

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO**

**LUCIANA SALLES VASCONCELOS HENRIQUES**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE OVINA (*Ovis aries*)  
CONGELADA, EMBALADA A VÁCUO E IRRADIADA**

**Campos dos Goytacazes**

**2011**

LUCIANA SALLES VASCONCELOS HENRIQUES

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE OVINA (*Ovis aries*)  
CONGELADA, EMBALADA A VÁCUO E IRRADIADA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Fábio da Costa Henry  
Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Meire Lelis Leal Martins

Campos dos Goytacazes

2011

LUCIANA SALLES VASCONCELOS HENRIQUES

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE OVINA (*Ovis aries*)  
CONGELADA, EMBALADA A VÁCUO E IRRADIADA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Nutrição e Produção Animal.

Aprovada em 16 de fevereiro de 2011

BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Helio de Carvalho Vital  
(Doutor, Engenharia Nuclear) – Purdue University

---

Prof<sup>a</sup>. Silvia Menezes de Faria Pereira  
(Doutora, Engenharia e Ciência dos Materiais) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Meire Lelis Leal Martins  
(Doutora, Molecular Biology and Biotechnology) – University of Sheffield  
(Co-orientadora)

---

Prof. Fábio da Costa Henry  
(Doutor, Medicina Veterinária) - UFF  
(Orientador)

Aos meus pais,

Os principais responsáveis pela concretização deste momento.

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me proporcionado a vida e tantas graças ao longo destes anos;

Aos meus pais, RENATO VASCONCELOS HENRIQUES e CIBELE DE SOUZA SALLES VASCONCELOS HENRIQUES, que não somente me apoiaram e acreditaram em mim, como também participaram ativamente deste período;

À minha irmã, ANA CAROLINA SALLES VASCONCELOS HENRIQUES, que, mesmo à distância, sempre torceu pelo meu sucesso;

Ao meu namorado, VAGNER RICARDO DA SILVA FIUZA, por ser, além do meu grande exemplo no meio acadêmico, o amor da minha vida;

A todos os meus familiares e amigos, que compreenderam a minha ausência em muitos momentos para que esse trabalho fosse concluído;

Ao meu orientador, prof. Dr. FÁBIO DA COSTA HENRY, pela confiança depositada em mim e pela orientação desde o último ano de Iniciação Científica;

À minha co-orientadora, prof<sup>a</sup>. Dra. MEIRE LELIS LEAL MARTINS, por toda a atenção e colaboração. Agradeço por ter disponibilizado o seu laboratório, os materiais, reagentes e inclusive seus orientados para me auxiliarem nas análises microbiológicas;

À prof<sup>a</sup>. Dra. SÍLVIA MENEZES DE FARIA PEREIRA, pelo imenso auxílio e carinho durante todos estes dois anos. Agradeço pelos ensinamentos e amparo em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis. Obrigada por ter tornado a convivência no dia-a-dia mais alegre e harmoniosa. Hoje a tenho como uma amiga;

À Mestre e técnica de nível superior GINA NUNES TEIXEIRA, por tanto ter me ajudado durante as análises bioquímicas e pela constante disponibilidade para me dar conselhos e me ouvir. Agradeço por ter me ensinado as principais características pertinentes ao meio científico: a paciência e a perseverança;

À Doutoranda e técnica de nível superior MARIA DE LOURDES AMARAL BERNARDINO, por também ter me auxiliado durante a minha estadia no Laboratório de Sanidade Animal;

Ao Mestrando JOÃO BATISTA BARBOSA e à Doutoranda SILVANIA ALVES LADEIRA, pelos ensinamentos da rotina laboratorial e auxílio em todas as atividades. Sem vocês não teria conseguido;

À minha querida “amiga-irmã”, ISABELA MARIA DA SILVA ANTONIO, por ter me auxiliado em todas as etapas deste trabalho, das quais incluíram intermináveis horas durante a madrugada. Não tenho palavras para descrever o quanto esta amizade, construída sob laços eternos, é importante para mim;

À técnica ANA LÚCIA PAES BARBOSA, que com sua alegria e simpatia, tornou os meus dias no Laboratório de Microbiologia Industrial e Processamento de Alimentos mais felizes;

Ao Dr. HELIO DE CARVALHO VITAL, por não somente ter permitido que a irradiação das amostras fosse realizada no Centro Tecnológico do Exército, mas também por ter compartilhado comigo, sempre com muito carinho, os seus vastos conhecimentos;

À Dra. DÁLIA DOS PRAZERES RODRIGUES, por ter me recebido tão carinhosamente no Instituto Oswaldo Cruz para a realização das análises sorológicas, e por toda a atenção disponibilizada em todos os momentos em que solicitei a sua ajuda;

À Dra. SAMIRA PIROLA SANTOS MANTILLA que, mesmo não me conhecendo pessoalmente, contribuiu gentilmente na análise dos resultados;

Ao Doutorando LUIZ ANTONIO ECKHARDT PONTES, ao Tecnólogo em Laticínios GERALDO FERREIRA DAVID e a todos os alunos do Laboratório de Microbiologia Industrial e Processamento de Alimentos, por terem me auxiliado em algumas etapas do experimento;

Aos amigos ANNA PAULA MARTINS DE CARVALHO, JUCIMAR JORGEANE DE SOUZA, JULIANA BARRETO NUNES, PEDRO ROMAGUERA ASSUMPÇÃO e VINÍCIUS MOTTA FERREIRA, pelos momentos de alegria dos quais compartilhamos nos últimos dois anos;

À UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF, pelo suporte financeiro e formação profissional;

Aos professores e funcionários da UENF, pela atenção disponibilizada em cada trabalho executado;

À Banca Examinadora, pelas sugestões, conselhos e atenção dispensada.

*"Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não esqueço de que minha vida é a maior empresa do mundo e que posso evitar que ela vá à falência. Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise; Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história; É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma; É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida; É ser feliz e não ter medo dos próprios sentimentos; É saber falar de si mesmo; É ter coragem para ouvir um "não"; É ter segurança para receber uma crítica mesmo que injusta; Pedras no caminho? Guardo todas, um dia vou construir um castelo..."*

*(Fernando Pessoa)*

## RESUMO

HENRIQUES, Luciana Salles Vasconcelos, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2011. Qualidade microbiológica da carne ovina (*Ovis aries*) congelada, embalada a vácuo e irradiada. Orientador: Prof. Dr. Fábio da Costa Henry. Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Meire Lelis Leal Martins.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do processo de irradiação, nas doses de 3 kGy e 5 kGy, aos dois e quatro meses, na conservação da carne ovina, expresso em qualidade microbiológica. Foram coletadas 30 amostras de 250 g de carne de ovinos, oriundos de propriedades localizadas na região Norte Fluminense. As amostras foram removidas imediatamente após o abate e resfriamento das carcaças, embaladas a vácuo, devidamente identificadas (10 como controle, 10 a serem irradiadas com 3 kGy e 10 a serem irradiadas com 5 kGy) e mantidas à temperatura de congelamento (-18°C) até o momento da irradiação. As amostras foram transportas refrigeradas até a Seção de Defesa Nuclear do CTEEx, em Guaratiba – RJ, onde ocorreu a exposição à radiação gama e, em seguida, foram encaminhadas sob refrigeração à UENF, onde permaneceram à temperatura de congelamento até o momento das análises microbiológicas. Foram realizadas a determinação do NMP/g de coliformes totais e coliformes a 45°C, contagem de Estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp. e os resultados foram interpretados por meio de comparação com os padrões da RDC N°12, de 02/01/2001. Do ponto de vista microbiológico, as análises demonstraram que as amostras não irradiadas e avaliadas aos dois e quatro meses encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação vigente e em condições insatisfatórias para o consumo humano. Todas as amostras irradiadas, em ambas as doses, estavam enquadradas nos padrões estabelecidos pela legislação e aptas para o consumo humano do ponto de vista microbiológico em ambos os períodos pesquisados, sendo que a dose ótima de radiação gama foi obtida a 3 kGy. Os resultados indicaram a necessidade de melhoria nas medidas de controle e garantia de segurança alimentar no abate e processamento da carne ovina e demonstraram a eficiência da irradiação na eliminação dos microrganismos que apresentam padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação.

Palavras-chave: irradiação de alimentos, microbiologia; qualidade da carne ovina.

## ABSTRACT

HENRIQUES, Luciana Salles Vasconcelos, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February; 2011. Microbiological quality of sheep (*Ovis aries*) meat frozen, vacuum packed and irradiated. Advisor: Prof. Dr. Fábio da Costa Henry. Co-Advisor: Prof. Dra. Meire Lelis Leal Martins.

This study aimed to evaluate the influence of the irradiation process at doses of 3 kGy and 5 kGy, using two different doses (3 kGy and 5 kGy), at two and four months, in the conservation of sheep meat, expressed in microbiological quality. Thirty samples of 250 g of sheep meat were collected, from properties located in the North Fluminense region. They were removed immediately after slaughter and chilling of carcasses, then vacuum packaged, properly identified (ten as control, ten to be irradiated with 3 kGy and ten to be irradiated with 5 kGy) and kept at freezing temperature (-18°C) until the time of irradiation. The samples were transported under refrigeration to the Defense Nuclear Section CTEEx in Guaratiba - RJ, where they were exposed to gamma radiation and then sent under refrigeration to UENF, where they were kept at freezing temperature until the time of microbiological analysis. Determination of the MPN/g of total coliforms and 45°C coliforms, *Staphylococcus* coagulase positive count, and *Salmonella* spp. detection were performed and the results were interpreted by comparison with the standards of the RDC No. 12, 02/01/2001. From a microbiological standpoint, the analysis showed that non-irradiated samples evaluated at two and four months were outside the parameters established by law and in unsatisfactory conditions for human consumption. All irradiated samples at both doses were within the standards set by legislation and suitable for human consumption from a microbiological standpoint in both periods studied, and the optimal dose of gamma radiation was obtained at 3 kGy. The results indicated a need for improvement in control measures and food safety guarantee in slaughtering and processing of sheep meat and demonstrated the effectiveness of irradiation on the elimination of microorganisms present in microbiological standards established by the legislation.

Key-words: food irradiation, microbiology; sheep meat quality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Radura, símbolo da irradiação de alimentos (BRASIL, 2001a).....	20
<b>Figura 2</b>	Irradiador de pesquisa do CTEEx, do tipo cavidade blindada, com porta e fonte móveis, utilizado na irradiação das amostras de carne ovina.....	35
<b>Figura 3</b>	Coliformes totais em amostras de carne ovina não irradiada (A) e irradiada (B); Caldo Verde Brilhante Bile com tubos de Durhan. Na amostra não irradiada (A), houve crescimento e produção de gás.....	42
<b>Figura 4</b>	Coliformes a 45°C em amostras de carne ovina não irradiada (A) e irradiada (B); Caldo <i>Escherichia Coli</i> com tubos de Durhan. Na amostra não irradiada (A), houve crescimento e produção de gás.....	44
<b>Figura 5</b>	Estafilococos coagulase positiva em amostras de carne ovina não irradiadas. A) Contagem das colônias típicas em contador de colônias; Ágar Baird-Parker. B) Fotomicrografia das colônias; Obj. 40x. A e B) Halos opacos produzidos ao redor das colônias pretas.....	48
<b>Figura 6</b>	Análise de Estafilococos coagulase positiva em amostras de carne ovina irradiadas; Ágar Baird-Parker. Ausência de crescimento nas amostras irradiadas com 3 kGy (A) e 5 kGy (B).....	49
<b>Figura 7</b>	Comparação do resultado da análise de Estafilococos coagulase positiva em amostra de carne ovina não irradiada (A) e irradiada a 3 kGy (B).....	50
<b>Figura 8</b>	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. em amostra de carne ovina não irradiada; Ágar Xilose Lisina Desoxicolato.....	52
<b>Figura 9</b>	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de carne ovina irradiadas. A) Ágar Entérico de Hektoen; B) Ágar Xilose Lisina Desoxicolato. Ausência de crescimento em ambos os meios.....	54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Número Mais Provável por grama (NMP/g) de coliformes totais, aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy .....	41
<b>Tabela 2</b>	Número Mais Provável por grama (NMP/g) de coliformes a 45°C, aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.....	43
<b>Tabela 3</b>	Contagens de <i>Estafilococos</i> coagulase positiva, aos quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kG.....	47
<b>Tabela 4</b>	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp., aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.....	51

## LISTA DE SIGLAS

Å – Ångströms

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BP – Baird-Parker

CCTA – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias

CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear

$^{59}\text{Co}$  – Cobalto-59

$^{60}\text{Co}$  – Cobalto-60

CRT – *Cathode Ray Tube*

$^{137}\text{Cs}$  – Césio-137

CTEx – Centro Tecnológico do Exército

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

DTAs – Doenças Transmitidas por Alimentos

*EC – Escherichia coli*

HE – Entérico de Hektoen

ICMSF – *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*

FAO – *Food and Agriculture Organization*

FDA – *Food and Drug Administration*

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

Gy – Gray

IAEA – *International Atomic Energy Agency*

J – Joule

kCi – kilocurie

kGy – kiloGray

LST – Lauril Sulfato Triptose

LTA – Laboratório de Tecnologia de Alimentos

LSA – Laboratório de Sanidade Animal

MeV – Mega elétron-Volts

MH – Müller Hinton

NASA – *National Aeronautics and Space Administration*

NMP – Número Mais Provável

OMS – Organização Mundial de Saúde

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RNA – Ácido Ribonucléico

SC – Selenito Cistina

TT – Tetracionato

UENF – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

UFC – Unidade Formadora de Colônias

VB – Verde Brilhante Bile

XLD – Xilose Lisina Desoxicolato

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1	CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS.....	18
2.2	IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS.....	19
2.2.1	<b>Histórico</b> .....	19
2.2.2	<b>O processo de irradiação</b> .....	21
2.2.2.1	Formas de energia.....	21
2.2.2.2	Fontes de radiação.....	23
2.2.2.3	Equipamentos.....	24
2.2.2.4	Doses de radiação.....	24
2.2.3	<b>Vantagens e limitações</b> .....	25
2.2.4	<b>Efeitos sobre os microrganismos</b> .....	27
2.2.5	<b>Irradiação de produtos cárneos</b> .....	28
2.2.5.1	Microrganismos pesquisados em carne embalada a vácuo, não maturada.....	29
2.2.5.1.1	<b><i>Coliformes totais e Coliformes a 45°C</i></b> .....	29
2.2.5.1.2	<b><i>Estafilococos coagulase positiva</i></b> .....	30
2.2.5.1.3	<b><i>Salmonella spp.</i></b> .....	32
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	33
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
4.1	AMOSTRAGEM.....	34
4.2	LOCAIS DE EXECUÇÃO.....	34
4.2.1	<b>Irradiação e conservação da carne congelada</b> .....	34
4.2.2	<b>Análises laboratoriais</b> .....	35
4.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	36
4.3.1	<b>Preparo das diluições e meios</b> .....	36
4.3.2	<b>Determinação do NMP/g de coliformes totais e coliformes a 45°C</b> .....	37

4.3.2.1	Determinação do NMP/g de coliformes totais.....	37
4.3.2.2	Determinação do NMP/g de coliformes a 45 °C.....	38
4.3.3	<b>Contagem de Estafilococos coagulase positiva.....</b>	<b>38</b>
4.3.4	<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>39</b>
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
5.1	DETERMINAÇÃO DO NMP/g DE COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES A 45 °C.....	41
5.2	CONTAGEM DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA.....	47
5.3	PESQUISA DE <i>Salmonella</i> spp.....	51
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a carne ovina era considerada um artigo de luxo. Atualmente, tem-se observado um aumento significativo em sua demanda, principalmente nos grandes centros urbanos, como reflexo das mudanças dos hábitos alimentares do consumidor. Este fato vem contribuindo para a expansão da ovinocultura e, desta forma, para o aumento da oferta de uma carne de alta qualidade.

As Regiões Norte e Noroeste Fluminense detêm 35,8% do rebanho de ovinos do Estado do Rio de Janeiro, o que representa 18.226 animais em seu território. O município de Campos dos Goytacazes - RJ, por sua vez, possui a maior porcentagem de animais deste Estado (9,5%), com rebanho efetivo de 4.815 animais.

O aumento crescente do consumo de carne desta espécie, aliado ao considerável número de animais sendo criados no território nacional, justificam a necessidade de maiores pesquisas envolvendo novos métodos de conservação. Isso porque os alimentos ricos em proteínas e ácidos graxos, como a carne e seus derivados, são mais susceptíveis à perda de qualidade durante o armazenamento.

Com o desenvolvimento científico no decorrer dos anos, as técnicas de conservação dos alimentos vêm se aprimorando, de forma a aumentar a vida de prateleira dos produtos e assegurar a qualidade dos mesmos do ponto de vista de saúde pública. Os métodos mais comumente utilizados são o calor, o frio, a secagem, a fermentação, a osmose e a adição de embalagens. Uma das tecnologias alternativas que vem sendo adotada mundialmente para o tratamento de alimentos é a irradiação. Pesquisas demonstram que este método de conservação pode vir a atender aos interesses tanto da indústria quanto dos consumidores, uma vez que possui diversas vantagens, como a manutenção do frescor por períodos mais longos na maioria dos produtos quando comparada, por exemplo, aos tratamentos térmicos convencionais, além de diminuir ou até mesmo eliminar o número de microrganismos presentes nos alimentos, o que reduz o possível risco de DTAs.

Qualquer tipo de alteração nos alimentos vai depender de sua estrutura e composição sendo que, tanto os benefícios, quanto as limitações do emprego da irradiação em carnes como método de conservação, ainda não foram elucidados para todas as espécies animais comerciais. No Brasil, apenas Alves (2008) se dedicou ao estudo do efeito da irradiação na diminuição da contaminação microbiana da carne ovina. No entanto, não foi observada, na literatura consultada, nenhuma pesquisa realizada com a espécie ovina em que tivessem sido avaliados os efeitos da irradiação nos microrganismos que possuem limites estabelecidos, pela legislação brasileira, para carne embalada a vácuo e não maturada. Desta forma, este trabalho teve o objetivo de avaliar a influência do processo de irradiação na conservação da carne ovina, com doses de 3 kGy e 5 kGy, por meio da realização de análises bacteriológicas, aos dois e quatro meses após a irradiação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

A conservação pode ser definida como um método que permite, mesmo em condições que seriam inviáveis, a manutenção dos alimentos os mais estáveis possíveis, por meio do retardo das alterações físicas, químicas e microbiológicas (SILVA JÚNIOR, 2002).

Os antigos métodos de conservação de alimentos, ainda que apresentassem bons resultados, careciam de bases científicas. Com isso, não havia explicações para as origens dos agentes deteriorantes e, por conseguinte, para as causas das modificações ocorridas nos produtos. Mesmo assim, é importante destacar que os primeiros métodos serviram de base para os atuais e ainda hoje são considerados válidos e seguidos (EVANGELISTA, 2005).

Existem diversos métodos de conservação de alimentos disponíveis. O que se observa, na prática, é o emprego de processos combinados como, por exemplo, a pasteurização (conservação pelo calor) combinada com posterior refrigeração (conservação pelo frio) no tratamento do leite (ALVAREZ et al., 2006).

Vários fatores interferem na indicação do processo de conservação dos alimentos, como a sua origem (animal ou vegetal), seu estado físico (sólido, líquido, emulsionado, subdividido), o destino e o tempo de conservação necessário ao produto (EVANGELISTA, 2005). O fator econômico também deve ser levado em consideração pois, dependendo do processo e do tipo de alimento, a indústria não consegue repassar os custos para o preço final e, conseqüentemente, para o consumidor, o qual muitas vezes não consegue visualizar os maiores benefícios de algumas técnicas mais onerosas (SILVA JÚNIOR, 2002).

Independentemente do método de conservação escolhido, é regra absoluta, para todos os alimentos e produtos alimentícios, que estes estejam

em adequadas condições higiênico-sanitárias, uma vez que nenhum processo consegue transformar um alimento deteriorado em um produto saudável (EVANGELISTA, 2005).

## 2.2 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

### 2.2.1 Histórico

A descoberta dos raios-X pelo alemão Wilhelm Konrad Röntgen e da radioatividade pelo francês Antoine Henri Becquerel datam de 1895 e 1896, respectivamente (SEGRÈ, 1980), época em que o emprego da irradiação se restringia à esterilização, aos diagnósticos médicos e dentários e ao tratamento de doenças (BREWER, 2009).

Em 1905, a radiação ionizante foi objeto de pesquisas e patentes pelos EUA e Inglaterra com fins de conservação dos alimentos (IAEA, 1999). Já na década de 50, os EUA estabeleceram, durante a gestão do presidente Eisenhower, um programa de pesquisas científicas sobre a irradiação de alimentos denominado “*Atoms for peace*”. Em 1955, o Departamento Médico do Exército Americano começou a avaliar a segurança no consumo de alimentos irradiados. A NASA, em 1970, visando a uma melhor conservação dos alimentos no espaço, passou a empregar a irradiação como processo de esterilização de carnes (SPOLAORE, 2003).

Em 1980, declarações da FAO e da IAEA asseguravam que doses de até 10 kGy não representavam riscos toxicológicos nem mudanças nutricionais e microbiológicas significativas (HAWTHORN, 2007). Em seguida, em 1983, a comissão do *Codex Alimentarius*, um órgão conjunto da FAO e da OMS editou e distribuiu padrões para alimentos irradiados (EMBRARAD, 2009). Antes mesmo disso, na década de 60, a FDA já havia autorizado o emprego da irradiação em batatas e trigo (SPOLAORE 2003). Durante as décadas de 80 e 90, uma série de regulamentações relacionadas à irradiação de alimentos foi

discutida mundialmente (EMBRARAD, 2009), o que permitiu a aprovação para uso em especiarias, temperos, frutas secas, carne suína, substâncias secas e desidratadas e frangos (IAEA, 1999).

No Brasil, a ANVISA publicou a RDC Nº 21, de 26 de janeiro de 2001, intitulada “Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos”, que autoriza a irradiação de qualquer alimento, desde que a dose máxima absorvida seja inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento e que a dose mínima absorvida seja suficiente para alcançar o objetivo pretendido. Por meio desta resolução, também ficou estabelecido que no rótulo de qualquer produto irradiado, deve constar a frase “Alimento tratado por processo de irradiação”. Ainda que apenas um ingrediente ou parte do produto tenha sido irradiado, a mesma frase deve estar presente com letras não inferiores a um terço (1/3) da letra de maior tamanho dos outros dizeres da rotulagem. A radura, símbolo da irradiação de alimentos, também é obrigatória na embalagem de produtos tratados por radiação ionizante (Figura 1) (BRASIL, 2001a).



**Figura 1.** Radura, símbolo da irradiação de alimentos (BRASIL, 2001a).

Cerca de 40 países possuem legislações específicas que permitem e aprovam a irradiação de mais de 60 alimentos, como grãos, frutas, vegetais e carnes desossadas de aves, bovinos e peixes. No Brasil, os alimentos mais comumente irradiados são temperos vegetais frescos e especiarias (SPOLAORE, 2003).

## 2.2.2 O processo de irradiação

Radiação é a energia propagada de um ponto a outro no espaço ou em um meio material. Sendo assim, a irradiação é um processo físico de aplicação desta energia ao alimento, já embalado ou a granel, visando à inibição de brotamentos em bulbos e tubérculos; retardo na maturação de frutas e vegetais; redução da carga microbiana; eliminação de microrganismos patogênicos; esterilização; desinfecção de grãos, cereais, frutas e especiarias (LANDGRAF, 2005). A exposição de um alimento ou qualquer outro corpo à radiação ocorre sem contato com a fonte de radiação. Sendo assim, um material irradiado não significa que o mesmo esteja contaminado por radiação (SATIN, 2002).

A unidade usualmente utilizada para determinar a dose de radiação ionizante absorvida é o Gy, que corresponde à quantidade de energia absorvida por unidade de massa (VITAL e JÚNIOR, 2008), sendo que 1 Gy corresponde a 1 J de energia absorvida por quilograma de alimento (CLELAND, 2006). O valor D10, por sua vez, corresponde à quantidade de radiação suficiente para destruir 90% dos microrganismos, sendo que este valor varia conforme a temperatura, o tipo de alimento e o próprio microrganismo (NIEMIRA e FAN, 2006).

### 2.2.2.1 Formas de energia

Dependendo do nível de energia liberada, a radiação pode tomar várias formas. Quando há a possibilidade de excitação do átomo e de seus elétrons serem levados às camadas mais externas sem serem ejetados, ou seja, quando a energia disponível não é suficiente para remover elétrons dos átomos, tem-se a radiação não-ionizante (BREWER, 2004). A faixa de frequência mais baixa do ultravioleta (UV-A ou UV próximo), as radiações dos monitores de computador CRT, de celulares e radiofrequências são exemplos

deste tipo de radiação (SILVA, 2007). A radiação ionizante, por sua vez, possui características inversas: esta possui energia capaz de deslocar elétrons dos átomos, produzindo íons, que são partículas carregadas eletricamente (BREWER, 2009). As partículas alfa e beta, os raios gama e X e os nêutrons são exemplos de radiação ionizante (SILVA, 2007).

Os diversos tipos de radiações ionizantes diferem uns dos outros por várias características, dentre elas, o comprimento de onda e o poder de penetração. Quanto menor o comprimento de onda, maior o seu efeito deletério sobre os microrganismos, mas, de uma forma geral, as radiações ionizantes apresentam menor comprimento de onda que as não-ionizantes, ficando em torno de 2000 Å ou menos (LANDGRAF, 2005). Nos alimentos, só podem ser utilizadas as radiações ionizantes que não são capazes de induzir radioatividade no material irradiado, ou seja, aquelas em que a energia seja inferior ao limiar das reações nucleares (BRASIL, 2001a).

Em relação ao poder de penetração, a radiação alfa caracteriza-se por ser bloqueada pela primeira camada de pele ou por uma folha de papel, sendo, portanto, dotada de pouca capacidade de penetração. A radiação beta, por sua vez, é constituída por elétrons, mais penetrantes que a anterior, mas que não ultrapassam uma folha de alumínio com alguns milímetros de espessura. Os nêutrons também não são utilizados na irradiação de alimentos pois, podendo possuir alta energia e grande poder de penetração, podem desencadear o processo de ativação, ou seja, a produção de elementos radioativos (EMBRARAD, 2009). A radiação gama, além do elevado poder de penetração, possui comprimento de onda muito curto, o que permite que ela atravesse um bloco de chumbo de pequena espessura, apesar de não deixar resíduos nos materiais e não torná-los radioativos (FELLOWS, 1994). Finalmente, os raios-X, além de serem menos penetrantes que a radiação gama, possuem baixo rendimento em sua produção (FRAZIER e WESTHOFF, 2000).

No tratamento de materiais, podem ser utilizados os raios gama, raios-X e elétrons acelerados, sendo que os dois últimos são de difícil aplicação na indústria de alimentos devido ao menor poder de penetração (SANTOS et al, 2003).

### 2.2.2.2 Fontes de radiação

No Brasil, as fontes de irradiadores devem ser aquelas autorizadas pela CNEN, segundo as determinações da RDC Nº 21 de 26/01/2001. Ainda segundo esta resolução, as fontes devem seguir os seguintes padrões: a. Isótopos radioativos emissores de radiação gama:  $^{60}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$ ; b. Raios-X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV; c. Elétrons gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10 MeV (BRASIL, 2001a).

Inicialmente, as primeiras fontes de radiação utilizadas em alimentos foram os raios-X. No entanto, seu uso foi descartado em decorrência da baixa potência das máquinas na época. Diante dessa situação e com o surgimento dos reatores nucleares, na década de 50, passou-se a utilizar os raios gama para tal finalidade (FERREIRA, 1999). A fonte mais comum, nesse caso, é o radioisótopo  $^{60}\text{Co}$ , mas também pode ser utilizado o  $^{137}\text{Cs}$ , ambos autorizados pela FDA e por padrões internacionais para irradiação de alimentos (CLELAND, 2006).

Grandes fontes de  $^{137}\text{Cs}$  dificilmente encontram-se disponíveis, por isso raramente são utilizadas (CLELAND, 2006), além do fato de serem solúveis em água, o que gera risco de contaminação ambiental. O  $^{60}\text{Co}$ , comercialmente disponível, vem sendo utilizado como a principal fonte de radiação gama, graças à sua elevada capacidade de penetração, adequada uniformidade de dose e ao baixo risco ambiental (formação de níquel-60, não radioativo). A sua produção é feita em reatores nucleares a partir da irradiação de barras de  $^{59}\text{Co}$ . No entanto, é importante apontar a desvantagem desta fonte, que possui meia-vida curta (5,3 anos), quando comparada a do  $^{137}\text{Cs}$  (30 anos), o que demanda a reposição de 12% da fonte anualmente (HERNANDES et al., 2003).

### 2.2.2.3 Equipamentos

Como mencionado, o irradiador com fonte de  $^{60}\text{Co}$  tem sido o principal equipamento utilizado na indústria de alimentos. Os materiais a serem irradiados (*in natura* ou processados, embalados ou a granel), previamente alocados em “containers”, são movimentados através de um monotrilha até uma câmara de irradiação dotada de portas de chumbo e paredes de 2 metros de espessura revestidas por blindagem de concreto. No interior desta câmara, os alimentos são submetidos a doses de radiação adequadas por um período pré-determinado (CENA/USP, 2007).

Por medidas de segurança, a fonte de radiação fica submersa em uma piscina, caso não esteja em ação, o que permite a absorção da energia da radiação pela água. Dispositivos de travamento e alarme complementam a segurança, uma vez que impedem que a fonte se eleve da piscina quando há necessidade de manutenção no interior da câmara (DANTAS, 1998, *apud* SILVA, 2007). Todo o processo é operado e controlado por profissionais devidamente treinados, tanto de nível básico (carregadores) quanto médio (operadores) e superior qualificados pelo CNEN (supervisores de proteção radiológica) (CENA/USP, 2007).

### 2.2.2.4 Doses de radiação

As doses de radiação aplicadas nos alimentos vão depender das diversas finalidades, do tipo de alimento e do microrganismo em questão. Assim sendo, são conhecidas três classificações: radurização, radicação e radapertização.

A radurização é o emprego de doses mais baixas (inferiores a 1 kGy) a alimentos de baixa acidez e também aos ácidos e secos, sujeitos à ação de bactérias e fungos, respectivamente (SPOLAORE, 2003). Esta dose também inibe brotamentos (alho, batata, cebola), retarda a deterioração de frutas e

hortaliças (morango, tomate), controla a infestação por insetos em cereais e leguminosas (EVANGELISTA, 2005) e parasitos em carnes frescas (MIYAGUSKU et al., 2003).

A radicação ou radiopasteurização utiliza doses intermediárias (entre 1 e 10 kGy) e, basicamente, prolonga a vida-útil dos alimentos (EMBRARAD, 2009). É o intervalo de dose mais requisitado comercialmente e, segundo Miyagusku et al. (2003) e Evangelista (2005), destaca-se por promover a pasteurização de sucos de frutas e retardar a deterioração de carnes, além de controlar a presença de microrganismos patogênicos não formadores de esporos, como os dos gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Mycobacterium*, *Escherichia*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria*, dentre outros.

A radapertização tem função de esterilização de carnes e produtos processados por meio da aplicação de doses mais elevadas (entre 10 e 70 kGy). Também é indicada na destruição de esporos resistentes, como os do *Clostridium botulinum* (MIYAGUSKU et al., 2003). O emprego de doses elevadas é mais justificado na irradiação de alimentos para militares, astronautas ou pacientes imunodeprimidos hospitalizados (OLSON, 1998). Alguns trabalhos avaliam a utilização da irradiação em determinados tipos de refeições que permitam uma maior integração de um paciente imunodeprimido – principalmente quando se trata de crianças e idosos - à sociedade, como o desenvolvido por Pietranera et al. (2003) com sorvetes. Entretanto, nesta pesquisa, foi observado que doses próximas a 10 kGy afetaram a aceitação por parte do paciente, sendo que uma dose de 3 kGy foi suficiente para reduzir a contaminação microbiana total sem comprometer a qualidade sensorial e nutricional.

### 2.2.3 Vantagens e limitações

A irradiação vem se firmando como uma excelente técnica de conservação de alimentos devido às inúmeras vantagens advindas de sua

utilização. Ao prolongar a vida-útil dos alimentos, a irradiação tem como consequências: redução das perdas pós-colheita; abastecimentos na entre-safra; transporte para regiões mais distantes e também a exportação de novos produtos, o que aumenta a competitividade no mercado externo. Este método de conservação, ao reduzir a carga microbiana, promove a melhoria da qualidade dos alimentos, que permanecem saudáveis por mais tempo; diminui os riscos de DTAs e, conseqüentemente, os gastos na área de saúde, além de permitir o fornecimento de alimentos mais seguros a grupos especiais (como astronautas, soldados e pacientes imunodeprimidos) (FELLOWS, 1994; HERNANDES et al., 2003).

O CENA/USP (2007) ressalta as vantagens deste método quando comparado aos tradicionalmente utilizados, como: possibilidade de descontaminação de alimentos resfriados ou congelados sem aumento de temperatura, já que se trata de um processo a frio; aplicação em uma gama enorme de alimentos graças ao seu elevado poder de penetração; o fato de não deixar resíduos surge como uma alternativa ao emprego de tratamentos químicos e, finalmente, a redução no tempo de cocção de certos alimentos, principalmente os desidratados.

No entanto, assim como qualquer outro método de conservação, a irradiação é dotada de algumas desvantagens, que podem ser melhor definidas como limitações. Teoricamente, qualquer alimento pode ser submetido à radiação ionizante, mas na prática isso se torna inviável; há a necessidade, na maioria das vezes, do uso conjunto com outros métodos de conservação; existe a possibilidade de fraudes, uma vez que é difícil afirmar se um alimento foi irradiado ou não; podem ocorrer algumas perdas nutricionais, principalmente de vitaminas A, B1, C, e E (FELLOWS, 1994) e a criação de produtos radiolíticos, o que não é o mesmo que dizer que o alimento se tornou radioativo (HERNANDES et al., 2003). Vale ressaltar que todas essas características indesejáveis são também observadas em outros métodos de conservação e até mesmo, em alguns casos, com maior intensidade.

#### 2.2.4 Efeitos sobre os microrganismos

Alterações da estrutura da membrana celular e das atividades enzimática e metabólica são alguns dos efeitos mais comuns da radiação ionizante sobre os microrganismos presentes nos alimentos. No entanto, as ações mais importantes deste método de conservação são em níveis de DNA e RNA, sendo ambos compostos essenciais para o crescimento e proliferação dos microrganismos (FELLOWS, 1994).

Urbain (1986), *apud* Santos (2006) descreveu que, durante o processo, os microrganismos perdem a capacidade de se reproduzirem e morrem como consequência da intumescência e quebra ao longo da cadeia das moléculas de DNA. Em algumas situações, a morte não ocorre e sim, uma alteração do conteúdo celular e desenvolvimento de células diferentes das originais após a reprodução. No entanto, esta capacidade de auto-regeneração também pode ocorrer em outros tratamentos de conservação e, ainda, ao invés de criar uma resistência, pode causar danos às células sobreviventes, que serão mais sensíveis a fatores ambientais de estresse, a outros agentes de injúria e também a outros métodos de conservação aplicados em sinergismo com a irradiação, como a refrigeração (Szcawinska, 1983, *apud* FARKAS, 1998).

Teoricamente, espera-se que o número de microrganismos diminua proporcionalmente ao aumento da dose. Na prática, isso não é regra, pois nem sempre a velocidade de destruição é linear (FELLOWS, 1994). Vários fatores influenciam na eficácia da dose, como: a radiorresistência, o número e as condições dos microrganismos presentes, a composição e o estado físico do alimento e a presença ou ausência de oxigênio (FRAZIER e WESTHOFF, 2000; LANDGRAF, 2005).

### 2.2.5 Irradiação de produtos cárneos

A carne pode ser definida como o tecido muscular de um número limitado de espécies animais comerciais, como os bovinos, suínos, ovinos, caprinos e, em determinadas áreas específicas, os equinos (SATIN, 2002). Prata e Fukuda (2001), no entanto, acreditam que este conceito seja um tanto limitado, uma vez que a complexidade estrutural única e inimitável deste constituinte demanda por estudos cada vez mais aprofundados de suas características e propriedades, o que permitirá o seu melhor aproveitamento.

Dentre as inúmeras características da carne, duas são importantes do ponto de vista sanitário: primeiramente, o alto teor de água (75%) funciona como um excelente substrato para o crescimento de microrganismos e parasitos. Além disso, por não ser um alimento rico em carboidratos, o crescimento de bactérias lácticas, importantes na inibição do crescimento de alguns patógenos, é desfavorecido (SATIN, 2002). Estes fatores, juntamente com outros, tornam necessária a adoção de diferentes métodos de conservação, muitas vezes combinados, com a finalidade de inibir ou retardar o desenvolvimento de agentes deteriorantes e, por conseguinte, aumentar o prazo de vida comercial das carnes.

Os fatores que exercem influência na qualidade final da carne estão presentes mesmo antes do animal ser abatido. O sistema e o local de criação, além do tipo de transporte até o local de abate, são exemplos de pontos fundamentais que irão interferir no estado higiênico do animal. Alguns microrganismos já estão presentes nos tecidos de animais sadios – mesmo que de forma desprezível - e, em animais doentes ou estressados, a susceptibilidade ao ataque por outros patógenos pela queda da imunidade é ainda maior. A qualidade higiênico-sanitária das instalações de abate também deve ser levada em consideração, além da adoção de práticas adequadas de obtenção de carnes, principalmente nas fases tecnológicas principais – como sangria, evisceração e refrigeração – uma vez que serão de suma importância na limitação da natureza e do grau de contaminação do produto final (SATIN, 2002; PRATA e FUKUDA, 2001). No entanto, alguns patógenos, como

*Escherichia coli* O157:H7, não conseguem ser detectados por protocolos convencionais de inspeção, o que torna o consumidor vulnerável a infecções e/ou intoxicações alimentares (SATIN, 2002).

A ANVISA, por meio da RDC N° 12, de 02 de janeiro de 2001, aprovou o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, em que são estabelecidas as tolerâncias para amostras indicativas e representativas dos microrganismos nos variados grupos de alimentos (BRASIL, 2001b).

No Brasil, diversos estudos acerca da irradiação em carnes já foram desenvolvidos, como os de Siqueira (2001) em carne de tilápia, Valente (2004) em mexilhões, Abreu (2005) em peixe-sapo, Costa (2006) em carne de peru, Santos (2006), em carne de avestruz, Fernandez (2007) em carne de javali, Teixeira (2009) em filé de tilápia, dentre outros. Para a espécie ovina, somente a pesquisa de Alves (2008) foi observada na literatura nacional sem, no entanto, ter considerado os microrganismos que possuem limites estabelecidos pela legislação brasileira para carne embalada a vácuo e não maturada.

Na aplicação deste método de conservação, um fator de fundamental importância é a escolha da dose adequada. A irradiação pode ser aplicada a carnes congeladas e recomenda-se a utilização de doses um pouco mais elevadas do que aquelas aplicadas em carnes resfriadas uma vez que, em alimentos congelados, os efeitos sensoriais são minimizados em decorrência dos radicais livres encontrarem-se mobilizados.

2.2.5.1 Microrganismos pesquisados em carne embalada a vácuo, não maturada

#### 2.2.5.1.1. ***Coliformes totais e Coliformes a 45°C***

Pesquisas envolvendo a enumeração de coliformes totais e coliformes a 45°C (ou coliformes termotolerantes) são amplamente utilizadas em avaliações das condições higiênico-sanitárias dos alimentos (FILHO et al., 2007). As

bactérias do grupo coliformes pertencem à família *Enterobacteriaceae* e diferem de outros membros, como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia* spp., pela capacidade de fermentarem a lactose com produção de gás dentro de 24 – 48 horas (JAY, 2005).

Para os coliformes totais, as reações supracitadas ocorrem a 35°C. Os coliformes a 45°C apresentam a mesma definição dos coliformes totais, exceto por fermentarem a lactose e produzirem gás a 44,5-45,5°C em 24 horas (SILVA et al., 2001).

#### 2.2.5.1.2 ***Estafilococos coagulase positiva***

O gênero *Staphylococcus* é composto por 38 espécies (GANDRA et al., 2005). Dentre elas, cinco se caracterizam pela produção de uma enzima extracelular, a coagulase: *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* subespécie *coagulans* e *S. delphini*, sendo que as duas últimas não apresentam relatos de isolamento em alimentos (VARALDO et al., 1988).

Durante muito tempo, apenas *S. aureus* foi objeto de pesquisas em testes laboratoriais e foi considerado nos padrões microbiológicos sanitários para alimentos das legislações. Este fato ocorria porque se acreditava que apenas esta espécie era dotada da capacidade de produção de coagulase, termonuclease e enterotoxinas. Hoje se sabe que *S. intermedius* e *S. hyicus* também compartilham com *S. aureus* destas características, além de serem morfológicamente semelhantes em meios de cultivo seletivos e diferenciais (GANDRA et al., 2005). Diante desta situação, a legislação brasileira teve que se adaptar às novas descobertas, deixando de determinar os limites toleráveis de *S. aureus* em alimentos (Portaria 451, de 19 de setembro de 1997) e passando a estipular os limites para a presença de *Estafilococos coagulase positiva* (RDC N° 12, de 02/01/2001) (GANDRA, 2003).

A catalase é uma enzima utilizada, basicamente, para diferenciar os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Sua atuação é por meio da inativação do peróxido de hidrogênio e de radicais livres tóxicos formados no interior de células fagocitárias. A termonuclease, por sua vez, tem a propriedade de clivar o DNA ou o RNA. Finalmente, a coagulase tem como papel a formação de coágulos para impedir a fagocitose do microrganismo em questão (GANDRA, 2003).

De todas as espécies deste gênero, *S. aureus* é a que possui maior importância em alimentos devido à sua elevada associação a surtos de intoxicação alimentar (SARKIS, 2002). Em pesquisa realizada com produtos alimentícios comercializados na Itália, foi demonstrado que, das 541 amostras que apresentaram contaminação por Estafilococos coagulase positiva, 99,3% delas foram identificadas como *S. aureus* (NORMANNO et al., 2005). Os alimentos comumente envolvidos são a carne e seus subprodutos, saladas, produtos de padaria com creme e produtos lácteos, que podem ser contaminados durante o processamento ou na própria manipulação em casa e nos estabelecimentos alimentares (SARKIS, 2002). *S. intermedius* e *S. hyicus*, por sua vez, são considerados patógenos de importância médico-veterinária (GANDRA, 2003).

Ultimamente, o meio que tem sido mais utilizado para contagem direta em placas de Estafilococos coagulase positiva é o Ágar BP, adicionado de solução aquosa de telurito de potássio 1% e emulsão de gema de ovo. Estes microrganismos produzem halos opacos, decorrentes da habilidade de hidrolisar a gema de ovo (por ação de lipases e/ou lecitinases), ao redor das colônias pretas (produzidas devido à habilidade de reduzir o telurito de potássio). A desvantagem deste meio é não conseguir impedir o crescimento de competidores, especialmente espécies não patogênicas deste gênero. Sendo assim, há a necessidade de submeter as colônias típicas a testes bioquímicos adicionais, como os da atividade de coagulase, termonuclease e catalase (SILVA et al., 2001) que, no entanto, apenas permitirão a confirmação de que os microrganismos observados pertencem ao grupo dos Estafilococos coagulase positiva, como mencionado. A identificação dos mesmos é de suma

importância no controle e prevenção de doenças de origem alimentar (JAYARAO et al., 1996).

#### 2.2.5.1.3 *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* (HAJDENWURCEL, 1998). Estas bactérias têm sido apontadas universalmente como causadoras de diversos surtos de infecções alimentares e isso se deve à sua ampla distribuição pela natureza, ao seu grande número de reservatórios, à apresentação de sorotipos inespecíficos quanto ao hospedeiro e também a cepas multiresistentes aos antimicrobianos (GERMANO e GERMANO, 2001).

Na maioria das espécies hospedeiras (aves, mamíferos domésticos e silvestres e répteis), as salmonelas não provocam sintomas e se localizam, principalmente, no trato gastrointestinal. Para o homem, no entanto, quase todas as cepas são patogênicas e causam doenças com variadas características e gravidades (GERMANO e GERMANO, 2001). É considerada, pelo ICMSF, como um microrganismo de alto e direto risco tanto para o produtor quanto para o consumidor de alimentos. Os principais veículos de transmissão são a água e os alimentos de origem animal, como a carne, os ovos, o leite e seus derivados não tratados, além de qualquer produto que seja susceptível à contaminação fecal (SARKIS, 2002).

Uma característica importante desse gênero é a capacidade de sobrevivência em baixas temperaturas por serem tolerantes ao congelamento (ARCHER, 2004). Para efeito de irradiação, são os microrganismos Gram-negativos mais resistentes, o que significa, portanto, que as doses mínimas para a sua destruição são suficientes na eliminação das demais bactérias patogênicas Gram-negativas presentes no alimento (CHIRINOS, 2002; FARKAS, 1998; MONK et al., 1995).

### 3 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da irradiação, com doses de 3 kGy e 5 kGy, na eliminação dos microrganismos padronizados pela legislação brasileira (bactérias do grupo Coliformes, *Estafilococos* coagulase positiva e *Salmonella* spp.) para carne embalada a vácuo, não maturada, após dois e quatro meses de coleta e exposição das amostras à radiação gama.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAGEM

Foram coletadas, aleatoriamente, 30 amostras de 250 g de carne de ovinos, oriundos de propriedades localizadas na região Norte Fluminense. As amostras foram removidas imediatamente após o abate e resfriamento das carcaças, separadas em três grupos com 10 amostras cada, a saber: não irradiadas (controle), irradiadas com 3 kGy e irradiadas com 5 kGy e individualmente embaladas a vácuo.

### 4.2 LOCAIS DE EXECUÇÃO

#### 4.2.1 Irradiação e conservação da carne congelada

No mesmo dia de sua obtenção, as amostras foram transportadas sob refrigeração, em recipiente isotérmico, para o LTA do CCTA da UENF, onde foram mantidas à temperatura de congelamento (-18°C) até o momento da exposição à irradiação

A exposição das amostras à radiação gama com fonte de  $^{137}\text{Cs}$  ocorreu no irradiador experimental pertencente à Seção de Defesa Nuclear do CTEEx, em Guaratiba – RJ (Figura 2), cinco dias após a aquisição das amostras. A fonte de  $^{137}\text{Cs}$  possuía 47 kCi de atividade e a taxa de dose média foi de 1,3 kGy/h, sendo que a irradiação das amostras durou 2,3 e 3,8 horas, nas doses de 3 kGy e 5 kGy, respectivamente. Os transportes das amostras para o CTEEx e retorno à UENF foram realizados sob refrigeração.



**Figura 2.** Irradiador de pesquisa do CTE<sub>x</sub>, do tipo cavidade blindada, com porta e fonte móveis, utilizado na irradiação das amostras de carne ovina.

As amostras controle e irradiadas foram mantidas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , em freezer, no LTA da UENF. Previamente às análises, as amostras destinadas a cada etapa foram submetidas a descongelamento lento, a uma temperatura de  $2-4^{\circ}\text{C}$ , em geladeira, durante 12 horas.

#### **4.2.2 Análises laboratoriais**

As análises microbiológicas (determinação do NMP/g de coliformes totais e coliformes a  $45^{\circ}\text{C}$ , contagem de *Estafilococos* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp.) foram realizadas nos Setores de Microbiologia Industrial de Alimentos do LTA e de Bacteriologia Veterinária do LSA, pertencentes ao CCTA da UENF e no Laboratório de Enterobactérias da FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ. Estas análises ocorreram após dois e quatro meses de coleta e exposição das amostras à radiação gama para todos os

grupos analisados (controle, irradiados com 3 kGy e irradiados com 5 kGy), exceto para os mesmos grupos analisados quanto à contagem de *Estafilococos* coagulase positiva, que foram avaliados apenas aos quatro meses. A cada período, foram analisadas cinco amostras de cada grupo.

As análises obedeceram à metodologia descrita por Silva et al. (2001) e os resultados foram interpretados por meio de comparação com os padrões estabelecidos pela RDC N°12, de 02/01/2001 (BRASIL, 2001b).

### 4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

#### 4.3.1 Preparo das diluições e meios

As embalagens a vácuo foram assepticamente abertas (após a limpeza das superfícies externas das mesmas com álcool 70%) e os procedimentos de abertura da embalagem, retirada e pesagem da unidade analítica foram realizados no interior de uma capela de fluxo laminar, sempre próximo à chama do bico de Bunsen. Os instrumentos utilizados foram previamente esterilizados e flambados nesta etapa e nas subsequentes, quando necessário. A unidade analítica utilizada foi de 25 g, removida assepticamente de diversos pontos de cada amostra, acondicionada em saco plástico de *Stomacher* esterilizado, pesada em balança analítica (Gehaka®) e adicionada a 225 mL de água peptonada 0,1% estéril para as futuras análises de coliformes totais e coliformes a 45°C. Para a pesquisa de *Salmonella* spp., foi removida uma outra unidade analítica de 25 g de cada amostra que, após seguir o mesmo procedimento, foi adicionada a 225 mL de Caldo Lactosado (caldo de pré-enriquecimento).

A homogeneização da unidade analítica com o diluente foi feita em um *Stomacher* (60"/230 rpm) (Seward®), obtendo-se assim, a diluição inicial ( $10^{-1}$ ). Para o preparo da segunda diluição ( $10^{-2}$ ), foi transferido, assepticamente, 1,0mL da diluição anterior ( $10^{-1}$ ) para um tubo contendo 9 mL do mesmo

diluinte. O processo foi repetido até a obtenção da diluição  $10^{-5}$ . Para a análise de *Salmonella* spp., apenas a diluição  $10^{-1}$  foi preparada. Foram utilizadas pipetas diferentes na transferência de volumes entre as diluições.

Todos os tubos e placas foram previamente identificados para que as etapas seguintes fossem iniciadas.

Os preparos dos meios de cultura seguiram as recomendações dos fabricantes. Sendo assim, todos os meios, com exceção dos destinados à pesquisa de *Salmonella* spp., foram previamente esterilizados em autoclave vertical (Phoenix<sup>®</sup>) a 121 °C, durante 15 minutos.

#### **4.3.2 Determinação do NMP/g de coliformes totais e coliformes a 45 °C**

##### **4.3.2.1 Determinação do NMP/g de coliformes totais**

Foi realizada a inoculação de 1,0 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em três séries de três tubos contendo 8,0 mL de Caldo LST e tubos de Durhan que, por sua vez, foram incubados a 35 °C, por 48 horas, em estufa de incubação (Quimis<sup>®</sup>). Decorrido este tempo, os tubos que apresentaram turbidez e produção de gás (positivos) no interior dos tubos de Durhan foram submetidos às análises de coliformes totais e coliformes a 45 °C. Para a confirmação de coliformes totais, foi transferida uma alçada para tubos contendo 8,0 mL de Caldo VB e tubos de Durhan, que foram então incubados a 35 °C por 24-48 horas em estufa de incubação. Os resultados positivos foram interpretados na tabela do NMP adequada às diluições inoculadas e o NMP/g foi calculado.

#### 4.3.2.2 Determinação do NMP/g de coliformes a 45°C

Para a determinação do NMP/g de coliformes a 45°C, foi transferida uma alçada dos tubos de Caldo LST com resultados positivos para tubos correspondentes contendo 8,0 mL de caldo EC e tubos de Durhan. A incubação foi feita em banho-maria (Tecnal<sup>®</sup>), até a uma altura superior à superfície do meio de cultura, a uma temperatura de 45,5°C por 24 horas. O número de tubos com produção de gás nos tubos de Durhan (positivos) foi anotado e comparado com uma tabela de NMP adequada às diluições inoculadas.

#### 4.3.3 Contagem de *Estafilococos coagulase positiva*

Para esta análise, foi adotado o método do plaqueamento em superfície. Foram utilizadas as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$  e, a partir delas, foi feita a inoculação de 0,1 mL em placas contendo 20 mL de Ágar BP. Neste meio, foi realizada a adição prévia de solução aquosa de telurito de potássio 1% e emulsão de gema de ovo (Fluka<sup>®</sup>), conforme instruções do fabricante

Os inóculos foram espalhados com o auxílio de uma alça de Drigalski, das placas de maior para as de menor diluição, até que ocorresse a completa absorção do excesso de líquido. Após secagem, as placas foram incubadas, invertidas, a 35°C por 48 horas, em estufa de incubação.

Para a contagem de colônias presuntivas, foram selecionadas as placas com 20 a 200 colônias típicas. Para a confirmação, foram adotados os testes de coloração de gram, coagulase, catalase e termonuclease. *Estafilococos coagulase positiva* caracterizam-se por apresentar resultados positivos em todos os testes supracitados.

O cálculo do número de UFC/g foi baseado no número de colônias típicas contadas, na diluição inoculada e na porcentagem de colônias confirmadas.

#### 4.3.4 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Conforme anteriormente mencionado, apenas a diluição  $10^{-1}$  foi utilizada na pesquisa de *Salmonella* spp. Após a incubação do Caldo Lactosado a 35°C por 20 horas, para a execução da etapa de enriquecimento, foi feita a transferência de 1,0 mL deste caldo para dois tubos (previamente submetidos, junto com os meios seguintes, à fervura por 10 minutos): um contendo 10 mL de Caldo TT e o outro 10 mL de Caldo SC. No momento do uso do Caldo TT, foi adicionado, a cada tudo, 0,2 mL de solução de iodo. Ambos os caldos foram incubados a 35°C, durante 24 horas, em estufa de incubação.

Para o plaqueamento diferencial, os tubos foram agitados em agitador tipo “vortex” (Quimis<sup>®</sup>) e, em seguida, para a obtenção de colônias puras, foi feita a semeadura por esgotamento a partir de uma alçada do caldo TT em placas contendo 20 mL de Ágar HE e 20 mL de Ágar XLD. O mesmo procedimento foi repetido com o caldo SC para os mesmos meios supracitados. As placas foram incubadas invertidas a 35°C por 24 horas em estufa de incubação.

A partir das placas nas quais foram observadas colônias suspeitas de *Salmonella* spp., foi realizado o teste api<sup>®</sup> 20 E (bioMérieux<sup>®</sup>), um sistema padronizado que engloba 21 mini-testes bioquímicos. O teste consiste na inoculação de uma suspensão bacteriana em microtubos com os substratos desidratados. Durante a incubação, a 35°C, por 24 horas, em estufa de incubação, ocorrem reações que são reveladas, após este período, por meio da adição de reagentes, que desencadeiam viragens espontâneas de cor. A leitura das reações foi efetuada consultando-se o Quadro de Leitura presente no kit do teste e a identificação com o Índice de Perfil Analítico da bioMérieux.

As cepas com características bioquímicas de *Salmonella* spp. foram semeadas em tubos contendo Ágar MH e enviadas ao Laboratório de Enterobactérias da FIOCRUZ para a confirmação por meio da realização de sorotipagem.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística referente às análises microbiológicas das carnes não irradiadas (controle) e submetidas à radiação (3 kGy e 5 kGy), aos dois e quatro meses, foi realizada por meio da ANOVA, com nível de significância de 5%, e comparação de médias pelo Teste de Tukey (SAS, 1999).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

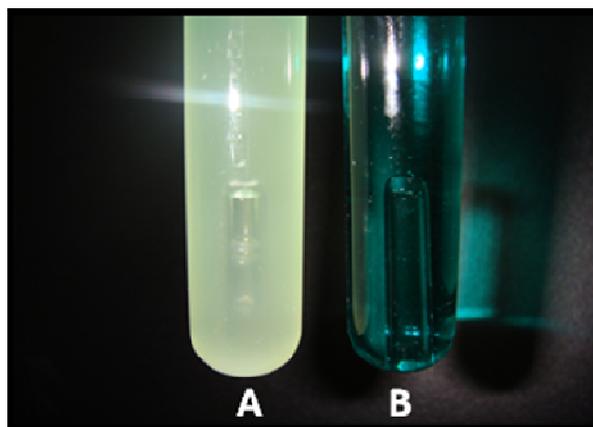
### 5.1 DETERMINAÇÃO DO NMP/g DE COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES A 45°C

Os resultados das análises de coliformes totais, aos dois e quatro meses, das amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e com 5 kGy, encontram-se dispostos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Número Mais Provável por grama (NMP/g) de coliformes totais, aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.

<b>Análises</b>					
		<b>2 meses</b>		<b>4 meses</b>	
	<b>Amostras</b>	<b>Coliformes totais (NMP/g)</b>	<b>Amostras</b>	<b>Coliformes totais (NMP/g)</b>	
<b>Grupo Controle</b>	1	$2,4 \times 10^3$	6	$2,4 \times 10^3$	
	2	$2,4 \times 10^3$	7	$1,1 \times 10^3$	
	3	$2,4 \times 10^3$	8	$2,4 \times 10^3$	
	4	$2,1 \times 10^2$	9	$2,4 \times 10^3$	
	5	$2,1 \times 10^2$	10	$2,4 \times 10^3$	
<b>Irradiadas com 3 kGy</b>	1	-	6	-	
	2	-	7	-	
	3	-	8	-	
	4	-	9	-	
	5	-	10	-	
<b>Irradiadas com 5 kGy</b>	1	-	6	-	
	2	-	7	-	
	3	-	8	-	
	4	-	9	-	
	5	-	10	-	

A RDC N° 12, de 02/01/2001, não estabelece padrões microbiológicos para coliformes totais em nenhuma categoria de alimento. No entanto, a partir dos resultados encontrados, foi possível observar que todas as amostras de carne ovina não irradiadas analisadas apresentaram contaminação por coliformes totais (Tabela 1), representada pelo crescimento e produção de gás no meio de cultura utilizado (Figura 3), tanto aos dois meses quanto aos quatro meses. Também foi constatado que não houve diferença significativa na contagem deste grupo de microrganismos entre os dois períodos estudados ( $p>0,05$ ). A contagem elevada de coliformes totais em alimentos pressupõe falhas durante o processamento, higienização ou tratamentos térmicos inadequados. (PARDI et al., 2001). Contudo, neste vasto grupo que inclui cerca de 20 espécies, não estão presentes apenas bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente, mas também espécies não entéricas como, por exemplo, as do gênero *Serratia* e *Aeromonas*. Assim sendo, a sua enumeração em alimentos é menos representativa como indicador de contaminação fecal do que a de coliformes a 45°C ou *E. coli* (SILVA et al., 2001).



**Figura 3.** Coliformes totais em amostras de carne ovina não irradiada (A) e irradiada (B); Caldo Verde Brillhante Bile com tubos de Durhan. Na amostra não irradiada (A), houve crescimento e produção de gás.

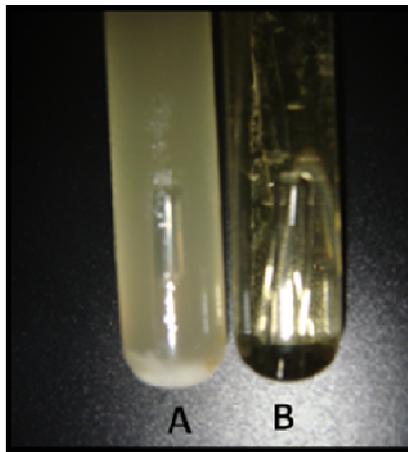
Não houve crescimento e/ou produção de gás de coliformes totais nas amostras irradiadas com doses de 3 kGy e 5 kGy em ambos os intervalos de tempo analisados (Tabela 1 e Figura 3), o que demonstrou a eficiência da radiação gama na eliminação deste grupo de microrganismos na carne ovina. Por ser mais econômica, mais rapidamente aplicável e apresentar menores chances de causar alterações sensoriais na carne, a dose de 3 kGy seria a mais recomendada.

Os resultados das análises de coliformes a 45°C, aos dois e quatro meses, das amostras de carne ovina não irradiadas, estão representados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Número Mais Provável por grama (NMP/g) de coliformes a 45°C, aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.

<b>Análises</b>				
<b>2 meses</b>		<b>4 meses</b>		
	<b>Amostras</b>	<b>Coliformes a 45°C (NMP/g)</b>	<b>Amostras</b>	<b>Coliformes a 45°C (NMP/g)</b>
<b>Grupo Controle</b>	1	2,4 x 10 <sup>3</sup>	6	2,4 x 10 <sup>3</sup>
	2	2,4 x 10 <sup>3</sup>	7	93
	3	2,4 x 10 <sup>3</sup>	8	2,4 x 10 <sup>3</sup>
	4	7	9	2,4 x 10 <sup>3</sup>
	5	28	10	2,4 x 10 <sup>3</sup>
<b>Irradiadas com 3 kGy</b>	1	-	6	-
	2	-	7	-
	3	-	8	-
	4	-	9	-
	5	-	10	-
<b>Irradiadas com 5 kGy</b>	1	-	6	-
	2	-	7	-
	3	-	8	-
	4	-	9	-
	5	-	10	-

A RDC N° 12, de 02/01/2001, estabelece padrões microbiológicos para coliformes a 45°C em carnes embaladas a vácuo, não maturadas. Esta Resolução determina que, em um grupo de cinco amostras analisadas, apenas duas podem apresentar contagens entre  $10^3$  e  $10^4$  para que sejam classificadas como aceitáveis. No presente estudo, das cinco amostras não irradiadas avaliadas aos dois meses, três apresentaram contagens dentro deste intervalo e, aos quatro meses, quatro amostras também se apresentaram entre estes valores (Tabela 2), representado pelo crescimento e/ou produção de gás no meio de cultura utilizado (Figura 4). Sendo assim, estes resultados demonstraram que as amostras não irradiadas encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação vigente e impróprias para o consumo humano do ponto de vista microbiológico. Não houve diferença significativa na contagem deste grupo de microrganismos entre os dois períodos estudados ( $p>0,05$ ).



**Figura 4.** Coliformes a 45°C em amostras de carne ovina não irradiada (A) e irradiada (B); Caldo Escherichia Coli com tubos de Durham. Na amostra não irradiada (A), houve crescimento e produção de gás.

A presença de coliformes a 45°C em alimentos é sugestiva de contaminação fecal, uma vez que há uma elevada incidência neste grupo de *E. coli*, que tem como habitat primário o intestino de humanos e animais. No entanto, os coliformes a 45°C também incluem algumas cepas que podem ser encontradas em outros ambientes (vegetais e solo), como *Enterobacter* e *Klebsiella*, o que torna cautelosa a correlação direta entre este grupo e contaminações de origem fecal (SILVA et al., 2006).

Não houve crescimento e/ou produção de gás de coliformes a 45°C nas amostras irradiadas com doses de 3 kGy e 5 kGy em ambos os intervalos de tempo analisados (Figura 4), o que demonstrou a eficiência da radiação gama na eliminação deste grupo de microrganismos na carne ovina e o seu enquadramento na legislação vigente.

Informações acerca do efeito da radiação gama na carga microbiana e extensão da vida útil da carne de ovinos ainda são limitadas, principalmente quando se tratam dos microrganismos que apresentam padrões estabelecidos pela RDC N° 12, de 02/01/2001. Portanto, para efeitos de comparação, pode-se prever que os resultados deste estudo estão de acordo com aqueles reportados para outras espécies.

Sedeh et al. (2007) realizaram uma pesquisa na qual amostras de carne bovina foram irradiadas a 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 kGy e posteriormente mantidas sob refrigeração (4-7°C) por três semanas e em freezer (-18°C) por 8 meses. As análises microbiológicas demonstraram que o número de coliformes diminuiu significativamente com o aumento da dose de irradiação, tanto para as amostras refrigeradas quanto para as congeladas, sendo que este efeito foi mais pronunciado naquelas que foram mantidas sob congelamento. Também foi observado que a dose ótima foi obtida a 3 kGy, isto é, a mesma dose em que foram observados resultados satisfatórios na presente pesquisa em ovinos.

Oliveira et al. (2009) testaram o efeito da irradiação (1,5 e 3,0 kGy) e de dois tipos de embalagem (convencional e a vácuo) no NMP/g de coliformes totais e coliformes a 45°C em carne de frango refrigerada durante 30 dias. Durante os intervalos de tempo estudados, a irradiação, em ambas as doses, foi eficiente para reduzir a carga microbiana, tanto no grupo dos coliformes totais quanto dos coliformes a 45°C, embora não tivesse sido demonstrada

diferença significativa entre os tratamentos no grupo dos coliformes a 45°C. Os autores justificaram que este comportamento provavelmente foi causado pelo elevado valor do desvio padrão das amostras. A pesquisa também concluiu que não houve efeito da dose utilizada em relação às embalagens. Mantilla et al. (2010) também testaram o efeito da irradiação a 3 kGy e da atmosfera modificada (80% CO<sub>2</sub> / 20% N<sub>2</sub>) no crescimento dos coliformes em carne de frango. Foi observado que os coliformes totais somente se desenvolveram nas amostras embaladas em ar e em atmosfera modificada não irradiadas. Os coliformes a 45°C, no entanto, somente cresceram nas embalagens em ar não irradiadas, o que demonstrou que, independente da embalagem utilizada, não houve crescimento de coliformes nas amostras irradiadas.

Em análises com amostras de carne de camelo, Al-Bachir e Zeinou (2009) observaram, em seus resultados, que a irradiação permitiu que a carne desta espécie aumentasse a vida útil de menos de duas semanas (em amostras não irradiadas) para mais de seis semanas (em amostras irradiadas com 2, 4 ou 6 kGy), considerando o grupo dos coliformes totais.

Byun et al. (2001) relataram que a lavagem e irradiação a 3 kGy eliminaram as bactérias do grupo coliformes em salsichas preparadas com invólucros naturais de ovinos e suínos, sendo que a dose de 5 kGy destruiu estes microrganismos sem a necessidade da etapa de lavagem.

Kanatt et al. (2010) demonstraram, em um estudo que utilizou uma variedade de produtos cárneos prontos para preparo disponíveis em supermercados indianos, como carnes de carneiro e frango picadas, que as amostras irradiadas a uma dose de 2,5 kGy tiveram uma vida útil maior a 0-3°C quando comparadas a amostras não irradiadas. Nesta pesquisa, os coliformes a 45°C foram destruídos pelo tratamento da irradiação.

Yıldırım et al. (2005) testaram o efeito da irradiação (2, 4 e 7 kGy) sob as bactérias do grupo coliformes em um prato tradicional turco (Cig Köfte), comumente consumido como aperitivo e que utiliza carne bovina ou ovina cruas em sua composição. Em tal estudo, demonstrou-se que a dose de 2 kGy foi suficiente para eliminar estes microrganismos neste tipo de alimento.

## 5.2 CONTAGEM DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA

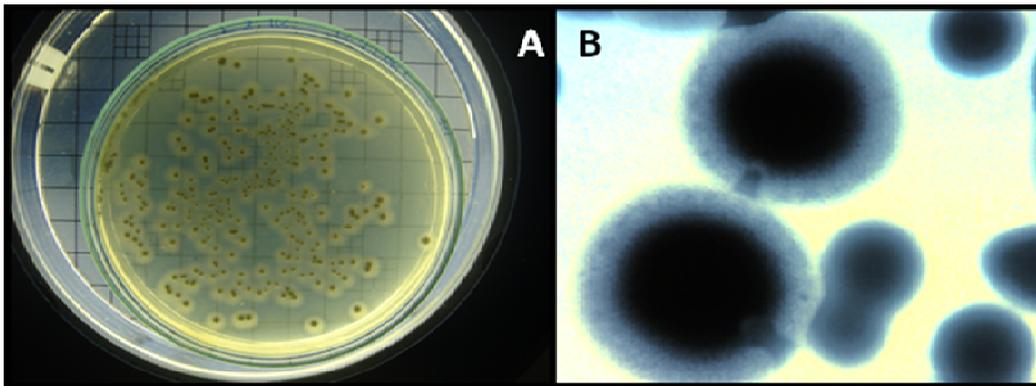
Os resultados obtidos nas análises de Estafilococos coagulase positiva, aos quatro meses, das amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy, estão descritos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Contagens de Estafilococos coagulase positiva, aos quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.

		<b>Análises</b>	
		<b>Amostras</b>	<b>Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)</b>
<b>Grupo Controle</b>		1	$4,4 \times 10^5$
		2	$1,2 \times 10^6$
		3	$9,4 \times 10^5$
		4	$1,6 \times 10^6$
		5	$1,9 \times 10^6$
<b>Irradiadas com 3 kGy</b>		1	-
		2	-
		3	-
		4	-
		5	-
<b>Irradiadas com 5 kGy</b>		1	-
		2	-
		3	-
		4	-
		5	-

Tendo-se por base a RDC N° 12, de 02/01/2001, ficou demonstrado que as amostras não irradiadas deste experimento encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação e impróprias para o consumo humano do ponto de vista microbiológico. Isso porque esta legislação estabelece padrões microbiológicos para Estafilococos coagulase positiva em carnes embaladas a

vácuo, não maturadas na qual, em um grupo de cinco amostras analisadas, apenas duas podem apresentar contagens entre  $5 \times 10^2$  e  $3 \times 10^3$  para que sejam classificadas como aceitáveis. No presente estudo, das cinco amostras não irradiadas avaliadas aos quatro meses, todas apresentaram contagens acima deste intervalo (Tabela 3), representado pelo crescimento e produção de gás no meio utilizado (Figura 5).

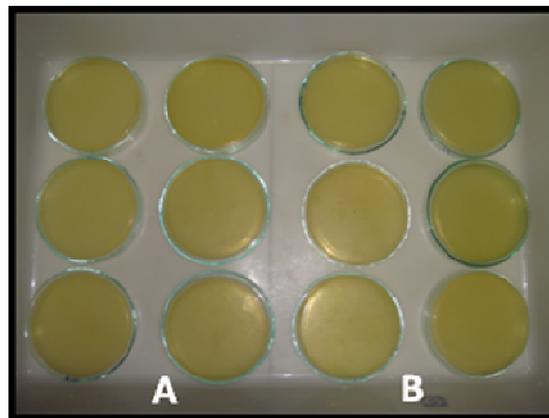


**Figura 5.** Estafilococos coagulase positiva em amostras de carne ovina não irradiadas. A) Contagem das colônias típicas em contador de colônias; Ágar Baird-Parker. B) Fotomicrografia das colônias; Obj. 40x. A e B) Halos opacos produzidos ao redor das colônias pretas.

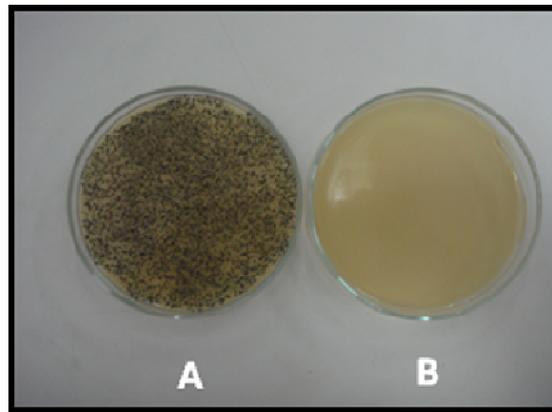
A elevada contagem de Estafilococos coagulase positiva é indicativa de falhas no controle das condições higiênico-sanitárias das superfícies, equipamentos e utensílios que entraram em contato com o alimento durante a sua manipulação, assim como de seus manipuladores. Estes microrganismos são facilmente destruídos por tratamentos térmicos; as enterotoxinas produzidas pelos mesmos, no entanto, são altamente termoestáveis e permanecem no alimento (NORMANNO et al., 2005). Por meio da observação das contagens de Estafilococos coagulase positiva das amostras não irradiadas no presente estudo (Tabela 3), pode-se aferir que estes valores provavelmente eram suficientes para que as cepas enterotoxigênicas produzissem enterotoxinas em quantidades suficientes para desencadear surtos de intoxicação alimentar, uma vez que a toxina é produzida quando a

quantidade de células está entre  $10^5$  e  $10^6$  UFC/g ou ml (WONG e BERGDOLL, 2002).

Não houve crescimento destes microrganismos nas amostras irradiadas nas duas doses empregadas, o que permitiu concluir, assim como mencionado para a pesquisa de coliformes, que o processo de irradiação foi eficiente na eliminação de *Estafilococos* coagulase positiva das amostras de carne ovina, caracterizando-as como aptas para o consumo humano, de acordo com a legislação vigente, do ponto de vista microbiológico (Figuras 6 e 7).



**Figura 6.** Análise de *Estafilococos* coagulase positiva em amostras de carne ovina irradiadas; Ágar Baird-Parker. Ausência de crescimento nas amostras irradiadas com 3 kGy (A) e 5 kGy (B).



**Figura 7.** Comparação do resultado da análise de *Estafilococos* coagulase positiva em amostra de carne ovina não irradiada (A) e irradiada a 3 kGy (B).

Os resultados deste trabalho foram similares aos relatados em pesquisas que testaram o efeito da irradiação sob a contagem de *Staphylococcus* spp. em outras espécies.

Em estudos com carne bovina no Irã, Sedeh et al. (2007) observaram que a contagem de *Staphylococcus* spp. em amostras refrigeradas e congeladas diminuiu significativamente com o aumento da dose de irradiação, principalmente na carne congelada. A dose ótima também foi obtida a 3 kGy, ou seja, a mesma dose em que foram observados resultados desejados na presente pesquisa em ovinos.

Em análises de produtos cárneos prontos para preparo disponíveis em supermercados indianos, a dose de 2,5 kGy permitiu que as contagens de *Staphylococcus* spp. em amostras irradiadas fossem mais baixas do que aquelas encontradas em produtos não irradiados, sendo que em pedaços de frango irradiados esta dose foi suficiente para a eliminação destes microrganismos (KANATT et al., 2010).

Yıldırım et al. (2005) relataram que as amostras não irradiadas, obtidas a partir de prato tradicional turco (Cig Köft), estavam altamente contaminadas com *Staphylococcus* spp. A população bacteriana foi quase controlada com a dose de 2 kGy e, nas doses de 4 e 7 kGy, não houve mais crescimento.

### 5.3 PESQUISA DE *Salmonella* spp.

Os resultados obtidos na pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy, aos dois e quatro meses, encontram-se descritos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Pesquisa de *Salmonella* spp., aos dois e quatro meses, nas amostras de carne ovina não irradiadas e irradiadas com 3 kGy e 5 kGy.

	Análises			
	2 meses		4 meses	
	Amostras	<i>Salmonella</i> spp.	Amostras	<i>Salmonella</i> spp.
<b>Grupo Controle</b>	1	-	6	-
	2	-	7	-
	3	-	8	-
	4	-	9	Presente
	5	-	10	-
<b>Irradiadas com 3 kGy</b>	1	-	6	-
	2	-	7	-
	3	-	8	-
	4	-	9	-
	5	-	10	-
<b>Irradiadas com 5 kGy</b>	1	-	6	-
	2	-	7	-
	3	-	8	-
	4	-	9	-
	5	-	10	-

Conforme demonstrado na Tabela 4, as análises realizadas aos dois meses, em amostras não irradiadas, permitiram verificar que estas não apresentavam contaminação por *Salmonella* spp. Desta forma, todas atendiam aos padrões estabelecidos pela RDC N° 12, de 02/01/2001, que determina a ausência deste microrganismo em 25 g de amostra. Aos quatro meses, no

entanto, foi realizado o isolamento de *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* e *Samonella Albany* em uma das amostras não irradiadas (Tabela 4 e Figura 8).



**Figura 8.** Pesquisa de *Salmonella* spp. em amostra de carne ovina não irradiada; Ágar Xilose Lisina Desoxicolato.

*Salmonella* spp. pode vir a causar graves toxinfecções alimentares. Sua presença em amostra não irradiada indica a necessidade de medidas de controle e garantia de segurança alimentar.

Jakabi et al. (1999) e Jones et al. (2000) afirmaram que *S. enterica* subsp. *houtenae* tem como habitat natural os animais de sangue frio e o ambiente. Alguns pesquisadores, no entanto, descrevem alguns achados que diferem de tais afirmativas. Conforme mencionado por Tabarani et al. (2010), este sorotipo tem sido isolado de alimentos de origem animal, animais de estimação, aves selvagens, mamíferos incluindo gambás selvagens e da maioria das espécies de répteis.

*Salmonella enterica* subsp. *houtenae* foi isolada, pela primeira vez, em 1978, em uma espécie aviária (PHILLIPS e HATKIN, 1978). Runkel et al. (1991) estabeleceram que gambás selvagens são reservatórios desta subespécie, uma vez que esta correspondeu a todos os isolados obtidos do trato biliar destes animais. Ma et al. (2003) acreditam ter descrito o primeiro relato de infecção humana por *S. enterica* subsp. *houtenae* e Lourenço et al.

(2004) o primeiro relato humano de bacteremia causado por *S. enterica* subsp. *houtenae* no Brasil associado à paciente com HIV. Estes últimos autores citam que é importante considerar o fato de que o paciente convivía com pássaros e cães, os quais podem ter servido como reservatório de *Salmonella* spp., assim como também não pôde ser descartada a possibilidade de contaminação por meio de alimentos ingeridos. Em uma avaliação da contaminação de carne caprina *in natura* e resfriada comercializada nos mercados da cidade do Recife, Pernambuco, foi constatado que, das sete amostras contaminadas por *Salmonella* spp., quatro foram identificadas como *S. enterica* subsp. *houtenae* (MOURA et al., 2007). Em supermercados e açougues de Porto Alegre, das 333 amostras de salsicha suína analisadas, em 82 (24,4%) foram detectadas a presença de *Salmonella* spp. Neste estudo, no entanto, apenas um isolado não pertencia à subespécie *enterica*, e sim à subespécie *houtenae*. Os autores também mencionaram que as infecções humanas associadas a esta subespécie são raras (MÜRMAN et al., 2009). Este fato também foi observado em estudo realizado por Tavechio et al. (2002), no qual, de cerca de 123 sorotipos diferentes de *Salmonella* spp. procedentes de diversas fontes alimentares identificados, menos de 1% correspondeu à *S. enterica* subsp. *houtenae*.

Em relação à *Salmonella Albany*, a literatura relata que este sorovar não é frequentemente correlacionado a infecções em seres humanos e animais mas que, no entanto, vem sendo isolado de frangos, conforme ocorreram nos estudos de Luiz et al. (2004), Moreira et al. (2008) e Brito et al. (2010). Além destas correlações, Zaidi et al. (2006) realizaram um trabalho no qual foram demonstrados os sorotipos de *Salmonella* spp. mais comumente isolados em pessoas infectadas e fontes de alimento em Yucatan, Mexico, entre 2000-2002. Os resultados desta pesquisa demonstraram que *S. Albany* foi o primeiro sorotipo mais isolado em carne de aves, o sexto em crianças assintomáticas, o oitavo em pacientes com diarreia e também em carne bovina. Em carne suína, no entanto, não foi observado este isolamento. Apesar dos relatos infrequentes de isolamento destas cepas em seres humanos, estudos moleculares de *S. Albany* em alimentos, como o de Doublet et al. (2003), demonstraram a presença de genes que conferem resistência múltipla a antibióticos nestas

cepas, o que, segundo os autores, pode dificultar o tratamento de infecções intestinais decorrentes das mesmas.

Em relação às amostras irradiadas, não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em ambos os períodos empregados (Tabela 4 e Figura 9), o que as caracterizaram como aptas para o consumo humano, de acordo com a legislação vigente, do ponto de vista microbiológico, assim como ficou demonstrado para os outros microrganismos pesquisados em carne ovina irradiada no presente estudo.



**Figura 9.** Pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de carne ovina irradiadas. A) Ágar Entérico de Hektoen; B) Ágar Xilose Lisina Desoxicolato. Ausência de crescimento em ambos os meios.

Em pesquisas de *Salmonella* spp. em carne bovina, a dose ótima de radiação gama para eliminar este microrganismo foi de 3 kGy (SEDEH et al., 2007). Para esta mesma espécie, Costa et al. (2004) observaram que a dose de 2,5 kGy foi suficiente para exercer um controle efetivo de *Salmonella* spp., independentemente do teor de gordura e da presença de oxigênio. Em carnes de frango, Oliveira et al. (2009) relataram que as amostras controle, tanto em embalagem convencional quanto a vácuo, apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. e que a dose de 1,5 kGy foi suficiente para a sua eliminação, independente da embalagem utilizada. No entanto, Santos et al. (2003) afirmam que a dose de radiação gama recomendada para garantir a

segurança da carne de frango em relação à presença de *Salmonella* spp. é de 3,8 kGy. Em amostras de carne de coelho refrigeradas, *Salmonella* spp. foi detectada nas amostras controle e irradiadas a 1,5 kGy, mas não a 3 kGy (BADR, 2004).

Alguns estudos, no entanto, não detectaram a presença de *Salmonella* spp., tanto nas amostras controle, quanto irradiadas, como foram os casos de Yıldıırım et al. (2005) e Parlato et al. (2007), em um prato típico turco (Cig Köfte) e em carne de frango, respectivamente.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados, conclui-se que o tratamento por irradiação da carne ovina, nas doses de 3 kGy e 5 kGy, foi eficiente na eliminação dos microrganismos padronizados pela legislação brasileira para carne embalada a vácuo, não maturada, nas análises realizadas após dois e quatro meses de coleta e exposição das amostras à radiação gama.

## REFERÊNCIAS

ABREU, M. G. **Caracterização sensorial e análise bacteriológica do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) refrigerado e irradiado.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2005.

AL-BACHIR, M., ZEINOU, R. Effect of gamma irradiation on microbial load and quality characteristics of minced camel meat. **Meat Science**, v. 82, n. 1, p. 119-124, 2009.

ALVAREZ, I.; NIEMIRA, B. A.; FAN, X.; SOMMERS, C. H. Inactivation of *Salmonella* Serovars in Liquid Whole Egg by Heat following Irradiation Treatments. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 9, p. 2066-2074, 2006.

ALVES, F. J. X. **Efeito da radiação na validade comercial da carne de cordeiros Santa Inês embalada a vácuo e frigorificada.** Tese (Doutorado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2008.

ARCHER, D. L. Freezing: an underutilized food safety technology? **International Journal of Food of Microbiology**, v. 90, n. 2, p. 127-138, 2004.

BADR, H. M. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. **Meat Science**, v. 67, n. 4, p. 541-548, 2004.

BRASIL. Resolução RDC N° 21, de 26 de Janeiro de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico para irradiação de alimentos.** Brasil, 2001a. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/21\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/21_01rdc.htm)>. Acesso em: 10 set. 2009.

BRASIL. Resolução RDC N° 12, de 02 de Janeiro de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Brasil, 2001b. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 29 out. 2010.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color: a review. **Meat Science**, v.68, p. 1-17, 2004.

BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 1-14, 2009.

BRITO, D. A. P.; ALVES, L. M. C.; COSTA, F. N. Detecção de *Salmonella* Albany, *Staphylococcus* coagulase positivos e micro-organismos mesófilos em carcaças de frango *in natura*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 149-152, 2010.

BYUN, M. W.; LEE, J. W.; JO, C.; YOON, H. S. Quality properties of sausage made with gamma-irradiated natural pork and lamb casing. **Meat Science**, v. 59, n. 3, p. 223-228, 2001.

CENA/USP – Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo. **Divulgação da Tecnologia de Irradiação de Alimentos e Outros Materiais**. Disponível em: <<http://www.cena.usp.br/irradiacao/index.asp>>. Acesso em: 27 out. 2009.

CHIRINOS, R. R. O.; VIZEU, D. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers by gamma irradiation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 53-56, 2002.

CLELAND, M. R. Advances in Gamma Ray, Electron Beam, and X-ray Technologies for Food Irradiation. In: SOMMERS, C. H.; FAN, X. **Food Irradiation Research and Technology**. 2006. 1. ed., cap. 2, p. 11-35.

COSTA, F. **Caracterização do processo de rigor mortis e da maciez dos músculos *Gastrocnemius* e *Pectoralis* e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de peru (*Meleagris gallopavo*)**. Tese (Doutorado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2006.

COSTA, C. S.; ALFARO, A. T.; CARRO, S. B. T.; ANTUNEZ, H. C. S.; SILVA, W. P.; SOARES, G. J. D. Efeito do teor de gordura, vácuo e dose de radiação gama na sobrevivência de *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 em carne bovina moída resfriada. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n. 2, p. 139-144, 2004.

DOUBLET, B.; LAILLER, R.; MEUNIER, D.; BRISABOIS, A.; BOYD, D.; MULVEY, M. R.; CHASLUS-DANCLA, E.; CLOECKAERT, A. Variant *Salmonella* genomic island 1 antibiotic resistance gene cluster in *Salmonella enterica* serovar Albany. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 5, p. 585-591, 2003.

EMBRARAD - Empresa Brasileira de Radiação. Disponível em: <<http://www.cbesa.com.br/>>. Acesso em: 23 set. 2009.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 664p.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 44, p. 189-204, 1998.

FELLOWS, P. **Tecnología del procesado de los alimentos: principios y prácticas**. 1. ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 549p.

FERNANDEZ, A. T. **Caracterização do processo de *rigor mortis* e efeito da radiação gama na paleta (*Triceps brachii*) e no músculo duro (*Extensor/Flexor*) de javali (*Sus scrofa*) durante sua validade comercial**. Tese (Doutorado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2007.

FERREIRA, S. R. F. **Contribuição da tecnologia da irradiação de alimentos no fornecimento de segurança alimentar e nutricional**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, 1999.

FILHO, L. G. M. M.; MENDES, E. S.; SILVA, R. P. P.; GÓES, L. M. N. B.; V. K. P. B. A.; M, P. P. Enumeração e pesquisa de *Vibrio* spp. e coliformes totais e termotolerantes em *sashimis* de atum e vegetais comercializados na região metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 29, n. 1, p. 85-90, 2007.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los Alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 681p.

GANDRA, E. A. **Identificação de *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* através de testes bioquímicos e da amplificação por PCR de seqüências dos genes *coa* e *nuc***. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2003.

GANDRA, E. A.; SILVA, J. A.; ARAÚJO, M. R.; MATA, M. M.; SILVA, W. P. Differentiation between *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* and *S. hyicus* using phenotypical tests and PCR. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 99-103, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629p.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. 66p.

HAWTHORN, J. The safety and wholesomeness of irradiated foods. **Nutrition Bulletin**, v.14, n. 3, p. 150-162, 2007.

HERNANDES, N. K.; VITAL, H. C.; SABAA-SRUR, A. U. O. Irradiação de Alimentos: vantagens e limitações. **Boletim SBCTA**, v. 37, n. 2, p. 154-159, 2003.

IAEA - International Atomic Energy Agency. **Facts about food irradiation: a series of Fact Sheets from the International Consultative Group on Food Irradiation**. 1999. Disponível em: <<http://www.iaea.org/nafa/d5/public/foodirradiation.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2009.

JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* spp., ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

JAYARAO, B. M.; GILLESPIE, B. E.; OLIVER, S. P. Application of ramdoly amplified polymorphic DNA fingerprint for species identification of bacteria isolated from bovine milk. **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 6, p. 615-620, 1996.

JONES, Y. E.; MCLAREN, I. M.; WRAY, CLIFFORD. Laboratory Aspects of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in Domestic Animals**. Oxon: CABI Publishing 2000. cap. 23, p. 393-405.

KANATT, S. R.; SHOBITA RAO, M.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Shelf-life extension of convenience meat products sold in Indian supermarkets by radiation processing. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 79, n. 12, p. 1259-1263, 2010.

LANDGRAF, M. Controle do Desenvolvimento Microbiano nos Alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 7, p. 109-148.

LOURENÇO, M. C. S.; REIS, E. F. M.; VALLS, R.; ASENSI, M. D.; HOFER, E. *Salmonella enterica* susp. *houtenae* serogroup O:16 in a HIV positive patient: case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 46, n. 3, p. 169-170, 2004.

LUIZ, A. F.; MOREIRA, F. C.; CORRÊA, E. F.; FALCÃO, D. P. Monitoring of the dissemination of *Salmonella* in the chicken Frankfurt-sausage production line of a sausage factory in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 477-480, 2004.

MA, J. S.; CHEN, P. Y.; LAU, Y. J.; CHI, C. S. Brain abscess caused by *Salmonella enterica* subspecies *houtenae* in a patient with chronic granulomatous disease. **The Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 36, p. 282-284, 2003.

MANTILLA, S. P. S.; SANTOS, E. B.; VITAL, E. C.; MANO, S. B.; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R. B. Efeito combinado da embalagem em atmosfera modificada e radiação gama na microbiologia e na aceitação sensorial de filés de peito de frango resfriados. **Revista Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 149-155, 2010.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. de F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23 (Supl.), p. 7-16, 2003.

MONK, J. D.; BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Irradiation inactivation of foodborne microorganisms. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 197-208, 1995.

MOREIRA, G. N.; REZENDE, C. S. M.; CARVALHO, R. N.; MESQUITA, S. Q. P.; OLIVEIRA, A. N.; ARRUDA, M. L. T. Ocorrência de *Salmonella* sp. Em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 67, n. 2, p. 126-130, 2008.

MOURA, A. P. B. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; OLIVEIRA, R. B. A.; DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; REIS, E. M. F. Pesquisa de coliformes termotolerantes, totais e *Salmonella* spp. em carnes caprinas comercializadas na cidade do Recife, Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 293-299, 2007.

MÜRMAN, L.; SANTOS, M. C.; CARDOSO, M. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. **Food Control**, v. 20, n. 3, p. 191-195, 2009.

NIEMIRA, B. A.; FAN, X. Low-Dose Irradiation of Fresh and Fresh-Cut Produce: Safety, Sensory, and Shelf Life. In: SOMMERS, C. H.; FAN, X. **Food Irradiation Research and Technology**. 2006. 1. ed., cap. 10, p. 169-184.

NORMANNO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; MULA, G.; DAMBROSIO, A.; POGGIU, A.; DECASTELLI, L.; MIONI, R.; SCUOTA, S.; BOLZONI, G.; GIANNATALE, E. Di.; SALINETTI, A. P.; LA SALANDRA, G.; BARTOLI, M.; ZUCCON, F.; PIRINO, T.; SIAS, S.; PARISI, A.; QUAGLIA, N. C.; CELANO, G. V. Coagulase positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v.98, n. 1, p. 73-79, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; PEREIRA, M. T.; BUENO, P. H. S.; OLIVEIRA, R. B. P.; PINTO, F. C.; CORREIRA, R. F.; MACHADO, M. M. Qualidade microbiológica da carne de frango irradiada em embalagem convencional e a vácuo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1210-1217, 2009.

OLSON, D.G. Irradiation of Food. **Food Technology**, v. 52. n. 1. p. 56-62, 1998.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: Editora UFG, 2001. 623 p.

PARLATO, A.; CALDERARO, E.; BARTOLOTTA, A.; D'OCA, M. C.; GIUFFRIDA, S. A.; BRAI, M.; TRANCHINA, L.; AGOZZINO, P.; AVELLONE, G.; FERRUGIA, M.; DI NOTO, A. M.; CARACAPPA, S. Gas chromatographic/mass spectrometric and microbiological analysis on irradiated chicken. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 76, p. 1463-1465, 2007.

PHILLIPS, W. E. Jr.; HATKIN, J. M. Isolation of *Salmonella houtenae* from a cockatiel. **Avian Diseases**, v. 22, n. 2, p. 350-353, 1978.

PIETRANERA, M. S. A.; NARVAIZ, P.; HORAK, C.; KAIRIYAMA, E. Irradiated icecreams for immunosuppressed patients. **Radiation physics and chemistry**, v.66, p. 357-365, 2003.

PRATA, L. F.; FUKUDA, R. T. **Fundamentos de Higiene e Inspeção de Carnes**. Jaboticabal: Funep, 2001. 349p.

RUNKEL, N. S.; RODRIGUEZ, L. F.; MOODY, F. G.; LAROCCO, M. T.; BLASDEL, T. *Salmonella* infection of the biliary and intestinal tract of wild opossums. **Laboratory of Animal Science**, v. 41, n. 1, p. 54-56, 1991.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 200-205, 2003.

SANTOS, E. R. **Caracterização do processo de *rigor mortis*, da maciez dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de avestruz (*Struthio camelus*)**. Tese (Doutorado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2006.

SARKIS, F. **Avaliação das condições microbiológicas de carnes de animais silvestres no município de São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba-SP, 2002.

SAS, **User's guide statistics**. Cary: INSTITUTE SAS, 1999. 959 p.

SATIN, M. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. **Meat Science**, v. 62, n. 3, p. 277-283, 2002.

SEDEH, F. M.; ARBABI, K.; FATOLAH, H.; ABHARI, M. Using gamma irradiation and low temperature on microbial decontamination of red meat in Iran. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 72-76, 2007.

SEGRÈ, E. **Dos Raios X aos Quarks – Físicos Modernos e suas Descobertas**. UNB: Brasília, 1980. p. 20-21.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45° e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

SILVA, E. F. S. **Irradiação em alimentos**. Curso de Pós Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal (Monografia). Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro-RJ, 48p., 2007.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2002. 479p.

SIQUEIRA, A. A. Z. C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2001.

SPOLAORE, A. J. G. Irradiação de Alimentos. In: GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2003. v.1, p. 445-463.

TABARANI, C. M.; BENNETT, N. J.; KISKA, D. L.; RIDDELL, S. W.; BOTASH, A. S.; DOMACHOWSKE, J. B. Empyema of preexisting subdural hemorrhage caused by a rare *Salmonella* species after exposure to bearded dragons in a foster home. **The Journal of Pediatrics**, v. 156, n. 2, p. 322-323, 2010.

TAVECHIO, A. T.; GHILARDI, A. C.; PERESI, J. T.; FUZIHARA, T. O.; YONAMINE, E. K.; JAKABI, M.; FERNANDES, S. A. Serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 6, p. 1041-1044, 2002.

TEIXEIRA, C. E. **Avaliação do efeito combinado dos processos de irradiação e atmosfera modificada na qualidade bacteriológica, físico-química e sensorial do filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado**. Tese (Doutorado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2009.

VALENTE, A. M. **Efeito da irradiação sobre mexilhões [*Perna perna* (Linnaeus, 1758)]: coliformes termolerantes e *Enterococcus*; ação antimicrobiana e análise sensorial das amostras.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2004.

VARALDO, P. E.; KILPPER-BÄLZ, R.; BIAVASCO, F.; SATTÀ, G.; SCHLEIFER, K. H. *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 38, n. 4, p. 436-439, 1988.

VITAL, H. C.; JUNIOR, M. F. A irradiação de alimentos. In: ROSENTHAL, A. **Tecnologia de alimentos e inovação: tendências e perspectivas.** 2008. cap. 11, p. 149-164.

WONG, A. C. L.; BERGDOLL, M. S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, D. O.; RIEMANN, H. P. **Foodborne diseases.** 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2002. p. 231-248.

YILDIRIM, I.; UZUNLU, S.; TOPUZ, A. Effect of gamma irradiation on some principle microbiological and chemical quality parameters of raw Turkish meat ball. **Food Control**, v. 16, n. 4, p. 363-367, 2005.

ZAIDI, M. B.; MCDERMOTT, P. F.; FEDORKA-CRAY, P.; LEON, V.; CANCHE, C.; HUBERT, S. K.; ABBOTT, J.; LEÓN, M.; ZHAO, S.; HEADRICH, M.; TOLLEFSON, L. Nontyphoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatam, Mexico. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 1, p. 21-28, 2006.