atkins não expostas à radiação armazenadas a 7°C durante 7 dias.....	35
Tabela 6: Populações de microrganismos mesófilos (log ₁₀ UFC/g), psicrotróficos (log ₁₀ UFC/g), coliformes a 35°C (log ₁₀ NMP/g coliformes a 45°C (log ₁₀ NMP/g fungos (log ₁₀ UFC/g bactérias lácticas (log ₁₀ UFC/ge <i>Pseudomonas</i> (log ₁₀ UFC/g) em amostras de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 kGy armazenadas a 7°C durante 7 dias.....	35

Tabela 7: Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g fungos (\log_{10} UFC/g bactérias lácticas (\log_{10} UFC/ge *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins expostas a 2 kGy armazenadas a 7°C durante 7 dias.....36

Tabela 8: Médias de aceitação global* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.....37

Tabela 9: Médias de aceitação textura* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.....38

Tabela 10: Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden não expostas à radiação armazenadas a 7°C durante 7 dias.....39

Tabela 11: Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 kGy armazenadas a 7°C durante 7 dias.....39

Tabela 12: Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 2 kGy armazenadas a 7°C durante 7 dias.....40

RESUMO

A combinação de características geográficas e climáticas no Brasil favorece o mercado agrícola, especialmente as culturas de frutas e vegetais. Esses fatores, associados às necessidades da vida atual como praticidade e redução de resíduos, favoreceram o segmento de frutas e vegetais minimamente processados. Entre os microrganismos patogênicos que podem ser transmitidos por esses produtos encontram-se *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7. A irradiação é um dos métodos utilizados para prevenir e controlar esses microrganismos. Amostras de manga (*Mangifera indica* L.) das variedades Tommy Atkins e Haden minimamente processadas foram inoculadas com uma mistura de três cepas de *Salmonella* (*Salmonella* Infantis, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Salmonella* Tiphymurium ATCC 14028) e expostas a doses de 0; 0.5; 1.0; 1.3; 1.5; 1.8 e 2.0 kGy. O valor D_{10} para *Salmonella* spp. inoculada em manga minimamente processada submetida à radiação variou entre 0,52 e 0,62 kGy. Para avaliar os efeitos da radiação, amostras de manga minimamente processada foram expostas a doses de 1 e 2 kGy e amostra controle não irradiada, mantidas em refrigeração a 7°C, foram utilizadas para determinação da vida-de-prateleira baseada na avaliação sensorial e análises microbiológicas. Todas as amostras irradiadas foram aceitas pelos provadores. A vida-de-prateleira da amostra de manga variedade Tommy Atkins exposta a 1 kGy foi de 4 dias, dois dias a mais que a amostra controle e que a amostra exposta 2 kGy. No caso da amostra de manga da variedade Haden todas as amostras irradiadas e a amostra controle apresentaram vida de prateleira de 4 dias. A irradiação mostrou ser um processo adequado para aumentar a segurança microbiológica de mangas minimamente processadas e, dependendo da variedade, também prolonga sua vida-de-prateleira.

ABSTRACT

Environmental and climatic aspects among consumer demand for freshlike products are responsible for the expansion of the minimally processed food market in Brazil. Minimally processed foods require less extreme treatments and additives, providing freshlike characteristics and convenience that satisfy the market requirements. Minimally processed fruits and vegetables can be source of pathogenic microorganisms such as *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. Therefore, this study was carried out in order to evaluate the feasibility of irradiation to improve the microbiological safety and the shelf-life of minimally processed fruits using gamma radiation. Minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) Tommy Atkins and Haden cultivars inoculated with a pool of *Salmonella* spp. were exposed to 0.0; 0.5; 1.0; 1.3; 1.5; 1,8 and 2 kGy. D_{10} values for *Salmonella* spp. inoculated in mangoes ranged from 0,52 kGy to 0,62 kGy. Sensory and microbiological tests were performed to determine the shelf-life of samples of mangoes exposed to 1 and 2 kGy and non-irradiated samples stored at 7°C. All samples were accepted by members of sensory panel. The shelf-life of cultivar Tommy Atkins samples exposed to 1 kGy was 4 days, 2 days more than the non-irradiated control and the samples exposed to 2 kGy. The shelf-life of cultivar Haden samples were 4 days to irradiated and non-irradiated samples. Results showed that irradiation can improve microbiological safety of minimally processed mangoes and, depending on the cultivar, extends its shelf-life.

1. Introdução

O Brasil é um grande produtor e exportador de produtos agrícolas, especialmente por ter um amplo território, com tipos diferentes de solo, clima e irrigação, que permitem a plantação extensiva de várias culturas. Entre os produtos agrícolas produzidos em maior quantidade está a manga (*Mangifera indica L.*), do qual o Brasil é o 9º produtor mundial e o 5º em exportação (IBGE, 2003). A safra total de frutas do ano de 2003 foi de 34 milhões de toneladas. A cultura de manga correspondeu a 2,5 % do total com 845 mil toneladas (FAO, 2004).

Os principais pólos produtores estão no Nordeste (Bahia, Pernambuco e Ceará), com cerca de 60% da produção nacional, e o Sudeste (São Paulo e Minas Gerais) com 34% (IBGE, 2003).

As condições de manejo e beneficiamento, no entanto, nem sempre são adequadas, especialmente pela grande quantidade e baixa especialização dos produtores, o que limita o aumento da produção e exportação (Penteado et al., 2003).

Entre os principais problemas existentes na cultura de manga, podemos citar a infestação por insetos e larvas, especialmente da espécie mosca-do-mediterrâneo (*Ceratitis capitata*). Essa é a única espécie do gênero que ocorre no Brasil e sua presença foi constatada pela primeira vez em 1901 e o relato inicial indica ser essa espécie originária da África Ocidental (Raga et al., 1996).

Em vista de sua facilidade adaptativa a climas bastante diversos, grande diversidade de hospedeiros, alta capacidade reprodutiva e facilidade de dispersão, a mosca-do-mediterrâneo é encontrada nos cinco continentes. Está amplamente distribuída na América do Sul e no Brasil, ocorrendo desde o Estado do Ceará até o Rio Grande do Sul. Por causa desses fatores, a mosca-do-mediterrâneo, tem grande importância quarentenária no comércio internacional de frutas frescas (Raga et al., 1996). Outras espécies já identificadas no Brasil como pragas da mangueira são: o microácaro *Aceria mangiferae*, a cochonilha *Pseudaonidia tribiformis*, a mosquinha da manga *Erosomyia mangiferae*, o *Selenothrips rubrocinctus*, o ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus*, o ácaro *Oligonychus* sp., os pulgões *Aphis craccivora*; *Toxoptera aurantii* e *A. gossypii* e microlepidópteros da inflorescência *Pleuroprucha asthenaria* (Brasil 2002a).

A fumigação com brometo de metila é a técnica mais utilizada e aceita para tratamento pós-colheita e quarentenário de frutas tropicais, visando a eliminação da infestação por insetos (Aegerter et al., 2000; Bustos et al., 2004). Porém, traz o risco de aparecimento de pontos esbranquiçados na casca e, de acordo com o Protocolo de Montreal que é o tratado internacional de regulação das substâncias que destroem a câmara de ozônio (UNEP, 2000), a produção desse produto químico deve ser descontinuada a partir de 2005 (Aegerter et al. 2000; UNEP, 2000). Apesar disso, no Brasil, a sua utilização para fumigação e tratamento quarentenário de uma grande variedade de frutas destinadas à exportação foi prolongada até dezembro de 2015 (Brasil, 2002b).

Para algumas frutas foi desenvolvido um tratamento alternativo visando a prevenção da infestação por insetos e larvas: imersão das frutas em água quente (47°C por 90 minutos), seguida de imersão em água fria (21°C por 10 minutos) (Sharp apud Bustos et al, 2004)0. Esse tratamento, no entanto, tem a desvantagem de introduzir contaminantes nas frutas através do emprego de água de baixa qualidade microbiológica (Ibarra-Sanchez et al., 2004; Penteado et al., 2003). A contaminação da água pode ocorrer por falha nas Boas Práticas Agrícolas (BPA), principalmente pela exposição dos tanques de imersão em ambientes em que estão presentes vários vetores, como animais silvestres e domésticos, além de insetos.

Vários autores pesquisaram a aplicação da radiação ionizante como tratamento fitosanitário para eliminar a infestação por insetos (Aegerter et al. 2000; Bustos et al. 2004; Follett, 2004; Moy et al., 2002; Neven et al. 2000) e obtiveram resultados positivos com exposição a baixas doses (150 Gy a 300 Gy) (Bustos et al., 2004; Follett, 2004) e alta eficiência frente a um amplo espectro de espécies (Moy et. al, 2002). Além dos resultados obtidos nesses estudos, órgãos reguladores de vários países já autorizaram a aplicação de radiações ionizantes como forma de controle de insetos (Estados Unidos Code, 2004ab; ICGFI, 2003).

No Brasil, a irradiação de alimentos é permitida através do uso de fontes de Césio 137 ou Cobalto 60, aceleradores de elétrons com energia de até 10 MeV e raios X com energia de até 5 MeV, desde que a dose absorvida pelo produto atinja o efeito desejado sem prejuízo às suas características sensoriais e propriedades funcionais (Brasil, 2001a).

A irradiação também é útil no retardamento dos processos de maturação e senescência das frutas, aumentando sua produtividade, qualidade e vida de prateleira (ICGFI, 1999; Josephson, 1983; Loaharanu, 1996; Urbain, 1986). Um dos mecanismos de ação da irradiação se dá pela estimulação da respiração e inibição da produção de etileno, criando no interior da embalagem uma atmosfera que evita a decomposição microbiana e inibe a maturação em produtos climatéricos e não-climatéricos (Gunes et al, 2001). Uma outra forma de garantir a vida-de-prateleira e a aceitação do produto é inibir a ação da enzima polifenoloxidase, responsável pelo escurecimento enzimático em uma grande variedade de produtos (Sun et al., 2003). Entretanto, a dose necessária para inativar a enzima é muito alta (5 kGy), o que pode levar a outras alterações indesejáveis nos produtos.

Outro problema a ser levado em consideração é a variada microbiota que está presente em vegetais e frutas “in natura”. Essa microbiota está 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.

Entre as causas que levam à contaminação dos vegetais e frutas por microrganismos podem ser citados na pré-colheita, o uso de solo contaminado com fezes de animais ou água de enchentes, a água de irrigação contaminada com microrganismos ou produtos químicos, a utilização de adubo orgânico não tratado ou tratado de forma inadequada, a contaminação por insetos vetores, animais silvestres ou domésticos, ar (poeira e material em suspensão) e a manipulação inadequada. Na etapa pós-colheita podem ser citados como fonte de contaminação a manipulação inadequada na seleção e embalagem, uso de colheitadeiras automáticas contaminadas, as caixas de transporte (final ou intermediária), o ar (poeira e material em suspensão), a contaminação por insetos vetores, animais silvestres ou domésticos, a água de lavagem, enxágüe e resfriamento, os veículos de transporte, o armazenamento inadequado (temperatura ou ambiente na estocagem e na venda), a contaminação cruzada

(microrganismos, produtos químicos), a manipulação e o acondicionamento inadequados pelos manipuladores (Harris et al, 2003).

Um dos problemas causados pela contaminação das frutas é a decomposição e a conseqüente diminuição da vida de prateleira. Essa decomposição é causada principalmente por fungos, especialmente bolores, devido à acidez e quantidade de sólidos solúveis. Entre os gêneros de maior importância temos *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Botrytis* e *Mucor* (ICMSF, 1980b). Entre esses podemos ter espécies formadoras de micotoxinas em grãos e similares (Aziz et al. 2002). Especificamente para mangas, além de todos os já descritos tem-se problemas com *Colletotrichum gloeosporioides* causador de antracnose, *Diplodia natalensis* causadora da podridão do bulbo e a *Hendersonia creberimma* causadora da podridão marrom mole (Josephson, 1983; Urbain, 1986). No Brasil, os maiores problemas são causados por *Colletotrichum gloeosporioides* e por *Lasiodiplodia theobromae* responsável por podridão pós-colheita (Brasil, 2002c).

Os problemas de contaminação podem ser aumentados nos casos de processamento mínimo do vegetal devido a falhas nas Boas Práticas de Fabricação (BPF) que podem levar à contaminação dos produtos prontos para consumo por microrganismos patogênicos e/ou parasitas.

A produção de frutas e 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). Entretanto, mudanças no comportamento dos consumidores levaram a uma expansão desse mercado e, segundo Skura, Powrie (1995), o valor gasto pelos americanos nas lojas de alimentos para a aquisição desses itens chegou a 50% do valor total da compra em 1995.

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. Estes produtos são considerados de conveniência pois permitem redução do período de preparo, melhor padronização quanto à qualidade e porcionamento, além de reduzir as perdas com a seleção e pré-preparo (Chitarra, 1998). Vale notar que os setores que incorporaram, mais rapidamente, a aquisição desses novos alimentos foram os serviços de fornecimento de alimentos prontos para consumo e de preparo rápido (fast food) como hotéis, restaurantes, lanchonetes e redes de supermercados.

Segundo Ferreira (2000), o mercado de alimentos prontos tem apresentado substancial expansão no Brasil e, em 2000, apenas oito empresas disputavam um mercado de R\$ 100 milhões por ano. Nos Estados Unidos, esse mercado movimentou, nessa época, em torno de US\$ 10 bilhões por ano, 11% de todo o mercado de frutas, legumes e verduras. Em um levantamento informal efetuado por nós aos supermercados e lojas de venda de hortifrutícolas, entre abril e junho de 2005, observamos a existência de, pelo menos, 30 empresas atuando no segmento de vegetais e frutas minimamente processados. Isso corrobora a estimativa de Ferreira (2000) que indicava que o potencial de crescimento desse mercado no Brasil seria de cem vezes na primeira década do século XXI.

Apesar desse alto potencial de crescimento e aumento de demanda, ainda não existe em nosso país uma legislação específica para a regulamentação desse segmento de mercado. Isso favorece o aparecimento de empresas clandestinas que, sem fiscalização e procedimentos adequados nas etapas de produção, podem produzir alimentos contaminados com microbiota variada, composta inclusive por bactérias patogênicas como *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus* (Harris, 2003; ICMSF, 1980; Molins, 2001). Os alimentos beneficiados com o processamento mínimo podem favorecer a sobrevivência e contaminação dos microrganismos por constituírem ótimo meio de cultura devido à presença de tecidos lesados e do alto teor de umidade, o que aumenta a disponibilidade de substrato para metabolização e seu potencial de deterioração.

Em virtude da demanda crescente, potencial de disseminação de patógenos entéricos que não são eliminados pelo processamento, condições inadequadas de armazenamento e exposição à venda e conservação inadequada do produto após a compra é necessário um controle mais intenso desses produtos e a criação de legislação específica para o mercado de alimentos minimamente processados (Chaudry et al., 2004; Chervin et al., 1994; Harris et al., 2003).

Entre os gêneros de microrganismos patogênicos que podem contaminar vegetais e frutas minimamente processados, um dos mais preocupantes é a *Salmonella*. O gênero *Salmonella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, é composto por microrganismos anaeróbios facultativos, bastonetes Gram-negativos. 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, 1994).

Salmonella é um dos microrganismos mais frequentemente associados a enfermidades transmitidas por diversos tipos de alimentos (ETA) em diferentes países. 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 (FDA, 1992; Franco & Landgraf, 1996; ICMSF, 1996). A dose infectante depende do indivíduo, da espécie e sorogrupo do microrganismo e do produto que veicula *Salmonella*. De acordo com Harris (2004), a dose infectante pode variar de 10 a 100.000 células dependendo do tipo de produto e da suscetibilidade do indivíduo.

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 através, principalmente de alimentos e água (Franco & Landgraf, 1996; ICMSF, 1996).

Produtos como tomates, alface, salsinha, couve e sucos de frutas como laranja e maçã, são as hortifrutículas mais incriminadas em surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial e já foram incriminados como fonte de patógenos de significância em saúde pública como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp, *Listeria* sp, e *Shigella* sp, bem como de agentes causais da hepatite A e parasitas (Beuchat, 1996).

Nos Estados Unidos entre 1990 e 2003 foram relatados 161 surtos de ETA's com 8858 casos cujo veículo foram os vegetais, enquanto as frutas causaram 82 surtos com 9066 casos e os pratos prontos para consumo foram responsáveis por 189 surtos com 7899 casos (Center for Science in the Public Interest, 2004). Em dezembro de 1999, o Centro de Controle de Doenças (CDC), dos Estados Unidos, detectou um surto de salmonelose em vários Estados com 78 casos e 2 mortes. Os estudos dos casos levaram à conclusão que o surto foi causado pelo consumo de manga, proveniente da América do Sul (Sivapalasingam et al., 1999).

Sivapalasingam et al. (2004), nos Estados Unidos, constataram o isolamento do agente etiológico em 103 (54%) surtos de ETA provocados por alimentos frescos ou minimamente processados nos quais estiveram envolvidos 11185 indivíduos, no período entre 1973 e 1997. Desse total, 62 surtos (60%) foram causados por bactérias, 21 (20%) por vírus, 16 (16%) por parasitas e 4 (4%) por produtos químicos ou tóxicos. *Salmonella* foi o agente etiológico mais comum, tendo sido isolado em 32 surtos (48%)

sendo 5 deles causados pelo sorotipo Tiphymurium, 2 por Enteridis e 2 por Infantis, entre outros. Entre os produtos envolvidos nos surtos são citados melões, maçãs, suco de laranja, tomate e preparações com frutas variadas, entre elas a manga (*Mangifera indica* L.).

No Brasil, os dados epidemiológicos sobre as ETA's não são completos porque a notificação não é compulsória. Entretanto, alguns órgãos de saúde estaduais divulgaram estudos sobre a ocorrência de surtos de salmonelose humana. No Estado do Paraná, entre 1994 e 1999, ocorreram 324 surtos, correspondendo a 27,1% das ocorrências. No Estado do Rio Grande do Sul, entre 1987 e 1998, foram identificados 829 surtos e a salmonelose correspondeu a 31,5% das ocorrências (Silva, Jr. 2002). No Estado de São Paulo, em 2003, dos 302 surtos de ETA's relatados, a salmonelose foi incriminada em 11 % deles (CVESP, 2003). Nesses surtos constatou-se o envolvimento de uma grande variedade de alimentos, entre eles as frutas e vegetais crus.

Atualmente, são adotadas as seguintes etapas no processamento mínimo de vegetais e frutas (CVSSP, 1999; Brasil, 2004):

- a) seleção para eliminação das unidades impróprias para consumo;
- b) pré-lavagem em água corrente para eliminação dos resíduos;
- c) sanificação com produtos químicos (Cloro ou outros);
- d) enxágüe para remoção do excesso do produto clorado;
- e) centrifugação para eliminar o excesso de água do enxágüe;
- f) remoção da casca e corte de acordo com a necessidade e forma de utilização final e
- g) em alguns casos, utilização de embalagens com atmosfera modificada com a finalidade de aumentar a vida útil.

Esse processo, porém, nem sempre é adequado para garantir a inocuidade dos alimentos minimamente processados porque, como é amplamente conhecido, todos os produtos químicos utilizados para desinfecção desses produtos são diluídos em água antes de sua aplicação e necessitam de contato direto com os microrganismos para serem eficientes. A superfície irregular combinada com a presença de zonas hidrofóbicas na cutícula cerosa de várias frutas e vegetais limitam o contato do produto químico com a microbiota e diminuem a eficiência do tratamento. Além disso, as bactérias raramente estão presentes como células isoladas, sendo mais freqüente a presença de pequenas colônias ou biofilmes que possuem alta tensão superficial

limitando o contato com o sanitizante. Alguns microrganismos na forma de esporos ou oocistos apresentam, ainda, resistência e as concentrações de sanitizantes usadas normalmente reduzem apenas 1 ou 2 ciclos logarítmicos da população (Goularte et al., 2004; Martins et al., 2004; Parrish, et al., 2003; Rodgers et al., 2004). Outro motivo é que os produtos à base de cloro, que são os mais utilizados na desinfecção de hortifrutícolas, trazem o inconveniente de formar produtos secundários, tais como os trihalometanos e as cloraminas que são tóxicos aos seres humanos (Rodgers, et al. 2004), corrosivos para os equipamentos e têm ação reduzida em presença de material orgânico ou altas temperaturas.

Rodgers et al. (2004), ao compararem a eficiência de sanificantes, verificaram que o ácido peracético apresentou baixa eficiência na redução da carga microbiana quando comparado a outros produtos. Esse ácido tem alto custo e sua eficiência é restringida em alguns produtos com superfície irregular, por dificultar o contato direto com a microbiota. Por outro lado, Parrish et al. (2003) ressaltam suas vantagens como a rápida decomposição em compostos não tóxicos e não ser corrosivo para os equipamentos.

Rodgers et al. (2004) obtiveram ainda resultados que demonstram que o ozônio, quando utilizado na desinfecção de vegetais e frutas, é eficiente na redução da microbiota, não produz resíduos tóxicos, reduz a quantidade de resíduos de agrotóxicos e é fácil de ser obtido em solução aquosa. Como limitantes citaram o alto custo de implantação e manutenção do equipamento de geração do ozônio, a instalação de um sistema de ventilação adequado para minimizar os riscos aos operadores e equipamentos e a ausência de efeito residual, que limita a eficiência nos produtos armazenados por períodos mais longos.

Portanto, torna-se cada vez mais necessário o desenvolvimento de novas técnicas que apresentem melhor relação custo x benefício, maior eficiência e combinação de resultados (redução ou eliminação dos perigos biológicos, eliminação da infestação por insetos e retardamento da maturação/senescência).

O processo de irradiação apresenta-se como uma alternativa para garantir o controle da contaminação desse tipo de produto. A radiação pode ser definida como sendo a emissão e a propagação da energia ou partículas através do espaço ou da matéria. Na irradiação de alimentos é permitido o uso de radiação ionizante: raios gama,

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

A radiação gama, mais utilizada comercialmente para a irradiação de alimentos, é a proveniente da emissão pelo Cobalto 60 (^{60}Co). Isso se deve ao fato de esse isótopo ser solúvel em água e ser obtido mais facilmente do que o Césio 137 (^{137}Ce) que é o único radioisótopo alternativo disponível (ICGFI, 1999).

O tratamento de frutas frescas por irradiação em doses baixas (até 1 kGy) já é utilizado com a finalidade principal de eliminar as pragas procedentes do campo, retardar os processos de maturação e decomposição. Esses efeitos são importantes principalmente para a manutenção da qualidade de produtos destinados ao comércio (consumo interno ou exportação), devido às grandes distâncias e necessidade de entrega do produto em condições ideais de consumo (Josephson, 1983; Urbain, 1986). No entanto, para aumentar a inocuidade desses produtos, isto é, reduzir para níveis não detectáveis grande parte da microbiota e parasitas presentes, são necessárias doses de radiação mais altas.

Molins et. al. (2001) sugerem a implantação de um programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) em que o processo de irradiação seja um Ponto Crítico de Controle (PCC) para a eliminação de perigos biológicos. A irradiação pode ser considerada um PCC pois, além de ter comprovada eficiência na eliminação ou redução dos perigos biológicos, atende a outros requisitos necessários para essa finalidade, como por exemplo limites críticos (doses mínimas e máximas) que podem ser estabelecidos e monitorados, além de permitir a tomada de ações corretivas.

A dose de irradiação necessária para se obter o efeito desejado depende dos tipos de microrganismos que compõe a microbiota, contagem microbiana inicial e do tipo de alimento. Alguns autores realizaram estudos para determinar a dose necessária para vários tipos de produtos, como podemos ver no Quadro 1.

A ação antimicrobiana da irradiação se dá através de vários mecanismos, entre eles: ação direta da radiação no DNA celular quebrando os ácidos nucléicos e pela radiólise da água que forma radicais livres que reagem com outras moléculas importantes para a sobrevivência e multiplicação microbiana (ICMSF, 1980; Smith, 2004).

Quadro 1 Dose de irradiação (kGy), produto alimentício e efeito desejado.

Tipo de produto	Efeito desejado	Dose mínima	Referência
Ervas medicinais	Descontaminação	2 kGy – flores e folhas 4 kGy – frutas e sementes	Ražem et. al., 2002
Cenoura minimamente processada	Descontaminação	2 kGy	Chaudry et al., 2004
Carnes prontas para consumo	Redução de <i>Listeria monocytogenes</i>	0,44 kGy	Foong et al., 2004
Folhas de cebolinha	Descontaminação	1 kGy	Fan et al., 2003
Sementes de alfafa, radichio e feijão	Redução de <i>E. coli</i> O157:H7	1 kGy	Bari et al., 2002
Cogumelo	Inativação da polifenol oxidase	5 kGy	Sun et al., 2003
Gengibre	Aumento da vida-de-prateleira	5 kGy	Mishra et al., 2004
Pimenta vermelha em pó	Descontaminação e aumento da vida-de-prateleira	7 kGy	Lee et al., 2004
Melão cantaloupe	Aumento da vida-de-prateleira	0,7 kGy	Palekar et al., 2004
Suco de laranja	Descontaminação	0,7 kGy	Foley et al., 2002
Frutas e vegetais	Eliminação do vírus da Hepatite A (HVA)	2,7 a 3,0 kGy	Bidawid et al., 2000
Alface	Aumentar a segurança microbiológica	0,7 kGy	Goularte et al., 2004
Agrião	Redução de <i>Salmonella</i> spp.	D ₁₀ entre 0,29 e 0,43 kGy	Martins et al., 2004

A ação antimicrobiana da irradiação é avaliada pelo valor D_{10} que é definido como sendo a dose necessária para eliminar 90% da microbiota em um produto. Esse valor já foi determinado para *Salmonella* spp. em vários alimentos, entre eles, agrião minimamente processado (0,33 – 0,46 kGy) (Martins, et al., 2004), alface minimamente processada (0,16 - 0,23 kGy) (Goularte et al., 2004), carne de frango desossada (0,16 – 0,44) (Loaharanu, 1996); carne bovina moída (0,67 kGy), rosbife (0,44 - 0,55 kGy) e filé (0,37 kGy) (Molins, 2001); carne de frango embalada em atmosfera normal (0,24 kGy), e a vácuo (0,39 kGy), ovo em pó (0,6 kGy), carne moída (0,55 - 0,78 kGy) (Smith, 2004); sementes de alfafa (0,81 kGy) (Sharma et al., 2002) e suco de laranja reconstituído (0,35 - 0,71 kGy) (Foley et al., 2002).

Apesar de todas as vantagens apresentadas, a exposição de produtos à radiação pode trazer alterações que comprometem a aceitação pelos consumidores. Entre os efeitos indesejáveis podemos citar 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). Em geral os macronutrientes (proteínas, gorduras e carboidratos) e os minerais não sofrem alterações que comprometam o valor nutricional dos alimentos irradiados (OMS, 1994 apud Smith, 2004). Existe, entretanto, uma preocupação com relação aos micronutrientes, especialmente as vitaminas A, C e E que apresentam maior sensibilidade às doses altas de irradiação (Smith, 2004).

Para evitar efeitos indesejáveis em frutas e vegetais foram propostas algumas medidas, entre elas, a imersão de maçã minimamente processada em uma solução de cloreto de cálcio, antes da irradiação. Essa medida previne o amolecimento pela quebra da pectina uma vez que o cálcio reage com o ácido péctico da parede celular formando o pectato de cálcio, o que mantém a integridade da lamela e garante a textura adequada (Gunes et al., 2001). A utilização de embalagem a vácuo e/ou congelamento, além da aplicação de antioxidantes, foi outra medida sugerida para limitar a oxidação em produtos com alto teor de gordura (Loaharanu, 1996; Smith, 2004).

Como já foi 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 às suas expectativas (Clemente , 1998).

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).

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

A manutenção de tais atributos é um verdadeiro desafio pois, logo após a colheita, ocorrem reações químicas e físicas, fisiológicas ou não, que podem levar ao decréscimo dos atributos de qualidade das frutas e vegetais, aumentar a vulnerabilidade aos microrganismos deteriorantes e diminuir assim a vida útil do produto (Mishra et al., 2004; Skura, Powrie, 1995).

Em virtude do alto potencial de crescimento do mercado de vegetais e frutas minimamente processados, da falta de uma legislação específica para regulamentar esse setor, da alta suscetibilidade à decomposição e contaminação com microrganismos patogênicos, os alimentos minimamente processados necessitam de cuidados especiais e adoção de estratégias que garantam a sua segurança e vida-de-prateleira. Entre as estratégias que podem ser adotadas a aplicação de irradiação é uma das mais adequadas e promissoras.

2. Objetivo

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a viabilidade da aplicação do processo de irradiação em mangas (*Mangifera indica* L.) variedades Tommy Atkins e Haden, minimamente processadas, com o intuito de aumentar a sua segurança microbiológica. Para tanto, foram determinados:

- o valor D_{10} para *Salmonella* spp. em manga (*Mangifera indica* L.) minimamente processada;
- a vida de prateleira das variedades Tommy Atkins e Haden de manga (*Mangifera indica* L.), através da análise sensorial e ensaios microbiológicos.

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais

3.1.1 Amostras

Mangas (*Mangifera indica* L.), das variedades Tommy Atkins e Haden, em grau adequado de maturação conforme descrito por Morton (1987), previamente selecionadas, higienizadas, descascadas, cortadas e embaladas em porções de 200 g em potes plásticos de poliestireno (Embalagens Plaszom, Zomer Ltda., Santa Catarina, Brasil), sem modificação na atmosfera, foram obtidas junto à empresa situada na cidade de São Paulo – S.P. Segundo o fabricante, as embalagens apresentavam as seguintes características: taxas de permeabilidade oxigênio – 5000 cm³/m² a 25°C, nitrogênio – 800 cm³/m² a 25°C, e gás carbônico – 18000 cm³/m² a 25°C e taxa de transmissão de vapor de água entre 100 e 125 g/m².

3.1.2. Microrganismos

Para a inoculação experimental foram utilizadas três cepas de *Salmonella* spp: *Salmonella* Infantis – gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, *Salmonella* Typhimurium – ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis – ATCC 13076.

3.2. Métodos

3.2.1. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das amostras de manga minimamente processada

Foram analisadas 36 amostras de manga minimamente processada armazenadas a 5°C ± 1°C, adquiridas de maneira aleatória, em empresa situada na cidade de São Paulo – S.P., no período de janeiro a junho de 2004.

3.2.1.1. Preparo das amostras para análise microbiológica (Andrews et al, 2003)

Porções de 25 g foram homogeneizadas com 225 ml de tampão fosfato. A partir desse homogeneizado, foram realizadas diluições decimais, usando como diluente a mesma solução.

3.2.1.1.1 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos (Maturin et al., 1998)

A partir de cada diluição obtida em 3.2.1.1, semeou-se 1 ml em placas de Petri em que foi adicionado Ágar Padrão para Contagem (PCA – Oxoid, Basingstoke, UK). Após homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após a incubação, foram contadas as colônias nas 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).

3.2.1.1.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicotróficos (Cousin et al., 2001)

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 PCA (Oxoid) 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. Após a incubação, foram contadas as colônias em placas com 25 a 250 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em UFC/g.

3.2.1.1.3 Contagem de *Pseudomonas* sp. (Mead & Adams, 1977)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, semeou-se 0,1 ml 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.

3.2.1.1.4 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais (tubos múltiplos) (Feng et al., 2002)

A partir das diluições obtidas em 3.2.1.1, 1 ml foi inoculado em uma série de três tubos, por diluição, de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST – Oxoid) com tubos de Durham invertidos. 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 Verde Brilhante Lactose Bile (BGLB broth - Oxoid) com tubos de Durham invertidos que foram incubados a 35°C por 48 horas. 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 Blodgett (2003). Os resultados foram expressos como NMP/g.

3.2.1.1.5 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes (tubos múltiplos) (Feng et al., 2002)

A partir dos tubos de caldo LST considerados positivos no item 3.2.1.1.4 transferiu-se uma alçada do inóculo para tubos de caldo EC (EC broth - Oxoid) que foram incubados em banho-maria a 44,5 °C por 24 horas. A partir dos tubos que apresentaram turvação e produção de gás, foi calculado o número mais provável por grama (NMP/g), utilizando a tabela de NMP para 3 séries de 3 tubos, conforme Blodgett (2003). Os resultados foram expressos como NMP/g.

3.2.1.1.6 Determinação de bolores e leveduras (Tournas et al., 2000)

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 Batata Dextrose (PDA – Oxoid) acidificado com ácido tartárico e, usando uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio. A seguir, incubou-se as placas a 25°C por 5 dias. Após a

incubação, foram contadas as colônias em placas com 10 a 150 colônias e aplicados os respectivos fatores de correção das diluições. Os resultados foram expressos em UFC/g.

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

A partir de cada diluição obtida em 3.2.1.1, semeou-se 1 ml em placas de Petri em que foi adicionado Ágar MRS (Oxoid). Após homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerogen, Oxoid) a 30°C por 48 horas. Após a incubação, foram contadas as colônias nas 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).

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

Foram homogeneizadas 25 g de manga minimamente processada em 225 ml de caldo lactosado (Oxoid) 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 tetrionato (Oxoid) e incubados a 35°C por 24 horas. Decorridas 24 horas de incubação, amostras dos dois caldos foram semeadas, por esgotamento, 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 semeadas em ágar ferro lisina (LIA) e ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e os tubos incubados a 35°C por 24 horas. Posteriormente, as colônias com reações características foram submetidas a outras provas bioquímicas nos meios EPM (Toledo *et al.*, 1982a), MILi (Toledo *et al.*, 1982b) e Citrato, que foram incubados a 37°C/24h. Posteriormente, as colônias com reações típicas para *Salmonella* spp nesses meios foram confirmadas através de teste de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella* (Probac do Brasil, São Paulo, Brasil).

3.2.2 Determinação do valor D_{10} de *Salmonella* spp em mangas minimamente processadas expostas à radiação

3.2.2.1. Preparo do inóculo de *Salmonella* spp

Para o preparo do inóculo foram empregadas *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* mantidas congeladas a -70°C . Após descongelamento, foram semeadas, individualmente, em tubos com 5 ml de caldo de tripton de soja (TSB- Oxoid) que foram incubados a 35°C por 24 horas e posteriormente repicados para frascos com 100 ml do mesmo meio. Após incubação, a 35°C por 24 horas, 15 ml de cada cultura de *Salmonella* foram transferidos para um único tubo de centrifuga, totalizando, assim, 45 ml que foi considerado o “pool” de *Salmonella*. Estes 45 ml foram centrifugados a $700 \times g$ (centrifuga Mikro 22R Hettich, Tuttlingen, Alemanha) por 30 minutos. Em seguida, o sedimento foi re-suspendido com 40 ml de solução salina (0,85%). Para avaliar a população de *Salmonella* no inóculo, foram realizadas diluições seriadas até 10^{-9} e 1 ml das diluições 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} foram inoculados em placas de Petri adicionadas de TSA. Após homogeneização e solidificação foi aplicada sobre-camada de Agar MLCB (Oxoid). As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Foram contadas as colônias nas placas com 25 a 250 colônias, aplicados os respectivos fatores de correção das diluições e o resultado foi a média da contagem das duas placas. Para confirmação, entre 3 e 5 colônias típicas (cor lilás com centro escuro) de cada placa foram submetidas a teste de aglutinação em lâmina com anti-soro polivalente para *Salmonella* spp. (Probac do Brasil). A população média de *Salmonella* obtida no inóculo foi de $9 \log_{10}$ UFC.

3.2.2.2 Preparo das amostras de manga minimamente processada

As amostras de manga foram adquiridas em uma empresa processadora de vegetais e frutas situada na cidade de São Paulo – S.P. e foram assim preparadas: realizou-se uma seleção de mangas (*Mangifera indica* L.) das variedades Tommy Atkins e Haden de acordo com o tamanho, grau de maturação e ausência de sinais de infestação ou choque mecânico. As unidades selecionadas foram lavadas com auxílio de uma esponja macia sob água corrente e tratada. A desinfecção foi realizada através de

imersão das frutas por 5 minutos em água ozonizada obtida através de um gerador de ozônio Ecozon Plus (Empresa Ecozon Ltda, São Paulo, S.P., Brasil) gerando 4,58g/hora de ozônio (0,30 ppm de ozônio em solução aquosa), sem necessidade de enxágue. As frutas foram descascadas e cortadas em cubos com 1 cm de aresta. Os cubos das duas variedades de manga foram misturados de forma homogênea para garantir uma distribuição eqüitativa e foram embalados em embalagem plástica em porções de 200g e mantidos sob refrigeração ($5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) até o momento de transporte ao laboratório.

3.2.2.3 Inoculação das amostras de manga para o processo de irradiação

As amostras de manga foram retiradas das embalagens plásticas do fornecedor e transferidas assepticamente para sacos esterilizados Whirl Pak (Nasco – Wiscosin, EUA) em porções de 200 g e adicionado 5 ml do “pool” das cepas de *Salmonella*. Cada saco plástico com as amostras inoculadas foi homogeneizado manualmente para garantir, tanto quanto possível, uma distribuição uniforme do inóculo. Esse procedimento foi realizado de maneira bem suave para evitar danos aos cubos de manga. Para determinar o inóculo obtido nas frutas, alíquotas de 25g foram homogeneizadas com 225 ml de tampão fosfato e foram realizadas diluições seriadas até 10^{-9} e 1 ml das diluições 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} foram inoculados em placas de Petri adicionadas de TSA, após homogeneização e solidificação as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Foram contadas as colônias nas placas com 25 a 250 colônias, aplicados os respectivos fatores de correção das diluições e o resultado foi a média da contagem das duas placas.

3.2.2.4 Irradiação da manga minimamente processada inoculada com *Salmonella* spp.

A irradiação das amostras de manga foi realizada no canal experimental de um irradiador JS-7500 (Nordium Inc. Kanata, Ontario, Canadá), pertencente a Embrarad S.A., Cotia, São Paulo tendo como fonte radioativa ^{60}Co . A taxa de dose variou de 2,0 a 2,2 kGy/hora. A calibração do canal foi feita com dosímetro “red perpex” padronizado pelo National Physics Laboratory, laboratório de padronização da Inglaterra.

As amostras de manga minimamente processada e inoculada com o pool de *Salmonella* spp. foram transportadas e irradiadas em caixa de material termoisolante com gelo. Cada amostra, em triplicata, foi exposta à dose de: $0,5 \pm 3\%$ kGy; $1,0 \pm 2\%$ kGy; $1,3 \pm 2\%$ kGy; $1,5 \pm 2\%$ kGy; $1,8 \pm 1,5\%$ kGy; $2,0 \pm 2\%$ kGy, além de uma amostra não irradiada para controle. O experimento foi repetido três vezes.

3.2.2.5 Quantificação da população sobrevivente de *Salmonella* spp em manga minimamente processada (Kang e Fung modificado, 2004)

As amostras de manga expostas à radiação foram transportadas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos em caixa de material termoisolante com gelo. Alíquotas, em triplicata, de 25 g. foram separadas de cada amostra irradiada e homogeneizadas com 225 ml de solução tampão fosfato em aparelho stomacher-400 (Seward).

A partir desse homogeneizado foram realizadas diluições decimais, usando como diluente tampão fosfato, a partir das quais semeou-se 1 ml da diluição, em duplicata e em profundidade, em placas de Petri contendo TSA. Após homogeneização e solidificação, foi aplicada uma sobre-camada de Ágar MLCB. Após a solidificação da sobre camada, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Para confirmação, entre 3 e 5 as colônias típicas (cor lilás com centro escuro) de cada placa foram submetidas a 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 de duas placas.

3.2.2.6 Cálculo do valor D_{10}

O valor D_{10} foi calculado, graficamente, através da análise de regressão linear (Microsoft Excel, Microsoft, Estados Unidos).

3.3. Estudo da vida-de-prateleira de manga minimamente processada

O estudo da vida-de-prateleira foi realizado através de avaliação sensorial e análise microbiológica.

3.3.1 Avaliação sensorial

3.3.1.1 Recrutamento dos provadores.

Para o recrutamento dos provadores foi desenvolvido um questionário de seleção e termo de consentimento (Figura 1). A seleção dos provadores foi baseada na disponibilidade de tempo, condições de saúde e apreciação do produto.

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

3.3.1.2 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). A figura 2 representa a ficha de avaliação de manga minimamente processada.

Embalagens plásticas, perfazendo um total de 60 unidades, contendo, cada uma, 200 g de manga minimamente processada (figura 3) foram expostas a doses de irradiação de 1.0 (30 unidades) e 2.0 kGy (30 unidades). Essas embalagens, acompanhadas por 30 amostras controle (não irradiada), ficaram armazenadas em geladeira a 7°C. Em cada dia de análise foram retiradas 5 amostras do controle e 10 das unidades expostas às doses de radiação, sendo 5 expostas a 1 kGy e 5 expostas a 2 kGy. Essas amostras foram mantidas em caixa isotérmica com gelo garantindo a temperatura de 7°C durante o experimento para serem posteriormente porcionadas e oferecidas aos provadores.

O painel sensorial, composto por 25-30 provadores não treinados, com idade entre 20-55 anos, avaliou a aceitação global (aparência, aroma e sabor) e a textura (sensação de resistência dos cubos de frutas ao serem pegos com o garfo e mastigados) nos dias 1, 2, 4 e 7 após a irradiação, baseados na 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.

QUESTIONÁRIO DE SELEÇÃO DE PROVADORES E TERMO DE CONSENTIMENTO**ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS**

Estamos selecionando pessoas para participar de uma equipe de provadores de frutas minimamente processadas e irradiadas, 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.

A data, horário (a definir) e a duração do teste (aproximadamente 1 mês). Se você estiver interessado em participar voluntariamente, por favor, preencha o questionário abaixo.

Nome: _____

Data: ____ / ____ / ____

Telefone para contato/ramal: _____

E-mail: _____

1. Sexo

masculino feminino

2. Idade (faixa etária):

21-25 anos

25-30anos

31-34 anos

35-44anos

45-54 anos

Acima de 55 anos

3. Grau de escolaridade:

superior completo

superior incompleto

segundo grau (colegial)

primeiro grau

4- Você permanecerá na USP até março/2005?

Sim

Não

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

6- Com que frequência você consome frutas minimamente processadas:

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 frutas minimamente processadas, 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

R.G.:

Figura 1 Questionário para recrutamento e seleção de provadores para o estudo da vida-de-prateleira de manga minimamente processada irradiada.



Figura 3 Embalagem plástica com manga minimamente processada submetida à irradiação

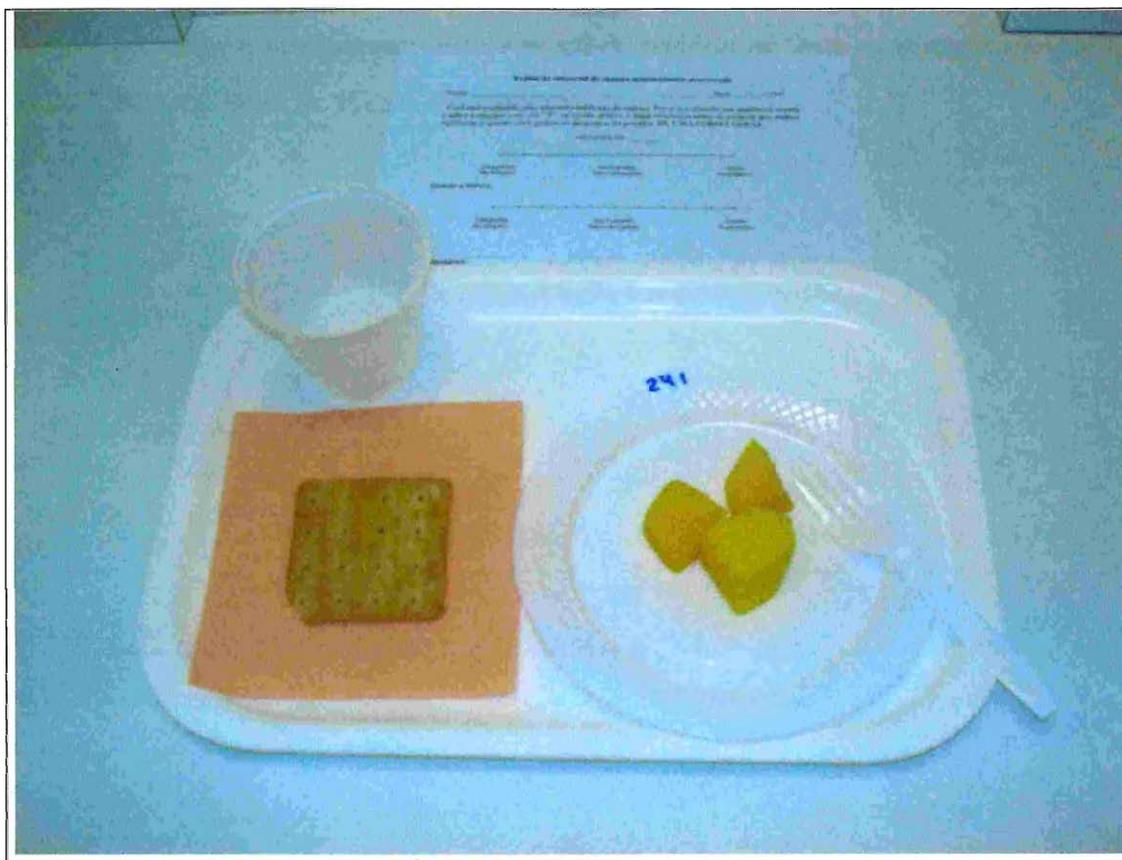


Figura 4 Esquema de apresentação das amostras para os provadores

3.3.2 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 psicotróficos, bactérias lácticas, *Pseudomonas* sp. e de bolores e leveduras.

Para a realização dessas análises foram utilizadas as metodologias descritas nos itens 3.2.1.1 para preparo das amostras, 3.2.1.1.1 para contagem de microrganismos mesófilos, 3.2.1.1.2 para contagem de microrganismos psicotróficos, 3.2.1.1.3 para contagem de *Pseudomonas* sp., 3.2.1.1.4 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais (tubos múltiplos), 3.2.1.1.5 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Fecais (tubos múltiplos), 3.2.1.1.6 para contagem de bolores e leveduras, 3.2.1.1.7 para bactérias lácticas e 3.2.1.1.8 para pesquisa de *Salmonella* spp.

3.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à ANOVA (análise de variância) de dois fatores (amostra e provedores, sem repetição), seguida de teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 5% de significância.

4. Resultados e Discussão

4.1. Determinação das condições higiênico-sanitárias das amostras de manga minimamente processada

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos nas análises das mangas minimamente processadas. As populações de microrganismos mesófilos variaram entre 2,30 e 3,83 \log_{10} UFC/g, as de coliformes totais entre 0,95 e 3,04 \log_{10} NMP/g e as de coliformes termotolerantes entre $< 0,47$ e 1,04 \log_{10} NMP/g. Com relação ao gênero *Pseudomonas*, sua população variou entre < 2 e 3,69 \log_{10} UFC/g. Não foram detectadas bactérias patogênicas do gênero *Salmonella*. As populações detectadas de coliformes termotolerantes e a ausência de *Salmonella* estão de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2001). Esses resultados são similares aos relatados em análises de controle microbiológico realizado mensalmente para esse produto (experiência pessoal do pesquisador).

A população máxima detectada de microrganismos mesófilos no presente trabalho foi da ordem de 3,83 \log_{10} UFC/g e encontra-se no intervalo relatado por O'Connor-Shaw et al. (1994) para frutas frescas - 1,94 \log_{10} UFC/g a 7,14 \log_{10} UFC/g, e para frutas minimamente processadas - 2,69 \log_{10} UFC/g - 8,25 \log_{10} UFC/g. No entanto, são superiores aos encontrados por Rodgers et al. (2004) nos Estados Unidos que detectaram populações de 2,3 \log UFC/g de mesófilos, de 1,9 \log UFC/g de leveduras e inferiores a 1 \log UFC/g de bolores em maçãs fatiadas e tratadas com ozônio. É preciso ressaltar que Rodgers et al. (2004) utilizaram ozônio em concentração 10 vezes superior à empregada no presente estudo, ou seja, 3 ppm por 5 min. Além disso, realizaram a desinfecção após o corte dos produtos, minimizando a influência do processamento posterior à desinfecção no resultado final, ao contrário do ocorrido no trabalho atual. Por outro lado, as populações detectadas no presente trabalho são inferiores aos relatados por King Jr, et al. (1989) que detectaram populações de 5 \log_{10} UFC/g de microrganismos aeróbios mesófilos em vegetais processados. É importante ressaltar que a contaminação ocorreu por causa do processamento mínimo uma vez que, de modo geral, os tecidos internos das frutas não apresentam microrganismos.

As diferenças entre as populações de microrganismos detectadas podem ser explicadas por diferentes características do próprio alimento em estudo, sanitizante

utilizado (ozônio ou cloro), tempo de exposição aos sanitizantes, temperatura na qual o alimento foi estocado, sazonalidade etc.

Pseudomonas sp., bolores e leveduras e bactérias psicotróficas são microrganismos deteriorantes que, dependendo da população, podem causar alterações no alimento, diminuindo a sua vida-de-prateleira. Para evitar esse problema, é possível sugerir a adoção de novos tipos de embalagens como filmes de polietileno de alta e baixa densidade, polipropileno, poliamida (Nylon 6) e filmes comestíveis como quitosana e caseinato de sódio impregnados com antimicrobianos como a lisozima ou combinados com atmosfera modificada nas condições que atendam às características necessárias para cada tipo de alimento. No caso da manga, a taxa de respiração a 10°C é de 15 mg CO₂/kg/h e concentrações ótimas da mistura de gases estão entre 3 e 7% para o oxigênio e entre 5% e 8% para o gás carbônico (Farber et al., 2003; Ronk et al., 1989). É possível propor ainda mudança nos critérios de tempo e temperatura de armazenamento, avaliação correta da vida-de-prateleira do produto, uso de aditivos para modificar as características que favorecem a multiplicação microbiana e alterações sensoriais nos produtos como, por exemplo, o uso de ácido cítrico ou ascórbico como acidulantes e inibidores do escurecimento enzimático (King, Jr. et al., 1989).

Tabela 1 Avaliação microbiológica em 36 amostras de manga (*Mangifera indica* L.) minimamente processada, adquiridas em empresa da cidade de São Paulo, S.P. entre janeiro e junho de 2004.

Amostras e data de coleta	Mesófilos (log ₁₀ UFC/g)	Psicrotróficos (log ₁₀ UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)	Bolores e leveduras	<i>Pseudomonas sp.</i>
1 - 20/01/04	3,82	4,00	< 0,47	< 0,47	3,34	< 2
2 - 20/01/04	3,81	4,04	< 0,47	< 0,47	3,36	< 2
3 - 20/01/04	3,77	4,00	2,38	1,04	3,47	2,10
4 - 20/01/04	3,74	4,17	1,96	< 0,47	3,70	2,20
5 - 20/01/04	3,77	4,15	1,36	< 0,47	3,66	2,27
6 - 20/01/04	3,69	4,14	1,36	< 0,47	3,39	2,28
7 - 20/01/04	3,70	3,98	1,44	< 0,47	3,46	2,39
8 - 20/01/04	3,71	4,50	1,63	< 0,47	3,59	2,65
9 - 20/01/04	3,56	4,44	< 0,47	< 0,47	3,60	2,51
10 - 20/01/04	3,55	4,41	0,60	< 0,47	3,60	2,44
11 - 20/01/04	3,41	3,90	0,84	< 0,47	3,44	2,20
12 - 20/01/04	3,46	3,95	2,07	0,60	3,45	< 2
13 - 25/03/04	3,81	3,00	3,04	0,60	3,65	< 2
14 - 25/03/04	3,82	3,04	2,66	0,95	3,02	< 2
15 - 25/03/04	3,81	3,23	2,66	< 0,47	3,07	3,46
16 - 25/03/04	3,83	3,17	1,17	< 0,47	3,07	3,38
17 - 25/03/04	3,78	3,34	1,04	< 0,47	3,26	3,27
18 - 25/03/04	3,78	3,39	1,87	< 0,47	3,20	3,55
19 - 25/03/04	3,74	3,09	1,63	< 0,47	3,07	3,50
20 - 25/03/04	3,72	3,03	1,44	< 0,47	3,08	3,69
21 - 25/03/04	3,69	3,17	2,07	0,60	3,42	< 2
22 - 25/03/04	3,69	3,14	1,96	1,04	3,40	< 2
23 - 25/03/04	3,57	3,14	1,32	< 0,47	3,37	< 2
24 - 25/03/04	3,56	3,36	1,32	< 0,47	3,30	< 2
25 - 15/06/04	2,30	4,06	< 0,47	< 0,47	4,30	2,50
26 - 15/06/04	2,30	4,08	0,84	< 0,47	4,39	2,34
27 - 15/06/04	2,54	4,12	0,95	< 0,47	4,50	2,32
28 - 15/06/04	2,51	4,23	1,87	< 0,47	4,47	2,55
29 - 15/06/04	2,36	4,19	1,04	< 0,47	4,44	2,54
30 - 15/06/04	2,39	4,17	1,17	< 0,47	4,43	2,61
31 - 15/06/04	2,34	4,08	< 0,47	< 0,47	4,41	2,87
32 - 15/06/04	2,34	4,09	< 0,47	< 0,47	4,41	2,96
33 - 15/06/04	2,41	4,10	1,17	0,60	4,44	2,89
34 - 15/06/04	2,43	4,24	1,32	0,60	4,43	< 2
35 - 15/06/04	2,30	4,27	1,96	< 0,47	4,48	< 2
36 - 15/06/04	2,30	4,19	1,17	< 0,47	4,40	2,76

4.2. Determinação do valor D_{10} de *Salmonella* spp em manga minimamente processada

Na tabela 2 são apresentadas as populações sobreviventes (\log_{10} UFC/g) de *Salmonella* spp. inoculada em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) minimamente processada, expostas a diferentes doses de radiação gama. Observa-se que, conforme esperado, com o aumento das doses a contagem de microrganismos sobreviventes diminui, com redução máxima de 3,5 ciclos logarítmicos com exposição a 2 kGy.

Com base na análise de regressão linear, o valor de D_{10} para *Salmonella* spp. inoculada experimentalmente em manga minimamente processada variou entre 0,52 e 0,62 kGy, em três repetições verdadeiras (Figura 1) ($D_{10} = 1/a$).

Esses valores (entre 0,52 kGy e 0,62 kGy) são mais altos do que os relatados por Martins et al. (2004) em agrião (entre 0,33 kGy e 0,46 kGy) e por Goularte et al. (2004) em alface (entre 0,16 kGy e 0,23 kGy). Sabe-se que a composição química dos alimentos, como teores de lipídeos, de carboidrato ou de proteína podem aumentar ou reduzir a radiorresistência de um microrganismo. Neste caso, a maior concentração de lipídeos da manga pode ter conferido uma proteção ao microrganismo, o que não ocorreu para o agrião e a alface. O estado físico do alimento também influencia a resistência do microrganismo presente nesse alimento. Microrganismos presentes em alimentos com baixa atividade de água apresentam maior resistência à radiação assim como quando em alimentos congelados. Sharma et al. (2002) relatam valores D_{10} para *Salmonella* em semente de alfafa superiores (0,81 kGy) aos desta pesquisa.

Nossos valores são similares aos obtidos por Molins (2001) para *Salmonella* em carne bovina moída, (0,67 kGy) ou em rosbife (0,44 a 0,55 kGy) e aos de Smith et al. (2004) em carne bovina moída (0,55 a 0,78 kGy). É importante observar que, apesar de se tratar de uma espécie vegetal, a manga apresentou um efeito protetor similar ao de produtos de matriz mais complexa, o que pode ser explicado pela influência do pH ácido e pela utilização de inóculo de *Salmonella* na fase estacionária da multiplicação, fatores que, de acordo com Buchanan et al. (2004), aumentam a radioresistência dos microrganismos.

Os resultados obtidos nesse trabalho encontram-se na faixa dos relatados por Loaharanu (1996) em vários produtos alimentícios com D_{10} de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes* variando entre 0,27 kGy e 1,0 kGy.

Tabela 2 População sobrevivente (log UFC/g) de *Salmonella* spp inoculada em mistura de manga (*Mangifera indica* L.) variedades Tommy Atkins e Haden minimamente processada e exposta à irradiação com raios gama.

Dose (kGy)	Número de sobreviventes (log UFC/g)		
	A*	B*	C*
0	7,33	6,95	6,64
0,5 ± 3%	6,67	6,36	6,15
1,0 ± 2%	5,54	5,69	5,22
1,3 ± 2%	4,85	5,56	4,41
1,5 ± 1%	4,64	4,32	3,48
1,8 ± 1,5%	4,47	4,19	3,33
2,0 ± 2%	4,24	4,02	3,05

*Experimentos independentes

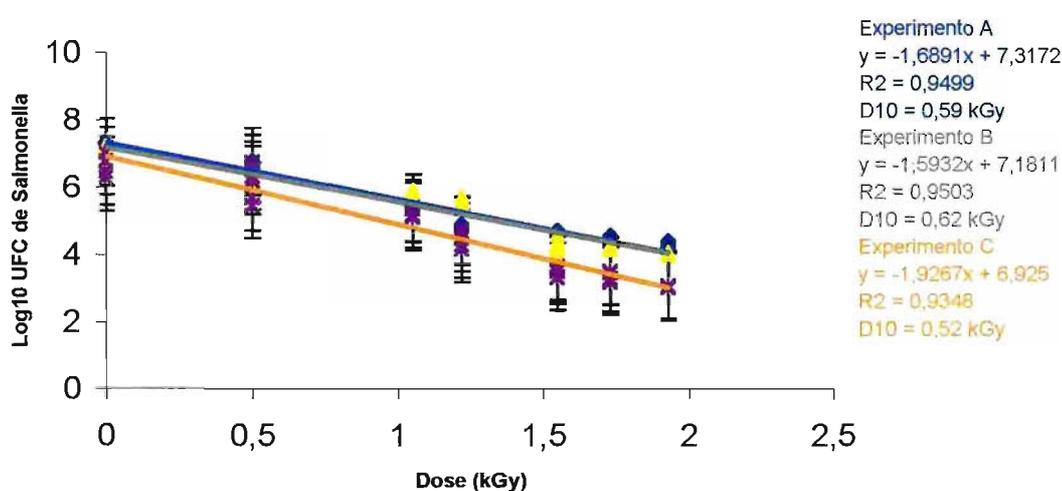


Figura 5 Comportamento da população de *Salmonella* spp em manga (*Mangifera indica* L.), variedades Tommy Atkins e Haden, minimamente processada exposta à diferentes doses de radiação.

Além dos fatores intrínsecos e extrínsecos dos produtos alimentícios, contribui para as diferenças de valores como é feita a inoculação da bactéria, isto é, se na superfície do alimento ou internamente. Niemira et al. (2003) detectaram diferenças na recuperação de *E. coli* O157:H7 em vários tipos de vegetais folhosos quando inoculados superficialmente ou não. No presente estudo foi utilizada a técnica relatada por Beuchat

et al. (2003) de aplicar, na superfície das frutas, um volume controlado do inóculo conhecido.

A metodologia para se determinar a população sobrevivente também pode ser um fator que leva a obtenção de diferentes valores. Nesta pesquisa foi utilizada a metodologia descrita por Kang e Fung (1999) que consiste na utilização de um meio não seletivo - ágar soja triptona – recoberto por camada de meio seletivo – ágar MLCB. O primeiro auxilia na recuperação de células injuriadas de *Salmonella* enquanto o segundo, usado como sobre camada, inibe a multiplicação de outros microrganismos e facilita o reconhecimento das colônias de *Salmonella* (lilás com centro escuro).

4.3. Estudo da vida-de-prateleira de manga minimamente processada e irradiada

4.3.1 Vida de prateleira da manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins

A tabela 3 apresenta as médias de aceitação global e a tabela 4 as médias de aceitação da textura de manga variedade Tommy Atkins minimamente processada irradiada e não irradiada durante a vida-de-prateleira.

Na avaliação da aceitação global (tabela 3), verificou-se que as amostras de manga expostas a doses de 1 e 2 kGy apresentaram, nos dias 1 e 2, nível de aceitação similar ao das amostras não irradiadas. Com o transcorrer do tempo de estocagem, observou-se tendência de queda na aceitação global para as três amostras (não irradiada e irradiadas com 1 e 2 kGy). Porém, essa queda foi significativa ($p < 0,05$) apenas para a amostra não irradiada. Apesar de as duas amostras irradiadas também terem apresentado a mesma tendência de queda da aceitação, ela não foi significativa ao longo do tempo ($p < 0,05$).

É interessante notar que as amostras de manga expostas à dose de 1 kGy apresentaram os melhores níveis médios de aceitação, particularmente, a partir do quarto dia de estocagem, o que sugere que esta dose tenha sido a mais apropriada na conservação do produto e de menor prejuízo à qualidade sensorial. No entanto, verificamos que a partir do 4º dia todas as amostras armazenadas apresentaram alterações de odor e sabor, além do nítido desenvolvimento de fungos na sua superfície (figura 6). É importante ressaltar que inclusive as amostras expostas a 1kGy apresentaram essas alterações, apesar de terem obtido média de aceitação global de 6,4

e, portanto, mais alta que a média de corte que é 5,0. Essas modificações indicavam que o produto não estava apto para ser consumido, razão pela qual optamos por solicitar aos provadores a avaliação apenas da aparência e odor. Mesmo com esse cuidado, a diminuição da concentração dos voláteis pela exposição ao ar e a manipulação da amostra para porcionamento e avaliação podem ter limitado a percepção das alterações sensoriais, ocasionando uma melhor aceitação do produto do que seria esperado em condições normais de consumo.

Tabela 3 Médias de aceitação global* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Dose (kGy)	Tempo de estocagem (dias)				DMS**
	1	2	4	7	
0	6,1a	5,9a	4,4b	2,0c	1,4
1	5,2a	6,2a	6,4a	5,3a	1,7
2	6,0a	6,1a	5,0a	4,7a	1,6

* Médias com letra(s) em comum, em uma mesma linha, não diferem significativamente, ao nível estatístico de 5% de significância, segundo o teste de Tukey (HSD). ** DMS – diferença mínima significativa ($p < 0,05$) entre duas médias.

Com relação à textura das amostras (tabela 4) é possível observar a redução do nível de aceitação deste atributo em função do tempo que foi significativa ($p < 0,05$) para amostra de manga não irradiada, no quarto dia de estocagem, evidenciando a rejeição do produto a partir deste tempo.

As amostras de manga irradiadas com dose de 2 kGy sofreram redução do nível de aceitação da textura desde o primeiro dia. Este fato indica que a dose de 2kGy gera prejuízo à textura desta variedade de manga, com a sua rejeição após o segundo dia de estocagem. Esses dados concordam com as observações feitas por Gunes et al. (2001) que indicam alteração da textura em maçãs minimamente processadas com dose de irradiação acima de 0,34 kGy.

Levando em consideração os fatores determinantes da aceitação do produto, concluímos que a dose de 1 kGy mostrou-se mais adequada para essa variedade de manga devido aos melhores níveis de aceitação global e textura observados ao longo do tempo de estocagem.

Comparando-se a vida-de-prateleira entre as amostras irradiadas e não irradiadas, verifica-se que a irradiação teve um efeito significativo de aumentar a vida-de-prateleira. Assim, amostras expostas a 1kGy apresentaram vida-de-prateleira de 4

dias, enquanto que as expostas a 2kGy e as não irradiadas de apenas 2 dias. Na tentativa de obter resultados mais expressivos de extensão da vida-de-prateleira a utilização de combinação de irradiação e atmosfera modificada nas embalagens pode ser estudada.

Tabela 4 Médias de aceitação textura* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Dose (kGy)	Tempo de estocagem (dias)				DMS**
	1	2	4	7	
0	6,7a	6,5a	4,6b	-	1,5
1	6,2a	6,4a	6,1a	-	1,3
2	5,6a	5,2a	4,4a	-	1,5

* Médias com letra(s) em comum, em uma mesma linha, não diferem significativamente, ao nível estatístico de 5% de significância, segundo o teste de Tukey (HSD). ** DMS – diferença mínima significativa ($p < 0,05$) entre duas médias.

Com relação à análise microbiológica, conforme esperado, as populações remanescentes dos microrganismos pesquisados aumentaram tanto nas amostras não irradiadas como nas irradiadas durante o armazenamento (tabelas 5, 6 e 7), exceto *Salmonella* que estava ausente em todas as análises. Essa multiplicação foi determinante para conservação do produto já que os microrganismos se utilizaram do substrato disponível na manga para seu desenvolvimento e, provavelmente, levaram à alterações sensoriais no produto. Esses dados concordam com os relatados por O'Connor-Shaw et al. (1994) e Lamikanra et al. (2000) que observaram alterações sensoriais em melão amarelo e cantaloupe minimamente processados causados pela multiplicação microbiana.

Do ponto de vista da legislação vigente (RDC 12 - Brasil, 2001) que admite um limite de $2 \log_{10}$ NMP/g para bactérias do grupo coliforme (45°C) e ausência de *Salmonella* sp, observa-se que a amostra não irradiada apresentou populações de bactérias do grupo coliforme (45°C) da ordem de $2,66 \log_{10}$ NMP/g, acima do limite permitido, a partir do 4º dia de armazenamento. No caso da amostra irradiada com 1 kGy essa mesma população só foi observada no 7º dia de armazenamento, enquanto a amostra exposta a 2 kGy não apresentou população desses microrganismos acima do limite até o final de vida-de-prateleira. Porém, como já observado, sua textura não estava apropriada a partir do 2º dia.

Tabela 5 Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins não expostas à radiação armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	6,10	3,51	> 3,38	1,96	5,30	6,07	4,98
2	6,15	3,58	> 3,38	1,96	6,12	6,91	6,36
4	6,81	3,81	> 3,38	2,66	7,09	7,02	7,59
7	7,02	7,55	> 3,38	> 3,38	7,14	7,87	7,91

Populações são médias de duplicatas

Tabela 6 Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins expostas a 1 Kgy armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	2,90	1,47	1,96	0,60	4,08	4,07	3,49
2	5,23	3,55	2,38	0,60	4,26	5,69	3,79
4	6,40	4,79	2,66	0,95	4,79	6,13	4,56
7	7,14	7,13	3,04	2,66	5,81	6,68	5,30

Populações são médias de duplicatas.

Tabela 7: Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins expostas a 2 Kgy armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	psicrotróficos	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	2,38	< 2	< 0,47	< 0,47	2,39	2,27	1,47
2	2,58	< 2	< 0,47	< 0,47	2,80	4,53	1,53
4	3,33	1,77	< 0,47	< 0,47	3,47	4,40	1,54
7	3,94	6,38	< 0,47	< 0,47	3,86	6,40	3,94

Populações são médias de duplicatas.

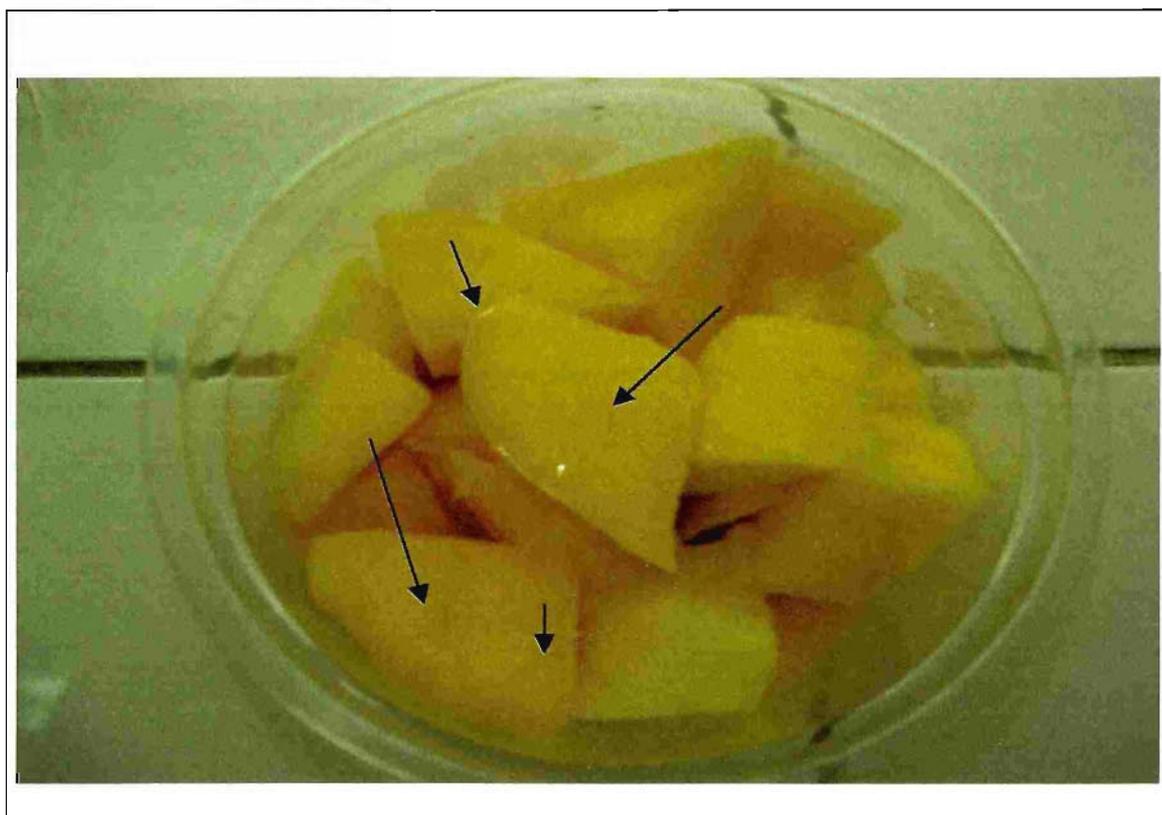


Figura 6 Aparência da manga Tommy Atkins minimamente processada após 4 dias de armazenamento a 7°C. Setas indicam pontos de desenvolvimento de fungos.

4.3.2 Vida de prateleira da manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden

A tabela 8 apresenta as médias de aceitação global e a tabela 9 as médias de aceitação da textura de manga variedade Haden minimamente processada irradiada e não irradiada durante a vida-de-prateleira.

Na avaliação da aceitação global (tabela 8), verificou-se que as amostras de manga irradiadas apresentaram, inicialmente, nível de aceitação similar ao das amostras não irradiadas. Com o transcorrer do tempo de estocagem, observou-se redução significativa ($p < 0,05$) do nível médio de aceitação tanto das amostras não irradiadas como das irradiadas, sendo que no 7º dia de estocagem todas apresentaram médias de aceitação global menores que 5, considerada a nota de corte.

É interessante notar também que as diferentes doses de irradiação não alteraram significativamente ($p < 0,05$) os níveis médios de aceitação, o que sugere que, com relação à aceitação global do produto, a aplicação de doses de até 2 kGy não traz prejuízo à aceitação por parte do consumidor. Esses dados são diferentes dos observados para a variedade Tommy Atkins e dos verificados por Foley et al. (2002) em suco de laranja. No entanto, são similares aos relatados por Palekar et al. (2004) em melão cantaloupe fatiado e por Mishra et al. (2004) em gengibre fresco.

Tabela 8 Médias de aceitação global* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Dose (kGy)	Tempo de estocagem (dias)				DMS**
	1	2	4	7	
0	7,0a	6,8a	6,3a	3,8b	1,7
1	6,2a	7,0a	5,6ab	4,5b	1,6
2	7,3a	6,3ab	5,9ab	4,8b	1,6

* Médias com letra(s) em comum, em uma mesma linha, não diferem significativamente, ao nível estatístico de 5% de significância, segundo o teste de Tukey (HSD). ** DMS – diferença mínima significativa ($p < 0,05$) entre duas médias

Com relação à textura (tabela 9) das amostras é possível observar a diminuição do nível de aceitação deste atributo em função do tempo. Esta diminuição foi significativa ($p < 0,05$), com respeito à manga não irradiada, apenas no sétimo dia estocagem. As amostras irradiadas também apresentaram comportamento semelhante, porém com queda de aceitação significativa ($p < 0,05$) a partir do quarto dia de estocagem, evidenciando um efeito negativo da radiação sobre a textura da fruta. Vale

ressaltar que mesmo com a queda nesse atributo, a média das notas foi acima de 5, denotando a aceitação do produto.

Diferentemente da variedade Tommy Atkins, não foi observada diferença significativa da aceitação dos consumidores com relação à textura das amostras de mangas variedade Haden irradiadas com 1 e 2 kGy, mostrando ser essa variedade de manga mais resistente ao tratamento com radiação. Esses dados são diferentes dos obtidos por Gunes et al. (2001) para maçãs minimamente processadas expostas a doses acima de 0,34 kGy e são similares aos encontrados por Fan et al. (2003) em folhas de cebolinha, uma espécie vegetal muito diferente da manga. Isso demonstra a necessidade de se estudar a aplicação de radiação em diferentes produtos.

Tabela 9 Médias de aceitação textura* obtidas por amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 kGy, 2 kGy e não irradiada armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Dose (kGy)	Tempo de estocagem (dias)				DMS**
	1	2	4	7	
0	7,3a	7,0a	6,5a	4,8b	1,6
1	6,4ab	6,9a	5,3b	4,4b	1,6
2	7,4a	6,7ab	5,4b	4,5b	1,6

* Médias com letra(s) em comum, em uma mesma linha, não diferem significativamente, ao nível estatístico de 5% de significância, segundo o teste de Tukey (HSD). ** DMS – diferença mínima significativa ($p < 0,05$) entre duas médias

Considerando os fatores que determinam a aceitação do produto, constata-se que tanto as amostras irradiadas como as não irradiadas apresentaram a mesma vida-de-prateleira, isto é, 4 dias. O que se observa na tabela 8 é que a queda da aceitação global foi muito maior e significativa ($p < 0,05$) para a amostra não irradiada do que nas irradiadas no 7º dia de estocagem.

A exemplo da variedade Tommy Atkins podemos sugerir a utilização de combinação de irradiação e atmosfera modificada para obter resultados mais expressivos de extensão da vida-de-prateleira.

Similarmente à variedade Tommy Atkins, as populações dos microrganismos remanescentes pesquisados nas amostras da variedade Haden, aumentaram durante o armazenamento (tabelas 10, 11 e 12), exceto *Salmonella* que esteve ausente em todas as análises. Essa multiplicação foi observada tanto nas amostras não irradiadas como nas irradiadas, porém as alterações sensoriais observadas não foram tão nítidas quanto às observadas na variedade Tommy Atkins.

Comparando os resultados das análises microbiológicas entre as duas variedades, constata-se não haver um padrão de comportamento dos microrganismos, não sendo possível discriminar qual apresenta melhor qualidade microbiológica.

Do ponto de vista da legislação vigente (RDC 12 - Brasil, 2001) observa-se que todas as amostras permaneceram dentro dos limites preconizados ao longo da vida-de-prateleira.

Tabela 10 Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden não expostas à radiação armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes 35°C	Coliformes 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	< 2	4,97	2,38	< 0,47	5,17	< 2	3,47
2	< 2	6,05	2,66	< 0,47	5,59	< 2	4,39
4	< 2	6,95	2,66	< 0,47	6,54	< 2	5,00
7	5,36	7,15	3,04	< 0,47	6,92	5,63	5,95

Populações são médias de duplicatas.

Tabela 11 Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 1 Kgy armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	< 2	3,39	< 0,47	< 0,47	3,74	< 2	1,74
2	< 2	4,29	0,60	< 0,47	4,27	< 2	3,00
4	< 2	4,37	0,84	< 0,47	4,59	< 2	3,90
7	2,60	5,80	0,95	< 0,47	5,02	< 2	4,20

Populações são médias de duplicatas.

Tabela 12 Populações de microrganismos mesófilos (\log_{10} UFC/g), psicrotróficos (\log_{10} UFC/g), coliformes a 35°C (\log_{10} NMP/g), coliformes a 45°C (\log_{10} NMP/g), fungos (\log_{10} UFC/g), bactérias lácticas (\log_{10} UFC/g) e *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) em amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Haden expostas a 2 Kgy armazenadas a 7°C durante 7 dias.

Tempo de estocagem (dias)	Populações de microrganismos						
	Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Fungos	Bactérias lácticas	<i>Pseudomonas</i>
1	< 2	2,70	< 0,47	< 0,47	3,11	< 2	1,30
2	< 2	2,86	0,60	< 0,47	3,23	< 2	1,48
4	< 2	3,60	0,84	< 0,47	3,81	< 2	1,73
7	1,77	3,70	0,84	< 0,47	3,96	< 2	1,90

Populações são médias de duplicatas.



Figura 7 Aparência da manga Haden minimamente processada após 7 dias de armazenamento a 7°C.

6. Conclusão

A partir dos resultados obtidos nas condições experimentais desta pesquisa e da discussão realizada, conclui-se que:

- a dose necessária para reduzir em 90% a população de *Salmonella* sp. em manga (*Mangifera indica* L.) variedades Tommy Atkins e Haden, minimamente processada, está na faixa entre 0,52 e 0,62 kGy;
- o processo de irradiação contribui para melhorar a qualidade microbiológica das amostras de manga (*Mangifera indica* L.) variedades Tommy Atkins e Haden, minimamente processadas;
- As Boas Práticas de Fabricação são ferramentas indispensáveis para se obter resultados mais expressivos pois ficou clara a influência da microbiota proveniente do processamento na vida-de-prateleira;
- a manga variedade Haden mostrou ser mais resistente ao processo de irradiação em relação à textura do que a variedade Tommy Atkins porém, esse processo não estendeu a sua vida de prateleira quando comparada à manga não irradiada;
- a exposição à dose de 1 kGy aumenta a vida-de-prateleira da manga (*Mangifera indica* L.) da variedade Tommy Atkins, minimamente processada, em 2 dias, quando comparada à manga não irradiada.

Portanto, a irradiação mostrou ser um processo adequado para aumentar a segurança microbiológica de mangas minimamente processadas e, dependendo da variedade, tem a vantagem adicional de prolongar sua vida-de-prateleira.

7. Referências bibliográficas

- Aegerter, Anthony; Fowell, Raymond. Economic aspects of alternative to methyl bromide in the postharvest and quarantine treatment of selected fresh fruits, **Crop Prot.**, Kidlington, n° 19, p. 161-168, 2000.
- American Society For Testing Materials, **Standard guide for the shelf life determination of consumer products by sensory evaluation**. Philadelphia, 10p. (ASTM, E 18.06.07), 1993.
- Andrews, W.H.; Hammack T.S., Food sampling and preparation of sample homogenate, **Bacteriological Analytical Manual**, Food and Drug Administration, Rockville, 8ª ed., capítulo 1, 1998.
- 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, cap.37, p.357-380, 2001.
- Aziz, N.; Moussa, Loutfy. Influence of gamma-irradiation on mycotoxin producing molds and mycotoxins in fruits, **Food Control**, n° 13, p. 281-288, 2002.
- Bari, M.L.; Nazuka, E.; Sabina, Y.; Todoriki, S.; Isshiki, K., Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa, radish and mung bean seeds, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 66, n° 5, p. 767-774, 2003.
- Beuchat, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.**, Des Moines, v. 59, n° 2, p. 204-216, 1996.
- Beuchat, L. R., Farber, J.N., Garrett, L.J., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V., Busta F.F., Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms in raw fruits and vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Institute of Food Technologists, Chicago, vol. 2, p. 174-178, 2003.
- Bidawid, S.; Farber, J.M.; Sattar, S.A., Inactivation of Hepatite A virus (HAV) in fruits and vegetables by gamma irradiation, **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, n° 57, p.91-97, 2000.
- Blodgett, R., Most Probable Number from serial dilutions, **Bacteriological Analytical Manual**, Food and Drug Administration, Rockville, 8ª ed., anexo 2, 1998.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 21 de 26/01/2001. **Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos**, Diário Oficial da União, 2001a. Disponível em:

<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=161&word=>

Acesso em 23 de Janeiro de 2005.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 12 de 02/01/2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**, Diário Oficial da União, 2001.

Disponível em:

<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144>

Acesso em 12 de Março de 2004.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 216 de 15/09/2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**, Diário Oficial da União, 2004.

Disponível em:

<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=12546&word=>

Acesso em 23 de Janeiro de 2005.

Brasil, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Produção Agrícola Municipal**, 2003. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2003/comentario.pdf>

Acesso em 23 de janeiro de 2005.

Brasil (MAPA) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Relatório executivo de acompanhamento – Estratégias de controle das principais pragas da mangueira no submédio São Francisco (2002a)**. Disponível em:

http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/PROGRAMAS/AREA_VEGETAL/FRUTICULTURA/PROFRUTA_TECNOLOGIA/INOVACAO_TECNOLOGICA/PROFRUTA_SUMARIO_SUBPROJETOS/SUMARIO_SUBPROJETOS_MANGA/17199915303_PTB.PDF

Acesso em 10 de Fevereiro de 2005.

Brasil (MAPA) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Conjunta nº 1** de 10 de Setembro de 2002, Diário Oficial da União, 2002b.

Disponível em:

<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=2958>

Acesso em 23 de Janeiro de 2005.

Brasil (MAPA) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Relatório executivo de acompanhamento – Controles alternativos das podridões patológicas pós-colheita na melhoria da qualidade mercadológica da manga irrigada no agronegócio (2002c)**. Disponível em:

http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/PROGRAMA_S/AREA_VEGETAL/FRUTICULTURA/PROFRUTA_TECNOLOGIA/IN_OVACAO_TECNOLOGICA/PROFRUTA_SUMARIO_SUBPROJETOS/SUMARIO_SUBPROJETOS_MANGA/171999156011_PTB.PDF

Acesso em 10 de Fevereiro de 2005.

Buchanan, R.L., Edelson-Mammel, S.G., Boyd, G., Marmer, B.S., Influence of acidulant identity on the effects of pH and acid resistance on the radiation resistance of *Escherichia coli* O157:H7, **Food Microbiol.**, 21, p. 51-57, 2004.

Bustos, Maria; Enkerlin, Walther; Reyes, Jesus; Toledo, Jorge. Irradiation of mangoes as a postharvest quarantine treatment for fruit flies (Diptera: Tephritidae), **J. Econ. Entomol.**, nº 97 (2), p. 286-292, 2004.

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 de janeiro de 2005.

Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVESP), **Estatística de Surtos de Doenças transmitidas por alimentos e água, 2003**. Disponível em:

http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dta_estat.htm

Consultado em 25 de Janeiro de 2005.

Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo (CVSSP). 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 24 de Janeiro de 2004.

- Chaudry, M.A.; Bibi, Nizakat; Khan, M.; Khan, M.; Badshah, A.; Qureshi, M. J., Irradiation treatment os minimally processed carrots for ensuring microbial safety, **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, vol. 71, p. 169-173, 2004.
- Chervin, C.; Boisseau, P., Quality maintenance of “ready-to-eat” shredded carrots by gamma irradiation, **J. Food Sci.**, Chicago vol. 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. **Compedium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. (2001), Washington: American Public Health Association, p.159-166.
- Diehl, J.F. **Safety of irradiated foods**, 2.ed. (1995), New York: Marcel Dekker, p. 454;
- Estados Unidos Code of Regulations, **Irradiation treatment of imported fruits and vegetables for certain fruit flies and mango seed weevils**, Título 7, volume 5 (2004a), p. 176-181.
- Disponível em:
<http://frwebgate5.access.gpo.gov/cgi-bin/waisgate.cgi?WAISdocID=227896353483+4+0+0&WAISaction=retrieve>
 Acesso em 24 de Janeiro de 2005.
- Estados Unidos Code of Regulations, **Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food**. Título 21, volume 3 (2004b), p. 440-446.
- Disponível em:
<http://frwebgate1.access.gpo.gov/cgi-bin/waisgate.cgi?WAISdocID=414850238273+97+2+0&WAISaction=retrieve>
 e

Acesso em 24 de janeiro de 2005.

- Fan, X.; Niemira, B.A.; Sokorai, K.J.B., Use of Ionizing Radiation to Improve Sensory and Microbial Quality of fresh-cut green onion leaves, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 68, n° 4, p. 1478-1483, 2003.
- Farber, J.N.; Harris, L.J.; Parrish, M.E.; Beuchat, L.R.; Suslow, T.V.; Gorney, J.R.; Garrett, E.H.; Busta, F.F. Microbiological Safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Institute of Food Technologists, Chicago, vol. 2, p. 142-160, 2003.
- Feng, P.; Weagant, S.D.; Grant M.A., Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria, **Bacteriological Analytical Manual**, Food and Drug Administration, Rockville, 8ª ed., capítulo 4, 1998.
- Ferreira, M.A. **Um mercado fértil para o Brasil**. Frutas Legumes, São Paulo, v.1, p.8-11, 2000.
- Follett, Peter. Irradiation to control insects in fruits and vegetables for export from Hawaii, **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, n° 71, p. 161-164, 2004.
- Foley, D.M.; Pickett, K.; Varon, J.; Lee, J.; Min, D.B.; Caporaso, F.; Prakash, A., Pasteurization of Fresh Orange Juice using gamma irradiation: microbiological, flavor and sensory analyses, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 67, n° 4, p. 1495-1500, 2002.
- Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, **Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook** – Chapter 1 – *Salmonella* spp. 1992. Disponível em:
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>
Acesso em 24 de Janeiro de 2004.
- Foong, S.C.C.; Gonzalez, G.L.; Dickson, J., Reduction and Survival of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats after irradiation, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 67, n° 1, p. 77-82, 2004.
- Franco, B. D. G.; Landgraf, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo. Editora Atheneu, (1996), p. 134-139.
- Goularte, L.; Martins, C.G.; Morales-Aizpúrua, I.C.; Destro, M.T.; Franco, B.D.G.M.; Vizeu, D.M.; Hutzler, B.; Landgraf, M., Combination of minimal processing and irradiation to improve de microbiological safety of lettuce

- (*Lactuca sativa*, L.), **Radiat. Phys. Chem.**, 71, Amsterdam, p. 155-159, 2004.
- Gunes, G.; Hotchkiss, J.H.; Watkins, C.B., Effects of gamma irradiation on the texture of minimally processed apple slices, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 66, nº 1, p. 63-67, 2001.
- 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.
- Harris, L.J.; Farber, J.N.; Beuchat, L.R.; Parrish, M.E.; Suslow, T.V.; Garrett, E.H.; Busta, F.F., Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Institute of Food Technologists, Chicago, vol. 2, p. 78-141, 2003.
- 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. (1994) Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, p.175-289.
- Ibarra-Sanchez, L.S.; Alvarado-Casillas, S.; Rodríguez-García, M.O.; Martínez-González, N.E.; Castillo, A., Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 67, nº 7, p. 1353-1358, 2004.
- ICMSF, **Ecologia Microbiana de los alimentos**, vol. 1, Espanha, Ed. Acribia, p. 48-73, 1980a.
- ICMSF, **Ecologia Microbiana de los alimentos**, vol. 2, Espanha, Ed. Acribia, p. 613-651, 1980b.
- ICMSF, **Microorganisms in foods: microbiological specifications of food pathogens**. Londres: Blackie Academic and Professional, p.217-264, 1996.
- International Consultive Group on Food Irradiation, **List of Clearance of Irradiated Food**, 2003. Disponível em:
<http://www.iaea.org/icgfi/data.htm>
Acesso em 25 de Janeiro de 2005.

International Consultive Group on Food Irradiation, **Facts about food irradiation**, pág. 3-10, 1999. Disponível em:

<http://www.iaea.org/programmes/nafa/d5/public/foodirradiation.pdf>

Acesso em 15 de Julho de 2004.

Josephson, E.; Peterson, M., **Preservation of Food by Ionizing Radiation**, vol. III, Estados Unidos, 1983, CRC Press, p. 84, 90,95-98, 129-158.

Kang, D., Fung, D.Y.C., Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocitogenes*, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 62, nº 11, p. 1346-1349, 1999.

King Jr., A.D., Bolin, H.R., Physiological and Microbiological Storage stability of minimally processed fruits and vegetables, **Food Tech.**, Outstanding symposia in food science and technology, Chicago, p. 132-135, 1989.

Lamiranka, O.; Chen, J.C.; Banks, D.; Hunter, P.A. Biochemical and microbial changes during storage of minimally processed cantaloupe, **J. Agric. Food Chem.**, Washington, 48, p. 5955-5961, 2000.

Lee, J.H.; Sung, T.H.; Lee, K.T.; Kim, M.R., Effect of gamma-irradiation on color, pungency and volatiles of Korean red pepper powder, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 69, nº 8, p. C585-C592, 2004.

Loaharanu, P., **Food Irradiation: current status and future prospects**. In: Gould, G.W., **New Methods of Food Preservation**, 2ª ed. (1996), Inglaterra, Chapman & Hall, p. 90-96.

Martins, C.G.; Froder, 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.

Martins, C.G.; Behrens, J.H.; Destro, M.T.; Franco, B.D.G.M.; Vizeu, D.M.; Hutzler, B.; Landgraf, M., Gamma irradiation in the reduction of *Salmonella* spp. inoculated on minimally processed watercress (*Nasturtium officinalis*), **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, 71, p. 87-91, 2004.

Maturin, L.J.; Peeler, J.T.; Aerobic Plate count, **Bacteriological Analytical Manual**, Food and Drug Administration, Rockville, 8ª ed., capítulo 3, 1998.

- 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, p. 387, 1999.
- Mishra, B.B.; Gautam, S.; Sharma, A., Shelf-life extension of fresh ginger (*Zingiber officinale*) by gamma irradiation, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 69, n° 9, p. M274-M279, 2004.
- Molins, R.A.; Motarjemi, Y.; Käferstein, F.K., Irradiation: a critical control point in ensuring the microbiological safety of raw foods, **Food Control**, vol. 12, p. 347-356, 2001.
- Morton, J., **Fruits of warm climates**, Estados Unidos, p. 221-239, 1987. Disponível em:
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/mango_ars.html
Acesso em 30 de janeiro de 2005.
- Moy, J.H.; Wong, L., The efficacy and progress in using radiation as a quarantine treatment of tropical fruits – a case study in Hawaii, **Radiat Phys. Chem.**, Amsterdam, vol. 63, p. 397-401, 2002.
- Neven, L.G.; Drake, S.R., Comparison of alternative postharvest quarantine treatments for sweet cherries, **Postharvest Biol. Tech.**, n° 20, p. 107-114, 2000.
- 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.
- 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.
- Organização Mundial da Saúde, **Dados estatísticos Food and Agriculture Organization**, 2004.
<http://faostat.fao.org/faostat/servlet/XteServlet3?Areas=21&Items=571&Elements=51&Years=2004&Format=Table&Xaxis=Years&Yaxis=Count ries&Aggregate=over items+over areas&Calculate=&Domain=SUA&ItemTypes=Production.Crops.Primary&language=EN>.

Acesso em 23 de janeiro de 2005.

- Organização Mundial da Saúde, **High-Dose Irradiation: Wholesomeness of foods irradiated with doses above 10 kGy**. Report of a joint FAO/IAEA/WHO study group. WHO technical report series 890. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1999. Apud: Smith, J.S.; Pillai, S., Irradiation and Food Safety, Scientific Status Summary, **Food Tech.**, Chicago, vol. 58, n° 11, p. 44-55, 2004.
- Palekar, M.P.; Cabrera-Diaz, E.; Kalbasi-Ashtari, A.; Maxim, J.E.; Miller, R.K.; Cisneros-Zevallos, L.; Castillo, A., Effect of electron beam irradiation on the bacterial load and sensorial quality of sliced cantaloupe, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 69, n° 9, p. M267-M273, 2004.
- Parrish, L.J.; Farber, J.N.; Beuchat, L.R.; Harris, L.J.; Suslow, T.V.; Garrett, E.H.; Busta, F.F., Methods to reduce / eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Institute of Food Technologists, Chicago, vol. 2, p. 161-173, 2003.
- Penteado, A.L.; Eblen, B.S.; Miller, A.J. Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangoes during simulated postharvest insect disinfestation procedures, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 67, n° 1, p. 181-184, 2004.
- Raga, A., et al., Sensibilidade de ovos de *Ceratitidis capitata* (WIED., 1824) irradiados em dieta artificial e em frutos de manga (*Mangifera indica* L.), **Scientia Agricola**, vol. 53 (1996), n°1, p. 114-118.
- Ražem, D.; Katušin-Ražem, B., Dose requirements for microbial decontamination of botanical materials by irradiation, **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, n° 63, p. 697-701, 2002.
- Rodgers, S.L., et al., A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries and cantaloup, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 67, n° 4, p. 721-731, 2004.
- Ronk, R.J., Carson, K.L., Thompson, P., Processing, Packaging and regulation of minimally processed fruits and vegetables. **Food Tech.**, Outstanding symposia in food science and technology, Chicago, p. 136-139, 1989.

- Sharma, R.R., et al., Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated Alfalfa seeds with ozonated water and Heat treatment, **J. Food Prot.**, Des Moines vol. 65, n° 3, p. 447-451, 2002.
- Sharp, J.L.; Ouye M.T.; Ingle, S.J.; Hart, W.G., Hot water quarantine treatment for mangoes from Mexico infested with Mexican fruit fly and West Indian fruit fly (Diptera: Tephritidae), **J. Economic Entomol.**, n° 82, p. 1657-1662, 1989.
- Apud: Bustos, Maria; Enkerlin, Walther; Reyes, Jesus; Toledo, Jorge. Irradiation of mangoes as a postharvest quarantine treatment for fruit flies (Diptera: Tephritidae), *Journal of Economic Entomology*, n° 97 (2), p. 286-292, 2004.
- Shewfelt, R.L., Quality of minimally processed fruits and vegetables, **J. Food Qual.**, Trumbull, v.10, n.3, p.143-156, 1987.
- Silva Jr., E.A., **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**, 5ª edição, Varela, Brasil, p. 359-375, 2002.
- Sivapalasingam, S.; Barrett, E.; Kimura, A.; Van Duyne, S.; De Witt, W.; Ying, M.; Frisch, A.; Phan, Q.; Gould, E.; Shilam, P.; Reddy, V.; Cooper, T.; Hoekstra, M.; Higgins, C.; Sanders, P.; Tauxe, R.V.; Slutsker, L., A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infections linked to mango consumption: impact of water dip disinfection technology, **Clin. Infect. Dis.**, 37, p.1585-1590, 2003.
- Sivapalasingam, S.; Friedman, C.; Cohen, L.; Tauxe, R.V., Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997, **J. Food Prot.**, Des Moines, vol. 67, n° 10, p. 2342-2353, 2004.
- 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 (2001), n.3, p.219-224.
- Smith, J.S.; Pillai, S., Irradiation and Food Safety, Scientific Status Summary, **Food Tech.**, Chicago, vol. 58, n° 11, p. 44-55, 2004.
- Sun, N.K.; Song, K.B., Effect of nonthermal treatment on the molecular properties of mushroom polyphenoloxidase, **J. Food Sci.**, Chicago, vol. 68, n° 5, p. 1639-1642, 2003.

- Toledo, M.R.F., Fontes, C.F., Trabulsi, L.R., EPM – modificação do meio de Rugai e Araújo para realização simultânea dos testes de produção de gás a partir de glicose, H₂S, urease e triptofano desaminase. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 13 (1982a), nº 4, p. 309-315.
- Toledo, M.R.F., Fontes, C.F., Trabulsi, L.R., MILi – um meio para realização dos testes de motilidade, indoil e lisina descarboxilase. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 13 (1982b), nº 3, p. 230-235.
- Tournas, V.; Stack M.E.; Mislivec, P.B.; Koch H.A.; Bandler, R., Yeasts, Molds and mycotoxins, **Bacteriological Analytical Manual**, Food and Drug Administration, Rockville, 8ª ed., capítulo 18, 1998.
- UNEP - United Nations Environment Programme – **Handbook for the International Treaties for the Protection of the Ozone Layer, The Montreal Protocol (1987)**, 5ª ed. (2000). Disponível em:
<http://www.unep.org/ozone/pdf/Handbook2000.PDF>
Acesso em 20 de Fevereiro de 2005.
- Urbain, W., **Food Irradiation**, 1ª ed., Estados Unidos, Academic Press, p. 118-122, 1986.
- 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.