



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DE PROPRIEDADES
ORGANOLÉPTICAS DE AÇAI (*EUTERPE OLERACEA*)
IRRADIADO COM RADIAÇÃO GAMA**

ROSAMARIA LOUREIRO GUEDES

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Aplicações.

Orientadora:
Dra. Anna Lúcia C. H. Villavicencio

**São Paulo
2005**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

Análise microbiológica e de propriedades organolépticas de açaí (*Euterpe oleracea*) irradiado com radiação gama.

ROSAMARIA LOUREIRO GUEDES

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora: Anna Lúcia C. H. Villavicencio

SÃO PAULO
2005

Agradecimentos

À minha orientadora, **Anna Lúcia C. H. Villavicencio**.

Pelo carinho, incentivo, "puxões de orelha" e, principalmente pela confiança.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, representados pelo **Dr. Wilson Aparecido Parejo Calvo**, gerente do CTR e pela **Dra. Maria Helena de Oliveira Sampa**, chefe de pesquisa do CTR.

Pelo suporte financeiro dado.

Aos colegas de laboratório, **Juliana, Ingrid, Gustavo, Mariana, Ricardo, Simone, Priscila e Reginaldo**.

Pela troca de idéias, pela ajuda na parte experimental e pelas sugestões dadas.

Aos engenheiros **Carlos Gaia da Silveira** e **Elizabeth Somessari**.

Pela irradiação das amostras.

Ao **Nelson Minoru Omi**.

Pelo auxílio na parte de informática.

À **Sueli Borrely**.

Pelo empréstimo de alguns dos materiais.

À **Miyoko Jakabi**.

Pelo fornecimento de cepas dos microrganismos.

Aos colegas do IPEN.

Pelas inúmeras conversas informais, sugestões e intercâmbio de experiências.

Aos funcionários do IPEN.

Pelo apoio de infraestrutura.

Aos amigos e familiares:

Ao meu pai, **Oscar Loureiro Guedes Filho**,

Por me apoiar incondicionalmente, me orientando e dando exemplos de determinação e resistência.

À minha mãe, **Divina Célia Ferreira Guedes**,

Por me proporcionar momentos de alegria, amizade, amor, confiança... e, principalmente, por toda a dedicação que tem dado.

Ao meu namorado, **Marco Antônio dos Santos Pereira**,

Pelas sugestões e apoio técnico, pelo carinho, pelo incentivo... E principalmente pelos momentos de descontração.

À minha tia, **Selma Matheus Loureiro Guedes**,

Pelo incentivo, auxílio e pela presença constante durante toda minha vida.

À minha irmã, **Angela Ferreira Guedes**,

Pela infância que vivemos e por me auxiliar na parte gráfica dos trabalhos.

À minha irmã, **Clarisse Ferreira Guedes**,

Pela infância que passamos juntas e por me dar um sobrinho lindo!

Ao meu avô, **Oscar Loureiro Guedes**,

Pelo carinho, desvelo e preocupação dedicados a mim.

Aos colegas da Escola Monteiro Lobato,

Por facilitarem meu trabalho, pelo interesse e pela ajuda.

Meus sinceros agradecimentos às pessoas que me ajudaram durante a realização deste trabalho.

Análise microbiológica e de propriedades organolépticas de açaí (*Euterpe oleracea*) irradiado com radiação gama.

Rosamaria Loureiro Guedes

RESUMO

Este trabalho avaliou a qualidade microbiológica da polpa de açaí comercial vendido no comércio varejista de São Paulo, a ação da radiação gama em cepas de *Salmonella spp* e *Escherichia coli* em polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) e as alterações das características organolépticas das amostras irradiadas. Foi avaliada a presença de *Salmonella spp* em 25g do produto, determinado o Número Mais Provável (NMP) de coliformes à 45°C e realizada a contagem de bolores e leveduras. O efeito da radiação gama em *E. coli* e *Salmonella spp* foi estudado nas doses de 0; 0,5; 1,5 e 2,0kGy e o D₁₀ foi determinado para cada microrganismo. A técnica utilizada na análise sensorial foi o Teste Triangular. O atual Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001, prevê que o açaí tenha, no máximo, 10² de coliformes a 45°C/mL e ausência de *Salmonella spp* em 25g do produto. Os resultados não mostraram nenhuma contaminação por *Salmonella spp* nas amostras e a quantidade de coliformes termotolerantes encontrada neste trabalho esteve bem abaixo do permitido pela legislação brasileira vigente (<3/g ou 4/g). A contaminação fúngica das amostras de açaí ficou entre 1,0 x 10² e 2,9 x 10⁵UFC/mL. O valor de D₁₀ para a *Escherichia coli* no açaí foi de 0,71 a 0,92kGy e para *Salmonella* de 0,78 a 0,87kGy. O açaí irradiado com 1kGy não apresentou diferença sensorial significativa. O açaí estudado apresentou condições satisfatórias para o consumo, segundo a legislação vigente, apesar da elevada contaminação fúngica. O açaí irradiado com 1kGy é microbiologicamente seguro e não apresenta alterações sensoriais significativas.

Microbiologic and sensorial analysis of assai (*Euterpe oleracea*) irradiated by gamma rays.

Rosamaria Loureiro Guedes

ABSTRACT

The purposes of this work were to evaluate the microbiology quality of the commercial assai pulp sold in São Paulo, to evaluate the action of gamma radiation in cultures of *Salmonella* spp and *Escherichia coli* in assai pulp and the alterations of the sensorial characteristics of the irradiated samples. The presence of *Salmonella* spp in 25g of the product was determined by the most probable number (MPN) of coliforms to 45°C and the counting of moulds and yeast. The gamma radiation effect in *E. coli* e *Salmonella* spp was studied at doses of 0, 0.5, 1.5, 2.0kGy and the D₁₀ was determined by each microorganism. The Triangular Test was realized as sensorial analysis. The current "Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos", RDC nº12 of January 2, 2001, presupposes the assai must be, at the most, 10² of coliforms to 45°C/mL and absence of *Salmonella* spp in 25g of the product. The results showed no *Salmonella* spp contamination in any studied samples and the amount of coliforms to 45°C was well below allowed by the current Brazilian legislation (<3/g or 4/g). The fungal contamination of assai samples was between 1.0 x 10² and 2.9 x 10⁵UFC/mL. The value of D₁₀ for the *Escherichia coli* in the assai was between 0.71 and 0.92kGy and for *Salmonella* between 0.78 and 0.87kGy. The assai irradiated by 1kGy didn't present significant sensorial difference. The assai studied had satisfactory conditions for the consumption, according to the current Brazilian law, in spite of the high fungal contamination. The assai irradiated with 1kGy is microbiologically safety and it doesn't present significant sensorial alterations.

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	01
1.1 Açaí (<i>Euterpe oleracea</i>)	03
1.2 Antocianinas	09
1.3 Doenças Transmitidas por alimentos	11
1.4 Bolores e Leveduras	14
1.5 <i>Escherichia coli</i>	15
1.6 <i>Salmonella</i> spp	16
1.7 PCR - Reação em cadeia da polimerase	17
1.8 Irradiação de alimentos	18
2.0 OBJETIVOS	25
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Materiais	26
3.1.1 Amostras	26
3.1.2 Cepas bacterianas	26
3.1.3 Primers	26
3.2 Métodos	27
3.2.1 Avaliação da qualidade microbiológica do açaí	27
3.2.2 Irradiação e microbiologia	30
3.2.3 PCR	31
3.2.4 Análise sensorial	33
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Avaliação da qualidade microbiológica do açaí	36
4.2 Determinação do D ₁₀ da <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>E. coli</i> em açaí irradiado.	46
4.3 Análise Sensorial	52
5.0 CONCLUSÃO	55
6.0 ANEXOS	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 INTRODUÇÃO

As frutas são constituintes importantes da dieta humana devido aos seus valores nutritivos e por satisfazerem os hábitos alimentares de grande parte da população. Por ser matéria prima para diversas indústrias como a de sorvete, iogurtes, doces, as polpas de fruta constituem o melhor meio pelo qual as indústrias podem resolver os problemas de manuseio, transporte e armazenamento de frutas "in natura" em função das condições climáticas, de distância e de perecibilidade de cada fruta (Abreu *et al.*, 2003). Frutas tropicais são produzidas predominantemente na América Latina e Ásia, com uma participação mais expressiva, no caso de algumas frutas, da África. É importante destacar a falta de informações de divulgação, tendo em vista que algumas frutas tropicais não são conhecidas em grandes segmentos dos mercados mundiais, especialmente nas zonas de clima frio, sendo, em muitos desses mercados, conhecidas como frutas exóticas. A produção dessas frutas se dá nas regiões mais pobres do hemisfério sul. Parcela significativa e, às vezes, a totalidade da produção integra a cesta de produtos alimentícios básica que compõem o cardápio desses cidadãos (Brasil, 1999).

A Food and Agriculture Organization – FAO - tem mostrado que a comercialização mundial de produtos derivados de frutas cresceu mais de cinco vezes nos últimos quinze anos. Entre os países em desenvolvimento, o Brasil destaca-se por ter a maior produção (Brunini, *et al.*, 2002). A produção mundial de frutas aumentou 85,6%, sendo 675,1 milhões de toneladas colhidas em 71,5 milhões de hectares no ano de 2004. A fruta mais produzida foi a banana, com um total de 103,2 milhões de toneladas, seguida pela melancia, com 93,4 milhões de toneladas e pela uva, com 65,4 milhões de toneladas. Laranja, maçã e coco ocuparam a quarta, quinta e sexta colocações respectivamente. Estados Unidos, Indonésia, Filipinas, Espanha, Itália, México e Turquia, nesta ordem, estão entre os dez maiores produtores de frutas do mundo, que, juntos, representaram 61,84% da produção mundial de frutas em 2004 (FAO, 2005).

Nos últimos 25 anos, quase todas as frutas apresentaram aumento em suas produções, exceto uva, toranja e pomelo que apresentaram pequenas reduções. No último ano analisado, a banana

foi a fruta mais produzida, apresentando um aumento de 79,7% de 1979 a 2004. A produção de melancia apresentou um acréscimo de 255,5%, seguida pela produção de uva. Laranja, maçã e coco ocuparam da quarta a sexta colocações respectivamente (Toda Fruta, 2005d).

Em 1997, dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mostravam que a China destacava-se pela produção de banana, uva e manga, além de ter tido a maior safra mundial de melão em 1997 (Brasil, 1999). Dados mais recentes mostram que a China foi o país que mais produziu frutas em 2004, apresentando uma produção de 161 milhões de toneladas. Este país ocupou lugar de destaque nas produções de melancia, maçã, manga, melão, tangerina, pêra, pêssego, nectarina e ameixa e representou 23,8% da produção mundial neste ano (Toda Fruta, 2005d).

Esse estudo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mostrou ainda que a Índia foi uma grande produtora de abacaxi e, no caso da banana e da manga, apareceu como maior produtora do mundo (Brasil, 1999). Mais recentemente, em 2004, o país ocupou a segunda colocação na produção de frutas, com 58 milhões de toneladas e apresentou produções bastante significativas nas culturas de banana, coco, manga, abacaxi, limão/lima e castanha-de-caju (Toda Fruta, 2005d).

Além desses, merecem destaque outros países da Ásia – Filipinas, Indonésia e Tailândia – pela qualidade das frutas produzidas, e alguns países da África - principalmente Nigéria – que são grandes produtores de abacaxi, manga e papaia. Na América, o México é grande produtor de abacaxi, banana, manga, melão, uva e papaia (Brasil, 1999).

Com relação às frutas tropicais tradicionais - abacaxi, banana, manga, melão, uva e papaia – em 1997, o Brasil era um grande produtor, sendo o maior de papaia, segundo maior de abacaxi e terceiro maior de banana. O país não aparecia na lista dos grandes produtores de melão, porém mostrava-se capaz de ampliar sua participação na oferta de figo, laranja de mesa e melancia. Possuía uma posição privilegiada no que diz respeito ao comércio de laranjas: tinha a maior tonelagem de frutas no ano de 1997, perfazendo, aproximadamente um terço da quantidade global consumida (Brasil, 1999). Em 2004, o país ocupou a terceira colocação na classificação dos principais países produtores de frutas, com a quantidade de 39 milhões de toneladas, representada principalmente pelas culturas de banana, laranja, abacaxi, mamão, castanha-de-caju, caju e castanha-do-Brasil (Toda Fruta, 2005d).

É interessante notar que nem sempre os principais produtores são grandes exportadores de fruta, ou seja, parte significativa da produção de frutas é utilizada no consumo interno ou serve como base para a indústria de transformação. Outro fator que explica a baixa taxa de frutas colocadas à disposição do comércio internacional é a perecibilidade e fragilidade, do produto, condições contrárias ao transporte marítimo. O Brasil, apesar de figurar em 85% dos casos como detentor das maiores toneladas colhidas, não se destaca da mesma forma no comércio mundial. Dessa forma, o país se caracteriza como um grande mercado consumidor de fruta, absorvendo quase que a totalidade de sua produção e figurando como mercado importador de frutas de clima temperado. Noventa por cento da exportação nacional de frutas é destinada aos mercados da Comunidade Européia, e Mercosul, sendo mercados potenciais, a América do Norte e a Ásia (Brasil, 1999). Em 1997, o Brasil exportou, para países como Alemanha, França, Bélgica, Estados Unidos, Países Baixos e Noruega, 2,93 milhões toneladas de polpas de frutas. E em 1998, esse número quase dobrou, totalizando 4,36 milhões de toneladas de polpas (Athayde, 2000).

A importação brasileira de frutas variou de 61.531 toneladas no ano de 1994, para 229.622 toneladas no ano de 2003. As maiores quantidades importadas pelo Brasil foram nos anos de 1995 com 721.183 toneladas e no ano de 1996 com 623.711 toneladas (Toda fruta, 2004). A melhoria na conservação e transporte tornou possível a comercialização (com boa receptividade) de produtos que antes não podiam chegar ao mercado externo com a qualidade exigida (Brasil, 1999).

1.1 *Euterpe Oleracea* – açaí

Nos últimos anos, o plantio de açaí (*Euterpe oleracea*) vem despertando grande interesse de agricultores e grupos empresariais pelas perspectivas altamente promissoras dos mercados interno e externo (Nogueira *et al.*, 1995). O açaí, juntamente com a laranja, o morango, acerola, goiaba, manga, abacaxi e o mamão, estão entre as frutas mais processadas pelas indústrias (Athayde, 2000). Em 1992, último ano com dados disponíveis sobre produção para a região, o Pará era responsável por mais de 92% do total da produção nacional de açaí, em torno de 123 mil toneladas/fruto/mês, movimentando anualmente aproximadamente 63 milhões de reais (Rogez, 2000; Nogueira *et al.*, 1995). Comparando o consumo de açaí e de leite no estado, podemos observar um consumo de 2 a 3 vezes maior do fruto

do que do que da bebida. Segundo o jornal "O liberal", o primeiro semestre de 2005 foi marcado por uma elevação no preço do açaí comercializado no Pará, nesse período houve um reajuste de 51,32% (Toda fruta, 2004).

O açaizeiro (*Euterpe oleracea*) é uma espécie de grande importância sócio-econômica para a Amazônia, devido ao seu enorme potencial de aproveitamento integral de matéria-prima. As sementes são utilizadas para artesanato e adubo orgânico e suas folhas são muito utilizadas para cobertura de casas na região amazônica. Destaca-se, entre os diversos recursos vegetais, pela abundância e por produzir importante alimento para as populações locais, além de se constituir na principal fonte de matéria-prima para a agroindústria de palmito no Brasil. (Toda fruta, 2005a; FIEAM, 2005; EMBRAPA, 2003). A primeira, e das mais rentáveis possibilidades comerciais do açaí, no entanto, é a produção e comercialização de seu fruto *in natura*. Através do cultivo, ou do manejo adequado de açaizais nativos, a produção de frutos para o mercado local é uma atividade de baixo custo e de excelente rentabilidade econômica (Toda fruta, 2005a; FIEAM, 2005; EMBRAPA, 2003).

Atualmente, a pesquisa com açaí vem sendo intensificada. Ela passou a ser uma opção inédita de contraste natural para exames de ressonância de abdômem graças a uma pesquisa da USP (Universidade de São Paulo) de Ribeirão Preto. E a partir da fruta brasileira, pesquisadores da Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - desenvolveram solução odontológica que revela a presença de placas bacterianas nos dentes (Toda fruta, 2005).

Percebe-se um crescente interesse de outros estados brasileiros pela fruta nativa da Amazônia. O Rio de Janeiro, por exemplo, consome cerca de 500 toneladas por mês e São Paulo 150. O consumo da fruta em outros países fica em torno de mil toneladas mensais, principalmente para o Japão, Holanda, Estados Unidos e Itália. Neste caso, o açaí segue em forma de um composto que mistura o suco do açaí a outros produtos como guaraná e acerola, dando-lhe aparência de produto natural e saudável (EMBRAPA, 2004).

Existem 30 espécies do gênero *Euterpe* na América Central e do Sul. Uma dessas espécies, *Euterpe oleracea* C. Martius, se encontra distribuída por toda a bacia amazônica e é popularmente conhecida como açaizeiro. Essa espécie de palmeira se desenvolve em solo de terra

firme, igapó e, principalmente, em várzea, desde que seja cultivada em um local que tenha um bom volume de chuvas, por ano, ou que disponha de facilidades de irrigação (Figura 1). A temperatura média deverá ser superior a 19°C, pois não se desenvolve em regiões com baixas temperaturas (Toda fruta, 2005a; Rogez, 2000). O plantio é feito, normalmente, com sementes, apesar de ser possível, mas não indicado, o plantio com mudas. As covas devem ter 50x50x50 e um espaçamento mínimo de 5m. A germinação começa após um mês. O plantio deve ser feito, preferencialmente durante a estação das chuvas, apesar de poder ser realizado em qualquer época do ano, em regiões com um regime de chuvas regular, disperso durante todo o ano, como o que acontece na região Norte (Toda fruta, 2005a).

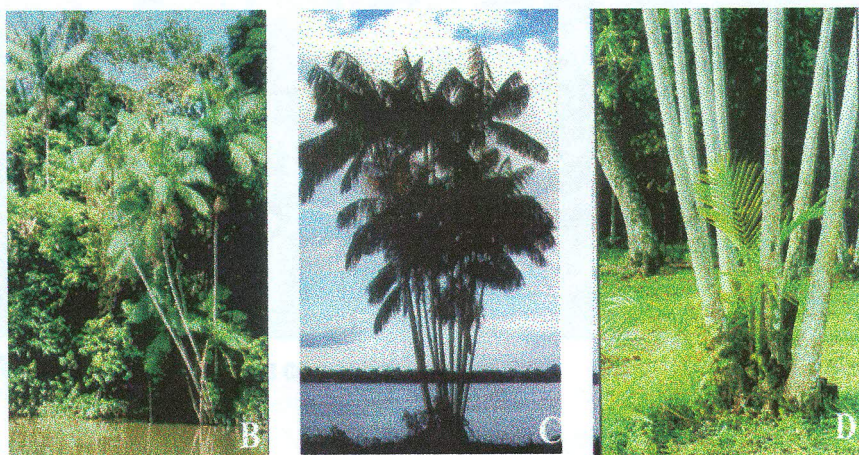


FIGURA 1: Visualização de touceiras em margem do rio em área de várzea (B e C) ou em terra firme (D), detalhe das brotações que formarão estipes quando adultas (D)

A palmeira do açai pode atingir mais de 30m de altura, mas fica, em média, próximo dos 20m e possui caule do tipo estipe, mostrando-se liso, delgado. Quando adultas, o ápice da planta é constituído de 9 a 15 folhas (Toda fruta, 2005a; Rogez, 2000). As palmeiras de *Euterpe oleracea* começam a frutificação no terceiro ano, atingindo a produção máxima aos 5 ou 6 anos de idade. Produz cerca de quatro cachos de frutas por ano, que são colhidos em diferentes épocas, de acordo com o estágio de maturação. Devido à grande altura das palmeiras, a operação de colheita acaba sendo mais difícil, exigindo habilidades específicas por parte de quem a realiza (Toda fruta, 2005a; Rogez, 2000).

As palmeiras dessa espécie podem fornecer dois produtos comercializáveis: os frutos – o açai (Figura 2) - e o palmito. Esse último produto possui menor diâmetro e características sensoriais

menos atraentes que o palmito da *Euterpe edulis*, única fornecedora dessa matéria prima para o mercado consumidor até alguns anos atrás. Por outro lado, os palmitos originados da *E. oleracea*, formam novos pés por brotação, diferentemente da primeira espécie citada, que perfilha apenas uma vez e demora sete anos para atingir o tamanho de corte. Nesse caso, uma planta adulta rende 300 gramas de palmito, quantidade suficiente para encher um pote de vidro. Cada pote representa uma árvore no chão (Bezerra, 2005; Rogez, 2000).



FIGURA 2: Cachos da palmeira com frutos de açai.

Os frutos do açazeiro (Figura 3) são pequenas drupas (fruto carnoso com endocarpo suculento) arredondadas com diâmetro de 1 a 2 centímetros e pericarpo violáceo-púrpura quase negro, resultando em um fruto que possui a proporção de polpa entre 5 a 15% do volume do fruto (Rogez, 2000). O açai e a polpa de açai são produtos extraídos da parte comestível do açazeiro após amolecimento pelos processamentos tecnológicos adequados. A polpa deve ser extraída de frutas maduras, frescas e sãs, sem adição de água, por meios mecânicos e sem filtração, podendo ser submetido a processo físico de conservação. Devem estar desprovidas de terra, sujidades, parasitas e microrganismos (ANVISA, 2000).

Os produtos obtidos do fruto do açai são classificados, de acordo com a adição ou não de água e seus quantitativos (% de sólidos totais), em: polpa de açai (polpa extraída sem adição de água e sem filtração): açai grosso ou especial (polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando sólidos totais acima de 14%); açai médio ou regular (polpa extraída com adição de água e filtração,

apresentando sólidos totais entre 11 e 14%) e açaí fino ou popular (polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando sólidos totais entre 8 e 11%) (ANVISA, 2000) (Figura 4).

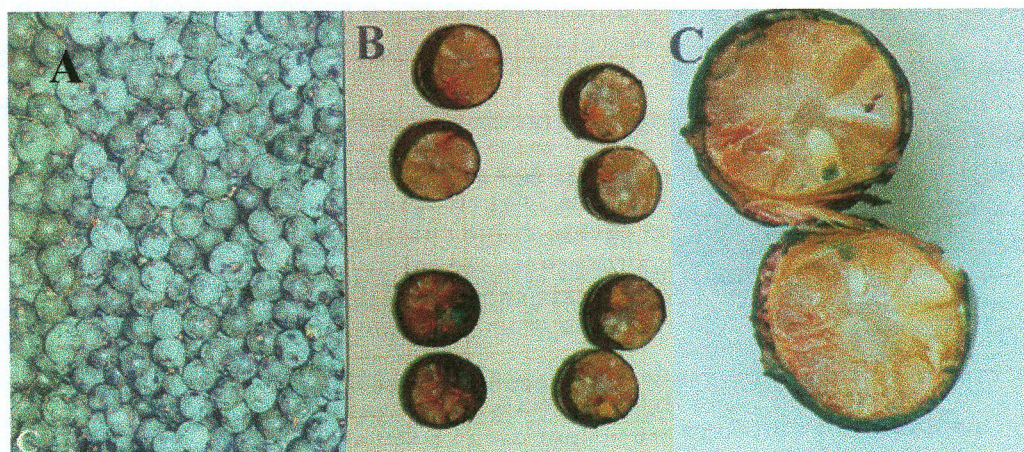


FIGURA 3: Apresentação dos frutos do açaizeiro (A): corte transversal dos frutos sobre um papel milimetrado (B) e detalhe (C).

A tradição do consumo do açaí foi herdada dos índios pela população ribeirinha do Pará e da Amazônia e mostra-se completamente diferente da forma de consumo feita por consumidores do Sudeste. Nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, o mercado consumidor é composto, normalmente por jovens que possuem uma condição sócio-econômica mais elevada e que estão preocupados com a forma física e/ou saúde. Estes estão habituados a comer um alimento exótico, energético e nutricionalmente completo que normalmente vem acompanhado de outras frutas. Além disso, no sudeste do país, o açaí é consumido entre as refeições, antes ou logo após a prática esportiva, principalmente no verão (Toda Fruta, 2005b; Nogueira *et. al.*, 1995).

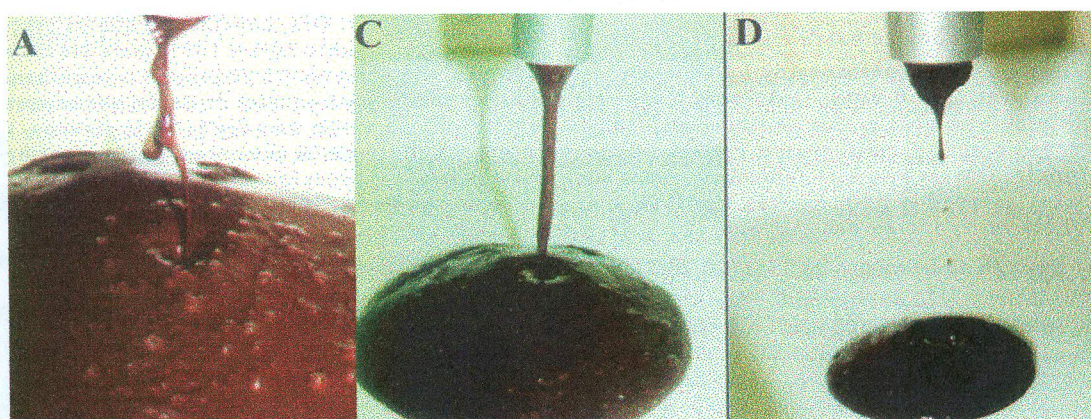


FIGURA 4: Visualização do escorrimento e do espalhamento do açaí fino (A), médio (C) e grosso (D) com 9,50, 12,50 e 15,50% de matéria seca respectivamente.

O consumidor do Norte do país está habituado a ingerir o açaí uma vez ao dia, caso sejam moradores da área urbana, e três vezes ao dia, se residirem no meio rural (Rogez, 2000). A fruta constitui a principal fonte de proteína e sais minerais para os povos da floresta, sendo considerado o segundo produto agrícola mais consumido pela população da região amazônica, apenas superado pela farinha de mandioca (Oliveira *et al.*, 2000). Essa iguaria pode ser apresentada da seguinte maneira:

- Com farinha de mandioca ou tapioca que pode ou não ser adicionado de açúcar ou então acompanhado de peixe frito ou camarão salgado;
- Como mingau (açaí cozido com farinha de mandioca ou arroz)
- Como sorvete e creme;
- E, raramente, como geléia ou licor (Rogez, 2000).

Os paraenses costumam oferecer açaí na mamadeira aos seus filhos por acreditarem que a fruta combate anemia. Porém, a fruta não contém tanto ferro quanto muitos consumidores fiéis imaginam (Toda fruta, 2005b). No que se refere aos elementos minerais verificou-se que no geral, o suco de açaí, apresenta baixa concentração de ferro, com uma variação de 290 a 1093 $\mu\text{g}\%$, contrariando os conhecimentos populares. O açaí é, ainda, pobre em açúcares totais, fósforo, sódio e zinco. Por outro lado, o açaí é detentor de quantidades consideráveis de outros elementos minerais, dentre eles potássio, selênio, refletindo provavelmente a riqueza do solo. Caracteriza-se, também, por conter um alto teor de energia, assim como quantidades consideráveis de fibra alimentar, particularmente a insolúvel. Outra característica relevante do fruto é a elevada concentração de antocianinas, proteínas e ácidos graxos, particularmente o oléico, palmítico e linoléico, o que demonstra o potencial nutricional dessa espécie (Yuyama *et al.*, 2005; Rogez, 2000).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1978) – ANVISA – define polpa de fruta como um produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por processos tecnológicos adequados. Esse produto deve ser preparado com frutas sãs, limpas e isentas de parasitos e de detritos animais ou vegetais. Não deve conter fragmentos das partes não comestíveis da fruta, nem substâncias estranhas à sua composição normal, exceto as previstas por essa Norma.

A extração do açaí consiste em separar a semente da polpa que a envolve de forma manual ou mecânica. De ambas as formas, para facilitar a extração, os frutos devem ser previamente imersos

em água por uma temperatura e por um tempo que varia de acordo com o produtor e com a qualidade do fruto. No despolpamento, uma despolpadeira (Figura 5) retira a polpa da fruta mecanicamente ou atritam-se os frutos com as mãos quando o processo é feito manualmente (Nogueira *et al.*, 1995; Rogez, 2000).

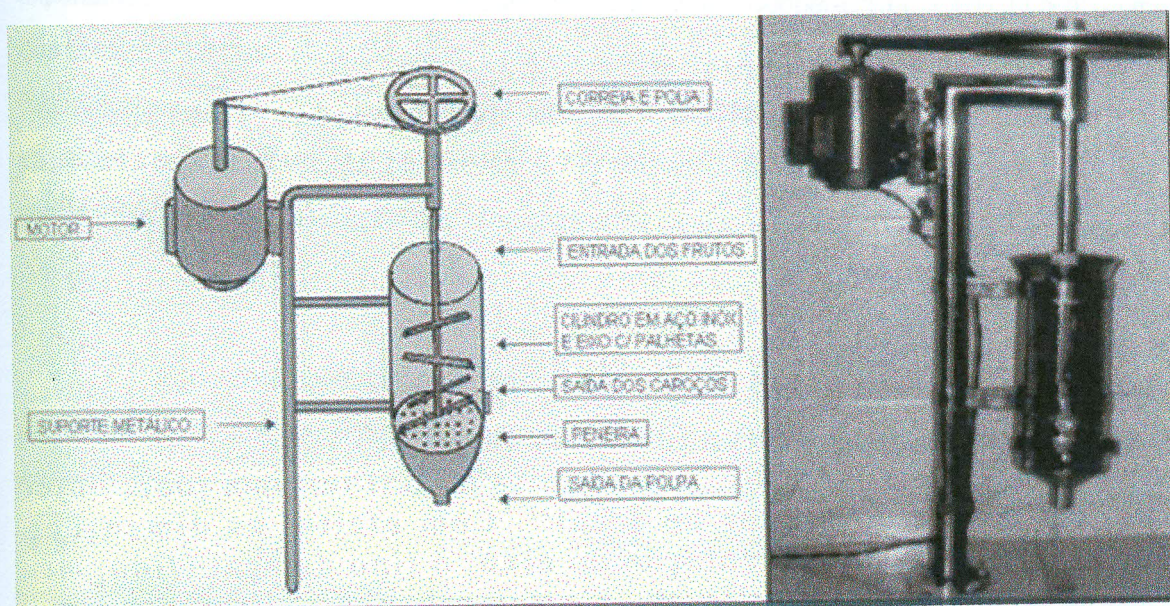


FIGURA 5: Apresentação de uma despolpadeira convencional dos frutos do açaíeiro.

Um dos grandes problemas do comércio do açaí é a característica altamente perecível do "vinho", mesmo sob refrigeração (FIEAM, 2005). Uma vez preparado, o açaí não conserva mais que 12 horas a 4°C, em virtude de sua alta carga microbiana, sua rancificação e sua degradação enzimática, responsáveis pelas alterações de cor e aparecimento do sabor azedo (Rogez, 2000). No despolpamento o alimento pode ficar mais susceptível a contaminação microbiana devida à manipulação inadequada do produto que, associada com temperaturas ótimas de multiplicação, podem elevar a quantidade de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes.

1.2 Antocianinas

Flores e frutas coloridas derivam de um pequeno grupo de pigmentos como carotenóides, betacinas, antocianinas e flavonóides (Gao & Mazza, 1996; Bobbio & Bobbio, 1992). As antocianinas compreendem um grupo de pigmentos localizados nos vacúolos das células de certos vegetais. Estes

pigmentos são solúveis em água e, apesar de se acumularem essencialmente nas células epidérmicas de flores e frutos, são freqüentemente encontrados também em outras partes da planta, como raízes e folhas. Têm sido identificadas em vegetais como maçã, uva, morango, framboesa, cereja, cascas de batata doce, cebola roxa, repolho roxo e rabanete, sendo as famílias *Vitaceae* e *Rosaceae* as mais importantes fontes alimentares deste flavonóide (Souto, 2001; Cooper-Driver, 2001). O açaí é uma fruta que contém altas taxas de antocianina, trinta vezes mais que a uva. Uma das mais importantes funções das antocianinas na área de percepção visual é a atração de animais (principalmente insetos e pássaros), com propósito de polinização e disseminação de sementes; e, por esta razão, é de considerável valor na coevolução das interações entre plantas e animais (Valente, 2005; Cooper-Driver, 2001).

A concentração de antocianinas nas plantas é influenciada por numerosos fatores ambientais, como a luminosidade, a temperatura, o pH, o potencial nutritivo do solo, os hormônios da planta, a presença de feridas mecânicas. Dentre os fatores extrínsecos, o mais significativo, é a luminosidade. A energia luminosa absorvida aumenta a atividade de enzimas envolvidas na via de biossíntese dessas substâncias (Madhavi *et al.*, 1995) e quando combinada com o oxigênio esse processo é ainda mais intenso (Bobbio & Bobbio, 1992). As antocianinas sofrem profundas mudanças em sua cor em diferentes pH e o aquecimento acelera a degradação dessas substâncias (Bobbio & Bobbio, 1992). Outro fator determinante da concentração de antocianinas em frutos é a temperatura, de forma que a elevação dessa variável física reduz a síntese das antocianinas (Rogez, 2000).

A estabilidade ao descoramento aumenta consideravelmente quando as antocianinas contêm ácidos fenólicos e flavonóides não-antociânicos, especialmente flavonóis, em sua molécula. Esse aumento de estabilidade é atribuído a copigmentação, ou seja, associação entre a antocianina e o flavonol (copigmento) por pontes de hidrogênio de modo que o flavonol venha a formar uma estrutura protetora sobre e abaixo da antocianina (Figura 6).

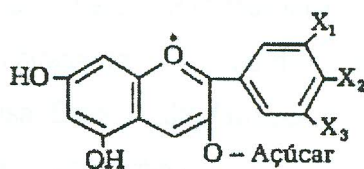


FIGURA 6: Estrutura química de uma antocianina

Esse grupo de substâncias exibe ampla propriedade biológica, farmacológica e de quimioproteção como os radicais livres *scavengers* prevenindo a oxidação e a indução de câncer (Halliwell, 1996).

1.3 Doenças transmitidas por alimentos

Países sul americanos são produtores de uma grande variedade de alimentos, mas, em diversos casos, existem deficiências na preservação, estocagem e nas condições fitossanitárias desses produtos (Oliveira, 2000). Bactérias, apesar de não serem as únicas causadoras de toxinfecções alimentares, são as que mais causam esse tipo de enfermidade (Murano *et al.*, 1995). Vários autores tem escrito sobre o impacto das doenças transmitidas por alimentos (DTAs) na sociedade (Wang *et al.*, 1997). Em países industrializados a contaminação dos alimentos com microrganismos patogênicos e o impacto econômico resultante dessa contaminação é significativa (Smith *et al.*, 2004). Apesar do crescente conhecimento por parte dos consumidores sobre alimentos contaminados com microrganismos patogênicos e de mudanças na legislação atual, o número de casos de doenças transmitidas por alimentos vem aumentando (Kaspar & Weiss, 1998).

Estima-se que os Estados Unidos tenham um custo entre 1 a 10 bilhões de dólares ao ano com despesas médica-hospitalares causada por DTAs e pela perda de produtividade que essas causam (WHO, 1999; Wang *et al.*, 1997; Loaharanu, 1996; ; Murano *et al.*, 1995; Radomyski, 1994). O CDC (Center for Disease Control) estima que as DTAs sejam responsáveis por, aproximadamente, 76 milhões de casos, 325 mil hospitalizações e cinco mil mortes a cada ano (Smith *et al.*, 2004; Forsythe, 2002; Mead *et al.*, 1999). No Brasil, o Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo – CVE-SES/SP (2005) - registrou, no ano de 2002, 3950 casos de toxinfecção alimentar tendo dois casos fatais.

Segundo Kaspar & Weiss (1998), Loaharanu (1996) e Monk *et al.* (1995), o aumento da demanda de alimentos minimamente processados e das refeições feitas fora de casa têm contribuído para o aumento das doenças veiculadas por alimentos. Principalmente a população de grandes cidades possui um cotidiano atribulado devido a entrada da mulher no mercado de trabalho e o tempo gasto diariamente no percurso casa-trabalho-casa. Esse quadro favorece o consumo desses alimentos pelo menor tempo de preparo que esses produtos necessitam.

São poucos os casos fatais de DTAs envolvendo adultos saudáveis, porém dependendo da idade, estado nutricional e da eficiência da resposta imunológica de uma pessoa exposta a esses microrganismos o resultado pode ser grave. Além disso, cada espécie e/ou cepas bacterianas poderão ter respostas diferentes. Gestantes, idosos, crianças e pessoas imunocomprometidas - pacientes com câncer, aids e pessoas que realizaram transplantes de órgãos recentemente – são indivíduos com maior risco de sofrerem consequências mais graves se ingerirem alimentos contaminados com bactérias patogênicas (Gerba, *et al.*, 1996). Dois surtos ocorridos no Noroeste do Estado de São Paulo, no período de 1993 a 1997, atingiram comunidades de indivíduos de faixas etárias extremas (idosos e crianças) e apresentaram taxa elevadas de hospitalizações, respectivamente, 93,3% e 100% (Peresi, *et al.*, 1998).

Frutas, vegetais ou produtos minimamente processados têm sido associados a surtos de doenças nos consumidores desses produtos (Beuchat, 1997; APHA, 2001). Um dos surtos de DTA envolvendo frutas foi causado por *Escherichia coli* O157:H7 em suco de maçã não pasteurizado. Esse microrganismo pode se manter viável nas fezes bovinas por mais de 70 dias, dependendo da quantidade de microrganismo e da temperatura (Wang *et al.*, 1996).

Bactérias são capazes de se infiltrar em rachaduras, fendas e espaços intercelulares de sementes e de produtos. Essa infiltração depende do tempo, da temperatura, da pressão e pode ser aumentada na presença de surfactantes e quando a temperatura do fruto for maior que a temperatura da solução aquosa em que esse estiver submerso (Buck, 2003). Em 1999, nos Estados Unidos, houve um surto alimentar causado por *Salmonella* que contabilizou 78 vítimas em 13 estados diferentes ocasionando 15 hospitalizações e dois óbitos. Ao investigar as possíveis causas do problema, as autoridades de saúde descobriram que manga brasileira foi o alimento veiculador de *Salmonella* Newport. Essas investigações concluíram, ainda, que a contaminação havia sido causada possivelmente pela água empregada no tratamento hidrotérmico. A água utilizada nesse tratamento, estava contaminada por essa espécie patogênica que penetrou na fruta através do pedúnculo. Esse episódio reforça a necessidade da adoção de medidas sanitárias e de boas práticas de produção (Penteado, 2005).

Diante do quadro apresentado, pode-se supor que a presença dessa espécie bacteriana em mangas deve-se, principalmente, pelas precárias condições higiênicas em que o tratamento hidrotérmico foi realizado. Hipóteses podem ser formuladas a respeito da contaminação da água: ela pode ter sido utilizada sem nenhuma etapa de desinfecção ou, ainda, as instalações onde eram feitos os tratamentos hidrotérmicos, não possibilitavam o isolamento de pássaros da região dos tanques onde as frutas eram submersas.

Surtos alimentares têm sido causados pelo consumo de praticamente todo o tipo de alimento, de carnes a ovos, frutas, vegetais e frutos do mar (Murano *et al.*, 1995). Porém, de 1970 a 1992, houve uma redução do número de surtos associados a ovos e carnes vermelhas de aproximadamente 15% (1973 a 1987) para 8% (1988 a 1992), coincidindo com a redução no consumo desses produtos. Por outro lado, pode ser observado o dobro de surtos associados a frutas e vegetais entre 1973 a 1992, o que demonstra que a procura por alimentos frescos e minimamente processados é crescente (Valdivia *et al.*, 2002; Shearer *et al.*, 2001; De Roever, 1999; Kaspar & Weiss, 1998).

O aumento no consumo de frutas e vegetais pode ser explicado pela ênfase que tem se dado à necessidade do consumo de frutas e hortaliças frescas, buscando-se uma dieta saudável e, ao mesmo tempo, há uma demanda crescente de alimentos mais convenientes, frescos, que sejam menos processados e prontos para o consumo (Moreira, 2005; Buck, *et al.*, 2003). Além disso, mudanças nos métodos de produção e processamento, matéria prima e no aparecimento de patógenos que antes não eram associados a produtos crus tem aumentado o potencial das enfermidades transmitidas por alimentos (Buck, *et al.*, 2003).

Muito se tem pesquisado sobre a contaminação de frutas e hortaliças, e toxinfecções alimentares associados a frutas e vegetais (Niemira *et al.*, 2003; Berbari *et al.*, 2001). Esses alimentos tornam-se contaminados com microrganismos patogênicos pela elevada exposição à ampla variedade de condições durante o crescimento, colheita e distribuição (Madden, 1992). Além disso, essa contaminação pode ocorrer no campo ou no pomar durante a colheita, na manipulação pós-colheita, no processamento, no transporte, na comercialização e, até mesmo, na casa dos consumidores (APHA, 2001; Beuchat, 1997).

A maioria dos surtos alimentares causados por produtos frescos tem sido associados a presença de bactérias patogênicas, particularmente espécies de *Enterobacteriaceae*. Dessas, *Salmonella* e *Escherichia coli* O157:H7 tem despertado maiores preocupações devido a gravidade da enfermidade causada e a elevada incidência de DTAs envolvendo essas espécies bacterianas (European Commission, 2002). Entre 1995 e 1998, nos Estados Unidos, ocorreram nove surtos de DTAs, envolvendo mais de 1234 casos, causada pelo consumo de vegetais frescos contaminados com *Salmonella* ou *E. coli* O157:H7 (APHA, 2001; Buck *et. al.*, 2003).

1.4 Bolores e leveduras

Bolores e leveduras se desenvolvem em alimentos que tenham pH na faixa de 4,0 e 4,5 com valores de atividade de água inferiores a 0,94 e em temperaturas entre 25 e 28°C. A ocorrência de apenas um desses fatores já oferece condições de desenvolvimento para os fungos do que para qualquer outro microrganismo (Leitão, 1988).

Produtos como sucos de frutas, maionese, picles, em função do baixo pH, podem ter um maior desenvolvimento de bolores e leveduras. Alimentos com altos teores de açúcar (leite condensados, doces em calda) ou sal (carnes salgadas) são mais suscetíveis a esse tipo de microrganismo (Franco & Landgraf, 2002; Leitão, 1988). Os carboidratos, principalmente os açúcares, é o principal substrato dos fungos, motivo pelo qual esse grupo de microrganismo tem como habitat natural a superfície de frutas, flores e vegetais em geral (Leitão, 1988). Cerca de 30% da deterioração das frutas ocorre devido ao fungo *Penicillium* (Monk, 1995).

Dentre os microrganismos envolvidos na contaminação de produtos muito ácidos, as leveduras são consideradas agentes potenciais de deterioração. Algumas delas apresentam metabolismo respiratório, oxidando diferentes substratos, particularmente carboidratos. Essas leveduras normalmente não são produtoras de gases e apresentam crescimento restrito à superfície do meio, não se desenvolvendo em condições de anaerobiose. Sua ocorrência no alimento pode acarretar a elevação do pH, criando condições para o desenvolvimento de outros microrganismos, inclusive patógenos, desde que o pH atinja valores superiores a 4,5 (Hoffmann *et al*, 2001).

1.5 *Escherichia coli*

Coliformes são bacilos Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos que fermentam lactose em 24/48 horas, produzindo ácido e gás em caldo *Escherichia coli* a 35°C. A enumeração desse grupo bacteriano nos alimentos e na água não é significativa, já que possuem como habitat não apenas o trato gastrointestinal do homem e de outros animais de sangue quente, mas também o ambiente em geral. Porém, sua presença em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo (principalmente no caso da pasteurização), evidenciando práticas de higiene e sanitização inadequados para o processamento de alimentos (Silva, *et al.*, 1997).

Os coliformes de origem fecal possuem as mesmas características dos coliformes totais, com exceção da temperatura e tempo de produção de gás (44°C/24h). Sabe-se que esse grupo bacteriano é representado por, pelo menos, três gêneros da família *Enterobacteriaceae*: *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (Silva, *et al.*, 1997).

Escherichia coli são bastonetes curtos gram-negativos anaeróbios facultativos, catalase-positivos, oxidase-negativa da família *Enterobacteriaceae* e tem como habitat o intestino de animais de sangue quente. A maioria dessa espécie bacteriana fermenta lactose e por fazerem parte da microbiota intestinal normal são utilizados como indicadores de poluição fecal em água e alimentos crus (APHA, 2001; Forsythe, 2002; Franco & Landgraf, 2002; Jay, 1992; Tortora, 1994). O principal habitat de *E. coli* é o trato gastrointestinal da maioria dos animais de sangue quente (Franco & Landgraf, 2002). Existem algumas cepas de *E. coli* que causam gastroenterites. *E. coli* enteropatogênica (EPEC) causa diarreia severa em crianças pequenas, principalmente moradoras de regiões carentes. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) causa a Síndrome Hemolítica Urêmica (HUS) ou síndromes semelhantes aquelas causada por *Shigella dysenteriae*, principalmente em jovens e idosos. Já *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) são bioquímica e geneticamente e na patogenicidade muito semelhantes a *Shigella* spp., mas não produzem Shiga toxina (Franco & Landgraf, 2002; Jay, 2001; Silva, *et al.*, 1997).

1.6 *Salmonella* spp

Salmonella é uma importante causa de doenças gastrointestinais em humanos (European Commission, 2002). Esse gênero faz parte da família *Enterobacteriaceae*. São gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos e têm forma de bastonetes curtos. A maioria das espécies é móvel, com exceção da *S. Pullorum* e *S. Pallinarum*. Esse gênero bacteriano fermenta glicose, produzindo ácido e gás e é incapaz de metabolizar a lactose e a sacarose. Sua temperatura ótima de multiplicação é de 38°C, mas toleram até 5°C e podem ser inativadas a 60°C por 15-20 minutos (Forsythe, 2002; Franco & Landgraf, 2002). O pH ótimo para seu desenvolvimento está em torno do neutro (Jay, 2001; Franco & Landgraf, 2002).

Os sintomas característicos de DTAs causadas por *Salmonella* incluem diarreia, náuseas, dores abdominais, febre branda e calafrios e algumas vezes, vômitos, dor de cabeça e fraqueza. O período de incubação é de 12-14 horas, embora possa variar. A enfermidade é normalmente autolimitante e persiste durante 2 a 7 dias, porém um número pequeno de casos podem resultar em bacteremia. As conseqüências crônicas podem continuar por até 3 a 4 semanas após os sintomas agudos (Jay, 2001; Forsythe, 2002; European Commission, 2002).

Uma ampla variedade de alimentos contaminados é associada à Salmoneloses, como carne crua, ovos, leite e derivados, fermentos, cocos, temperos para saladas, sobremesas recheadas e cobertas com creme e chocolates. (Franco & Landgraf, 2002; Forsythe, 2002). Os vegetais podem ser contaminados com várias espécies de bactérias patogênicas, incluindo *Salmonella*, *Shigella* e *E. coli* 0157:H7 (European Commission, 2002; D'Aoust, 1994). A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas inadequadas de manipulação ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados (Forsythe, 2002).

S. Typhi, e *S. Paratyphi* produzem febre tifóide que tem como sintomas febre alta, letargia, câimbras abdominais cefaléia, perda de apetite e, às vezes, erupções cutâneas. A taxa de mortalidade da febre tifóide é de 10%, enquanto a de outras salmoneloses é de menos de 1% (Forsythe, 2002).

Vários autores citam os pássaros como disseminadores de microrganismos como *Salmonella* spp e *Campylobacter* spp. Aparentemente o trato gastrointestinal de pássaros é contaminado

por bactérias patogênicas quando esses se alimentam com peixe, em lixo, esgoto, ou em terras que são pastadas por gado ou que tiveram aplicações de adubo fresco (Jay, 2001; European Commission, 2002).

1.7 PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

Bactérias podem ser detectadas e identificadas por multiplicação em meio de cultura sólido seletivo e por análise de propriedades metabólicas e sorotipagem. Essas metodologias são demoradas podendo durar de 5 a 10 dias ou mais. Além disso, bactérias do gênero *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes* muitas vezes estão injuriadas por condições desfavoráveis e podem não ser detectadas por métodos convencionais (Candrian, 1995).

A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) é freqüentemente empregada para a detecção de microrganismos patogênicos em vários substratos, incluindo alimentos (Fach *et al.*, 1995). Essa técnica se tornou um procedimento rápido com elevada sensibilidade e especificidade para a detecção e identificação de bactérias patogênicas presentes em diferentes produtos alimentícios (Wang, *et al.*, 1997)

Com o aumento da freqüência das DTAs, nos últimos anos, têm sido desenvolvidas técnicas para o diagnóstico de microrganismos que sejam mais específicas, mais sensíveis, de baixo custo, mais rápida e de fácil aplicação (Gooding *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1997). Nos últimos anos, métodos baseados na análise do DNA para a detecção e identificação de vários microrganismos tem se tornado disponível (Stefanovicová *et al.*, 1998). A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica de biologia molecular que tem tido um constante crescimento em laboratórios de diagnóstico, permitindo a identificação de vários patógenos em diferentes tipos de alimentos (Santos *et al.*, 2001; Waage *et al.*, 1999).

A reação de polimerização em cadeia - PCR – é uma técnica que permite a amplificação do DNA *in vitro*, não importando quantos tipos de materiais genéticos diferentes o substrato tenha, utilizando-se basicamente de uma reação enzimática catalisada por uma enzima termoestável (polimerase), cuja atividade depende de íons Mg^{2+} e ocorre em três etapas: “Melting” ou desnaturação, que consiste na separação da dupla fita do DNA a ser amplificado; “Annealing” ou hibridização, ligação

do iniciador ou “primer” ao DNA a ser amplificado e “Extension” ou extensão, ou seja, a polimerização propriamente dita. (Saiki *et al.*, 1988; Candrian, 1995).

É possível aplicar análise de DNA para caracterizar colônias de bactérias isoladas de alimentos. A confirmação por PCR da cultura bacteriana isolada de ágar seletivos pode reduzir o tempo de análise de alimento por diversos dias quando comparada a confirmação bioquímica ou sorológica (Candrian, 1995; Oliveira *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2001; Schrank *et al.*, 2001).

1.8 Irradiação de alimentos

Por séculos, a humanidade procura formas de conservar melhor e por mais tempo os alimentos que consome. A cura e o armazenamento desses alimentos a baixas temperaturas estão entre as técnicas de preservação mais antigas que se conhece. Além dessas, uma das formas mais recentes de preservação dos alimentos é o processamento desses utilizando a radiação gama (Murano *et al.*, 1995; Lee, *et al.*, 2003).

A Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas – FAO - estimou que, mundialmente, cerca de 25% de todos os produtos alimentícios são desperdiçados após a colheita devido a insetos, roedores e bactérias (Forsythe, 2002). Essa perda durante a estocagem tem sido estimada em 10% para cereais, 40% para frutas e vegetais, 75% para grãos e muito mais para produtos cárneos (Lacroix & Quattara, 2000). Valdívía *et al.* (2002) cita que, no México, é comum autoridades sanitárias rejeitarem lotes de polpa de abacate por estarem contaminadas com bactérias patogênicas. Situação que gera perdas econômicas significantes para os exportadores e sérios problemas de saúde pública.

O Brasil tem o maior potencial para o crescimento da agricultura no mundo. Ao mesmo tempo em que as técnicas de produção estão sendo melhoradas, nossas perdas pós-colheita, que já são grandes, aumentam na mesma proporção que o crescimento (Oliveira, 2000). Além disso, atualmente, no comércio entre países, a contaminação de produtos alimentícios acarreta rejeições de lotes desses produtos e em casos mais graves, ocorre proibição da importação de alimentos de determinados países (Merican, 1996).

Nessas situações, a irradiação de alimentos pode resultar em um desenvolvimento fundamental na produção desses produtos no país (Oliveira, 2000). Um número crescente de governantes tem reconhecido a segurança e a efetividade da irradiação como método para reduzir perdas pós-colheitas, para controlar algumas DTAs e facilitar o amplo comércio de alimentos (Loaharanu, 1996). Baixas doses de radiação gama, abaixo de 2kGy, têm sido usadas para estender o prazo de validade de frutas (Tritsch, 2000).

A irradiação de alimentos foi aprovada pela FAO, WHO IAEA, como um método prático e seguro para preservar alimentos e reduzir o risco de contaminações alimentares (Farkas, 1998; Lacroix & Ouatarra, 2000; Skovgaard, 2000; Morehouse 1998; Tritsch, 2000). No Brasil, a RDC nº21, de 26 de janeiro de 2001, publicado no Diário Oficial de 29/1/2001, estabelece os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos visando a qualidade sanitária do produto final. Através dessa lei, a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – determina que todo alimento pode ser irradiado com qualquer dose desde que o produto não apresente alterações sensoriais significativas.

É um tratamento alternativo que tem se mostrado eficiente na redução da contaminação microbiológica em alimentos prontos para o consumo (Niemira *et al*, 2003; Foley, 2002, Valdivia *et al.*, 2002; Verruma-Bernardi & Spoto, 2002; Parkash *et al.*, 2000). Há indicações que esse tipo de processamento será cada vez mais utilizado para assegurar a qualidade higiênica dos alimentos (Skovgaard, 2000). Além disso, análises econômicas mostram que os benefícios na saúde pública causados pela redução do número e da severidade das DTAs por causa do uso da irradiação são maiores que os custos associados com a implementação do processo (Tritsch, 2000).

A radiação gama é um processo não térmico que pode ser utilizado de maneira eficaz para eliminar ou reduzir a população microbiana para níveis aceitáveis em alimentos crus ou minimamente processados (Loaharanu, 1996; IAEA, 1982). A irradiação dos alimentos requer uma exposição adequada à radiação ionizante para produzir o resultado desejado, evitando, ao mesmo tempo, a degradação do alimento. O tipo de radiação utilizado no tratamento de alimentos se limita às radiações provenientes dos raios gama de alta energia, os raios X e os elétrons acelerados (WHO, 1994).

O uso dessa técnica de processamento dos alimentos pode ser incorporada ao programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) como tratamento de um ponto crítico para garantir a segurança de alimentos sólidos já que a pasteurização está estabelecida nos alimentos líquidos (Loaharanu, 1996).

A radiação ionizante é capaz de penetrar no interior dos alimentos descontaminando-os, pode ser aplicada em alimentos já embalados evitando a recontaminação. Além disso, os alimentos podem ser irradiados congelados ou resfriados já que essa técnica apresenta uma elevação muito pequena da temperatura (Hayes *et al.*, 1995; Lagunas-Solar, 1995, Lacroix & Ouattara, 2000; Verruma-Bernardi & Spoto, 2002). Exatamente por ser um processo onde a elevação da temperatura é mínima, a irradiação é um método de descontaminação mais eficiente para alimentos sólidos, já que a pasteurização está muito bem estabelecida para alimentos líquidos como leite e suco de frutas (Loaharanu, 1996).

Dessa forma, a maioria das aplicações da radiação em alimentos objetiva a inativação ou redução de microrganismos presentes nesses produtos, como os microrganismos deteriorantes ou patogênicos (Diehl, 1995, Tritsch, 2000). É muito eficaz para prolongar o tempo de conservação de frutas frescas e hortaliças, pois controla as mudanças biológicas normais associadas à maturação, à germinação e, por último, ao envelhecimento (OMS, 1989).

Quando ocorre uma alteração química da macromolécula devido a ionizações, diz-se que ocorreu uma “ação direta”, já quando ocorre “ação indireta”, as moléculas de água, do meio celular são ionizadas (radiólise), dando origem tanto a espécies moleculares como a radicais livres (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 2004; Farkas, 1985). Durante a radiólise, as moléculas de água irão produzir radicais livres de hidrogênio ou hidroxila, que irão formar hidrogênio molecular e peróxido de hidrogênio, que são espécies químicas reativas e poderão reagir com outras moléculas existentes no interior da célula, produzindo rupturas moleculares em proteínas e ácidos nucleicos (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995).

Estima-se que boa parte dos danos causados a uma célula pela radiação ionizante (70% dos efeitos biológicos) ocorre pelo efeito de “ação indireta”, provocado por radicais livres, isso porque a

maioria das células vivas apresenta em média 80% de água. Mesmo produtos aparentemente secos podem conter água: farinha de trigo (13%), vegetais desidratados (aproximadamente 10%), nozes (5%). A radiólise da água é, portanto, de particular interesse na irradiação de alimentos (Diehl, 1995; Tallentire, 1980; Farkas, 1985). Dessa forma, é mais provável que a maioria dos efeitos na célula seja o resultado da ação indireta da radiação, sendo a molécula de DNA o alvo crítico para a ocorrência do dano. O baixo conteúdo de água no citoplasma é o principal fator da radioresistência dos esporos bacterianos (Diehl, 1995; Farkas, 2001).

O processo de irradiação pode inibir a divisão de células vivas promovendo uma alteração em seu material genético, a ponto de inibir os processos biológicos necessários para sua sobrevivência. Geralmente, os microrganismos são facilmente inativados por este processo (Tallentire, 1980; Diehl, 1995; Murano, 1995).

Assim como a termorresistência, a radiorresistência de um microrganismo é expressa pela dose de redução decimal (valor D_{10}), que é equivalente à dose necessária para reduzir a população microbiana em um ciclo logarítmico, ou seja, 90% da população (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 2004). O valor de D_{10} pode ser determinado graficamente a partir da inclinação da linha de regressão ou inserindo os valores N_0 , N e dose na equação abaixo.

$$D_{10} = \frac{\text{dose de radiação}}{\log N_0 - \log N} \quad (1)$$

onde, N_0 = número inicial de microrganismos

N = número de microrganismos sobreviventes ao processo de irradiação.

Cada microrganismo se comporta de maneira diferente frente aos efeitos da radiação. Diferenças na radiosensibilidade de microrganismos similares estão relacionadas com diferenças em suas estruturas físicas e químicas e na habilidade de tolerar ou reparar o dano causado pela irradiação. Além disso, o meio onde se encontra esse microrganismo pode alterar consideravelmente o valor D_{10} ,

devido à presença ou ausência de substâncias radioprotetoras (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995; Tallentire, 1980).

Também é fato que o oxigênio potencializa a ação lesiva da radiação aumentando a radiosensibilidade das células. A presença do oxigênio dissolvido no meio celular não apenas fixa os danos químicos ocasionados pelos radicais livres, como também possibilita a formação desses radicais livres (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995). Mudanças nas características sensoriais e a formação desses produtos radiolíticos podem ser minimizados ao irradiar o alimento na ausência de oxigênio (a vácuo) (Lagunas-solar, 1995).

A temperatura durante a irradiação também pode influenciar mudanças radiolíticas. O congelamento pode ter um forte efeito protetor (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995). Tem-se sugerido que com a redução da temperatura, o efeito indireto na formação de radicais livres é diminuído, as moléculas de água vão se tornando mais indisponíveis e, portanto os radicais livres também (Murano *et al.*, 1995).

Mesmo com pequenas doses, o dano no material genético dos microrganismos presentes nos alimentos será tão intenso, que é muito provável que esse seja inviabilizado já que a bactéria ou o fungo perde a habilidade de replicação que a célula poderia apresentar como mecanismo de defesa. (Olson, 1998; Diehl, 1995). As principais lesões induzidas pela radiação no DNA intracelular são: alterações químicas sobre a purina, pirimidina e desoxirribose e danos físico-químicos que resultam na quebra simples ou dupla da estrutura do fosfodiéster (Mosley, 1989).

Apesar de todas as moléculas e estruturas de uma célula estarem sujeitas às alterações provocadas pelas radiações ionizantes, considera-se como potencialmente deletéria a interação das mesmas com as fitas de DNA, acredita-se que somente aquelas que incidam próximas ao material nuclear, serão potencialmente causadoras de danos mais significativos. De fato, as radiações ionizantes são um dos agentes físicos capazes de causar instabilidade genética, podendo gerar mutações (Diehl, 1995). Quanto mais complexo for o organismo maior será o seu DNA devido ao maior número de informações a ser transmitida e, uma vez que a radiação tem efeito sobre o genoma dos seres vivos, quanto mais complexo mais sensível à irradiação ele será. Assim sendo, os vírus são menos sensíveis

do que as bactérias, e essas, menos sensíveis que os fungos, que por sua vez, são mais radioresistentes que os seres humanos (Murano *et al.*, 1995; Jay, 2001) (Figura 8).

Considerando que a sensibilidade das macromoléculas à radiação é proporcional ao seu peso molecular, estima-se que a dose de 0,1kGy danificará 2,8% do DNA de células bacterianas, enquanto a mesma dose danificará 0,14% de enzimas e somente 0,005% de aminoácidos. Os 2,8% de DNA danificado será letal à grande maioria das células irradiadas, e isto terá conseqüências que são facilmente visualizadas a olhos nus quando estas forem cultivadas em meio de cultura (Diehl, 1995).

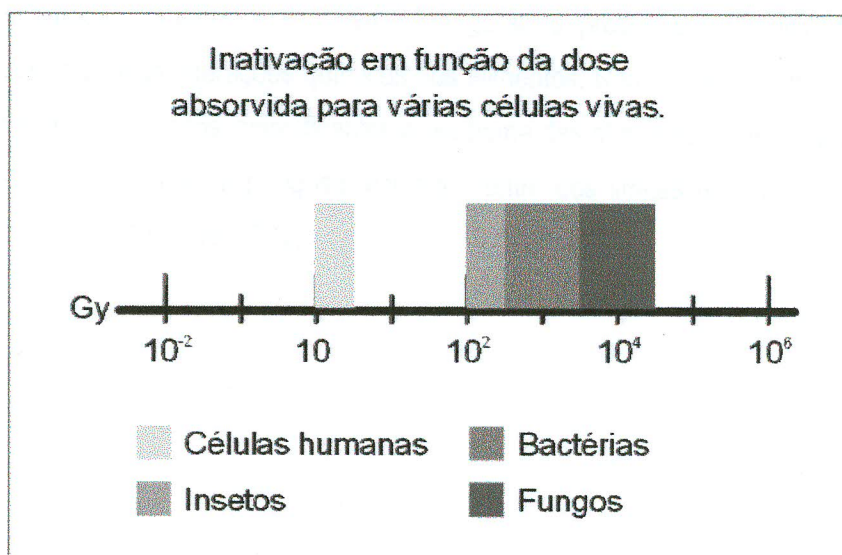


FIGURA 7: Quantidade de inativação em função da dose absorvida para vários grupos de células/seres vivos viáveis.

Quanto ao arranjo da estrutura do DNA da célula, durante a divisão celular a fita dupla do DNA é separada e por meio de uma nova cadeia da polimerase é moldada. Este processo é associado com mudanças na sensibilidade à radiação, quando a radiação ocorrer em fita dupla o DNA será menos sensível, do que quando ocorrer em fita simples, devido a sua capacidade de reparo do DNA danificado (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995). As enzimas de reparo podem efetuar tanto a degradação como a síntese do DNA. Deste modo podem cortar uma seqüência danificada de nucleotídeo e ressintetizar a seqüência perdida. O sistema de reparo pode ser induzido não somente pela irradiação como também

por efeitos naturais e estresses laboratoriais como aquecimento, resfriamento e reagentes químicos (Diehl, 1995; Murano *et al.*, 1995).

Além de não causar o aumento substancial da temperatura, dependendo da dose, a irradiação não causa alterações químicas ou sensoriais do alimento (Thayer *et al.*, 1995). Porém, doses elevadas de radiação gama podem produzir alterações nas características organolépticas do alimento e comprometer sua aceitabilidade pelos consumidores (Tritsch, 2000). A adequação nutricional dos alimentos irradiados é sumarizada em muitas revisões, as quais nos mostram claramente que as alterações ocorridas nos alimentos são mínimas ou mesmo nulas quando se é respeitada a dose certa para cada tipo de alimento (Diehl *et al.*, 1994). Em geral, o processo de irradiação nas doses recomendadas, acarreta poucas alterações químicas nos alimentos. Nas doses de até um quilogray, as perdas nutricionais são consideradas insignificantes e nenhuma das alterações conhecidas encontradas nos alimentos irradiados é nociva ou perigosa, estando dentro dos limites encontrados normalmente para alimentos (Satin, 1993; Delincée, 2002).

2 OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo:

- ✓ Avaliar a qualidade microbiológica do açaí vendido em São Paulo.
- ✓ Avaliar a ação da radiação gama em cepas de *Salmonella* spp e *Escherichia coli* em polpa de açaí.
- ✓ Avaliar se existe diferença significativa ($p < 0,05$) nas características sensoriais entre as amostras irradiadas e aquelas que não foram processadas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Amostras

Para a análise da qualidade microbiológica de açaí foram utilizadas 30 amostras de polpa de açaí processadas e adquiridas no mercado varejista de São Paulo. Para a avaliação da radiorresistência de *Salmonella spp* e *Escherichia coli* e para a análise sensorial, foram utilizados 6 kg da polpa da fruta fornecida por um fabricante local.

3.1.2 Cepas bacterianas

A espécie bacteriana utilizada na contaminação laboratorial do açaí irradiado foi *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella* Enteritidis, gentilmente cedida pela seção de microbiologia de alimentos do Instituto Adolfo Lutz. Além dessas, *Proteus mirabilis* IAL 1022 e *Enterobacter aerogenes* CDC 3435, utilizadas como controle na técnica de número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes presentes nas amostras, também foram cedidas pelo mesmo Instituto.

3.1.3 Primers:

Os *primers* utilizados nos experimentos foram sintetizados pela Invitrogen do Brasil Ltda segundo Wang *et al.* (1997).

Salmonella spp: inv A gene (275bp)

Sal-3, TATCGCCACGTTCTGGGCAA

Sal-4, TCGCACCGTCAAAGGAACC

Escherichia coli: malB promoter (585bp)

Eco-1, GACCTCGGTTTAGTTCACAGA

Eco-2, CACACGCTGACGCTGACCA

3.2 Métodos:

3.2.1 Análise da Qualidade Microbiológica do Açaí:

O açaí comercializado em São Paulo foi avaliado microbiologicamente para a presença de coliformes totais e termotolerantes a 45°C, *Salmonella spp* e bolores e leveduras (figura 8), segundo APHA (1992).

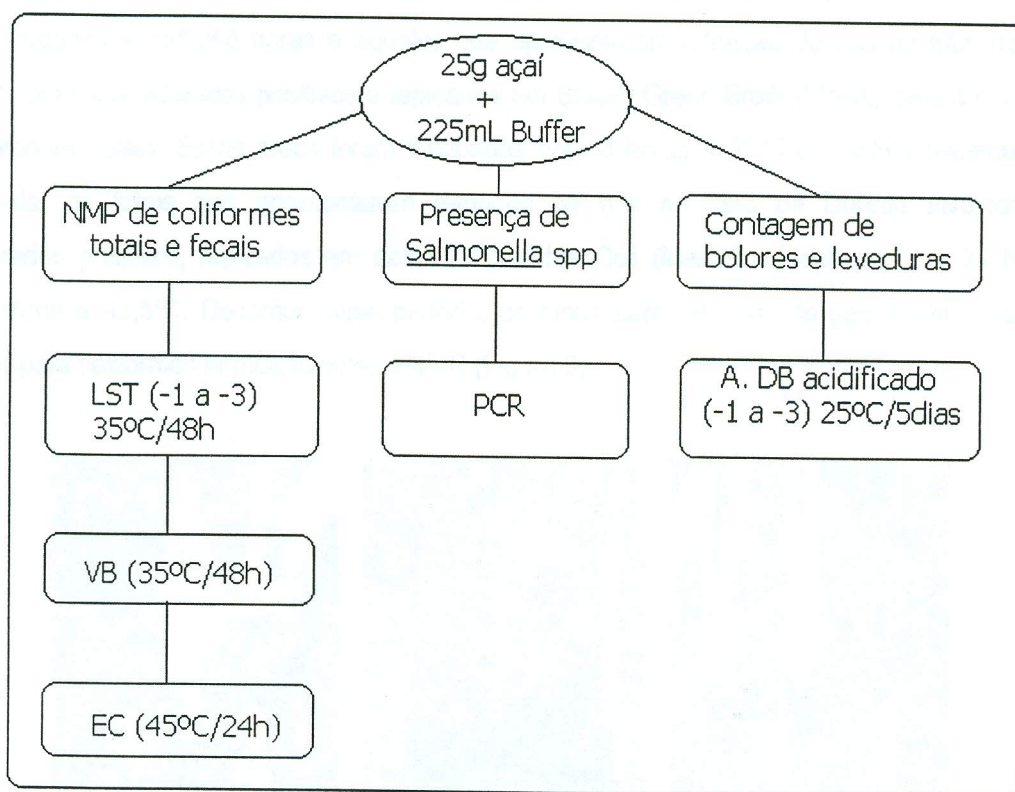


FIGURA 8: Análise microbiológica do açaí (*Euterpe oleracea*).

❖ Pesquisa de *Salmonella spp*:

Do açaí a ser analisado, foi pesado, em um saco plástico de polipropileno estéril, uma porção de 25g que foi homogeneizada com 225mL de Buffered Peptone Water – BPW – (Oxoid) e incubada à 35°C por 18-24h. Decorrido o período de incubação, foi realizada a análise da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para verificar se havia presença de *Salmonella spp*.

❖ Número mais provável de coliformes:

Do açai a ser analisado, foi pesado, em um saco plástico de polipropileno estéril, uma porção de 25g que foi homogeneizada com 225mL de Buffered Peptone Water (diluição 10^{-1}) e semeada pela técnica de número mais provável (NMP) em Lauryl Sulfate Tryptose (Merck) para a determinação de coliformes totais. Nesse meio, a partir da diluição 10^{-1} , foram inoculados 10mL em cada um dos três tubos com concentração dupla e 1mL em cada um dos três tubos de concentração simples. Num tubo contendo 9mL de BPW foi inoculado 1mL da diluição 10^{-1} , que resultou na diluição 10^{-2} . A partir dessa diluição, foi inoculado 1mL em cada um dos três tubos com concentração simples. Os tubos de ensaio foram incubados a $35^{\circ}\text{C}/48$ horas e aqueles que apresentaram retenção de gás no tubo de Duhran invertido foram considerados positivos e repicados em Brilliant Green Broth (Merck) para a confirmação dos coliformes totais. Esses tubos foram incubados por 48 horas a 35°C em estufa bacteriológica e, novamente, os tubos que apresentaram retenção de gás no tubo de Duhran invertido, foram considerados positivos, repicados em caldo Escherichia Coli (Merck) e incubados por 24 horas em Banho Maria a $45,5^{\circ}\text{C}$. Decorrido esse período, os tubos com retenção de gás foram considerados positivos para coliformes termotolerantes a 45°C (Figura 9).

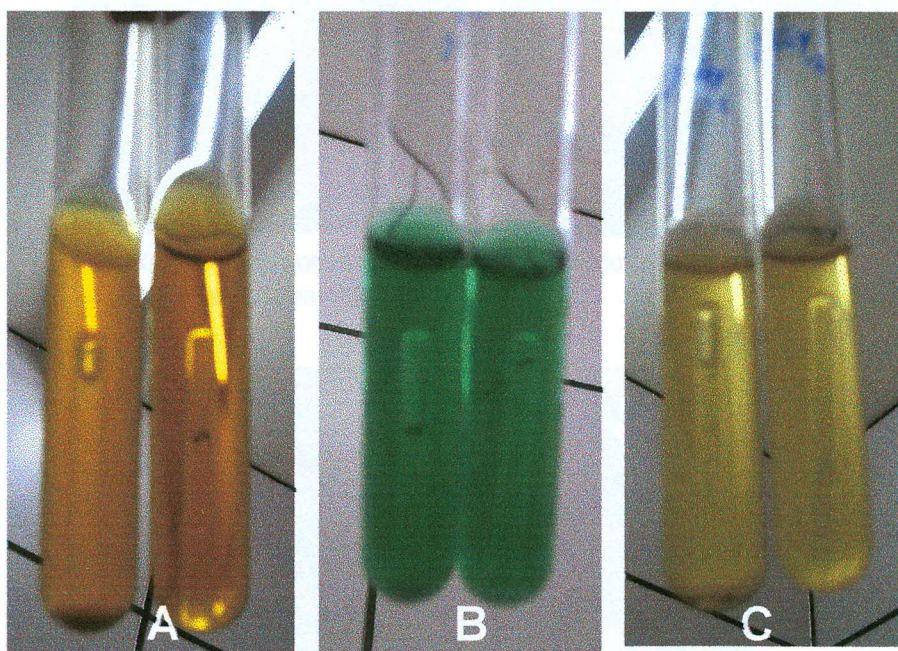


FIGURA 9: Determinação do número mais provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes. (A) Tubo contendo caldo Lauryl Sulfato Triptosa positivo (à esquerda) e estéril (à direita); (B) tubo contendo caldo Verde Brillante positivo (à esquerda) e estéril (à direita); (C) Tubo contendo caldo EC positivo (à esquerda) e estéril (à direita).

❖ Contagem de bolores e leveduras viáveis:

As amostras foram submetidas à contagem de células viáveis de fungos pela técnica de semeadura em profundidade utilizando ágar Dextrose-Batata acidificado com ácido tartárico 10% (Figura 11). Utilizando a diluição 10^{-2} do NMP de coliformes, pipetou-se 1mL em um novo tubo contendo 9mL de BPW resultando na diluição 10^{-3} . Em seguida foi pipetado 1mL de cada uma dessas diluições (10^{-1} a 10^{-3}) em placas de Petri, vertido o ágar e, essas, foram incubadas em câmara climatizada a $25^{\circ}\text{C}/5$ dias (Figura 10). Após o período de incubação, as unidades formadoras de colônias – UFC - foram contadas em um contador.

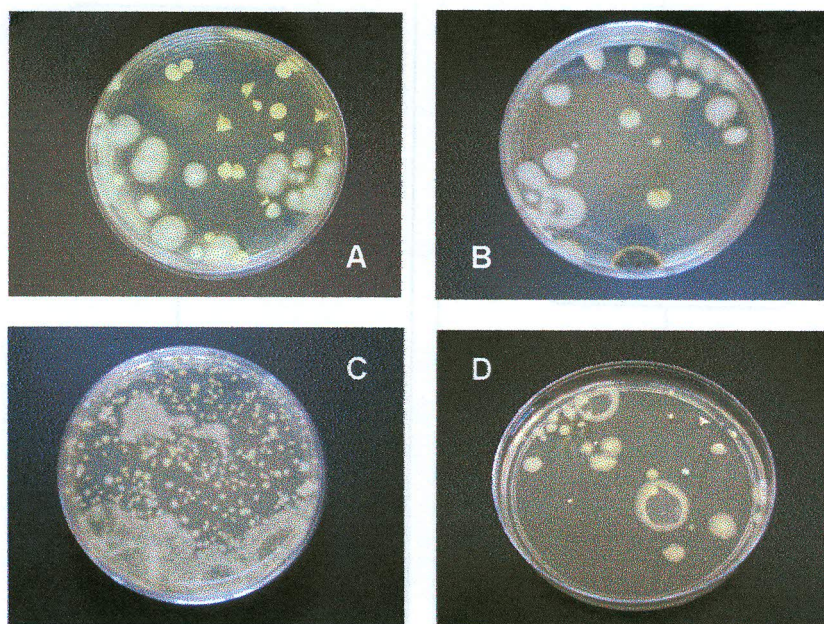


FIGURA 10: Desenvolvimento em placa de leveduras presentes na polpa de açaí comercializada em São Paulo.



FIGURA 11: Semeadura de bolores e leveduras.

3.2.2 Irradiação e Microbiologia

O inóculo das cepas de *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis pela qual o açaí foi contaminado foram semeadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas a 37°C/18-24 horas. Passado esse período, foram realizados seis experimentos independentes.

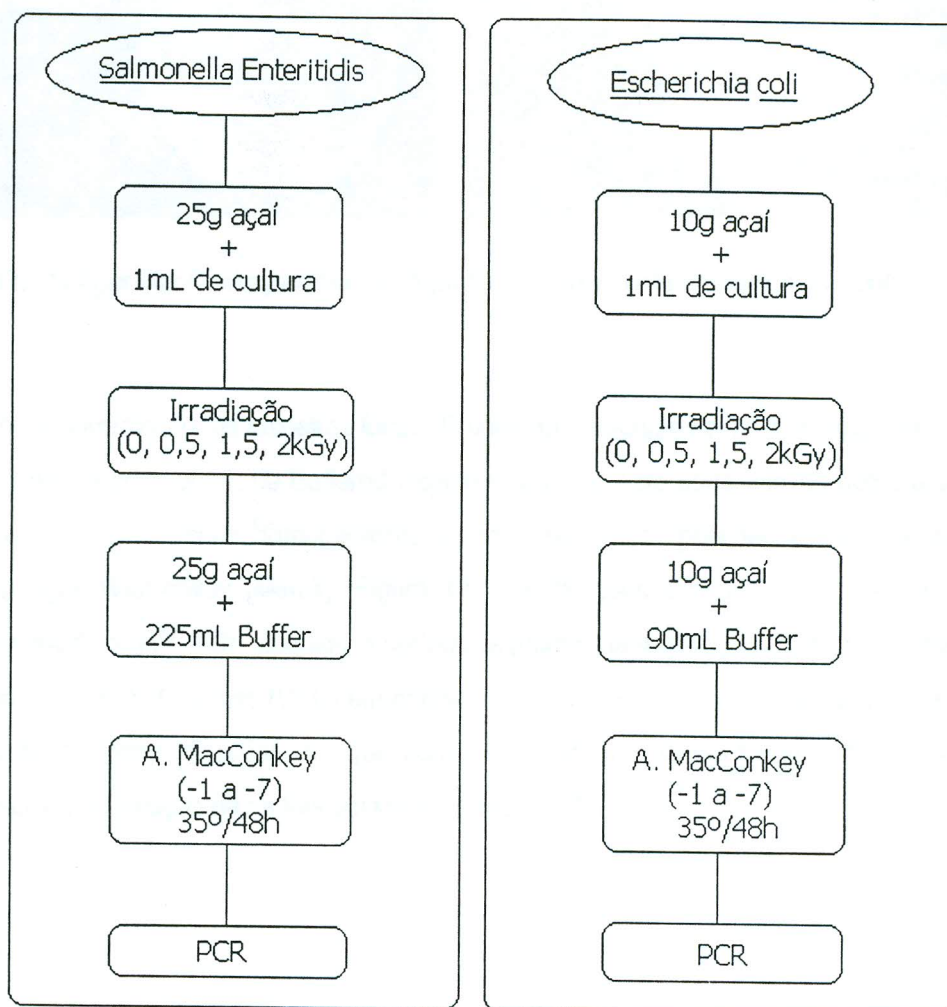


FIGURA 12: Determinação de D_{10} de *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* em açaí.

Das amostras, foram aliqüotadas 25g e 10g e contaminadas com 1mL de cultura de *Salmonella* Enteritidis e com 1mL de *E.coli*, respectivamente, em fase estacionária diluídas a 10^{-7} . Essas amostras foram irradiadas no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN – CNEN/SP) com 0, 0,5, 1,5 e 2,0kGy a, aproximadamente, -18°C em fonte de ^{60}Co , Gammacell 220 (A.E.C.Ltda) com taxa

da dose 3.88kGy/h (janeiro/2005) e 3.55kGy/h (setembro/2005). Foram utilizados Dosímetros Harwell Amber 3042 para monitoramento de dose.

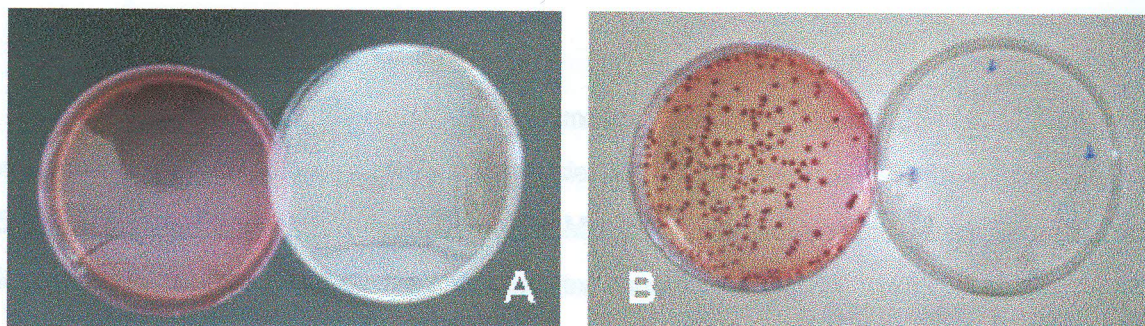


FIGURA 13: (A) Ágar MacConkey estéril. (B) Ágar MacConkey contaminado com *E. coli*.

Após a irradiação, as amostras foram diluídas na proporção de 1 : 9, ou seja, para cada 10g de açaí foram adicionados 90mL de Buffered Peptone Water, e para cada 25g da polpa adicionou-se 225mL do mesmo caldo. Esses homogeneizados foram semeados pela técnica de semeadura em superfície em Ágar MacConkey (Merck) (Figura 12) nas diluições 10^{-1} a 10^{-7} e as amostras foram incubadas em estufa a 35°C/48h. Seguindo o período requerido na incubação, foi feita a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em contador de colônia. Após o período de incubação, duas colônias das duas últimas diluições em que houve desenvolvimento bacteriano, foram confirmadas utilizando a técnica de Reação de cadeia pela polimerase – PCR.

3.2.3 PCR

1. Extração do DNA

As colônias características selecionadas foram isoladas em caldo BHI (Merck) e incubadas por 18-24h. Após esse período, 1 mL da cultura foi transferida a um tubo de 2 ml e centrifugada por 10 min/5.000g. O sobrenadante que resultou foi descartado e no precipitado foi acrescentado 1mL do tampão 1 e 0,6mL de isopropanol e misturou-se suavemente. O precipitado contendo DNA bacteriano foi centrifugado por mais 10 min/10.000g á 25°C. Após esse procedimento, removeu-se o sobrenadante e deixou-se o tubo secar invertido por 30 minutos à 1 hora. Adicionou-se 500µL de etanol a 70%, que foi

misturado, centrifugado e descartado nas mesmas condições descritas anteriormente. Para que o DNA pudesse ser armazenado, dissolveu-se o precipitado do tubo em 50 μ L de água bidestilada que foi alíquotada e levada a 4°C por um curto período ou a -20°C por períodos maiores.

2. PCR – amplificação

O volume final para cada uma das amostras que foram amplificadas foi de 25 μ L. Sendo constituídas de 2 μ L de amostra com 23 μ L de mastermix - 12,3 μ L de água bidestilada, 2,5 μ L de buffer, 1,5 μ L de MgCl₂ (50mM), 1,5 μ L dNTP's (2,5mM), 2,5 μ L de cada primer específico para cada microrganismo (10 μ M) e 0,2 μ L de Taq polimerase termoestável (5U/ μ L).

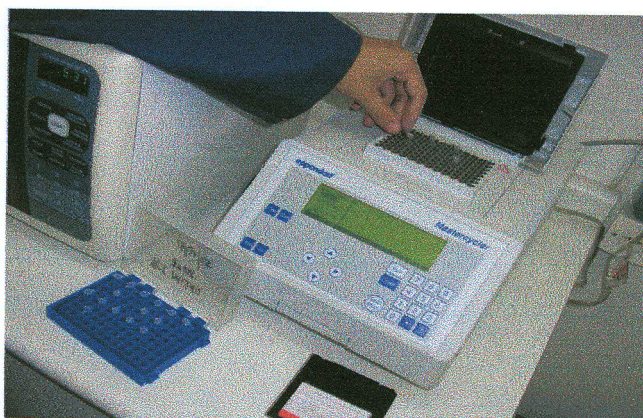


Figura 14: Termocilcador utilizado, modelo Mastercycler (Eppendorf).

Essa solução foi levada ao Termociclador Mastercycle da Eppendorf (Figura 13) utilizando as condições de amplificação descritas por Wang *et. al.* (1997). A amplificação seja constituída de um ciclo à 94°C/15 segundos, 35 ciclos à 94°C/3 segundos, um ciclo à 50°C/10 segundos, um ciclo à 74°C/35 segundos, um ciclo à 74°C/2 minutos e um ciclo à 45°C/2 segundos.

3. Gel

Para a obtenção do gel foram pesados 1,2g de agarose, adicionado 60mL de TBE 0,045M (diluição de 1/10 de TBE 0,45M [54g de 0,45M Tris; 27,5g de 0,45M Ácido Bórico; 20ml de 0,1M EDTA {0,744g de Na₂EDTA.2H₂O e completado com 18ml de água}, pH 8,0 e completado com 1000ml e acertado o pH para 8,4]) e aquecidos em forno de microondas por 1 minuto e 30 segundos em potência

máxima. Antes que o gel solidificasse, foi adicionado $3\mu\text{L}$ de Brometo de Etídio (10mg/mL) e colocado no suporte da cuba de eletroforese por alguns minutos.

4. Eletroforese em Gel

Em cada um dos poços do gel foi colocado uma mistura constituída de $10\mu\text{L}$ da amostra amplificada e $2\mu\text{L}$ de azul de bromofenol – 0.025g de azul de bromofenol diluído em 6mL de TBE $0,045\text{M}$ e 40mL de glicerol. O gel de agarose foi submerso em uma cuba de eletroforese contendo TBE $0,045\text{M}$ a uma tensão constante de 75V . A imagem foi fotografada pelo sistema Vilber Lourmat Imager (Figura 14).



Figura 15: Trabalho de foto-documentação para o registro dos resultados.

3.2.4 Análise sensorial

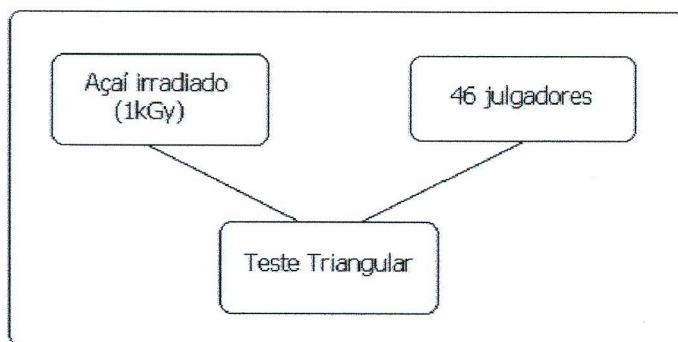


FIGURA 16: Análise sensorial.

Três quilos de açaí foram igualmente fracionados, sendo que uma parte foi irradiada com 1kGy e a outra parte foi utilizada como controle (0kGy). O teste aplicado aos quarenta e seis provadores sadios e não fumantes foi o Teste Triangular (Lawless, 1997). Os provadores receberam três amostras de açaí, sendo duas iguais e uma diferente (codificadas com três dígitos), uma ficha e um copo de água (Figuras 15 e 16). Foram orientados a prová-las da esquerda para a direita ingerindo um pouco de água entre as amostras e, ao final, indicar qual delas era a amostra diferente.

Análise Sensorial de “Açaí na tigela” irradiado

Nome: _____ Data ____ / ____ / ____

Você está recebendo três amostras de “açaí na tigela” (irradiado e controle). Duas são iguais e uma é diferente. Você deve experimentá-las da esquerda para a direita sem retornar a amostra anterior, tomando um pouco de água entre cada uma das amostras. Depois, circule o número correspondente à amostra que difere das outras duas.

_____ _____ _____

Agora, responda:

Você é fumante? () não () sim

Está tomando algum medicamento? () não () sim.

Qual? _____ Para que serve? _____

Figura 17: Ficha utilizada na análise sensorial da polpa de açaí.

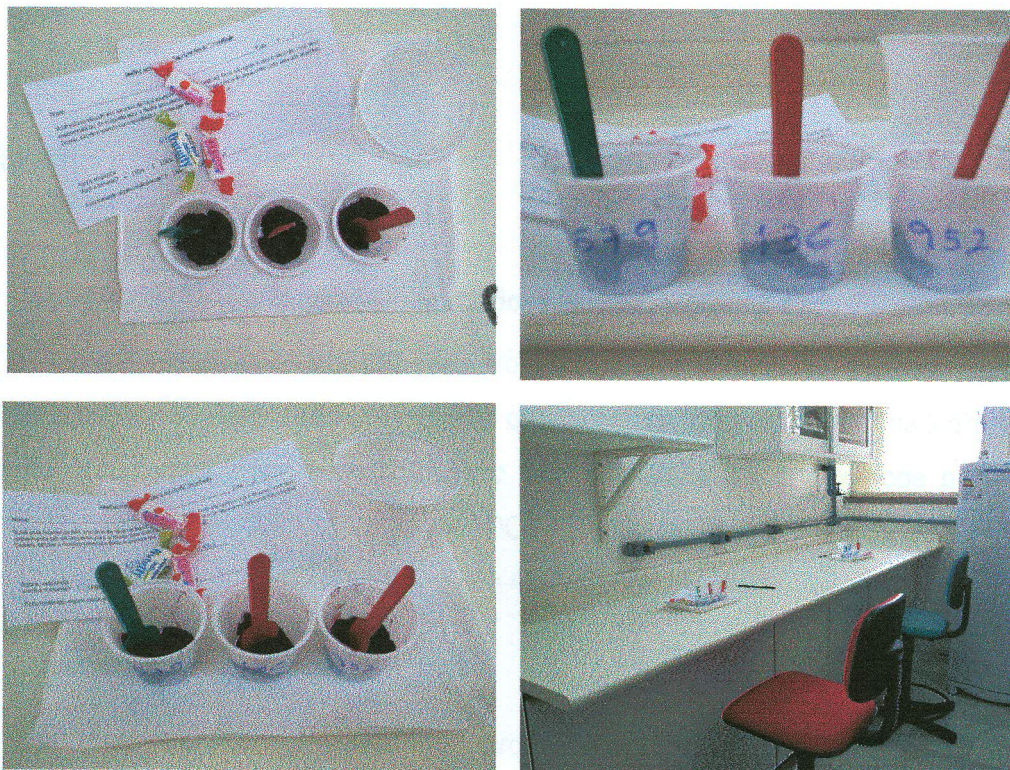


Figura 17: Análise sensorial da polpa de açai. Bandeja com as três amostras a serem avaliadas e a ficha da análise (A, B e C); Laboratório de análise sensorial (D).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da qualidade microbiológica do açaí.

A determinação do número mais provável de coliformes totais e coliformes a 45°C e a análise da presença de *Salmonella* spp mostram que o açaí avaliado está dentro da legislação vigente. De acordo com o atual **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**, aprovado pelo Decreto nº3029, publicado na RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001, pela ANVISA/MS, o açaí deve conter, no máximo, 10^2 de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella* spp em 25 gramas do produto (ANVISA, 2001a).

Os resultados sobre a avaliação microbiológica do açaí vendidos no comércio varejista da Grande São Paulo estão apresentados na Tabela 1. Esses resultados mostram que nenhuma das amostras avaliadas estava contaminada com *Salmonella* spp. Resultado semelhante foi obtido por Souto (2001) onde nenhuma das amostras avaliadas estavam contaminadas com esse microrganismo. Já o trabalho de Rogez (2000) indicou a presença de *Salmonella* spp em quatro das 26 amostras de açaí. E o de Oliveira (1988), ao avaliar a presença dessa bactéria em 15 amostras, encontrou duas contaminadas.

A figura 18 é o gel de agarose utilizado na análise da presença de *Salmonella* spp no açaí vendido em São Paulo. Ele também mostra que não, dentre as amostras avaliadas nenhuma delas estava contaminada com o microrganismo.

Os açaís avaliados apresentaram baixa contaminação por coliformes totais (entre 460 e <3 coliformes/ml) e coliformes a 45°C (entre 4 e <3 coliformes/mL). Sendo que apenas uma amostra tinha 460 coliformes totais por mililitro e todas as outras amostras apresentaram contaminação menor que 93 coliformes por mililitro.

Abreu *et al.* (2003) avaliaram a qualidade microbiológica de polpas de 21 frutas diferentes comercializadas em Teresina, PI e não encontraram contaminação por coliformes nas amostras de polpa

de açaí. Porém das 265 amostras que foram avaliadas, somente 2% se tratavam da polpa dessa fruta, mostrando que, apesar desse produto se encontrar dentro das normas vigentes do país, a amostragem foi muito pequena e, portanto insuficiente para qualquer conclusão a respeito da qualidade microbiológica dessas polpas. Nesse estudo, um terço da variedade das polpas das frutas estavam contaminadas, sendo que as amostras contaminadas - abacate, abacaxi, goiaba, jaca, mamão, manga e melão - eram justamente aquelas que tinham o maior número de amostra e totalizavam quase a metade da amostragem utilizada. E mesmo assim, o maior índice de contaminação encontrado foi nas amostras de goiaba, que apresentaram 34% delas fora da norma brasileira.

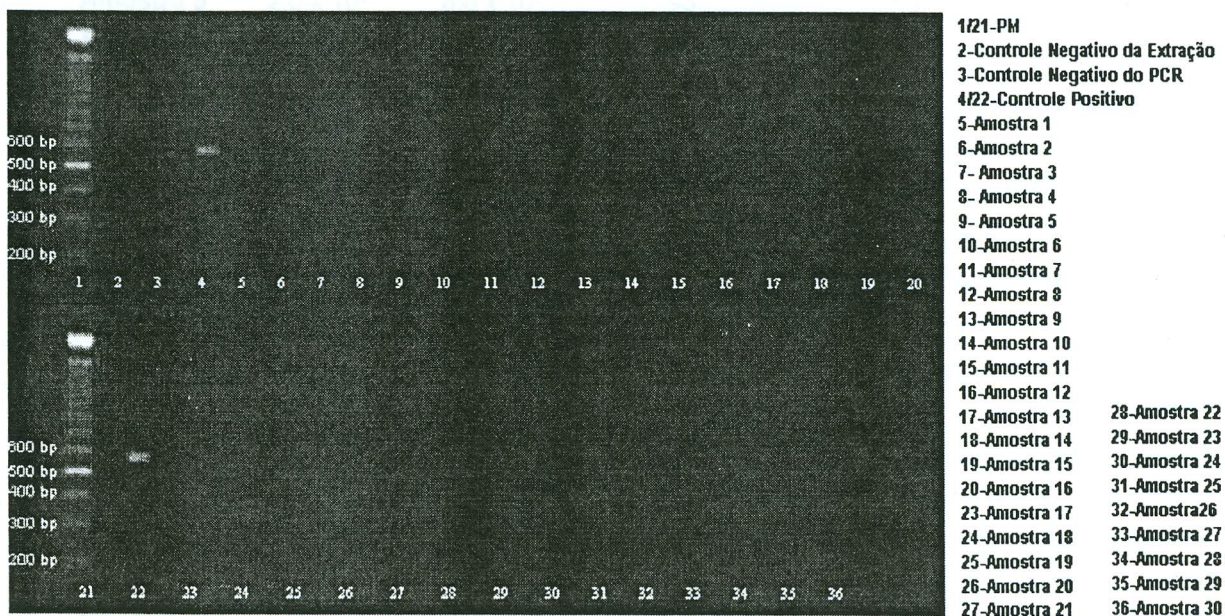


FIGURA 18: Gel de agarose utilizado na detecção de *Salmonella* spp no açaí.

Oitenta e cinco por cento das mangas avaliadas por O'Connor-Shaw (1995) tinham <5 UFC de coliforme/g de polpa e 11% tinham uma contagem de >10² UFC da bactéria/g do produto. Apesar de, algumas vezes, termos encontrado uma quantidade elevada de coliformes totais no açaí avaliado neste trabalho, a quantidade de coliformes termotolerantes sempre esteve bem abaixo do permitido pela legislação brasileira vigente.

Vários autores observaram uma elevada contaminação fúngica em frutas e produtos derivados de frutas (Jay, 2001; APHA, 2001, European Commission, 2002; Youssef, 2002). Dessa forma, considerando a alta população de bolores e leveduras, normalmente encontrada em polpas de frutas e

sua importância para a qualidade e segurança destes produtos, estes microrganismos também foram determinados, mesmo tendo sido excluídos da legislação vigente para polpa de fruta.

TABELA 1: Avaliação microbiológica de açaí comercializado na cidade de São Paulo.

Amostra	Bolores / leveduras (UFC*/mL)		Coliformes totais (células/mL)	Coliformes termotolerantes (células mL)	Salmonella spp (ausência em 25g)
Amostra 1	<10	4,8 x 10 ³	4	<3	-
Amostra 2	7,0 x 10 ¹	2,6 x 10 ²	3	<3	-
Amostra 3	2,6 x 10 ²	1,9 x 10 ²	23	<3	-
Amostra 4	3,0 x 10 ¹	9,0 x 10 ¹	43	<3	-
Amostra 5	2,0 x 10 ¹	8,0 x 10 ¹	<3	<3	-
Amostra 6	1,5 x 10 ⁴	7,4 x 10 ⁴	9	<3	-
Amostra 7	3,0 x 10 ¹	4,7 x 10 ⁴	3	4	-
Amostra 8	1,2 x 10 ³	2,0 x 10 ⁴	3	<3	-
Amostra 9	6,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ³	4	<3	-
Amostra 10	7,0 x 10 ¹	3,3 x 10 ²	4	<3	-
Amostra 11	3,0 x 10 ¹	2,7 x 10 ²	<3	<3	-
Amostra 12	1,0 x 10 ¹	1,3 x 10 ³	3	<3	-
Amostra 13	3,0 x 10 ¹	5,1 x 10 ³	9	<3	-
Amostra 14	1,0 x 10 ¹	2,1 x 10 ³	93	<3	-
Amostra 15	<10	2,0 x 10 ²	<3	<3	-
Amostra 16	<10	3,0 x 10 ³	43	<3	-
Amostra 17	2,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ⁴	9	4	-
Amostra 18	<10	7,0 x 10 ³	<3	<3	-
Amostra 19	3,0 x 10 ¹	5,7 x 10 ³	23	<3	-
Amostra 20	5,0 x 10 ¹	6,7 x 10 ²	<3	<3	-
Amostra 21	<10	1,7 x 10 ³	43	<3	-
Amostra 22	1,0 x 10 ¹	3,6 x 10 ²	<3	<3	-
Amostra 23	3,0 x 10 ¹	8,8 x 10 ³	<3	<3	-
Amostra 24	<10	3,0 x 10 ⁴	150	4	-
Amostra 25	1,0 x 10 ¹	1,9 x 10 ²	4	<3	-
Amostra 26	1,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ⁴	4	<3	-
Amostra 27	2,0 x 10 ¹	2,7 x 10 ⁵	460	4	-
Amostra 28	<10	1,9 x 10 ²	9	<3	-
Amostra 29	<10	4,2 x 10 ⁴	<3	<3	-
Amostra 30	6,0 x 10 ¹	7,7 x 10 ²	4	<3	-

* UFC – Unidade Formadoras de Colônia

Em nosso estudo, observamos uma contaminação fúngica entre $1,0 \times 10^2$ e $2,9 \times 10^5$ UFC/mL de açaí. Também observamos que, com exceção da amostra 3, todas as outras amostras tinham maior contaminação por levedura ($8,0 \times 10^1$ a $2,7 \times 10^5$ UFC/mL de açaí) do que por bolores (<10

a $1,5 \times 10^4$ UFC/mL de açai). Apenas duas amostras (amostra 4 e amostra 5) tinham até 10^1 de leveduras, enquanto apenas três amostras (amostras 3, 6 e 8) tinham mais de 10^1 de bolores.

Bueno *et al.* (2002) obtiveram resultados semelhantes aos resultados do nosso trabalho, já que, ao avaliar polpas de frutas congeladas, observou que a contaminação por bolores não se encontrava tão elevada, porém as leveduras estavam presentes em grandes quantidades. Assim como Garg *et al.* (1990), que observaram uma contaminação fúngica constituída, predominantemente, por leveduras em repolho, alface, espinafre, cebola e couve flor. Rogez (2000) encontrou polpas de açais com contaminação fúngica entre $2,3 \times 10^4$ a $8,3 \times 10^6$ UFC/mL do produto, ou seja, em torno de dois ciclos logarítmicos a mais do que a encontrada neste estudo.

O INMETRO analisou, em 1997, polpas de frutas com o objetivo de avaliar as características microbiológicas de diversas marcas em relação à legislação vigente na época. Foi verificada a conformidade das amostras de polpa de fruta congelada em relação à Portaria 001/87 Grupo X-Dinal-Ministério da Saúde, que legisla sobre os produtos a serem consumidos após a adição de água, sem o emprego de calor. Das 11 marcas analisadas sete se apresentaram conforme com a legislação, enquanto quatro apresentaram-se não conforme com a legislação no que diz respeito à contagem de bolores e leveduras (INMETRO, 2005).

Ao analisarem a qualidade microbiológica de 15 tipos de polpas de frutas, Bueno *et al.*, observaram que as polpas de frutas de cupuaçu, umbu, cajá, cacau, acerola, ou seja, 53% das amostras analisadas apresentaram campos positivos para filamentos miscelianos acima de 10%, enquadrando-se como produtos impróprios para o consumo, indicando que foi utilizada matéria prima deteriorada. E as condições higiênicas das frutas utilizadas na produção das polpas de caju, abacaxi, goiaba, seriguela, mamão, açai e uva foram satisfatórias.

Geralmente a presença de bolores e leveduras no produto final é indicativa de condições higiênicas deficientes no processamento, ou então, de matérias-primas excessivamente contaminadas (Hoffmann, *et al.*, 2001 e Jay, 2001). E um número elevado de microrganismos indicadores, como os coliformes, em um alimento, pode mostrar que as chances de encontrarmos um microrganismo

patogênico são maiores do que se esses indicadores não estivessem no produto (Franco & Landgraf, 2002).

O controle de contaminação antes da colheita de frutas e legumes é excepcionalmente difícil (Beuchat, 1997). Microrganismos patogênicos podem contaminar frutas e vegetais pelo contato com solo - quando forem vegetais rasteiros ou de pequeno porte, água de irrigação, fezes de animais, insetos, adubos (Buck, 2003; European Commission, 2002).

A água utilizada na irrigação de frutas e vegetais pode ser uma fonte de contaminação por microrganismos por estar, muitas vezes, contaminada com protozoários, bactérias e vírus patogênicos. A contaminação desse tipo de produtos pela água utilizada na irrigação depende da técnica utilizada e da qualidade dessa água (Jay, 2001; European Commission, 2002).

Frutas e vegetais, como o açaí, tornam-se contaminados com microrganismos patogênicos pela elevada exposição à ampla variedade de condições durante o crescimento, colheita e distribuição (Madden, 1992). Nos açazais nativos, em áreas de várzea, é fundamental que o produtor maneje adequadamente seu plantio para evitar a contaminação do fruto, sobretudo no momento da coleta, quando ele é jogado do alto da palmeira para o chão (EMBRAPA, 2004).

Todas as etapas da produção da polpa de açaí, desde a colheita dos frutos até o armazenamento, podem ser consideradas pontos críticos de contaminação microbiológica do produto e devem contribuir para essa elevada perecibilidade. Na transferência do açaí do açazal para o local de ajuntamento dos cachos a contaminação pode acontecer. Durante a colheita, no momento do debulhamento, os frutos, retirados manualmente dos cachos, ficam em contato direto com o solo úmido até serem arrastados por áreas alagadas e contaminadas por fezes de animais, causando sérios danos ao produto.

A colheita do fruto é acondicionado e transportado por via fluvial ou rodoviária. Os frutos provenientes da produção de açazais de terra firme são acondicionados em sacos, em paneiros¹ ou até a granel e transportados para o centro de comercialização. Já o transporte dos frutos produzidos em

¹ O paneiro é feito de jacitara (*D. polyacanthus*) ou de guarumã (*I. obliquus*) e pode ser usado no mínimo por um ano.

área de várzea ocorre por via fluvial. Nesse caso, o produtor enche o porão da embarcação com os paneiros recheados de frutos e seguem para o local de comercialização. De ambas as formas, o transporte desses frutos, se dá à temperatura ambiente, assim como todo o processo de comercialização (figura 19).

Muitos fatores favorecem a multiplicação microbiana nos frutos e seus derivados. As condições de transporte e dos paneiros ou dos sacos são inadequadas, já que a correta higienização desses paneiros é praticamente impossível devido ao material de que é composto e ao excesso de reentrâncias que possui. Além disso, os açais seguem ao local de comercialização em embalagens que não proporcionam o isolamento mínimo necessário dos frutos com o meio ambiente e com os porões das embarcações ou, pior, o expõem a condições que favoreçam sua contaminação e multiplicação microbiana ao serem transportados à temperatura ambiente.

Apesar de todo o quadro apresentado, os produtores da região acreditam que possam minimizar que a contaminação dos frutos já que a área de colheita e debulhamento são limpas e o produtor pode controlar a entrada de animais (EMBRAPA, 2004). A restrição à área de colheita pode ser mais fácil para alguns animais por serem de médio ou grande porte, porém, pouco pode ser feito quando pensamos em insetos e aves.

Pequenos produtores raramente vendem seu produto diretamente na cidade: são os intermediários que efetuam a comercialização. A cidade de Belém apresenta cinco principais centros de comercialização, correspondentes a cinco portos; o principal é, sem dúvida, o “Mercado do Açai”. Localizado no centro da cidade velha, ao lado do “Forte do Castelo” e do grande mercado popular do “Ver-O-Peso”, essa feira comercializa algumas centenas de toneladas de frutos a cada manhã. A comercialização começa geralmente bem antes do amanhecer (entre 1h e 4h) e raramente passa das 9 horas. Essa tradição de comercializar os frutos nas primeiras horas do dia está associada ao caráter perecível do açai (Rogez, 2000) (Figura 19).

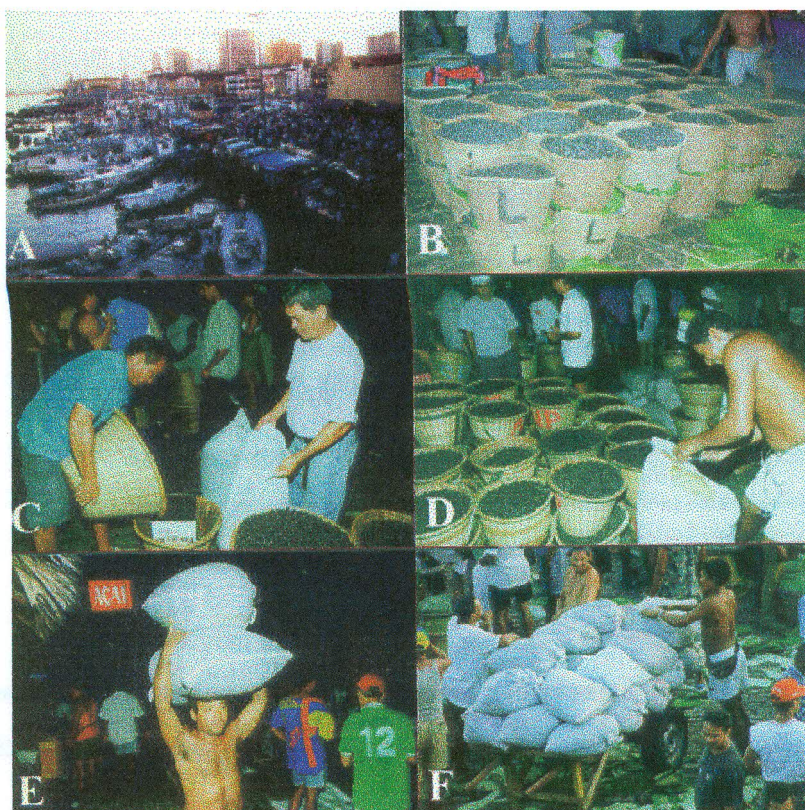


FIGURA 19: Ilustrações da comercialização dos frutos de açai: visão geral do mercado popular “Feira do Açai” (Belém – PA) (A), paneiros de frutos (B), dosagem da quantidade de frutos vendidos (lata de 10kg) (C), costura da saca de 50kg (D), deslocamento até o carro do comprador por carregadores (E) ou transporte por carrinhos de tração humana (F).

A umidade relativa do ar baixa pode favorecer o crescimento de fungos; porém, quando elevada, essa grande quantidade de vapor d’água no ambiente se torna favorável ao desenvolvimento de bactérias e leveduras (Jay, 2001). Como essa condição é plenamente atendida na região produtora de açai, que possui temperatura média de 26°C e umidade relativa do ar de, aproximadamente, 90% o ano todo, observamos uma maior contaminação dos açais avaliados por leveduras do que por bolores.

É enorme o número de condições inadequadas à comercialização de alimentos nessas feiras. Os paneiros ficam em contato direto com o chão e são transportados de forma incorreta, em carrinhos de madeira, ou carregados pelos comerciantes sem nenhuma condição adequada de higiene (Figuras 19 e 20).



FIGURA 20: Paneiros de açaí comumente usados pelos produtores no chão contaminado da feira (A); engradados usados em algumas regiões do Pará.

Mesmo que sejam adotadas boas práticas agrícolas (BPA), o risco de infecções ou intoxicações pode ocorrer durante o processamento, a distribuição e a preparação do alimento devido à manipulação do mesmo (Foerster, 1995)

Os consumidores, inclusive os locais, nunca compram os frutos do açaí: os comerciantes adquirem os frutos das feiras, produzem a polpa e comercializam para os habitantes da cidade. Por ser um produto de elevado consumo entre todos os níveis sociais, diversos tipos de estabelecimentos também fazem do despulpamento dos frutos. Em alguns casos, o despulpamento pode ser manual (o que aumenta os riscos de uma contaminação) ou realizado em locais com estrutura física deficiente (paredes e bancadas de material que contribuem para o desenvolvimento microbiano ou pequenas para a quantidade de açaí processado) (Figuras 21 e 22).

A lavagem dos vegetais é a pratica mais comum para se obter um produto mais seguro. É de primordial importância, no entanto, que essa água seja, antes de tudo, de boa qualidade. Se esse requisito não for atendido, a água passa a ser fonte de contaminação primária dentro da planta de processamento (Berbari *et al.*, 2001).

A desinfecção de frutas e vegetais prolonga a vida útil e reduz o risco de causar uma toxiinfecção, diminuindo o número de microrganismos na superfície do alimento (Buck, 2003). Populações de *Salmonella* Montevideo na superfície e no tecido do talo de tomates podem ser

reduzidas substancialmente imergindo os frutos por dois minutos em uma solução contendo 60 ou 110ppm de cloro, respectivamente; entretanto se a mesma medida de desinfecção for realizada utilizando-se 320ppm da mesma substância o resultado não se mostra eficaz (Beuchat, 1997).



FIGURA 21: Um dos pontos de venda mais procurados em Belém – PA: a barraca do açaí na feira da 25 de setembro.

Microrganismos patogênicos variam sua sensibilidade a agentes sanitizantes. Por exemplo, *Listeria monocytogenes* é geralmente mais resistente à ação do cloro do que *Salmonella spp* e a *E. coli* O157:H7 (Buck, 2003). Dessa forma, a maior barreira para uma eficiente desinfecção de alimentos inclui encontrar uma diluição ideal para cada microrganismo sem alterar as características dos produtos (Beuchat, 1997).

A elevada contaminação por leveduras encontrada no açaí avaliado neste trabalho pode ter origem tanto na microbiota natural dos frutos, quanto na contaminação pós-colheita e/ou durante o processo de obtenção da polpa ou no abuso do binômio tempo x temperatura.

O processamento utilizando o congelamento pode ser uma alternativa viável na manutenção do açaí. O congelamento pode retardar a multiplicação microbiana, aumentando, assim o prazo de validade desse produto e a degradação da polpa por causa da intensa atividade enzimática.

Hoffmann, *et al.* (2001), APHA (2001) e Jay (2001) afirmam que frutas ou produtos derivados de frutas, normalmente apresentam valores de pH inferiores a 4,0, motivo pelo qual os

principais problemas de deterioração a que estão sujeitos restringem-se às conseqüências do desenvolvimento de bolores e leveduras, ao lado de bactérias lácticas e acéticas. E, conseqüentemente, a ocorrência de bolores e leveduras no alimento pode acarretar a elevação do pH, criando condições para a multiplicação de outros microrganismos, inclusive patógenos, desde que atinja valores superiores a 4,5.

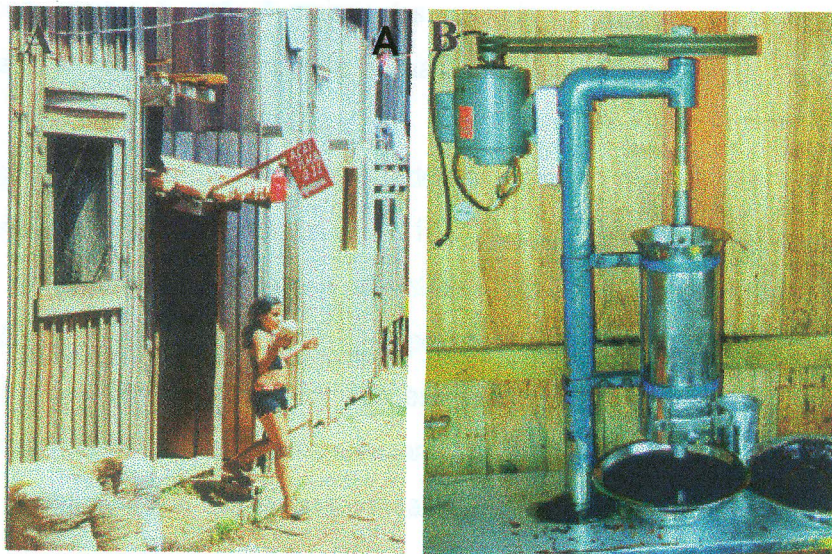


FIGURA 22: Ilustração da venda de açai em Belém – PA (A); despoldadeira artesanal elétrica (B) note o material utilizado na construção do cômodo.

Os valores de pH do açai mencionados pela literatura giram entre 5,8 e 5,9. Rogez (2000) afirma em seu trabalho que o açai tem valor médio de pH de 5,23 e ocorre um discreto processo de alcalinização que pode ser observado no decorrer da maturação do fruto, de forma que o pH aumenta de forma sensível nos meses da coleta.

A avaliação microbiológica realizada por este estudo, não corresponde à literatura envolvendo açai. Por se tratar de uma bebida pouco ácida, esperavamos encontrar uma maior contaminação por bactérias, ao invés de fungos, principalmente leveduras, já que essas estão perfeitamente adaptadas a substratos com pH menores.

Frutas geralmente são muito ácidas para o desenvolvimento da maioria dos microrganismos patogênicos, porém coliformes tem sido recuperados de frutas apesar do baixo pH que

esse tipo de produto apresenta. APHA (2001) mostrou que esse grupo de microrganismos faz parte da microbiota normal de frutas e derivados, de forma que populações de 10^2 e 10^3 por grama de produto processado não são incomuns de serem encontrados. Portanto a presença de coliformes totais e até mesmo de coliformes fecais nesses produtos não deveria ser interpretada como reflexo da baixa qualidade sanitária de produtos frescos sem análises adicionais para indicadores de contaminação fecal mais específicos, como a *E. coli*. A maioria dos vegetais congelados que estão contaminados com coliformes fecais não tem *E. coli* como parte de sua microbiota.

Apesar de não ter sido realizada a determinação do número mais provável de *E. coli* no açaí, pudemos observar que as amostras 8, 14, 16 e 27, amostras que tinham as maiores quantidade de coliformes totais, foram amostras que sofreram manipulação após o processamento, ou seja, o comerciante adquiria baldes de 5, 10, 20kGy de polpa da fruta e produzia o açaí com frutas e guaraná conforme os pedidos eram solicitados. Portanto, esses grandes baldes contendo a polpa de açaí eram, por diversas vezes, retirados do congelador e mantidos fora deles por tempo variável e indeterminado, favorecendo a multiplicação de quaisquer microrganismos que, por ventura, estivesse no meio.

Outro item observado foi a adição de frutas "in natura" sem nenhum processo de desinfecção. Mesmo que esses comerciantes adquiram uma polpa de açaí de qualidade, com baixa carga microbiana, a adição dessas frutas pode ocasionar a contaminação do produto final. Portanto de nada adianta o comerciante adquirir uma boa matéria prima, se as outras não forem ou se, na hora de finalizar a produção, ele não seguir as Boas Práticas de Manipulação.

Por outro lado, um aspecto que deve ser considerado é o conteúdo de água do endocarpo do fruto. Abreu *et al.* (2003) concluiu que a contaminação se dá principalmente em frutas cujo endosperma é mais perecível e apresenta maior conteúdo de água, o que proporciona às bactérias um bom meio para o cultivo. O endocarpo do açaí é pouco lenhoso, ocupando apenas entre 5 e 15% do fruto, fato que sugere uma explicação para a baixa contaminação bacteriana encontrada nesse trabalho.

Diante dos resultados obtidos, podemos supor que os produtores do Pará que distribuem o açaí no Sudeste do país, estão mais preocupados com as Boas Práticas Agrícolas e com as Boas Práticas de Produção e Manipulação e, talvez por isso, tenham conseguido assegurar que o produto

chegue a longas distâncias ainda em condições de consumo. Já que Rogez (2000) e Oliveira (1988) adquiriram a polpa de açaí no mercado local de Belém, enquanto Souto (2001) adquiriu o produto em estabelecimento devidamente registrado no Ministério da Agricultura e Abastecimento onde o processo de extração se dá conforme os **Padrões de Identidade e Qualidade Mínima para Polpa de Açaí** do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2000).

4.2 Determinação do D_{10} da *Salmonella* Enteritidis e *E. coli* em açaí irradiado.

Na Tabela 2 e 3 encontra-se o efeito da dose de radiação em *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis laboratorialmente inoculada em polpa de açaí. Podemos observar que a redução logarítmica da *E. coli* gira em torno de 1 log e da *Salmonella* em mais de 1 log.

TABELA 2 - Efeito da dose de irradiação em *E. coli* inoculada laboratorialmente em polpa de açaí.

Experimento	Dose (kGy)	log
1	0,0	6,49
	0,5	5,74
	1,5	4,81
	2,0	3,95
2	0,0	6,00
	0,5	5,97
	1,5	4,87
	2,0	3,85
3	0,0	6,95
	0,5	5,54
	1,5	4,50
	2,0	3,96
4	0,0	6,60
	0,5	5,67
	1,5	4,72
	2,0	3,98
5	0,0	6,56
	0,5	5,95
	1,5	4,90
	2,0	3,82
6	0,0	6,17
	0,5	5,51
	1,5	4,41
	2,0	3,91

TABELA 3 - Efeito da dose de irradiação em *S. Enteritidis* inoculada laboratorialmente em polpa de açaí.

Experimento	Dose (kGy)	log
1	0,0	6,00
	0,5	5,55
	1,5	4,61
	2,0	3,60
2	0,0	5,00
	0,5	4,77
	1,5	3,90
	2,0	2,51
3	0,0	6,54
	0,5	4,74
	1,5	3,69
	2,0	3,88
4	0,0	6,62
	0,5	5,12
	1,5	4,71
	2,0	3,83
5	0,0	6,69
	0,5	4,96
	1,5	4,53
	2,0	3,79
6	0,0	6,30
	0,5	5,90
	1,5	4,86
	2,0	3,97

Na figura 23 e 24 encontra-se, respectivamente, o gel de agarose utilizado na confirmação de *Salmonella* Enteritidis e de *E. coli* inoculada laboratorialmente no açaí a ser irradiado.

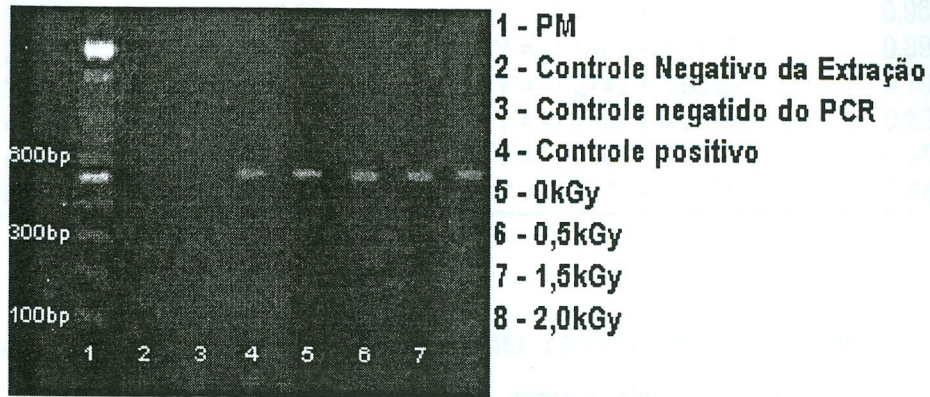


FIGURA 23: Gel de agarose utilizado na identificação de *Salmonella* Enteritidis inoculada artificialmente no açaí.

Na Tabela 4 e a Tabela 5 encontram-se, respectivamente, os valores de D_{10} para *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* no açaí irradiado. De acordo com a análise de regressão linear, a dose necessária para eliminar 90% da população de *E. coli* ficou entre 0,71 e 0,92kGy (figura 25) e para *Salmonella* Enteritidis entre 0,78 e 0,87kGy (Figura 26). Esses valores estão muito maiores se comparados aos obtidos por Kamat, *et al.* (2003). Nesse trabalho, os autores concluíram que uma dose de 0,2kGy é necessária para eliminar 90% de *Escherichia coli* 0157:H19 de sorvete conservado a -72°C e uma dose menor (0,17kGy) se a bactéria estiver no produto armazenado a 0°C .

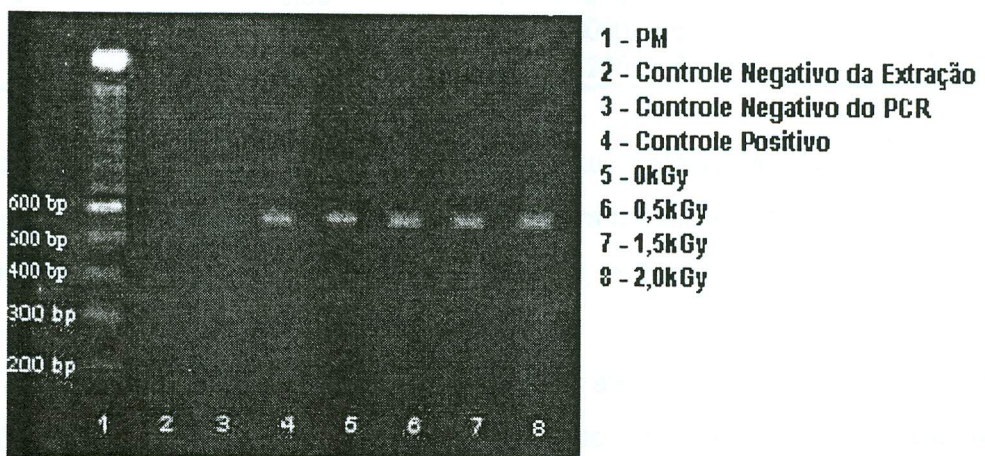


FIGURA 24: Gel de agarose utilizado na identificação de *Escherichia coli* inoculada artificialmente no açaí.

TABELA 4: Efeito da radiação gama em polpa de açaí contaminada laboratorialmente com *Salmonella* Enteritidis.

Experimento	<i>Salmonella</i> Enteritides		
	Valor D ₁₀ (kGy)	Equação linear	R ²
1	0,87	Y = -1,148x + 6,0880	0,9690
2	0,85	Y = -1,170x + 5,2150	0,8971
3	0,78	Y = -1,274x + 5,9865	0,7989
4	0,83	Y = -1,758x + 6,2680	0,8811
5	0,80	Y = -1,246x + 6,2385	0,8544
6	0,87	Y = -1,140x + 6,3975	0,9800

Ao irradiar suco de laranja artificialmente contaminado com *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, Foley *et al.* (2002) concluíram que é possível obter uma redução microbiana de 5 ciclos logarítmicos com doses de 2,65 e 2,4kGy respectivamente. E ao irradiar tomates com 0,5kGy, Moreira *et al.* (2005) não encontrou nenhuma contaminação por fungos, enquanto na amostra controle a contagem foi de 3×10^4 UFC/g.

TABELA 5: Efeito da radiação gama em polpa de açaí contaminada laboratorialmente com *Escherichia coli*.

Experimento	<i>Escherichia coli</i>		
	Valor D ₁₀ (kGy)	Equação linear	R ²
1	0,83	Y = -1,2020x + 6,4495	0,9865
2	0,92	Y = -1,0800x + 6,2525	0,9224
3	0,71	Y = -1,4040x + 6,6415	0,9477
4	0,80	Y = -1,1238x + 6,4805	0,9844
5	0,76	Y = -1,3060x + 6,6135	0,9779
6	0,89	Y = -1,1240x + 6,1240	0,9979

Segundo Niemira *et al.* (2001) a irradiação mostrou-se efetiva na redução da população de *Salmonella* spp em suco de laranja reconstituído. A dose para a eliminação de 90% da população de *Salmonella* Infantis e *Salmonella* Anatum foi de 0,35 e 0,71kGy, respectivamente.

Assim como todos os métodos de preservação de alimentos, a irradiação também tem suas limitações. Cada microrganismo possui diferente sensibilidade à radiação, bem como, cada alimento pode ser exposto a uma dose máxima (ANVISA, 2001b). Quando a população de microrganismos é

irradiada com baixa dose, somente poucas células serão danificadas ou mortas. Com o aumento da dose da irradiação o número de organismos sobreviventes diminuirá exponencialmente. A dose necessária para causar o mesmo efeito pode variar de acordo com a espécie ou a cepa de microrganismos.

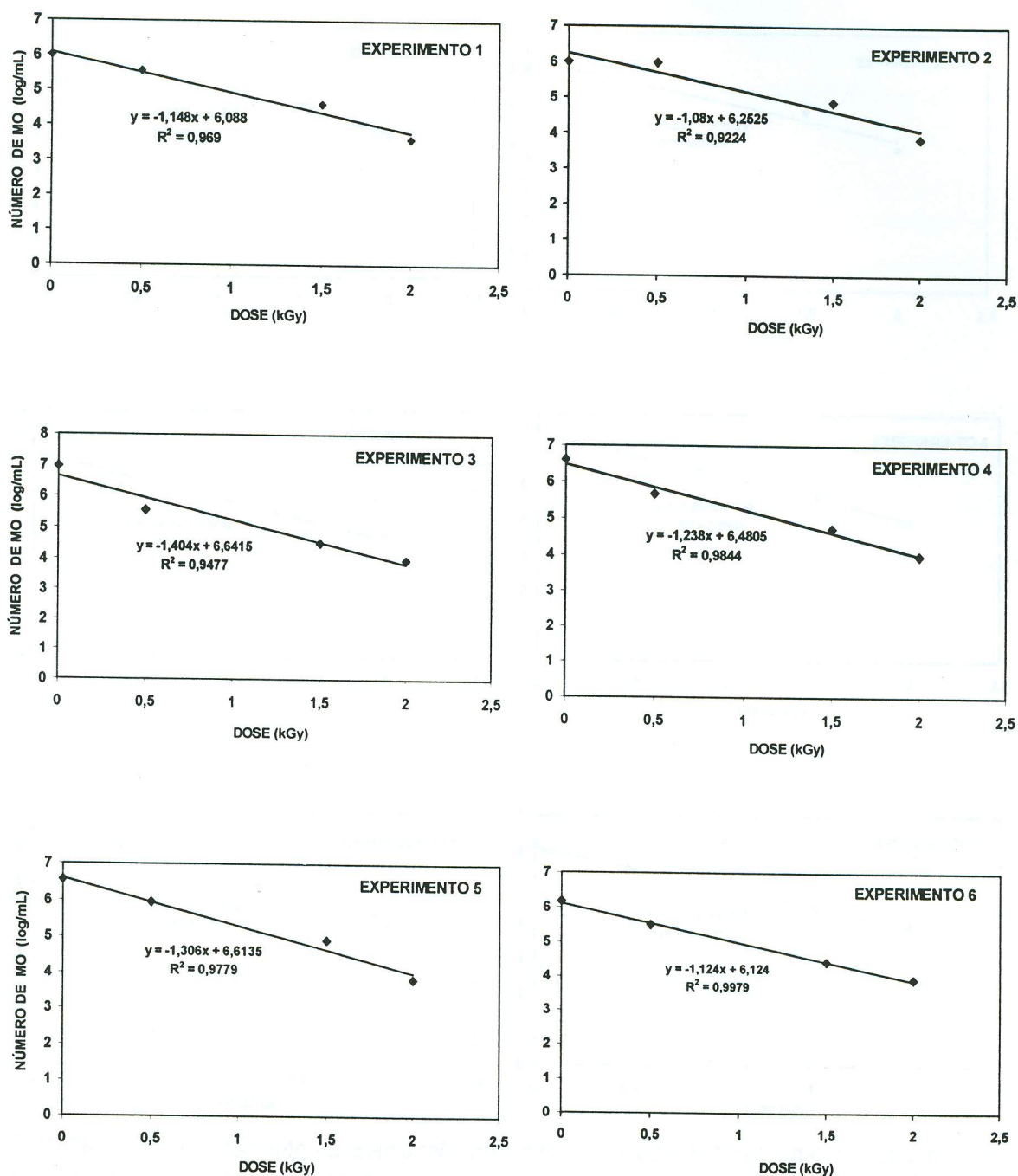


FIGURA 25: Comportamento da *E. coli* inoculada artificialmente na polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) processadas por radiação gama.

Os valores de D_{10} de *Salmonella* Enteritidis e *E. coli* em polpa de açaí encontrado por nossa pesquisa estão muito elevados quando comparados a outros estudos. É possível que os microorganismos tenham sido radioprotegidos pela antocianina, o que explicaria os valores D_{10} tão elevados encontrado nesse trabalho.

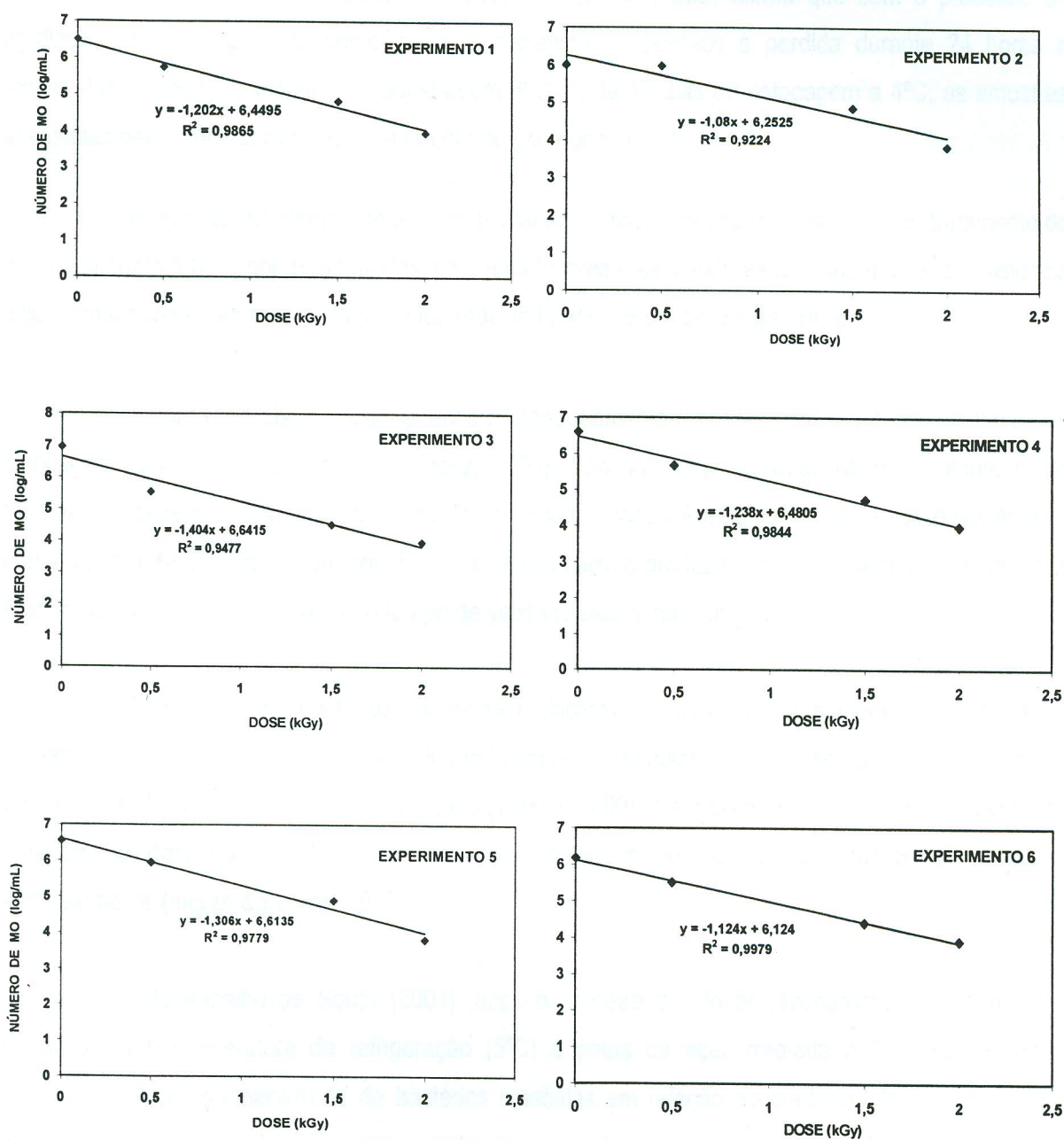


FIGURA 26 - Comportamento da *Salmonella* Enteritidis inoculada artificialmente na polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) processadas por radiação gama.

Ao avaliar a variação de antocianinas em açais frente à radiação gama, Souto (2001) observou uma clara redução de antocianinas das amostras irradiada a 2,50 kGy com relação às demais amostras. Este fato mostra uma sensibilidade do pigmento a essa dose aplicada.

Ao contrário do que esperaríamos, Ayed *et al.* (1999) afirma que sem o processo de irradiação, mais de 20% do conteúdo de antocianina da pomace é perdida durante 24 horas a temperatura ambiente. Depois de irradiada com 6kGy e de 17 dias de estocagem a 4°C, as amostras analisadas pelos autores tiveram um aumento do conteúdo de antocianina.

Rogez (2000) afirma que a carga bacteriana é reduzida pela metade com um tratamento de branqueamento à 80°C por 10 segundos, porém os bolores e as leveduras demonstram uma resistência nitidamente superior ao mesmo tratamento, reduzindo apenas um ciclo logarítmico.

A carga microbiana residual após o branqueamento aumenta com a duração do tempo de estocagem dos frutos após colheita (Rogez, 2000). Isso só comprova que, independentemente do tratamento utilizado, o produtor deve manter as Boas Práticas Agrícolas e a indústria deve adquirir matéria prima de qualidade, com contaminação inicial baixa e produzir a polpa do açaí dentro das Boas Práticas de Manipulação, para que o tempo de validade seja o mais longo possível.

Está claro que, bactérias podem se multiplicar depois do processamento por radiação, e podem atingir o mesmo número de microrganismos da população inicial se forem estocados em temperatura abusiva ou por tempo prolongado (Tritsch, 2000). Além disso, microrganismos patogênicos parecem se desenvolver melhor em alimentos irradiados por causa da redução da microbiota acompanhante (Ingran & Farkas, 1977).

No trabalho de Souto (2001), após o primeiro dia de armazenamento subsequente à irradiação, sob temperatura de refrigeração (5°C) a polpa de açaí irradiada a 2,50 kGy, mostrou redução de 2 ciclos logarítmicos de bactérias mesófilas em relação ao controle. No entanto, com o passar dos dias de estocagem, essa contagem aumentou, possivelmente devido à diminuição da microbiota competitiva, relativamente mais sensível à irradiação, como as bactérias Gram-negativas.

Ainda no trabalho de Souto (2001), segundo teste de coloração de Gram realizado em polpa de açaí, a amostra irradiada a 2,50 kGy apresentou presença somente de bactérias Gram-positivas, enquanto as amostras irradiadas com 0,70kGy apresentaram tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas. Esse fato confirma a maior radiosensibilidade das bactérias gram-negativas frente à radiação gama.

Segundo Spoto (1989), um tratamento promissor para frutas, suco de frutas e vegetais é a combinação da radiação com a refrigeração, pois a esterilização com a irradiação poderia requerer uma dose elevada e ainda assim não promover a inativação de enzimas, responsáveis pelas mudanças sensoriais durante o armazenamento.

Caso seja possível a aplicação dessas técnicas, seria necessário um estudo de viabilidade econômica para avaliar o impacto comercial da polpa de açaí irradiada no mercado nacional. É possível que, por se tratar de pessoas de maior poder econômico, os consumidores de açaí em grandes cidades, como São Paulo e Rio de Janeiro, optem pela aquisição de um alimento mais caro, mas que seja seguro e com maior tempo de estocagem.

Além disso, o congelamento poderia ser realizado quase que imediatamente após o despulpamento. No caso do açaí, que possui um tempo útil muito curto, o congelamento seria importante para preservar a polpa de degradação enzimática e/ou microbiana até o transporte a uma instalação de radiação.

4.3 Análise sensorial

O açaí (*Euterpe oleracea*) irradiado com 1kGy não apresentou diferença sensorial ($p < 0,05$) já que pela tabela de número mínimo de julgamentos corretos para estabelecer diferença significativa quando tivermos 46 provadores são necessários no mínimo 22 julgamentos corretos. E, com o teste realizado, obtivemos apenas 16 (Meilgard *et al.*, 1988).

Ao avaliarem polpa de abacate congelada e irradiada (0,5, 1,0, 1,5 e 2,5 kGy), Valdivia *et al* (2002) comprovaram que a qualidade dos lipídeos encontrados no produto era aceitável, já que os

valores máximos de rancificação encontrados estavam abaixo das especificação do Codex Alimentarius. E que, mesmo submetido à dose máxima de irradiação, a concentração de malondialdeído não foi suficiente para produzir "off-Flavor".

Kamat *et al.* (2003) observaram que o sorvete de baunilha irradiado com 2kGy apresentou mudança no sabor/odor do produto, porém o mesmo não ocorreu ao irradiar sorvete de morango ou chocolate com 3 kGy. Os autores justificaram que é possível que o forte sabor do sorvete de morango ou chocolate tenha mascarado as alterações sensoriais radio-induzidas.

Foley *et al.* (2002) detectaram aromas não característicos no suco de laranja, deixando o produto inaceitável pelo consumidor quando a bebida foi irradiada com 0,7 kGy.

Como o **Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos**, publicado na RDC nº21 de 26 de janeiro de 2001, pela ANVISA/MS, aprova a exposição dos alimentos a qualquer dose de radiação gama, desde que essa não cause nenhuma mudança em suas características sensoriais (ANVISA, 2001b), determinou-se, baseado nos valores de D_{10} obtidos nos experimentos, a dose de 1kGy para a análise sensorial.

Valdívia *et al.* (2002) afirmaram que dependendo da dose absorvida pelo alimento, a irradiação pode causar oxidação lipídica em polpa de frutas ricas em lipídeos, como o abacate. O processamento do açaí utilizando radiação gama poderia ser inviável sensorialmente, já que se trata de uma fruta riquíssima em lipídeos, que poderiam ser oxidados, resultando em odor/sabor rancificado.

No caso do açaí, uma das enzimas mais significativa são as polifenoloxidasas, que catalisam especificamente os compostos fenólicos, como as antocianinas, e as peroxidases, que conduzem indiretamente à oxidação dos lipídeos e, portanto, a alterações sensoriais negativas, à desnaturação das membranas biológicas e à degradação de macromolécula, como antocianinas e outros pigmentos. As peroxidases são as primeiras responsáveis pelo escurecimento enzimático, alterando a coloração da polpa de vermelho/roxo para marrom (Rogez, 2000) (figura 27). Para contornar esse problema, o Centro de Pesquisa Agropecuária da EMBRAPA, em Belém, desenvolveu uma tecnologia para a obtenção do açaí desidratado. Outro método que está sendo utilizado pelas

indústrias de sorvetes da região é submeter o suco "concentrado" à temperatura de 40°C preservando grande parte de suas propriedades (FIEAM,2005).

Os efeitos indiretos da radiação correspondem à maior parte dos efeitos causados pela pelo processamento por radiação gama em vegetais, já que a proporção de água disponível nesses alimentos é muito grande. Dessa forma, a radiólise da água é a principal forma de alteração sensorial nos alimentos e, por indisponibilizar grande parte das moléculas de água, o congelamento se torna um processo que impede ou reduz a alteração de substâncias que possam causar modificações das características originais do açaí. Assim, o açaí congelado suporta doses maiores de radiação quando comparados àqueles conservados refrigerados, considerando as mesmas características do produto.

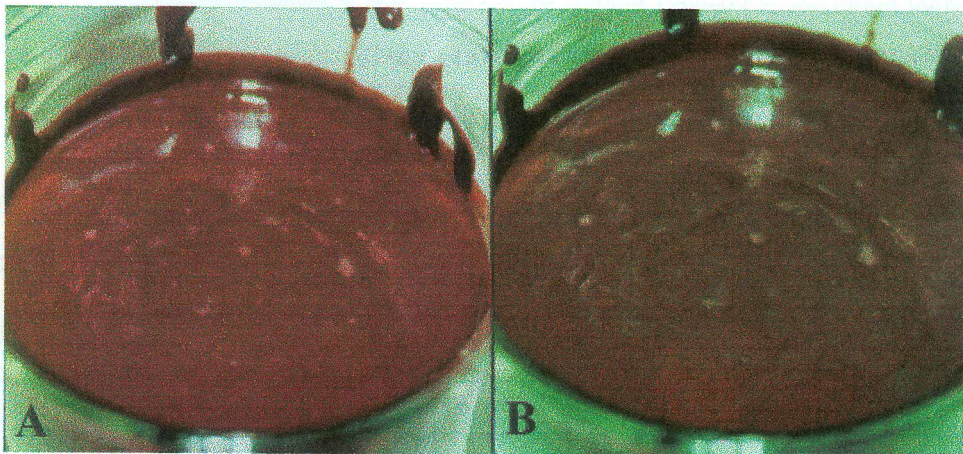


FIGURA 27: Visualização do escurecimento enzimático de um açaí recém preparado (A) e após 20 minutos à temperatura ambiente (B),

Os efeitos diretos da radiação ocorrem muito mais rápido do que os indiretos, portanto é possível que ocorram outras alterações no açaí armazenado por um período maior, mas também é pouco provável que essas alterações sejam significativas já que a análise sensorial do açaí foi realizada oito dias após a irradiação.

Um outro aspecto que pode ser considerado é a presença das antocianinas no açaí. Por se tratarem de excelentes antioxidantes, a presença dessa substância pode radioprotoger os lipídeos presentes na polpa, evitando, assim o sabor de ranço que esse alimento pode desenvolver.

5 CONCLUSÃO

- ❖ Tendo em vista o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, promulgado em Decreto nº3029, RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001, para polpas de frutas, determinado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, podemos concluir que a polpa de açaí comercializado em São Paulo encontra-se em condições satisfatórias para o consumo.
- ❖ Pelos estudos microbiológicos e das análises sensoriais realizados podemos concluir que a polpa de açaí irradiada com 1kGy é microbiologicamente seguro e que não apresenta alterações ($p < 0,05$).
- ❖ O intervalo de valores de D_{10} para *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* em polpa de açaí encontrados nesse estudo é de 0,78 a 0,87kGy e 0,71 a 0,92kGy, respectivamente.
- ❖ Mesmo estando de acordo com a legislação que determina os padrões microbiológicos dos alimentos, a polpa de açaí comercializada em São Paulo avaliado neste trabalho apresenta uma elevada contaminação fúngica.

6 ANEXOS

Anexo A - Receita de “açai na tigela”

Ingredientes:

- ✓ 200 gramas de polpa não muito diluídos
- ✓ 1/2 xícara de granola,
- ✓ 1 colher de sopa de mel
- ✓ 1 colher de sopa de xarope de guaraná
- ✓ 1 banana média

Modo de preparo:

Misture bem o açai, o mel, o guaraná, coloque em uma tigela e reserve. Pique a banana em rodela distribua na tigela com o açai e jogue a granola por cima. Servir gelado.

Variações: A banana pode ser substituída por outra fruta ou polpa.

A fruta que acompanha o açai pode ser batida, nesse caso, ao misturar o açai, bata no liquidificador essa mistura com a fruta que desejar.

Atenção: Esse coquetel tem cerca de 900 calorias.

Anexo B – Considerações nutricionais sobre o suco de açaí, banana e guaraná.

O suco de açaí, banana e guaraná deve ser evitado por pessoas em dieta hipocalórica, já que 100g da fruta fornecem 247kcal. O guaraná, também nativo da Amazônia, tem em suas sementes cafeína, água, amido, ácido tânico, fibra vegetal, cálcio, ferro, fósforo, potássio, tiamina e vitamina A. Esses componentes dão ao guaraná uma ação incomparável como estimulante do sistema nervoso central, tendo, ainda, ação benéfica sobre o estômago e o intestino, livrando-os de toxinas e fermentações. A cafeína, teobromina e teofilina causam um efeito diurético e estimulante, diminuindo o cansaço. Deve ser consumido com cautela porque, quando usado por um período prolongado ou excessivo, pode inibir a capacidade restaurativa do organismo e diminuir a absorção de nutrientes pelo intestino. A banana, talvez a fruta mais popular e consumida do Brasil, é conhecida como excelente fonte de potássio, sendo indicada para evitar câibras. Mas a banana também é rica em carboidratos e minerais como sódio, cloro, fósforo, magnésio, enxofre e cálcio, além das vitaminas A, B1, B2, C e niacina. A potente combinação dos três ingredientes faz desse suco uma verdadeira refeição.

Valor calórico: 410 kcal em 100 ml de suco (sem açúcar).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M.C.; NUNES, I.F.S.; OLIVEIRA, M.M.A. **Perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina, PI.** Higiene Alimentar v.17, n.112, 78-81. 2003.
- American Public Health Associations (APHA). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** APHA: Washington, 2001. 4ed. 676p.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução CNNPA nº12 de 1978. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_polpa.htm Acessado em 04/07/2005.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Resolução – RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001a.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico para irradiação de alimentos.** Resolução – RDC nº21, de 26 de janeiro de 2001b.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico geral para fixação de padrões de qualidade e identidade para polpa de fruta.** Instrução Normativa nº1, de 07 de janeiro de 2000.
- ATHAYDE, A. Polpa de fruta ganha qualidade com esterilização e envase asséptico. **Engenharia de Alimentos.** N.32. 12-16pp. 2000.
- AYED, N., YU, H.-L., LACROIX, M. Improvement of anthocyanin yield and shelf-life extension of grape pomace by gamma irradiation. **Food Research International.** v.32, 539-543p. 1999.
- BECHTLUFFT, C. S. A., LOPES, S., ROGEZ, H. **Influência da água sanitária durante a lavagem do frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) sobre a população microbiana do vinho.** I Congresso da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologias Alimentares do Norte/Nordeste. Fortaleza-CE. 1995.
- BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para a desinfecção de alface minimamente processados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.21, n.2, p.197-201, 2001.
- BEUCHAT, L., R.; RYU, J., H. Produce handling and processing practices. **Emerging Infectious Diseases.** v.3, n.4, pp.459-465. 1997.
- BEZERRA, J., A. Todos no mesmo barco. <http://globo.com/barra.asp?d=/edic/197/reppalmito.htm> Data de acesso: 10/09/2005.

- BOBBIO, P., A.; BOBBIO, F., O. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed.. São Paulo, SP: Varela, 1992. p.111-113.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Estudos sobre o Mercado de Frutas. Brasília, 1999. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/> Data de acesso: 26/07/2005.
- BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. Avaliação das alterações em polpa de manga 'Tommy-Atkins' congeladas. **Rev. Bras. Frutic.** v.24, n.3, p.651-653. 2002.
- BUCK, J., W.; WALCOTT, R., R.; BEUCHAT, L., R. Recent trends in microbiology safety of fruits and vegetable. *Plant Health Progress*. 21/01/2003. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/review/2003/safety/> Acessado em: 05/06/2005.
- BUENO, S. M.; LOPES, M. R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B. ; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. V.61, n.2, p.121-126. 2002.
- CANDRIAN, U. Polymerase chain reaction in food microbiology. **Journal of Microbiological Methods**. v.23, p.89 – 103, 1995.
- CNEN, CDTN; **Irradiação de Alimentos**, Folheto explicativo, 1984.
- COOPER-DRIVER G. A. Contributions of Jeffrey Harborne and Co-workers to the Study of Anthocyanins. **Phytochemistry**. v.56, p.229-236. 2001.
- CVE-SES/SP - Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. www.cve.saude.sp.gov.br Acesso em: 26.set.2005.
- D'AOUST, J-Y. *Salmonella* and international food trade. *International Journal of Food Microbiology*. V.24, 11-31pp. 1994.
- DELINCÉE, H. Rapid detection of irradiated frozen hamburgers. **Rad. Phys. Chem.** v. 63, n.3-6, p. 443-446, 2002.
- DIEHL, J., F. Food Irradiation – past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**. v.63, pp.211-215. 2002..
- DIEHL, J.F.; JOSEPHSON, E. S. Assessment of wholesomeness of irradiated food: a review. **Acta Aliment.** v. 23, n. 2, p. 195-214, 1994.
- DIEHL, J., F. **Safety of irradiated foods**. Marcel Dekker: New York, 1995. 2ed. 453p.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Agropecuária. Cadeia produtiva do açaí é discutida em Belém, PA (30/06/2003) Disponível em: http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2003/junho/bn.2004-11-25.1559354842/mostra_noticia Acessado em 08/02/2005

- EMBRAPA. - Empresa Brasileira de Agropecuária. Embrapa lança, em novembro, a primeira cultivar de açaí (08/10/2004). Disponível em: http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2004/outubro/bn.2004-11-25.4697036548/mostra_noticia Acessado em 12/05/2005.
- EUROPEAN COMMISSION – Health & Consumer Protection Directorate-General. **Risk Profile on the Microbiological Contamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw**. Bruxelas:29/04/2002. 45p.
- FACH, P., GILBERT, M., GRIFFAIS, R., GUILLOUT, J. P., POPOFF, M. R. PCR and gene probe identification of botulinum neurotoxin A-, B-, E-, F-, and producing *Clostridium* spp. and evaluation in food samples. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 61, p. 389-392, 1995.
- FARKAS, J. Irradiation as a method for a descontaminating food. A review. **Inter. J. Food Microbiol.**, v.44, p 189-204. 1998.
- FARKAS, J. Principios de la irradiación de alimentos. In: LA IRRADIACION DE ALIMENTOS EN LATINOAMÉRICA, octubre 24-28,1983, Lima, Perú. **Proceedings...**Vienna: OIEA, 1985, p. 11-23.
- FIEAM – Federação das Indústrias do Estado do Amazonas. Disponível em: <http://www.fieam.org.br/invest/acai.htm> Acessado em 22/09/2005.
- FOLEY, D. M.; PICKETT, K.; VARON, J.; LEE, J.; MIN, D. B.; CAPORASO, F.; PRAKASHI, A. Pasteurization of Fresh Orange Juice Using Gamma Irradiation: Microbiological, Flavor, and Sensory Analyses. **Food Microbiology and Safety**. v.67, n.4, p.1495-1501. 2002.
- FOERSTER, S. B., KIZER, K. W., DiSOGRA, L. K., BAL, D. G., KRIEG, B. F., BUNCH, K. L. California's 5 a dayfor better health campaing an innovative population – based effort to effect large scale dietary change. **A. J. Prevente Med.** v.11, p.124-131, 1995.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. 1ed. Porto Alegre: Artmed, 2002
- FRANCO B. D. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. Atheneu: Rio de Janeiro, 2002.
- GAO, L., MAZZA, G. Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflowers hulls. **J. Food Sci.**, 30, 135. 1996
- GARG, N.; CHUREY, J. J.; SPLITTSOESSER, D. F. Effect of processing conditions on microflora of fresh vegetables. **Journal of food protection**. v.53 n.8 p.701-703. 1990.
- GERBA, C., P.; ROSE, J., B.; HAAS, C., N. Sensitive populations: who is at the greatest risk. **International Journal Food Microbiology**. v.30, pp.113-123. 1996.
- GOODING, C.M.; CHOUDARY, P.V. Comparison of different primers for rapid detection *Salmonella* using the polymerase chain reaction. **Moleculal and Cellular Probes**. v.13, 341-347pp. 1999.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutrition antioxidant intake in humans. **Free Rad. Res.**, 25, 57-74. 1996.

- HAYES, D.J; MURANO, E.A; MURANO, P.S; OLSON, D.G; SAPP, S.G; **Food Irradiation. A Sourcebook**. 136p. 1ed. Ames, 1995.
- HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; BUENO, S. M.; VINTURIM, T. M. Qualidade de sucos e frutas "in natura". **Higiene Alimentar**. v.15, n.80/81, 2001.
- IAEA – International Atomic Energy Agency. Irradiation technology and techniques. 2ed. Technical Reports Series, Vienna, 80, 114. 1982.
- INGRAN, M.; FARKAS, J.; Microbiology of foods pasturised by ionizing radiation. **Acta Alimentaria**, v.6, n.2, p.123-185, 1977.
- INMETRO. Polpa de Fruta Congelada. <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/polpa.asp> Data de acesso: 18/10/2005.
- JAY, J. M. Moderna Food Microbiology. International Thomson Publishing: New York, 2001. 6ed. 660p.
- KAMAT, A.; PINGULKAR, K.; BHUSHAN, B.; GHOLAP, A.; THOMAS, P. Potential application of low dose gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. **Food Control**. v.14. 529-537pp. 2003.
- KASPAR, C.H.; WEISS, R. Bacterial foodborne illness – the unwanted dinner guest. **Clinical Microbiology Newsletter**. v.20, n.19, 161-164p. 1998.
- LACROIX, M.; OUATTARA, B. Combined industrial process with irradiation to assure innocuity and preservation of food products – a review. **Food Research International**. v.33 719-724p. 2000.
- LAGUNAS-SOLAR, M.C.; Radiation processing of foods: an overview of scientific principles and current status. **Journal of Food Protection**. v.58, n.2, 186-192p. 1995.
- LAWLESS, H.T. & HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food**. Maryland: Aspen Publ., 1997, 827p.
- LEE, M.; SEBRANEK, J., G.; OLSON, D., G.; DICKSON, J., S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. **Journal of Food Protection**. v.59, n.1, pp.62-72. 2003
- LEITÃO, Mauro Faber de Freitas. HAGLER, Leda Cristina Santana Mendonça, HAGLER, Allen Norton. **Tratado de Microbiologia: Microbiologia de Alimentos, Microbiologia Sanitária, Microbiologia Industrial**. Manole, 1988. 186p v.1.
- LOAHARANU P. Irradiation as cold pasteurization process of food. **Veterinary Parasitology**. v.64, 71-82pp. 1996.
- LOPES, S. H. Q.; **O uso de tratamentos físicos e químicos sobre a população microbiana do vinho de açaí (*Euterpe oleracea*)**. 1995. Trabalho de conclusão do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Belém, PA.

- MADDEN J.M. Microbial pathogens in fresh produce – the regulatory perspective. **Journal of Food Protection**. v.55, n.19, 821 – 823. 1992.
- MADHAVI, D. L.; SMITH, M. A. L.; BERBER-JIMENEZ, M. D. Expression of anthocyanin in callus cultures of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait). **Journal of Food Science**. V.60, n.2, 351-355p, 1995.
- MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**. v.5, n.5, 607-625p 1999.
- MEILGARD, M., CIVILLE, C.V., CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. 2 ed. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida: 1988. 279p
- MONK, J.D.; BEUCHAT, L.R.; DOYLE, M.P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. **Journal of Food Protection**. v.58, n.2, 197-208pp. 1995.
- MOREHOUSE, M. Food irradiation: the treatment of foods with ionizing radiation. **Food Testing & Analysis**. v.4, n.3, 9p, 1998.
- MOREIRA, G. C.; VIEITES, R. L.; CAMPOS, A. J.; DAMATTO JR, E. Efeito da radiação gama na sanitização do tomate minimamente processado e acondicionado à vácuo. **Higiene Alimentar**. v.19 n.132 29-32p. 2005.
- MURANO, E. A.; HAYES, D. J.; MURANO, P. S.; OLSON, D. G.; SAPP, S. G. **Food Irradiation – A sourcebook**. Ames, 1995. 5ed. 136p.
- NIEMIRA, B.A.; FAN, X.; SOKORAL, K.J.B.; SOMMERS, C.H. Ionizing radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* ATCC 49594 and *Listeria innocua* ATCC 51742 inoculated on endive (*Cichorium endiva*). **Journal of Food Protection** v.66, n.6, 993-998p. 2003.
- NIEMIRA, B. A.; SOMMERS, C. H.; BOYD, G. Irradiation inactivation of four *Salmonella* Serotypes in orange juices with various turbidities. **Journal of Food Protection**. v.64. n.5. pp.614-617. 2001.
- NOGUEIRA, O.L.; CARVALHO, C.J.R.; MILLER, C.H.; GALVÃO E.U.P.; SILVA, H.M.; RODRIGUES, J.E.L.F.; OLIVEIRA, M.S.P.; CARVALHO, J.E.U.; ROCHA NETO, O.G.; NASCIMENTO, W.M.O.; CALZAVARA, B.B.G. **A cultura do açaí**. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental. Brasília, SP, 50p. 1995.
- O'CONNOR-SHAW, R. E.; GUTHRIE, J. A.; DUNLOP, K. J.; ROBERTS, R. Coliforms in processed mango: Significance and control . **International Journal of Food Microbiology**. v.25, n.1, p.51-61
- OLIVEIRA, S.D.; SANTOS, L.R.; SCHUCH, D.M.T.; SILVA, A.B.; SALLE, C.T.P.; CANAL, C.W. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. **Veterinary Microbiology**. v.87, 25-35pp. 2002

- OLIVEIRA, M., S., P.; LEMOS, M. A.; SANTOS V., F.; SANTOS, E., O. Correlações fenotípicas entre caracteres vegetativos e de produção dos frutos em açaizeiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.2, n.1 pp1-5. 2000.
- OLIVEIRA, L.C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**. v.52 p.249-252. 2000.
- OLIVEIRA, M. L. S.; LIMA, C. L. S. ; OLIVEIRA, R. A. Qualidade microbiológica da bebida açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) comercializada na cidade de Belém. **Anais do 6º Encontro de Profissionais de Química da Amazônia**. p.189-185, 1988.
- OMS. **La irradiación de los alimentos una técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos**. Genebra, Organización Mundial de la Salud, p. 18-23, 1989.
- OLSON, D. G. Irradiation of food. **Food Technology**. v.52 n.1 56-62p. 1998.
- PENTEADO, A.L. **As condições adversas na contaminação de frutas**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/sarc/profruta/html/analises7.htm> Acessado em 28/05/2005
- PEREIRA, H. A.; MONTEIRO, P. L.; LEMOS, J. L. S. Produção de vinho de açaí. Disponível em: http://www.estacio.br/graduacao/eng_alimentos/trab_finais/acai.asp Acessado em: 03/10/2005.
- PONTES, A. P. **Ocorrência de enfermidades bacterianas transmitidas por alimentos no estado do Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado. UFRGS, 1999, 124p. Porto Alegre, RS.
- PRAKASH, A.; INTHAJAK, P.; HUIBREGTSE, H.; CAPORASO, E.; FOLEY, D. M. Effects low-dose gamma irradiation and conventional treatments on shelf life and quality characteristics of diced celery. **Journal of Food Science**. v.65, n.6, 1070-1075p. 2000.
- RADOMYSKI, T; MURANO, E. A.; OLSON, D. G.; MURANO P.S. Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. **Journal of Food Protection**. v.57, n.1, 73-86p. 1994.
- ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. Belém: EDUFPA, 2000. 313P.
- SANTOS, L.R.; NASCIMENTO, V.P.; OLIVEIRA, S.D.; FLORES, M.L.; PONTES A.P.; RIBEIRO, A.R.; SALLE, C.T.P.; LOPES, R.F.F. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of *Salmonella* in Artificially inoculated chicken meat. **Revista do Instituto de medicina Tropical de São Paulo**. v.43, n.5. 2001.
- SATIN, M. **Food Irradiation: A guidebook**. Technomic Publishing Company. 183p. 1993.
- SATIN, M. **The case of food irradiation**. International conference of the Agricultural Research Institute, p. 93-110, 1993.

- SAIKI R.; GELFAND D. H.; STOFFEL S.; SCHARF S. J.; HIGUCHI R.; HORN R. T.; MULLIS K. B.; EHRLICH H. A. **Primer- directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.** *Science*, v. 239, p. 487-91, 1988.
- SHEARER, A.E.H.; STRAPP, C.M.; JOERGER, R.D. Evaluation of a Polymerase Chain Reaction – based system for detection of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* O157:h7, *Listeria spp.*, and *Listeria monocytogenes* on fresh fruits and vegetables. **Journal of Food Protection.** v.64, n.6. 788-795pp. 2001.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 294p.
- SKOVGAARD, N. High irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. **Book Reviews / International Journal of Food Microbiology.** v.58, 129-131p. 2000.
- SMITH, J. S.; PILLAI, S. **Irradiation and Food Safety.** v.58 n.11 p.48-55. 2004.
- SOUTO, R. N. M. **Uso da Radiação γ , Combinada à Refrigeração, na Conservação de Polpa de Açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.).** 2001. Tese (Mestrado) – Universidade Federal Rural - Rio de Janeiro.
- SPOTO, M. H. F. **Radiação gama na conservação do suco concentrado de laranja: características físicas, químicas e sensoriais.** Piracicaba, 1989. 88p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- STEFANOVICOVÁ, A. REHÁKOVÁ, H. SKARKOVÁ, A. RIJPENS, N. KUČHTA, T. Conformation of presuntive *Salmonella* colonies by the th polymerase chain reaction. **Journal of Food Protection.** v.61, n.10, 1381 – 1383pp. 1998.
- THAYER, D. W.; BOYD, G.; KIM, A.; FOX JR., J. B.; FARRELL JR., H. M. Fate of gamma-irradiated *Listeria monocytogenes* during refrigerated storage on raw or cooked turkey breast meat. **Journal of Food Protection.** v.61, n.8, 979-987p. 1995.
- TALLENIRE, A. The spectrum of microbial radiation sensitivity. *Radiation Physics and Chemistry.* V.15, pp.83-89. 1980.
- TODA FRUTA. Alimento saudável e planta de várias utilidades. 09 de junho de 2005. Disponível em http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=9370 Data de acesso: 18 de outubro de 2005a.
- TODA FRUTA. A fruta do momento. 06 de junho de 2005. Disponível em http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=9293 Data de acesso: 25 de outubro de 2005b.
- TODA FRUTA. PA: preço do açaí cai em Belém. 07 de julho de 2005. Disponível em http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=9627 Data de acesso: 25 de outubro de 2005c.

- TODA FRUTA. Importação brasileira de fruta de 1961 a 2003. 12 de novembro de 2004. Disponível em http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=7590 Data de acesso: 19 de março de 2005d.
- TODA FRUTA. Principais países e quantidades de frutas produzidas no mundo. 26 de julho de 2005. Disponível em http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=9773 Data de acesso: 19 de março de 2005e.
- TORTORA, G.J.; BERDELL, R.F.; CASE, C. L. **Microbiology an introduction**. 5ed. 696-697p. 1994.
- TRITSCH, G.; L. Food Irradiation. **Nutrition**. V.16. n.7/8, p698-701. 2000.
- VALDIVIA, M.A.; BUSTOS, M.E.; RUIZ, J.; RUIZ, L. The effect of irradiation in the quality of the avocado frozen pulp. **Radiation Physics and Chemistry**. v.63 379-382p. 2002.
- VALENTE, S., T., X.; BATISTI, C., R.; OLIVEIRA, T., T.; NAGEM, T., J.; PINTO, A., S.; PINTO, J., G. **Efeito de cúrcuma e antocianina nos níveis de lipídeos em ratos**. Disponível em: <http://www.sbg.org.br/anteriores/23/resumos/1582-1/> Data de acesso: 05 de dezembro de 2005.
- VERRUMA-BERNARDI, M.R.; SPOTO, M.H.F. Estudo microbiológico e físico-químico do suco de laranja fresco irradiado. **Higiene Alimentar**. v.16. n.97. 76-80pp. 2002.
- VILLAVICENCIO, A. L. C. H. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- WANG, G.; ZHAO, R.; DOYLE, M., P. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. **Appl. Environ. Microbiol.** v.62, pp.2567-2570. 1996.
- WANG, R.-F.; CAO, W.-W.; CERNIGLIA, C. E. A univesal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods. **Journal of Applied Microbiology**. v.83, 727-736p., 1997.
- World Health Organization (WHO). **Safety and nutritional adequacy of irradiated food**. Geneva, p.1-17, 1994.
- World Health Organization (WHO). **High-Dose Irradiation: Wholesomeness of Food Irradiation with Doses Above 10KGy**. 197p. Geneva, 1999.
- YOUSSEF, B. M.; ASKER, A. A.; EL-SAMAHY, S. K.; SWAILAM, H. M. Combined effect of steaming and gamma irradiation on the quality of mango pulp stored at refrigerated temperature. **Food Research International**. v.35, p.1-13. 2002.
- YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; MELO, T.; BARROS, S. E.; FILHO, D. F. S.; YUYAMA, K.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELOS, M.; PIMENTEL, S. A.; BADOLATO, E. S. G. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): Qual o seu potencial nutricional?** Disponível em: www.ufpel.tche.br/sbfruti/anaisxvii_cbf/tecnologia_de_alimentos/264.htm Acessado dia 22/09/2005.