

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICAS DE FERMENTO BIOLÓGICO SECO PROCESSADO POR RADIAÇÃO GAMA

Ingrid Traete Sabundjian<sup>1</sup>, Bianca Guimarães Negrão<sup>2</sup>, Ana Paula Nunes de Sá<sup>3</sup>, Anna Lucia C. H. Villavicencio<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup> Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), São Paulo, São Paulo, Brasil.

\*Autor para correspondências: annalucia.villavicencio@gmail.com

### RESUMO

O objetivo do trabalho foi identificar se houve alteração no crescimento de UFC em placa e na viabilidade de leveduras e bactérias totais em fermento biológico seco tratado por diferentes doses de radiação gama e determinar a dose D<sub>10</sub> para bactérias Totais e Leveduras a fim de analisar se o processamento promoveu algum benefício sem causar inviabilidade do mesmo. As diferentes amostras de fermento biológico foram irradiadas com doses de 0 (controle); 0,5; 1; 2 e 3kGy no Centro de Tecnologia das Radiações do (IPEN/CNEN – SP) em fonte de <sup>60</sup>Co (Gammacell-220), com taxa de dose de 3,51kGy/h. O aumento da dose de radiação provocou uma diminuição na contagem de UFC de leveduras e de bactérias totais, bem como, na frequência de células viáveis de leveduras. A dose de radiação necessária para eliminar 90% da população leveduriforme ficou entre 1,10 e 2,23kGy e para a população bacteriana variou entre 2,31 e 2,95kGy. Nos resultados são demonstrados claramente os pontos negativos da aplicação de radiação ionizante em fermento biológico seco, pois o intervalo de D<sub>10</sub> encontrado para bactérias totais é superior ao encontrado para leveduras. Sendo assim, torna-se inviável a utilização deste recurso para a melhora da qualidade do produto.

*Palavras-chave:* bactérias e leveduras; dose D<sub>10</sub>; método fluorescente DF-BE, radiação ionizante.

### 1. INTRODUÇÃO

Quando se fala de fermento biológico, refere-se a uma levedura selecionada, denominada *Saccharomyces cerevisiae*. O papel principal do fermento é fazer a conversão de açúcares fermentáveis presentes na massa, a gás carbônico e etanol. Além de produzir CO<sub>2</sub>, que é o gás responsável pelo crescimento do pão, o fermento também exerce influência sobre as propriedades reológicas da massa, tornando-a mais elástica e porosa, que após o cozimento é digestível e nutritiva (Food Ingredients Brasil, 2009).

A irradiação de alimentos faz uso da radiação ionizante (partículas energeticamente carregadas, tais como elétrons, partículas alfa, raios gama e raios X), em doses previamente estabelecidas, para diminuir população ou impedir o crescimento de organismos biológicos indesejáveis em alimentos. Pesquisas mostraram conclusivamente que a irradiação de alimentos pode ter inúmeras aplicações benéficas, incluindo, por exemplo, a redução da carga microbiana nos produtos (Farkas and Farkas, 2011, Portal Educação 2013).

A radiação pode causar uma variedade de efeitos físicos e bioquímicos nos microrganismos. Uma vez absorvida por um material biológico, a radiação ionizante pode ter ação direta ou indireta sobre o material que recebeu este processamento (Hansen et al., 2001).

De acordo com Santos et al. (2003), a cinética de morte microbiana está diretamente relacionada com as doses de radiação aplicada segundo uma lei exponencial do tipo:  $N = N_0[10]^{-D/D_{10}}$ , onde  $N_0$  representa a contagem inicial de microrganismos;  $N_0$  é igual a contagem de microrganismos sobreviventes após a aplicação

da dose D de radiação; D é a dose de radiação aplicada e  $D_{10}$  é a dose de radiação necessária para a eliminação de 90% da população de microrganismos.

Atualmente, com o crescimento da competitividade industrial as atenções têm-se voltado cada vez mais para a qualidade dos produtos comercializados (Oliveira et al., 2005). Durante o processo de produção, elaboração e armazenamento, qualquer alimento está sujeito à contaminação por substâncias tóxicas ou por bactérias patogênicas, vírus e parasitos (Catão et al., 2001).

De acordo com a RDC nº 12, os fermentos devem estar em perfeito estado sanitário, e seguir a tolerância para os contaminantes microbianos a eles associados. Contudo, em julho de 2005, um lote de fermento biológico seco foi analisado por órgãos oficiais do estado onde se encontrava o produto e constatou-se a presença de coliformes termotolerante acima do permitido pela legislação brasileira vigente (Brasil, 2001)

Considerando esse fato, o objetivo deste trabalho foi o de identificar se houve alteração no crescimento de UFC em placa e na viabilidade de leveduras e bactérias totais em fermento biológico seco tratado por diferentes doses de radiação gama e se o processamento promoveu algum benefício sem causar inviabilidade do mesmo. A realização de pesquisas com esta classe de produto é muito importante pois envolve microrganismos sensíveis à radiação. O tratamento do fermento biológico seco por radiação foi observado ao longo de 90 dias.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Amostras de Fermento Biológico Seco**

As diferentes amostras de fermento biológico seco foram adquiridas no mercado varejista de São Paulo. Foram utilizadas neste experimento três amostras de fermento de marcas distintas que forma denominadas como: Amostra 1 (embalagem com 11g), Amostra 2 (embalagem com 10g) e Amostra 3 (embalagem com 10g). Foram adquiridas 45 amostras de cada marca para cada repetição. Utilizou-se 9 embalagens de cada uma das três diferentes marcas de Fermento Biológico Seco (por repetição) para cada uma das doses de radiação utilizada.

### **2.2. Tratamento por radiação gama**

As amostras de fermento foram irradiadas com doses de 0 (controle); 0.5; 1; 2 e 3kGy, em suas embalagens originais, no Centro de Tecnologia das Radiações do (IPEN/CNEN – SP) em fonte de  $^{60}\text{Co}$  (Gammacell 220), com taxa de dose de 3,51kGy/h com incerteza de  $\pm 1,7\%$ . Foram utilizados dosímetros Harwell Amber 3042 para monitoramento de dose. Após este procedimento amostras referentes a cada dose de radiação foram destinadas à análise microbiológica e ao teste de viabilidade enquanto as demais amostras foram armazenadas a temperatura ambiente. Passados 30, 60 e 90 dias foram repetidas a análise microbiológica e o teste de viabilidade. As amostras foram mantidas a temperaturas que variaram entre 23,5°C e 24,5°C até a repetição dos procedimentos citados anteriormente.

### **2.3. Análise Microbiológica**

Foi realizada no Laboratório de Alimentos do Centro de Tecnologia das Radiações. Este laboratório é utilizado exclusivamente para análises com microrganismos. Foi utilizada a técnica de Semeadura em profundidade para análise microbiológica. O método utilizado para leveduras foi o mesmo empregado por Bittencourt *et. al* (2005) com a utilização de ágar Sabouraud (OXOID) e incubação (invertidas) por 5 dias a 25°C. Já a metodologia empregada para bactérias utilizou Plate Count Ágar (PCA - OXOID), e incubação

(invertidas) por 48 horas a 37°C. Para ambas as análises, a contagem foi realizada em contador de colônias tipo Quebec e foi baseada na determinação do número de unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

#### 2.4. Teste de viabilidade com corantes fluorescentes

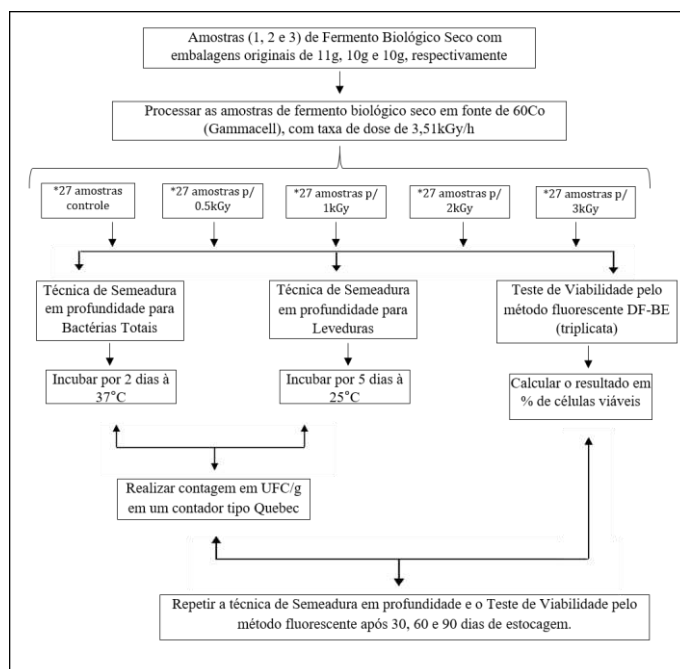
Para a realização deste teste utilizou-se solução de Diacetato de Fluoresceína (3,6 diacetil fluoresceína Sigma Chemical - USA e solução de brometo de etídio (brometo de 2,7 diamino, 9 fenil, 10 etil fenantridina Sigma Chemical - USA). A solução de diacetato de fluoresceína foi diluída 2500 x e a de brometo de etídio 20 x, ambas em água destilada estéril. Em seguida, uma alíquota de 1 g de cada uma das amostras foi transferida a um eppendorf e a este acrescentado 1,5 mL de água destilada estéril. Uma gota desta solução foi colocada em uma lâmina, juntamente com uma gota de DF e outra de BE. A contagem de células vivas (coloração verde) e de células mortas (coloração vermelha) foi realizada em 3 campos distintos que foram focados no microscópio de fluorescência. Obtendo-se o número total de células, calcula-se a porcentagem de células vivas e mortas (para os três campos) e calcula-se a média aritmética das porcentagens, sendo este o resultado do teste de viabilidade para o fermento biológico.

#### 2.5. Cálculo do valor D<sub>10</sub> (kGy) de Bactérias totais e Leveduras

O D<sub>10</sub> corresponde à dose de radiação necessária para eliminar 90 % da população microbiana. O valor D<sub>10</sub> tanto para Bactérias como para Leveduras foi calculado, graficamente, através da análise de regressão linear simples (Microsoft Excel, Microsoft Office, 2013).

#### 2.6 . Delineamento Experimental

O procedimento descrito a seguir foi repetido por 3 vezes (Figura 1).



**Figura 1.** Representação esquemática das etapas do experimento.

\* número total de amostras (amostra 1, 2 e 3) irradiadas para 1 repetição.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Contagem de UFC/g de leveduras e bactérias totais nas amostras controle e irradiadas a 0,5, 1, 2 e 3kGy de fermento biológico seco.

Ao realizar a contagem de UFC/g em placas das amostras controle e irradiadas de fermento obteve-se os resultados expostos na Tabela 1. Nota-se que conforme aumenta-se a dose de radiação, a contagem de leveduras decresce e este fato pode ser observado nas amostras 1, 2 e 3 processadas por radiação. Quanto ao período de armazenamento foi observado que não há relação entre o aumento ou diminuição de UFC/g e os dias de estocagem.

**Tabela 1.** Número de \*UFC/g de leveduras das 3 amostras de fermento biológico seco após o processamento do produto por distintas doses de radiação e diferentes tempos de armazenamento, incubadas a 25°C por 5 dias.

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)	*UFC/g de Leveduras				
		0kGy	0,5kGy	1kGy	2kGy	3kGy
A1	01	**13,8 x 10 <sup>9</sup>	4,9 x 10 <sup>9</sup>	1,9 x 10 <sup>9</sup>	0,59 x 10 <sup>9</sup>	0,46 x 10 <sup>9</sup>
	30	18,3 x 10 <sup>9</sup>	5,07 x 10 <sup>9</sup>	1,26 x 10 <sup>9</sup>	0,52 x 10 <sup>9</sup>	0,38 x 10 <sup>9</sup>
	60	8,98 x 10 <sup>9</sup>	5,03 x 10 <sup>9</sup>	0,81 x 10 <sup>9</sup>	0,67 x 10 <sup>9</sup>	0,49 x 10 <sup>9</sup>
	90	11,9 x 10 <sup>9</sup>	2,25 x 10 <sup>9</sup>	0,78 x 10 <sup>9</sup>	0,56 x 10 <sup>9</sup>	0,49 x 10 <sup>9</sup>
A2	01	15,1 x 10 <sup>9</sup>	4,8 x 10 <sup>9</sup>	0,67 x 10 <sup>9</sup>	0,4 x 10 <sup>9</sup>	0,14 x 10 <sup>9</sup>
	30	6,03 x 10 <sup>9</sup>	0,41 x 10 <sup>9</sup>	0,21 x 10 <sup>9</sup>	0,16 x 10 <sup>9</sup>	0,13 x 10 <sup>9</sup>
	60	4,6 x 10 <sup>9</sup>	0,63 x 10 <sup>9</sup>	0,07 x 10 <sup>9</sup>	0,0003 x 10 <sup>9</sup>	0,00005 x 10 <sup>9</sup>
	90	16 x 10 <sup>9</sup>	0,33 x 10 <sup>9</sup>	0,0002 x 10 <sup>9</sup>	0,0003 x 10 <sup>9</sup>	0,00001 x 10 <sup>9</sup>
A3	01	6,9 x 10 <sup>9</sup>	2,9 x 10 <sup>9</sup>	0,67 x 10 <sup>9</sup>	0,38 x 10 <sup>9</sup>	0,034 x 10 <sup>9</sup>
	30	9,8 x 10 <sup>9</sup>	3,9 x 10 <sup>9</sup>	1,03 x 10 <sup>9</sup>	0,34 x 10 <sup>9</sup>	0,18 x 10 <sup>9</sup>
	60	3,35 x 10 <sup>9</sup>	0,93 x 10 <sup>9</sup>	0,5 x 10 <sup>9</sup>	0,0027 x 10 <sup>9</sup>	0,0005 x 10 <sup>9</sup>
	90	9,3 x 10 <sup>9</sup>	0,17 x 10 <sup>9</sup>	0,0006 x 10 <sup>9</sup>	0,0038 x 10 <sup>9</sup>	0,005 x 10 <sup>9</sup>

\* Unidade Formadora de Colônia por grama;

\*\* Resultados obtidos pela Média de 3 repetições de cada uma das amostras. Análise realizada em duplicata.

Nas amostras 1 e 3 as maiores contagens de UFC/g de leveduras foram observadas nas amostras controle estocadas por 30 dias (18,3 x 10<sup>9</sup> UFC/g e 9,8 x 10<sup>9</sup> UFC/g, respectivamente). Já na amostra 2 a mais elevada contagem foi feita nas amostras controle com 01 dia de armazenamento (15,1 x 10<sup>9</sup> UFC/g). As mais baixas contagens de leveduras nas amostras 1, 2 e 3 foram evidenciadas nas amostras tratadas com doses de 3kGy, porém com distintos tempos de estocagem.

Analisando a Tabela 2 notou-se que com o aumento da dose de radiação ionizante há diminuição na contagem de UFC/g de bactérias totais no fermento biológico seco. Ao relacionar esta contagem ao tempo de armazenamento, observou-se que a maior parte das amostras apresenta uma redução da contagem de bactérias totais ao longo do tempo.

**Tabela 2.** Número de \*UFC/g de bactérias totais das 3 amostras de fermento biológico seco após o processamento do produto por distintas doses de radiação e diferentes tempos de armazenamento, incubadas a 37°C por 48 horas

Amostras	Tempo de armazenamento	*UFC/g de Bactérias Totais				
		0kGy	0,5kGy	1kGy	2kGy	3kGy
A1	01°	**40,5 x 10 <sup>3</sup>	3,98 x 10 <sup>3</sup>	9,27 x 10 <sup>3</sup>	7,5 x 10 <sup>3</sup>	4,03 x 10 <sup>3</sup>
	30°	16,5 x 10 <sup>3</sup>	4,55 x 10 <sup>3</sup>	3,08 x 10 <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>3</sup>
	60°	22,2 x 10 <sup>3</sup>	3,36 x 10 <sup>3</sup>	2,08 x 10 <sup>3</sup>	1,54 x 10 <sup>3</sup>	1,11 x 10 <sup>3</sup>
	90°	3,8 x 10 <sup>3</sup>	1,82 x 10 <sup>3</sup>	1,28 x 10 <sup>3</sup>	0,52 x 10 <sup>3</sup>	0,35 x 10 <sup>3</sup>
A2	01°	84 x 10 <sup>3</sup>	5,5 x 10 <sup>3</sup>	8,9 x 10 <sup>3</sup>	6,44 x 10 <sup>3</sup>	4 x 10 <sup>3</sup>
	30°	11,6 x 10 <sup>3</sup>	4,31 x 10 <sup>3</sup>	3,3 x 10 <sup>3</sup>	2,4 x 10 <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>
	60°	22,9 x 10 <sup>3</sup>	4,43 x 10 <sup>3</sup>	4,6 x 10 <sup>3</sup>	3 x 10 <sup>3</sup>	1,6 x 10 <sup>3</sup>
	90°	22,4 x 10 <sup>3</sup>	5,67 x 10 <sup>3</sup>	4,71 x 10 <sup>3</sup>	2,62 x 10 <sup>3</sup>	2,14 x 10 <sup>3</sup>
A3	01°	79,7 x 10 <sup>3</sup>	4,8 x 10 <sup>3</sup>	9,9 x 10 <sup>3</sup>	6,6 x 10 <sup>3</sup>	4,4 x 10 <sup>3</sup>
	30°	7,25 x 10 <sup>3</sup>	4,2 x 10 <sup>3</sup>	2,3 x 10 <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>3</sup>	1,77 x 10 <sup>3</sup>
	60°	3,52 x 10 <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	1,6 x 10 <sup>3</sup>	1,43 x 10 <sup>3</sup>	0,8 x 10 <sup>3</sup>
	90°	4 x 10 <sup>3</sup>	2,6 x 10 <sup>3</sup>	0,55 x 10 <sup>3</sup>	0,38 x 10 <sup>3</sup>	0,53 x 10 <sup>3</sup>

\* Unidade Formadora de Colônia por grama;

\*\* Resultados obtidos pela Média de 3 repetições de cada uma das amostras. Análise realizada em duplicata.

Nas amostras 1, 2 e 3 as maiores quantidades de bactérias totais foram encontradas nas amostras controle com 01 dia de armazenamento (Tabela 2). Já as mais reduzidas contagens foram evidenciadas nas amostras tratadas com dose de 3kGy e 90 dias de estocagem para a amostra 1; nas amostras processadas com dose de 3kGy e 60 dias de armazenamento para a amostra 2 e nas amostras expostas a doses de 2kGy e 90 dias de estocagem para a amostra 3.

### 3.2. Determinação do D<sub>10</sub> de leveduras e bactérias totais em fermento biológico seco.

Na Tabela 3 encontram-se os valores D<sub>10</sub> para leveduras e bactérias totais constituintes das diferentes amostras de fermento biológico seco irradiado. De acordo com a análise de regressão linear simples, a dose de radiação necessária para eliminar 90% da população leveduriforme ficou entre 1,10 e 2,23kGy para as distintas amostras de fermento. E a dose de radiação necessária para eliminar 90% da população bacteriana variou entre 2,31 e 2,95kGy para as distintas amostras de fermento.

**Tabela 3.** Efeito da radiação gama em leveduras e bactérias totais constituintes de três amostras distintas de fermento biológico seco.

Amostras	Leveduras		
	Equação linear	R <sup>2</sup>	D <sub>10</sub> (kGy)
* 1	y = -0,4486x + 9,8112	R <sup>2</sup> = 0,8529	2,23
* 2	y = -0,5445x + 9,4998	R <sup>2</sup> = 0,6221	1,84
* 3	y = -0,9279x + 9,8443	R <sup>2</sup> = 0,9619	1,1

Amostras	<b>Bactérias Totais</b>		
	Equação linear	R <sup>2</sup>	D <sub>10</sub> (kGy)
* 1	y = -0,4326x + 4,3784	0,8009	2,31
* 2	y = -0,3893x + 4,5681	0,8836	2,57
* 3	y = -0,3390x + 4,4147	0,8333	2,95

\*Média de três repetições

### 2.3. Teste de viabilidade com corantes fluorescentes DF-BE.

A análise de células viáveis e das não viáveis nas amostras de fermento biológico seco processado por diferentes doses de radiação e submetido a tempos de armazenamento distintos, revelou células viáveis de leveduras com fluorescência esverdeada, distribuída de maneira uniforme pelas células. As células não viáveis exibiram fluorescência de tonalidade vermelha brilhante (Figura 2).

Notou-se que com o aumento das doses de radiação empregadas, ocorreu uma redução na frequência de células viáveis (coloração verde) e conseqüentemente verificou-se o aumento de células não viáveis (coloração vermelha). Em relação ao tempo de armazenamento das amostras, observou-se que conforme aumenta o tempo de estocagem diminui a frequência de viáveis.

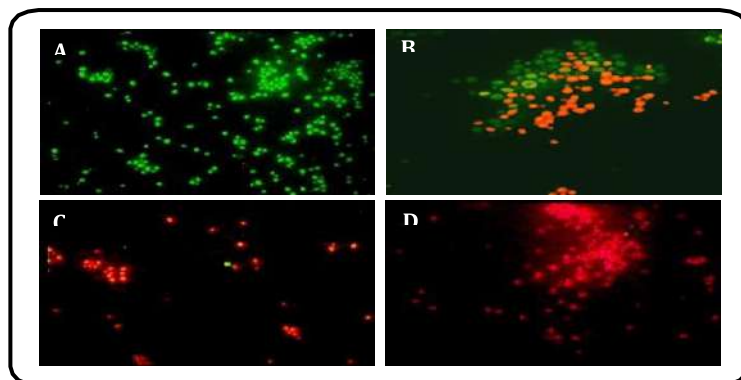
Nas amostras 1, 2 e 3 a mais elevada frequência de células vivas é evidenciada nas amostras controle com 01 de armazenamento, enquanto que a menor quantidade de células viáveis foi encontrada no fermento tratado com doses de 3kGy e com 90 dias de estocagem (Tabela 4).

**Tabela 4.** Frequência de células viáveis das 3 amostras de fermento biológico seco pelo método fluorescente \*(DF-BE) após o processamento do produto por distintas doses de radiação e diferentes tempos de armazenamento.

Amostras	Tempo de armazenamento	Porcentagem de células viáveis (%)				
		0kGy	0,5kGy	1kGy	2kGy	3kGy
A1	1	**87	77	70	66	62
	30	83	75	57	53	47
	60	79	70	57	36	34
	90	65	52	45	31	27
A2	1	92	79	72	71	67
	30	84	74	61	50	47
	60	80	78	62	41	36
	90	68	57	49	29	21
A3	1	90	79	72	69	63
	30	84	70	63	55	48
	60	76	74	62	41	39
	90	71	57	37	15	12

\* DF – Diacetato de Fluoresceína ; BE – Brometo de Etídio;

\*\* Resultados obtidos pela Média de 3 repetições de cada uma das amostras. Análise realizada em triplicata.



**Figura 2 .** Células viáveis (verdes) e células não viáveis (vermelhas) de leveduras visualizadas pelo método de viabilidade com corantes fluorescentes (DF-BE). A: leveduras controle (0kGy) após 01 dia de estocagem; B: leveduras tratadas com 1kGy após 30 dias de armazenamento; C: leveduras processadas com dose de 2kGy após 60 dias de estocagem; D: leveduras tratadas com dose de 3kGy após 30 dias de armazenamento.

Quando uma população de microrganismos é irradiada com uma dose baixa, somente algumas destas células serão danificadas ou mortas. Com o aumento da dose de radiação, o número de microrganismos sobreviventes diminui exponencialmente (como ocorre com o aumento em tratamentos com calor). Diferentes espécies e diferentes linhagens de uma mesma espécie requerem doses diferentes para atingir o mesmo grau de inativação.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados, torna-se inviável a utilização deste recurso para a melhora da qualidade do produto, uma vez que, para reduzirmos consideravelmente a população bacteriana, necessariamente temos que diminuir a praticamente ao mesmo nível, a população de leveduras. Com a redução destes microrganismos iremos alterar consideravelmente a qualidade e a viabilidade do produto.

A frequência de células viáveis decaiu à medida que se aumentou a dose de radiação e o tempo de armazenamento. Devido à baixa atividade de água deste produto, o efeito direto da radiação torna-se predominante, agindo diretamente sobre as células leveduriformes, justificando assim o decréscimo de células viáveis observado. Ao processarmos uma população de microrganismos com baixas doses de radiação, poucas células serão danificadas ou mortas. Conforme se aumentou a dose de radiação o número de microrganismos sobreviventes diminuiu significativamente.

#### Agradecimentos

Ao IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares), ao CNPq pelo auxílio financeiro, sem o qual, não seria possível o desenvolvimento deste trabalho.

#### 5. REFERÊNCIAS

Bittencourt, A. B. F.; Oliveira, C. A. F.; Corrêa, B. (2005). Determinação da Micobiota fúngica de fubá e farinha de milho, comercializados no município de São Paulo, SP. Higiene Alimentar, vol. 19, p. 79-83.

- Brasil. Ministério da Saúde. Decreto - Lei nº 986 de 21 de outubro de 1969. *Institui Normas Básicas sobre Alimentos*. Publicada no Diário Oficial da União de 21 de outubro de 1969. Alterado pela Medida Provisória nº 2.190-34 de 23 de agosto de 2001.
- Castro, M. H. M. M. S.; Marcelino, Marlene S. (2012). *Fermentos químicos, biológicos e naturais*. Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR.
- Catão, R. M. R.; Ceballos, B. S. O. *Listeria spp*, Coliformes Totais e Fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 21, p. 281-287, 2001.
- Chacharkar, M. P.; Tak, B. B.; Bhati, J. (1996). Alteration of yeast activity by gamma radiation. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 213, p.79-86.
- Erwin, C.; Pfuntner, R.; Strawn, L. K. (2016). *Quick Guide to Understanding Food Irradiation*. Virginia Tech FST-241NP.
- Farkas, J. and Farkas, C. M. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science & Technology* 22 (2011) 121e126
- Food Ingredients Brasil. (2009). Panificação: Os ingredientes enriquecedores. Nº 10 – 2009. Disponível em: [www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com).
- Hansen, J. M. & Shaffer, H. L. Sterilization and preservation by radiation sterilization. In: BLOCK, S. S. *Disinfection Sterilization and Preservation*. 5ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 729-746, 2001.
- Miller, R. B. (2005). *Electronic irradiation of foods : an introduction to the technology* . New York : Ed. Springer.
- Oliveira, S. P.; Freitas, F. V.; Muniz, L. B.; Prazeres, R. Condições Higiênico – Sanitárias do comércio de alimentos do Município de Ouro Preto, MG. *Higiene Alimentar*, v. 19, p. 26-31, 2005.
- Portal Educação (2013). Acessado em 15/05/2018: Efeito da irradiação sobre os microrganismos . [www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/nutricao/efeito-da-irradiacao-sobre-os-microrganismos/30907](http://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/nutricao/efeito-da-irradiacao-sobre-os-microrganismos/30907).
- Santos, A. F.; Vizeu, D. M.; Destro, M. T.; Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. Determinação da dose de radiação gama para reduzir a população de *Salmonella spp* em carne de frango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, p. 200-205, 2003.
- Sanz, R.; Galceran, M. T.; Puignou, L. (2003). Field-Flow Fractionation as analytical technique for the characterization of dry yeast: Correlation with wine fermentation activity. *Biotechnol. Prog.*, v. 19, p. 1786-1791, 2003.
- Sommers, C. H; Fan, X. (2006). *Food irradiation research and technology*. Iowa: Blackwell. 317p.
- Xavier, L. S.; Lima, E. O.; Souza, E. L. (2006). Presença de leveduras em produtos lácteos: uma abordagem especial para a significância de leveduras em queijos. *Higiene Alimentar*, v. 20, 61-64.