

JACQUELINE VALLE DE BAIROS

**OCORRÊNCIA, CINÉTICA DE CRESCIMENTO E TRANSFERÊNCIA DE
Salmonella EM MANGA DURANTE O BANHO HIDROTÉRMICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Bairros, Jacqueline Valle de, 1985-
B163o Ocorrência, cinética de crescimento e transferência de
2018 *Salmonella* em manga durante o banho hidrotérmico /
Jacqueline Valle de Bairros. – Viçosa, MG, 2018.
xii, 64 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Wilmer Edgard Luera Peña.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 59-63.

1. *Salmonella*. 2. Manga - Contaminação. 3. Cinética química. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

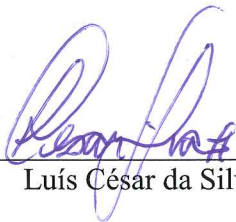
CDD 22. ed. 664.07

JACQUELINE VALLE DE BAIROS

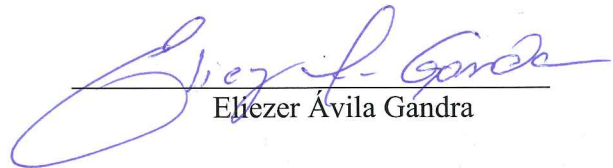
**OCORRÊNCIA, CINÉTICA DE CRESCIMENTO E TRANSFERÊNCIA DE
Salmonella EM MANGA DURANTE O BANHO HIDROTÉRMICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

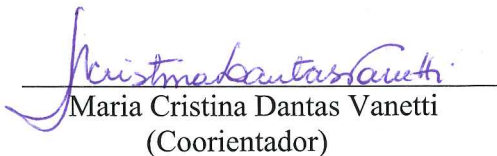
APROVADA: 13 de Julho de 2018.



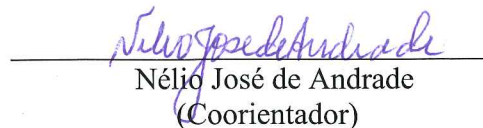
Luís César da Silva



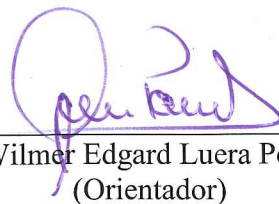
Eliezer Ávila Gandra



Maria Cristina Dantas Vanetti
(Coorientador)



Nélio José de Andrade
(Coorientador)



Wilmer Edgard Luera Peña
(Orientador)

À minha família, dedico.
Com amor, ao maior presente de Deus, que carrego em meu ventre.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar o curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro recebido (Processo: CAG-APQ-02856-16)

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Wilmer Edgard Peña, pela orientação e pela inestimável contribuição para minha formação.

Aos professores, Nélio de Andrade e Maria Cristina Vanetti, pelos ensinamentos durante a execução deste trabalho.

Aos meus pais, Selsso Mott de Bairos e Vera Susana Vale de Bairos, pelo empenho em colaborar durante toda a minha trajetória acadêmica, dedicando-se ao máximo para me oferecer tudo que fosse necessário.

Ao meu irmão, André Valle de Bairros, fonte da minha inspiração e exemplo a ser seguido. Muito obrigada!

Ao meu noivo, Edgard Gonçalves Malaguez, pelo apoio e incentivo para que eu alcançasse o meu objetivo, me fortalecendo quando me sentia fraca, por sua lealdade, honestidade e cumplicidade, durante todos os momentos de renúncia.

Às amigas, Carmelita Zacchi Scolforo, Roberta Barbosa e Débora Kamasche, pela amizade e acolhimento.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial pela disponibilidade de ajudar e pelo companheirismo durante o convívio.

A todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

BIOGRAFIA

Jacqueline Valle de Bairros, filha de Selsso Mott de Bairros e de Vera Susana Vale de Bairros, nasceu no dia 19 de junho de 1985, na cidade de Uruguaiana, RS.

Iniciou a graduação em Nutrição em março de 2005, na Universidade Federal de Pelotas, colando grau em janeiro de 2009. Neste mesmo período, cursou a Graduação de Bacharel em Turismo, pela mesma instituição, colando grau em abril de 2010.

Iniciou a especialização em Qualidade dos Alimentos pelo Colégio Brasileiro de Estudos Sistêmicos em março de 2010 finalizando em julho de 2012.

Em julho de 2011, iniciou o curso de mestrado em Nutrição e Alimentos, obtendo o título pela Universidade Federal de Pelotas, em julho de 2013.

Em setembro de 2013, iniciou a especialização em Gestão Pública e Desenvolvimento Regional, pela Universidade Federal de Pelotas, concluindo em julho de 2014.

Ingressou no curso de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, em julho de 2014, submetendo-se a defesa de tese em julho de 2018.

Durante o doutorado, iniciou especialização módulo a distância em Ciência dos Alimentos, pela Universidade Federal de Pelotas, em março de 2015 e finalizou em março de 2016. Também, atuou como professora substituta na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, no período de outubro/2017 a junho/2018.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 2

Figura 1. Crescimento de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C.....55

Figura 2. Variação do efeito da temperatura no crescimento de *S. enterica* a partir dos valores médios da fase lag λ e da taxa de crescimento μ observados na casca e polpa de manga comparada com os valores obtidos pelos programas computacionais PMP e ComBase.....58

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1: Valores nutricionais em 100 gramas e manga Tommy Atkins.....5

Tabela 2: Tempo necessário para a realização do tratamento hidrotérmico de mangas importadas aos Estados Unidos, conforme o peso do fruto (em gramas).....6

ARTIGO 1

Tabela 1: Tratamentos hidrotérmicos conduzidos em duas concentrações de inóculo (10^5 e 10^8 UFC/manga) em seis experimentos (A, B, C, D, E, F) de acordo com o número de mangas inoculadas (1, 3, 5), simulando baixo (10 %), médio (30 %) ou alto (50 %) nível de contaminação 28

Tabela 2: Transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas Tommy Atkins contaminadas para superfícies de mangas não contaminadas, após a etapa do tratamento hidrotérmico com e sem a adição de cloro 31

Tabela 3: Porcentagem da contaminação total por *S. Typhimurium* entre as superfícies de mangas após a etapa do tratamento hidrotérmico com e sem a adição de cloro..... 33

ARTIGO 2

Tabela 1: Parâmetros cinéticos de crescimento (tempo de latência (λ), tempo de geração (G) e taxa de crescimento (μ)) de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C..... 51

Tabela 2: Modelos secundários obtidos dos valores médios da fase lag λ e da taxa de crescimento μ de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C e comparação com valores obtidos nos programas computacionais PMP e ComBase..... 56

RESUMO

BAIROS, Jacqueline Valle de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Ocorrência, cinética de crescimento e transferência de *Salmonella* em manga durante o banho hidrotérmico.** Orientador: Wilmer Edgard Luera Peña. Coorientadores: Nélio José de Andrade e Maria Cristina Dantas Vanetti.

Surtos envolvendo *Salmonella* em mangas oriundas do Brasil têm sido relatados em países importadores desta fruta, causando prejuízos sociais e econômicos, principalmente aos consumidores. Considerando a importância do controle da contaminação de mangas por *Salmonella*, na primeira etapa do estudo, verificou-se a ocorrência deste patógeno em mangas variedade Tommy Atkins comercializada no município de Viçosa/MG. O patógeno não foi isolado em nenhuma das 100 amostras analisadas. Na segunda etapa, determinaram-se os valores dos parâmetros cinéticos da fase lag λ , tempo de geração G , taxa de crescimento μ e população máxima k , de multiplicação de *S. enterica* nas temperaturas de 7 a 35 °C, em casca e polpa de manga Tommy Atkins. Não houve diferenças significativas destes parâmetros entre casca e polpa da fruta. Observou-se que, nas temperaturas mais baixas (7, 10 e 15 °C), ocorreram diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) nos valores da fase lag λ e do tempo de geração G , em relação às demais temperaturas, quando analisadas casca e polpa de manga, separadamente. Nas temperaturas de 25, 30 e 35 °C ocorreram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nos valores da taxa de crescimento μ , observadas na casca e na polpa da manga, individualmente. Os modelos secundários implementados ($R^2 > 0,88$) explicaram bem o efeito da temperatura na fase lag λ e na taxa de crescimento μ de *S. enterica* em casca e polpa de manga. De modo geral, a casca de manga Tommy Atkins propiciou melhor crescimento de *S. enterica*, em relação à polpa da fruta e o patógeno foi capaz de crescer em todas as temperaturas estudadas. Na terceira etapa do trabalho, avaliou-se a transferência de *S. enterica* sorovar Typhimurium ATCC 14028 inoculada em manga Tommy Atkins seguida da etapa do tratamento hidrotérmico adicionado de 200 mg.L⁻¹ de cloro. As frutas foram inoculadas com 1 mL de suspensão de células contendo 10⁵ UFC/mL e 10⁸ UFC/mL do patógeno. Foram realizados três experimentos para cada concentração de inóculo. No primeiro experimento, em um lote de 10 mangas, uma foi contaminada com *S. Typhimurium*, no segundo, três de um total de 10 mangas foram inoculadas e, no terceiro experimento, inoculou-se cinco de 10 mangas. O tratamento hidrotérmico ocorreu a 46,1 °C por 65 min. A presença de *Salmonella* nas

superfícies de mangas inoculadas foi verificada após o tratamento hidrotérmico na presença ou ausência de cloro. Exceção foi observada em um dos experimentos realizado com mangas inoculadas na concentração de 10^5 UFC/mL e tratada termicamente na presença de cloro. A transferência de *Salmonella* da superfície da manga inoculada para as outras frutas não inoculadas foi baixa. O tratamento hidrotérmico com cloro foi mais eficiente na redução das taxas de transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas em relação ao tratamento hidrotérmico sem o sanitizante, porém não foi capaz de impedir a transferência do patógeno entre os frutos. Conclui-se que é necessário criar estratégias que visem barrar condições de contaminação por *Salmonella* em manga Tommy Atkins, pois a capacidade de multiplicação do patógeno foi observada em ampla faixa de temperatura, tanto na casca quanto na polpa da fruta e, o tratamento hidrotérmico combinado com 200 mg.L^{-1} de cloro não impediu a transferência de *Salmonella* inoculada na casca da manga para a superfície de outras frutas não inoculadas.

ABSTRACT

BAIROS, Jacqueline Valle de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Occurrence, growth kinetics and transfer of *Salmonella* in mango: during the hydrothermal bath.** Adviser: Edgard Luera Peña. Co-advisers: Nélio José de Andrade and Maria Cristina Dantas Vanetti.

Outbreaks involving *Salmonella* in mangoes originating in Brazil have been reported in importing countries of this fruit, causing social and economic losses, mainly to consumers. Considering the importance of the control of mango contamination by *Salmonella*, in the first stage of the study, the occurrence of this pathogen was observed in Tommy Atkins mangoes, marketed in the city of Viçosa, MG. The pathogen was not isolated in any of the 100 samples analyzed. In the second step, the values of the lag λ kinetic parameters, generation time G , growth rate μ and maximum population k , of *S. enterica* multiplication at temperatures of 7 to 35 °C were determined in bark and pulp of manga Tommy Atkins. There were no significant differences between these parameters between peel and fruit pulp. It was observed that, at lower temperatures (7, 10 and 15 °C), there were statistical differences ($p \leq 0.05$) in the lag λ and G generation time, in relation to the other temperatures, when analyzed for bark and mango pulp, separately. At temperatures of 25, 30 and 35 °C there were significant differences ($p \leq 0.05$) in the values of the growth rate μ , observed in the bark and in the pulp of the mango, individually. Secondary models implemented ($R^2 > 0.88$) well explained the effect of temperature on lag λ phase and growth rate μ of *S. enterica* on bark and mango pulp. In general, the Tommy Atkins mango peel provided a better growth of *S. enterica* in relation to fruit pulp and the pathogen was able to grow at all temperatures studied. In the third stage of the work, the transfer of *S. enterica* sorovar Typhimurium ATCC 14028 inoculated in Tommy Atkins mango was followed, followed by the step of the hydrothermal treatment added with 200 mg.L⁻¹ of chlorine. The fruits were inoculated with 1 mL of cell suspension containing 10⁵ CFU / mL and 10⁸ CFU / mL of the pathogen. Three experiments were carried out for each concentration of inoculum. In the first experiment, in a batch of 10 mangoes, one was contaminated with *S. Typhimurium*, in the second, three out of a total of 10 mangoes were inoculated and, in the third experiment, five of 10 mangoes were inoculated. The hydrothermal treatment occurred at 46.1 ° C for 65 min. The presence of *Salmonella* on inoculated mango surfaces was verified after hydrothermal treatment in the presence or absence of

chlorine. Exception was observed in one of the experiments performed with mangos inoculated at the concentration of 10^5 CFU / mL and thermally treated in the presence of chlorine. Transfer of *Salmonella* from the inoculated mango surface to the other uninoculated fruits was low. Hydrothermal treatment with chlorine was more efficient in reducing *S. Typhimurium* transfer rates of mango surfaces in relation to the hydrothermal treatment without the sanitizer, but it was not able to prevent the transfer of the pathogen among the fruits. It is concluded that it is necessary to create strategies to avoid conditions of contamination by *Salmonella* in Tommy Atkins mango, because the capacity of multiplication of the pathogen was observed in a wide temperature range, both in the bark and the fruit pulp, and the combined hydrothermal treatment with 200 mg.L^{-1} of chlorine did not prevent the transfer of inoculated *Salmonella* in the mango shell to the surface of other uninoculated fruits.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo Geral.....	3
Objetivos Específicos	3
1. REVISÃO DE LITERATURA	4
1.1 Manga	4
1.2 <i>Salmonella</i> spp.....	7
1.3 Contaminação Cruzada em Frutas	8
1.4 <i>Salmonella</i> em mangas	9
1.5 Microbiologia Preditiva	10
1.6 Modelos Preditivos	11
2. REFERENCIAS	14
CAPÍTULO 1	21
Redução e transferencia de <i>S. Typhimurium</i> inoculada em superfícies de mangas (Tommy Atkins) para outras mangas na etapa do banho hidrotérmico.....	22
Resumo	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
2.1 Amostras	26
2.2 Sanitização das frutas.....	26
2.3 Recuperação de <i>S. Typhimurium</i>	27
2.4 Inoculação de <i>S. Typhimurium</i>	27
2.5 Tratamento hidrotérmico combinado com cloro	27
2.6 Tratamento hidrotérmico sem cloro.....	28
2.7 Avaliação da transferência microbiana.....	29
2.8 Análise dos resultados	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4. CONCLUSÃO.....	34
5. REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 2	39
Incidência e modelagem do crescimento de <i>S. enterica</i> em manga Tommy Atkins sob diferentes temperaturas.....	40

Resumo	42
1. INTRODUÇÃO.....	44
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
2.1 Amostras	45
2.2 Detecção de <i>Salmonella</i>	45
2.3 Determinação dos parâmetros de crescimento (fase lag λ , tempo de geração G, taxa de crescimento μ e população máxima κ) de <i>S. enterica</i> em casca e polpa de manga Tommy Atkins	46
2.3.1 Amostras.....	46
2.3.2 Cultura bacteriana	46
2.3.3 Avaliação do pH e A_w	47
2.3.4 Inoculação e enumeração de <i>S. enterica</i>	47
2.3.5 Modelagem do crescimento	48
2.4 Análise dos resultados	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4. CONCLUSÃO	58
5. REFERÊNCIAS	58
CONCLUSÃO GERAL	64

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um grande produtor de frutas que, além de abastecer o mercado interno, apresenta crescimento das exportações destes produtos a outros países. A manga (*Mangifera indica* L.) figura entre as frutas líderes de exportação, o que justifica a avaliação de potenciais riscos de contaminação microbiana e de estabelecer medidas eficazes para a segurança destes produtos. O tratamento hidrotérmico é indicado como medida de controle no processamento de manga *in natura*. Este tratamento consiste na imersão das frutas em água a temperatura de 46,1 °C durante 65 min. e têm como finalidade, evitar problemas com a mosca-das-frutas e aumentar a eficiência do controle de micro-organismos.

Dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS), indicaram que, entre 2007 e 2016 ocorreram mais de 6.000 surtos de origem alimentar, destes surtos, 0,6 % ocorreram em frutas, produtos de frutas e similares e *Salmonella* foi o principal patógeno envolvido, em aproximadamente 7,5 % dos casos identificados (BRASIL, 2016).

Na Europa, são relatados mais de 100.000 casos de infecção por *Salmonella* em humanos a cada ano e as frutas estão entre os alimentos consumidos *in natura* que representam maior risco de contaminação por este patógeno, perdendo apenas para os vegetais folhosos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2017). Já nos Estados Unidos, estima-se que *Salmonella* seja responsável por cerca de um milhão de doenças causadas pela ingestão de alimentos, 19 mil hospitalizações e 380 mortes, anualmente (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2017a). Nos últimos sete anos, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) listou cinco grandes surtos de origem alimentar, relacionados a contaminação por *Salmonella* em frutas frescas, sendo a maioria, ocorrida em frutas importadas (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2017b). Recentemente, em março deste ano, um surto de *S. Typhimurium* oriundo de lascas de coco cru vendido em embalagem comercial (Go Smile), infectou 13 pessoas, em oito estados diferentes, resultando em três internações hospitalares, sem óbitos. Os lotes foram recolhidos da casa dos pacientes e do comércio pelo CDC e pelo *Food Drug and Administration* (FDA) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2018).

Um dos casos mais graves envolvendo frutas frescas ocorreu em 1999 e *Salmonella* Newport foi isolada em mangas importadas. Foram registradas 78 vítimas, em 13 estados americanos, resultando em 15 pacientes hospitalizados com sinais de diarreia hemorrágica e dois óbitos. A investigação do CDC indicou que o produto era proveniente de uma área produtiva de manga do Brasil e o tratamento hidrotérmico foi indicado como possível ponto de contaminação.

A contaminação por *Salmonella* em manga pode ocorrer ainda na etapa pré colheita e a transferência deste patógeno pode se perpetuar ao longo do processamento e facilmente se propagar durante as operações de lavagem e corte com posterior desenvolvimento durante a estocagem. Desta forma, faz-se necessário a compreensão da cinética de crescimento. Geralmente, produtos oriundos da agricultura seguem ações implementadas de boas práticas agrícolas que podem ser reforçadas com outras ferramentas de qualidade para segurança de alimentos, como Boas Práticas de Fabricação e Procedimentos Padrão de Higiene Operacional. Embora esses programas de qualidade sejam efetivos, o crescimento de micro-organismos pode ser potencializado pelas condições do ambiente de processamento e estocagem. Assim, avaliar o efeito da temperatura na mudança dos parâmetros cinéticos de crescimento se torna importante para o controle microbiano. Neste contexto, a microbiologia preditiva se apresenta como uma ferramenta importante para este propósito. Os modelos matemáticos têm sido utilizados para estimar o comportamento de micro-organismos sob diferentes condições ambientais e mudanças do substrato. Além disso, modelos preditivos podem ser usados para prever o tempo de vida útil de produtos e otimizar as cadeias de produção e distribuição de alimentos. Por esses motivos, a pesquisa deste estudo se justifica, já que grande parte das mangas produzidas no Brasil são exportadas para outros países e, para isso, são armazenadas e comercializadas sob condições variáveis de temperatura. Dessa forma, considerando a relevância deste produto no cenário do agronegócio internacional, a detecção de *Salmonella* em manga caracteriza-se como o primeiro passo de uma abordagem para se determinar a segurança microbiológica desta fruta, as quais representam importante fonte de recursos para o Brasil. Enquanto que a utilização de modelos matemáticos preditivos se torna vantajosa, pois minimiza os riscos de perdas deste produto.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Analisar a incidência e o comportamento de *Salmonella* spp. em manga variedade Tommy Atkins submetida à diversas temperaturas e em tratamento hidrotérmico combinado com cloro.

Objetivos Específicos

- Avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp. em mangas variedade Tommy Atkins comercializadas no município de Viçosa/MG.
- Verificar a redução de *S. Typhimurium* inoculada na casca de manga Tommy Atkins
- Estudar a transferência de *S. Typhimurium* da superfície da casca de manga Tommy Atkins para outras superfícies de mangas não inoculadas, durante o tratamento hidrotérmico em solução clorada.
- Determinar os parâmetros cinéticos de multiplicação, fase lag λ , tempo de geração G , taxa de crescimento μ e população máxima κ de *S. enterica* em casca e polpa de manga Tommy Atkins, nas temperaturas de 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C, utilizando modelagem primária e secundária.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Manga

O Brasil é um dos três maiores produtores de frutas do mundo, com uma produção que supera os 40 milhões de toneladas (ANDRADE, 2017). A flora brasileira é dotada de uma enorme diversidade de frutas que vem sendo explorada comercialmente, principalmente para mercados internacionais, pois chama a atenção pela qualidade sensorial e composição nutricional. No primeiro semestre de 2017, as exportações brasileiras de frutas frescas geraram receitas superiores a US\$ 353 milhões para um quantitativo de 176 mil toneladas, entre seis principais frutas (DIB, 2017). Goiaba, manga e mangostões frescos estão entre as frutas mais exportadas pelo Brasil. Os principais destinos dessas frutas foram os Países Baixos (46 %), Espanha (27 %) e Portugal (11 %) (COMEX VIS, 2018).

No Brasil, há extensa área de cultivo de manga (*Mangifera indica* L.) destacando-se a produção no Vale do São Francisco, principalmente entre os estados da Bahia e Pernambuco (ARÉVALO; LIMA, 2015). Nessas áreas, o cultivo da manga “tipo exportação” pertence à variedade Tommy Atkins e é comercializada principalmente para o mercado internacional devido a produtividade de rendimento, resistência ao transporte, coloração intensa e sabor atrativo (COMEX VIS, 2018; COSTA; SANTOS, 2004).

Além disso, a manga possui alto teor de fibras (Tabela 1) e compostos antioxidantes (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO - NEPA, 2011).

Tabela 1: Valores nutricionais em 100 gramas de manga Tommy Atkins

Informações nutricionais de manga Tommy Atkins, em porções de 100 gramas			
Calorias	51 Kcal	Sódio	0 mg
Gordura total	0 g	Potássio	138 mg
Saturada	0 g	Carboidratos totais	13 g
Polinsaturada	0 g	Fibras alimentares	2 g
Monoinsaturada	0 g	Açúcares	0 g
Trans	0 g	Proteína	1 g
Colesterol	0 mg	Cálcio	0 %
Vitamina A	0 %	Ferro	0 %
Vitamina C	0 %		

*Valores diários percentuais são baseados em uma dieta de 2000 calorias. Seus valores diários podem ser maiores ou menores, dependendo de suas necessidades calóricas.

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011)

Conforme o padrão de importação de cada País, a manga para ser exportada, deve receber tratamento pós-colheita adequado, com o objetivo principalmente de controlar a proliferação da larva, inseto adulto e ovos da mosca-das-frutas (*Anastrepha* spp. e *Ceratitis capitata*). O tratamento hidrotérmico é o mais indicado, pois além de evitar problemas com as moscas-das-frutas (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016) também minimiza o desenvolvimento de micro-organismos sendo assim, este tratamento é estabelecido como um método de controle para mangas exportadas para os Estados Unidos (SANTOS et al., 2011). O tempo de imersão no tanque de água quente a 46,1 °C para a realização do tratamento hidrotérmico, dependerá do peso da fruta (Tabela 2).

Tabela 2: Tempo necessário para a realização do tratamento hidrotérmico de mangas importadas aos Estados Unidos, conforme o peso do fruto (em gramas)

Conforme o peso da manga (em gramas):	Tempo dispensado (em minutos):
> 375	65
375 – 500	75
501 - 700	90
701 - 900	110

Fonte: Manual Técnico (USDA, 2016).

Para mangas destinadas ao mercado americano, ainda é necessário que todo este controle seja supervisionado por um técnico do Serviço de Inspeção da Saúde Animal e Vegetal do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA - APHIS) (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016). No Brasil, os esforços dos órgãos fiscalizadores em zelar pela qualidade sensorial e inocuidade de frutas, é de responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para os padrões de identidade e qualidade da polpa de frutas, submetida a processos industriais e destinadas para o consumo humano como bebida, foi criado o Regulamento Técnico Instrução Normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000 e complementado pela Portaria nº 58, de 30 de agosto de 2016 que estabelece parâmetros físico-químicos para a polpa de manga, em valores mínimos de pH 3,50; sólidos solúveis a 20 °C, 12,0 °Brix; acidez total expressa em ácido cítrico (g.100 g⁻¹), 0,30; sólidos totais (g.100 g⁻¹), 12,5; e, ácido ascórbico (mg/100g), 6,10 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, 2000, 2016). Quanto aos padrões microbiológicos, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 de 02 de janeiro de 2001 estabelece para frutas frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto; máximo de 5 x 10² UFC/g de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella* spp. em 25 g (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 2001).

1.2 *Salmonella* spp.

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. são micro-organismos bacilares de aproximadamente 0,7 a 1,5 x 2,5 µm, gram-negativos e incapazes de esporular. Esta bactéria pode multiplicar-se em ampla faixa de temperatura (5 a 45 °C), em pH entre 4,0 e 9,0 e atividade de água (*A_w*) a partir de 0,995 (D'AUST, 2007; BRANDS et al., 2005; BELL, 2002). Bioquimicamente são catalase e vermelho metila positiva, urease, fenilalanina e oxidase negativa. Não produzem indol, descarboxilam lisina, utilizam citrato como fonte de carbono, fermentam xilose, maltose, porém geralmente não fermentam lactose e sacarose, contudo, muitas cepas podem adquirir essa característica por meio de transferência plasmidial. Produzem gás a partir da fermentação da glicose e a maioria produz ácido sulfídrico a partir da redução do enxofre (JAY, 2005). Na maioria das vezes, células de *Salmonella* spp. são móveis devido à presença de flagelos peritríquios.

Sua taxonomia é definida conforme o esquema proposto por Kauffmann-White (1920). Esse esquema designa um organismo por número e letras que correspondem ao antígeno específico para a cápsula, parede celular e flagelos, que são identificados pelas letras K, O e H, respectivamente. As letras vêm do uso original em alemão; K (*kapsel*) representa cápsula, O (*ohne*) representa a superfície celular ou antígenos corporais, H (*hauch*) representa os antígenos flagelar que conferem (OLIVEIRA, 2013). Pertencem à família Enterobacteriaceae, compreendem um total de 2.579 sorotipos identificados, entre os quais 2.557 pertencem à espécie *S. enterica* que é dividida em seis subespécies, denominados: enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae e indica; e os demais à espécie *Salmonella bongori* (SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2011).

Salmonella spp. é encontrada no meio ambiente em lugares como o solo, reservatórios de água e fezes (BEUCHAT, 1996). Ecossistemas tropicais são ambientes ideais para sobrevivência e multiplicação desse patógeno, devido à concentração alta de nutrientes no solo e na água (WINFIELD; GROISMAN, 2003). Além disso, pode estar presente também em alimentos como carnes, ovos, frutas, hortaliças e água, portanto, podem trazer riscos para a saúde do consumidor (ZENG et al., 2012). A contaminação de origem fecal é geralmente a fonte para contaminação dos produtos agrícolas pela água de irrigação contaminada, por contato direto em ovos e na carne durante o abate. Os micro-organismos penetram no organismo do hospedeiro por via oral, invadem a mucosa intestinal, e causam a doença conhecida por salmonelose, que resulta em febre

entérica, gastroenterite ou septicemia (JAY, 2005), responsável por significantes índices de morbidade e mortalidade, tanto nos países emergentes quanto nos desenvolvidos. A dose infectante é variável, mas segundo o Ministério da Saúde (2011), em pacientes imunocomprometidos, concentrações menores que 1.000 células podem causar complicações (BRASIL, 2011). O quadro clínico geralmente é característico por fezes diarreicas aquosas, cólicas abdominais e sistema febril com duração de dois a quatro dias e a doença pode evoluir causando desidratação, fezes sanguinolentas e até levar a óbito.

1.3 Contaminação Cruzada em Frutas

Nos últimos tempos, tem-se tornado comum, doenças causadas pela ingestão de alimentos estarem associadas ao consumo de produtos frescos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2013). O aumento no consumo de produtos *in natura* se deve em parte, à combinação de serem produtos saudáveis e de fácil preparo (BERGER et al., 2010; SANT'ANA et al., 2011). Entretanto, frutas e hortaliças, por serem na maioria das vezes consumidos crus, podem representar um risco potencial para a saúde, pois não recebem tratamento térmico ao longo da cadeia de produção, sendo que a única etapa que pode auxiliar na redução da carga microbiana é a etapa de lavagem e/ou sanitização (BEUCHAT, 2002; FUSTER-VALLS et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010). A maioria desses riscos ocorre pelo processo de transferência bacteriana ou contaminação cruzada que são considerados como causa importante da ocorrência de doenças associadas ao consumo de alimentos (CARRASCO et al., 2012). Entre os responsáveis por estes surtos, estão as enterobactérias; *Escherichia coli* e *Salmonella*, identificadas como os principais agentes causadores de surtos em produtos frescos (QUIROZ-SANTIAGO et al., 2009; CRITZER; DOYLE, 2010).

Na área de plantio, os patógenos entéricos podem permanecer no meio ambiente, em fezes de animais colonizados (MUKHERJEE et al., 2004; 2007), água de irrigação (MELLOUL et al., 2001; STRAWN et al., 2013) ou alagamento (OROZCO et al., 2008). Já em âmbito industrial, os produtos hortícolas podem ser contaminados por patógenos entéricos durante o processamento (preparação, corte, lavagem, áreas de embalagem, correia transportadora, centrífuga e água utilizada) (BUCHHOLZ et al. 2012a; 2012b). A contaminação cruzada também é relevante no cenário comercial e de consumo, principalmente, durante a manipulação e preparação do corte através de

superfícies, utensílios e mãos (PRECHTER et al., 2002; CHRISTISON et al., 2008; TODD et al., 2009).

Apesar do conhecimento sobre as vias de contaminação dos agentes patogênicos em diferentes fases, que se estende desde o plantio até o consumidor, estudos apontam que o tempo de lavagem, uso de sanitizante e temperatura da água podem reduzir a carga microbiana em produtos frescos (ALLENDE et al., 2008; DOYLE; ERICKSON, 2008; GIL et al., 2009; DANYLUK; SCHAFFNER, 2011). Entretanto, apenas o uso do sanitizante não é capaz de impedir a transferência de *Salmonella* da superfície de frutas (UKUKU; PILIZOTA; SAPERS, 2001). Contudo, a eficiência dos sanitizantes pode ser potencializada quando a solução é aquecida.

Alguns fatores como tempo de contato, superfície de contato, tipo de micro-organismo, concentração do micro-organismo, entre outros, tornam os estudos de transferência de micro-organismos bastante complexos, já que pouco se sabe das condições e o modo com quem esses fatores podem afetar os resultados do processo de transferência microbiana (JENSEN et al., 2015). Lin e Wei (1997) sugeriram que a transferência de *Salmonella* da superfície do tomate para o interior durante o corte possuía dependência em relação ao local onde o inóculo foi depositado. Para Ukuku e Fett (2002) a transferência de *Salmonella* durante o corte de melões frescos está correlacionada com a carga e a hidrofobicidade da superfície bacteriana. No estudo de Ukuku, Pilizota e Sapers (2004) a transferência de *Salmonella* em melões frescos inteiros possui relação com a concentração do inóculo. Dessa forma, ressalta-se a necessidade de se realizar mais pesquisas neste tema, afim de conhecer como ocorre o mecanismo de transferência de *Salmonella* em mangas frascas.

1.4 *Salmonella* em mangas

Nos últimos anos, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e a Administração de Alimentos e Remédios (FDA) pertencentes ao Governo Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos que atuam juntamente com Departamento de Agricultura (USDA) no intuito de desenvolver e criar ações no âmbito da segurança dos alimentos, entre outras listaram os surtos de origem alimentar, relacionados à contaminação por *Salmonella* em frutas frescas e observaram que a maioria destes, envolviam frutas importadas (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2017b).

As mangas exportadas do Brasil para os Estados Unidos foram causa de um grave surto de origem alimentar envolvendo *Salmonella* Newport, em 1999. O surto resultou em 78 vítimas, em 13 estados americanos, acometendo dois óbitos (SIVAPALASINGAM et al., 2003). Outro caso de salmonelose em mangas ocorreu em 2001, também nos Estados Unidos. A infecção por *Salmonella* Saintpaul foi confirmada em 19 indivíduos, em dois estados diferentes. Neste surto, identificou-se o Peru como país de procedência da fruta (BEATTY et al., 2004).

Investigadores de saúde pública no Canadá anunciaram um surto de *Salmonella* Braenderup associado ao consumo de mangas da marca Daniella, importadas do México. Neste surto, o patógeno foi responsável por acometer 17 casos na British Columbia e cinco casos em Alberta. Casos associados ao mesmo patógeno, no mesmo período, estavam sendo relacionados nos Estados Unidos. O CDC relatou que a infecção acometeu 127 pessoas, em 15 estados e 33 pessoas foram hospitalizadas (CDC, 2012). Durante esse mesmo período, 16 pessoas apresentando sinais de salmonelose foram relatados em outros três estados americanos e o CDC relacionou o evento devido ao consumo por mangas contaminadas com *Salmonella* Worthington.

1.5 Microbiologia Preditiva

A preocupação dos órgãos públicos e do público consumidor em relação ao fornecimento de alimentos microbiologicamente seguros e saudáveis impulsionou o desenvolvimento da microbiologia preditiva (TELEKEN et al., 2011). Essa ciência estuda como os alimentos podem ser afetados por micro-organismos utilizando equações matemáticas e auxiliam na avaliação e gestão de segurança e qualidade alimentar. (McDONALD; SUN, 1999). Microbiologia preditiva é uma ferramenta que auxilia na quantificação dos efeitos de fatores intrínsecos e extrínsecos na inibição, crescimento ou inativação dos micro-organismos em alimentos. Para tanto, são implementadas equações matemáticas a partir de dados experimentais, gerados sob condições ambientais de multiplicação, inibição ou inativação microbiana (DANNENHAUER, 2010).

Os modelos matemáticos incluem parâmetros que estão relacionadas ao processo de deterioração do alimento, como: temperatura, A_w , concentração de solutos e potencial hidrogeniônico (pH) (ROSS; DELGAARD, 2004). Além destes, outros

fatores, como o tamanho do inóculo e o seu estado fisiológico, interação microbiana, e duração de experimentos são determinantes no desenvolvimento do micro-organismo (MASANA; BARANYI, 2000; KOUTSOUMANIS et al., 2004; ROSS; DALGAARD, 2004; KOUTSOUMANIS, 2008).

Assim, os modelos matemáticos servem para aferição da segurança alimentar e avaliação de risco em alimentos. Com as curvas de crescimento, é possível explicar como ocorre a proliferação de um micro-organismo em um determinado alimento, bem como prever a sua vida de prateleira. Esse tempo de estocagem pode ser maximizado manipulando o parâmetro temperatura e informar ao consumidor até quando é possível utilizar o produto sem riscos.

1.6 Modelos Preditivos

Os modelos de microbiologia preditiva podem ser definidos como uma expressão matemática que descreve o crescimento, sobrevivência, inativação ou processo bioquímico dos micro-organismos (McDONALD; SUN, 1999). Eles são criados com base nas observações do comportamento microbiano ao longo do tempo em função das condições ambientais, e cujos dados são obtidos a partir de: (i) estudos publicados, (ii) base de dados disponível e (iii) estudos de crescimento, inativação e/ou sobrevivência em alimentos e, ou em meios de cultura. Os dados são analisados e são identificados padrões de resposta. Estes são expressos sob a forma de expressões matemáticas com base nos melhores parâmetros que definam as características de determinado micro-organismo. O desempenho do modelo ajustado é testado. Quando se obtém o modelo final, a equação é inserida em *software* especializado e é disponibilizada para a comunidade científica (McDONALD; SUN, 1999; ROSS, 2009).

A microbiologia preditiva utiliza os modelos mecanísticos e/ou empíricos (McMEEKIN et al., 1993). Os modelos mecanísticos descrevem, com base teórica, a resposta microbiana, porém, é difícil o seu ajuste estatístico devido a complexidade de representar quantitativamente o estado fisiológico da célula. Representa a relação entre a variável de resposta e a(s) variável(eis) explanatória(s) (McMEEKIN et al., 1993). Os modelos empíricos são mais utilizados e descrevem um conjunto de dados experimentais por meio de equações matemáticas, que se ajustam à fisiologia microbiana (KRIST et al., 1998; McMEEKIN et al., 2002).

Os modelos empíricos podem ser classificados em modelos cinéticos e probabilísticos. Os modelos cinéticos são baseados no estudo do comportamento da população microbiana, taxa de crescimento ou inativação dos micro-organismos de interesse, em função do tempo (NAKASHIMA et al., 2000). A modelagem probabilística enfoca o crescimento e não crescimento microbiano em diferentes condições dos fatores ou barreiras envolvidas no processo que influenciam na probabilidade do micro-organismo crescer e se reproduzir (LOPEZ-MALO et al., 2000; LOPEZ-MALO; PALOU, 2000).

Barany e Roberts (1992) classificam os modelos em: primários, secundários e terciários. Os modelos primários descrevem a variação do número de micro-organismos em relação ao tempo, sem alterar o ambiente (LI et al., 2010). Os modelos primários são modelos de crescimento, de inativação ou sobrevivência, pois são derivados diretamente de dados experimentais. A partir deles se obtém a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro ou grama, a quantificação de toxinas, os níveis de substratos e produtos metabólicos. Assim, é possível a partir da curva de crescimento estimar os parâmetros cinéticos como o tempo de lag, taxa específica máxima de crescimento e densidade máxima da população (LI et al., 2010). Neste estudo, o modelo primário utilizado a partir de Barany e Roberts (1994) foi aplicado no sentido de compreender a dinâmica do patógeno no alimento, e obter os parâmetros cinéticos de crescimento como a fase lag e a taxa de multiplicação.

Os modelos secundários são equações que descrevem a variação dos parâmetros cinéticos (duração da fase lag, velocidade de crescimento e densidade máxima da população) em função da variação de uma condição ambiental (SIQUEIRA et al., 2014). A temperatura é fator preponderante, uma vez que a velocidade específica máxima de crescimento e a fase lag são altamente dependentes da temperatura (GIANUZZI et al., 1998). Ao permitir simular diferentes condições de abuso no produto, principalmente durante o transporte e armazenamento de produtos alimentícios, principalmente os perecíveis até a sua distribuição e venda, se torna imprescindível o uso destes modelos, pois podem auxiliar na determinação da vida de prateleira. Devido a isso, propôs-se neste estudo, avaliar o efeito da temperatura sobre os parâmetros cinéticos de multiplicação usando o modelo de Raiz Quadrada proposto por Ratkowsky (1982).

Os modelos terciários são constituídos por *softwares* que utilizam modelos primários e secundários. Estes programas podem calcular curvas de crescimento

microbiano sob diferentes condições ambientais, comparar os efeitos nos micro-organismos quando submetidos a diferentes condições ou comparar o comportamento de diversos micro-organismos (OLIVEIRA et al., 2013). São com esses modelos matemáticos que é feita a previsão sobre o que pode acontecer com um micro-organismo nas condições em que os alimentos se encontram sem necessidade de experimentos em laboratório, permitindo economia de recursos e possibilitando tomada de decisões rápidas. Neste estudo, no intuito de melhor discutir e compreender as variáveis comportamentais deste patógeno na fruta, os resultados foram comparados às situações similares veiculadas por estudos anteriores que utilizaram os *softwares* PMP e ComBase.

Segundo Whiting (1995), entre as vantagens da utilização por modelos preditivos na microbiologia de alimentos destacam:

- Predição de riscos: pode-se estimar a probabilidade do patógeno sobreviver durante a estocagem e/ou causar a doença em um indivíduo.
- Controle de qualidade: a predição dos efeitos dos fatores ambientais pode auxiliar nas decisões sobre pontos críticos de controle em uma Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Esta aplicação é particularmente útil em situações em que há interação dos fatores que controlam o crescimento (WHITING; BUCHANAN, 1997).
- Desenvolvimento de produtos: a sobrevivência microbiana pode ser prevista para mudanças no processamento e/ou nova formulação do produto, sem a necessidade de análises laboratoriais extensivas. Alterações na composição ou processamento de alimentos podem ser avaliadas rapidamente. Podem auxiliar na definição de prazos de validade, por meio de estimativas de crescimento de patógenos prováveis, que podem ser comparadas às de crescimento da microbiota deteriorante (WHITING; BUCHANAN, 1997).
- Educação: O comportamento microbiano pode ser entendido por pessoas técnicas ou não, devido a representação de ilustrações em gráficos, sobre os efeitos das condições ambientais no micro-organismo.

2. REFERENCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Padrões Microbiológicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 de jan. 2001.
- ALLENDE, A., et al. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including *E. coli* cross contamination, of fresh-cut escarole. **Journal of Food Protection**, v.71, n.12, p.2514-2518, dez.2008.
- ANDRADE, P.F. DE S. **Análise da conjuntura agropecuária safra 2016/17: fruticultura. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento**. Paraná: [s.n.].
- ARÉVALO, J.; LIMA, J.R. Oferta de exportação de manga pelo Brasil e Peru : uma abordagem considerando os mercados dos Estados Unidos e União Europeia. **Revista Economia**, v. 46, n. 1, p. 115–129, 2015.
- BARANY, J.; ROBERTS, T.A. A terminology of models in predictive microbiology- a reply to K.R. Davey. **Food Microbiology**, v.9, n.4, p.355-356, nov.1992.
- BEATTY M. E.; et al. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, n.9, p.1337-1338, mai. 2004.
- BELL, C. **Salmonella a practical approach to the organism and its control in food**. London, United Kingdon, Blackwell Science, 2002. 328p.
- BERGER, C.N., et al. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. **Environmental Microbiology**, v.12, n.9, p.2385–2397, set.2010.
- BEUCHAT, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal of Food Protection**, v.59, n.2, p.204-216, 1996.
- BEUCHAT, L.R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v.4, n.4, p.413–423, abr.2002.
- BRANDS, D.A.; ALCAMO, E.I.; HEYMANN, D. **Deadly diseases and epidemics Salmonella**. Oklahoma, United States. Cealsea House Publishers, 2005. 102p.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Regulamento Técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Instrução Normativa nº 01 de 07 de janeiro de 2010. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 10/01/2000.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Regulamento Técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade de polpa de fruta. Portaria nº 58 de 30 de agosto de 2016. **Diário Oficial da União**.

Brasília, DF, 30/08/2016.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella***.

Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília, DF, 2011.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. **Secretaria da Vigilância em Saúde**. Brasília, DF, Jun. 2016.

BUCHHOLZ, A., et al. Transfer of *E. coli* O157:H7 from equipment surfaces to fresh-cut leafy greens during processing in a model pilot-plant production line with sanitizer-free water. **Journal of Food Protection**, v.75, n.11, p.1920-1929, nov.2012a.

BUCHHOLZ, A., et al. Quantitative transfer of *E. coli* O157:H7 to equipment during small-scale production of fresh-cut leafy greens. **Journal of Food Protection**, v.75, n.7, p.1184–1197, jul.2012b.

CARRASCO, E.; MORÁLES-RUEDA, A.; GARCIA-GIMENO, R. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, v. 45, Issue 2, p. 545-556, mar.2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. ***Salmonella***. 2017a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>. Acesso em: 8 out. 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Reports of selected *Salmonella* outbreak investigations**. 2017b. Disponível em:

<<https://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks.html>>. Acesso em: 8 out. 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of *S. Braenderup* infections associated with mangoes (Final Update)**. 2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/braenderup-08-12/index.html>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of *S. Typhimurium* infections linked to dried coconut**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-03-18/index.html>>. Acesso em: 2 abr. 2018.

CHRISTISON, C.; LINDSAY, D.; VON HOLY, A. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens. Johannesburg, South Africa. **Food Control**, v.19, n.7, 727–733, jul.2008.

COMEX VIS. **Comex Vis: principais produtos exportados**. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/comex-vis/frame-ppe?ppe=1190>>. Acesso em: 2 abr. 2018.

COSTA, J.G.; SANTOS, C.A. Cultivares. In: MOUCO, M. A. DO C. (Ed.). **Cultivo da Mangueira**. Embrapa ed. Petrolina, Pernambuco: Embrapa Semi-Árido, 2004. p. 19–23.

CRITZER, F.J.; DOYLE, M.P. Microbial ecology of foodborne pathogens associated with produce. **Current Opinion Biotechnology**, v.21, n.2, p.125–130, abr.2010.

DANNENHAUER, C.E. **Desenvolvimento de um aplicativo computacional para microbiologia preditiva**. 2010. 147f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

DANYLUK, M.; SCHAFFNER, D. Quantitative assessment of the microbial risk of leafy greens from farm to consumption: preliminary framework, data, and risk estimates. **Journal of Food Protection**, v.74, n.5, p.700–708, mai.2011.

D'AOUST, J.; MAURER, J. *Salmonella* species. In: Doyle, M. Beuchat, L. (ed), **Food Microbiology**, v.3, p.187-236, 2007.

DIB, A.C. **Exportação de frutas cresce 9,9% no semestre e em 2017 deve superar total embarcado em 2016**. Disponível em:

<<https://www.comexdobrasil.com/exportacao-de-frutas-cresce-99-no-semester-e-em-2017deve-superar-total-embarcado-em-2016/>>. Acesso em: 2 abr. 2018.

DOYLE, M.; ERICKSON, M. Summer meeting 2007 — the problems with fresh produce: an overview. **Journal Applied Microbiology**, v.105, n.2, p.317–330, fev.2008.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. European Centre for Disease Prevention, Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. **EFSA Journal**, v.11, n.4, p.3129, 2013.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. European Center for Disease Prevention Control (ECDC). **Foods of non-animal origin: what are the risks?**

Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150313>>. Acesso em: 8 out. 2017.

FUSTER-VALLS, N., et al. Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. **Food Control**, v.19, n.3, p.308–314, mar.2008.

GIANNUZZI, L.; PINOTTI, A.; ZARITZKY, N. Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v.39, n.2, p.101-110, jan.1998.

GIL, M.I., et al. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**, v.34, n.1, p.37-45, ago.2009.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KOUTSOUMANIS, K.P. A study on the variability in the growth limits of individual cells and its effect on the behavior of microbial populations. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, n.1, p.116–121, nov.2008.

JENSEN D.A., et al. Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 between lettuce and wash water during home-scale washing. **Food Microbiology**, v.46, p.428-433, abr.2015.

KOUTSOUMANIS, K.P. KENDALL, P.; SOFOS, J. Modelling the boundaries of growth of *S. Typhimurium* in broth as a function of temperature, water activity, and pH. **Journal of Food Protection**, v.67, n.1, p.53–59, jan.2004.

KRIST, K.A.; ROSS, T.; McMEECKIN, T. Final optical density and growth rate; effects of temperature and NaCl differ from acidity. **International Journal of Food Microbiology**, v.43, n.3, p.195-203, set.1998.

LI, H.; XIE, G.; EDMONDSON, A. Evolution and limitations of primary mathematical models in predictive microbiology. **British Food Journal**, v.109, n.8, p.608–626, 2007.

LIN, C.M.; WEI, C.I. Transfer of *Salmonella* Montevideo onto the interior surfaces of tomatoes by cutting. **Journal of Food Protection**, v. 60, p. 858–863, 1997.

LOPEZ-MALO, A.; GUERRERO, S.; ALZAMORA, M. Probabilistic modeling of *Saccharomyces cerevisiae* inhibition under the effects of water activity, pH and potassium sorbate concentration. **Journal of Food Protection**, v.63 n.1, p.91-95, jan.2000.

LOPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Modeling the growth/no-growth interface of *Zigosaccharomyces boilli* in mango puree. **Journal of Food Science**, v.65, n.3, p.516-520, abr.2000.

MASANA, M.O.; BARANYI, J. Growth/no growth interface of *Brochothrix thermosphacta* as a function of pH and water activity. **Food Microbiology**, v.17, n.5, p.485–493, out.2000.

McDONALD, K.; SUN, D. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.52, n.1, p.1-27, nov.1999.

McMEEKIN, T.A., et al. **Predictive microbiology: theory and application**. Taunton, UK: Research Studies Press Ltd, 1993. v.5.

McMEEKIN, T.A., et al. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, v.73, p.395- 407, 2002.

MELLOUL A.A.; HASSANI, L.; RAFOUK, L. *Salmonella* contamination of vegetables irrigated with untreated wastewater. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.17, n.2, p.207–209, mar.2001.

MUKHERJEE A.; SPEH, D.; DIEZ-GONZALEZ, F. Association of farm management practices with risk of *E. coli* contamination in preharvest produce grown in Minnesota and Wisconsin. **International Journal Food Microbiology**, v.120, n.3, p.296–302, dez.2007.

MUKHERJEE A., et al. Preharvest evaluation of *coliforms*, *E. coli*, *Salmonella*, and *E. coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. **Journal of Food Protection**, v.67, n.5, p.894–900, mai.2004.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, D.; FRANCO, B. Revisão: aspectos básicos da microbiologia preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.3, p.41-51, abr.2000.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO – NEPA. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. BookEditora. Unicamp. 4º Ed., Campinas, 2011.

OLIVEIRA, M. Quantification of *Listeria monocytogenes* in minimally processed leafy vegetables using a combined method based on enrichment and 16S rRNA real-time PCR. **Food Microbiology**, v.27, n.1, p.19-23, fev.2010.

OLIVEIRA, A.P., et al. Microbiologia Preditiva. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.9, n.17, p.1909-1928, 2013.

OROZCO, R.L., et al. Animal and environmental impact on the presence and distribution of *Salmonella* and *E. coli* in hydroponic tomato greenhouses. **Journal of Food Protection**, v.71, n.4, p.676–683, abr.2008.

PRECHTER, S. Hygienische aspekte von schneidebrettern aus holz bzw. **Kunststoff. Holz als Roh-und Werkstoff**, v.60, n.4, p.239–248, ago.2002.

QUIROZ-SANTIAGO, C., et al. Prevalence of *Salmonella* in vegetables from Mexico. **Journal of Food Protection**, v.72, n.6, p.1279–1282, jun.2009.

RATKOWSKY, D.A., et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. **Journal of Bacteriology**, v 149, p.1–5, 1982.

ROSS, T.; DALGAARD, P. Secondary models. In: McKellar, R.C.; Lu, X. (Eds.). **Modeling microbial responses in foods**. London, CRC Press, 2004. p.63-150.

ROSS, T. Predictive Microbiology, In: **SEAFast Center Symposium**. 2009: Bogor.

SANCHEZ-VARGAS M.; ABU-EL-HAIJA M.A.; GÓMEZ-DUARTE, O.G. *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management and prevention. **Travel Medicine and Infectious Diseases**, v.9, n.6, p.1-15, 2011.

SANTOS, A.E., et al. Efeito do tratamento hidrotérmico e diferentes revestimentos na conservação pós-colheita de mangas “Tommy Atkins”. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.1, p.140–146, 2011.

SANT’ANA, A.S., et al. Prevalence and counts of *Salmonella* spp. in minimally processed vegetables in Sao Paulo, Brazil. **Food Microbiology**, v.28, p.1235-1237, abr.2011.

SIQUEIRA, A.A., et al. MicroFit: um software gratuito para desenvolvimento e ajuste de modelos matemáticos de crescimento bacteriano. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.17, n.4, p.329-339, dez.2014.

SIVAPALASINGAM, S., et al. A multistate outbreak of *S. enterica* serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, n. 12, p. 1585–1590, 2003.

STRAWN, L.K., et al. Risk factors associated with *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* contamination of produce fields. **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n.24, p.7618–7627, set.2013.

TELEKEN, J.T.; ROBAZZA, W.; GOMES, G. Mathematical modeling of microbial growth in milk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.4, p.891-896, dez.2011.

TODD, E., et al. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. **Journal of Food Protection**, v.72, n.1, p.202–219, jan.2009.

UKUKU, D.O.; FETT, W.T. Relationship of cell surface charge and hydrophobicity to strength of attachment of bacteria to cantaloupe rind. **Journal of Food Protection**, v.65, p. 1093–1099, 2002.

UKUKU, D.O.; PILIZOTA, V.; SAPERS, G.M. Effect of hot water on *Salmonella* survival on cantaloupe. **Journal of Food Protection**, v.67, n.3, p.432–437, 2004.

UKUKU, D.O.; PILIZOTA, V.; SAPERS, G.M. Influence of washing treatments on native microflora and *Escherichia coli* population of inoculated cantaloupes. **Journal of Food Safety**, v. 21, p. 31–47, 2001.

UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA. Nonchemical treatments: heat, hot water immersion treatment. In: **Treatment Manual**. Washington, United States: USDA-APHIS, 2016. p. 934.

ZENG, B., et al. Formation and resuscitation of viable but nonculturable *Salmonella* Typhi. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-7, 2012

WINFIELD, M.D.; GROISMAN, E.A. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *E. coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.7, p.3687-94, 2003.

WHITING, R.C. Microbial modeling in foods. **Critical Review in Food Science**, v.35, n.6, p.467-494, nov.1995.

WHITING, R.C.; BUCHANAN, R.L.B. Predictive modeling. In: Doyle MP, Beuchat L.R., Montville, T.J. (Eds.) Food microbiology: fundamentals and frontiers. **American Society for Microbiology** (In Press). Dez. 2012. Cap.4, p.728-739.

CAPÍTULO 1

O manuscrito foi escrito conforme as exigências da revista **Journal of Food Protection**

– Print ISSN: 0362-028X - Online ISSN: 1944-9097.

Redução e transferencia de *S. Typhimurium* inoculada em superfícies de mangas (Tommy Atkins) para outras mangas na etapa do banho hidrotérmico

Jacqueline V. Bairros¹, Nélio J. Andrade¹, Maria C. D. Vanetti², Wilmer E. L. Pena^{1*}

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*Autor Correspondente: Prof. Wilmer E. L. Peña: wilmer.pena@ufv.br Campus Universitário. CEP: 36570-900. Viçosa, MG, Brasil.

Destaques

O tratamento hidrotérmico com cloro foi eficiente na redução da população de *S. Typhimurium* em superfícies de mangas em relação ao tratamento hidrotérmico sem o sanitizante.

O tratamento hidrotérmico com cloro não impediu a transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas contaminadas para as frutas não contaminadas.

A eficiência antimicrobiana do tratamento hidrotérmico combinado com cloro foi reduzida pelo aumento do número de mangas contaminadas por *S. Typhimurium*, bem como pela concentração do inóculo.

Resumo

Surtos de salmonelose relacionados ao consumo de frutas in natura importadas aos Estados Unidos têm sido reportados na literatura. Nesse contexto foi recomendado que mangas importadas para os Estados Unidos recebessem banho de imersão em água clorada, a 46,1 °C por 65 min. com o objetivo de assegurar a ausência de patógenos, principalmente *Salmonella*. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o tratamento hidrotérmico combinado com cloro na redução da contaminação e a transferência de *S. Typhimurium* da superfície da casca de manga (Tommy Atkins) para outras superfícies de mangas. As frutas foram inoculadas por gotejamento, em concentrações de 3×10^5 e 3×10^8 UFC/manga de *Salmonella Typhimurium*. Foram realizados três experimentos para cada concentração do inóculo. Foram utilizadas 10 mangas para cada experimento: no primeiro, uma manga foi inoculada, no segundo; três mangas foram inoculadas e, no terceiro experimento; inoculou-se cinco mangas. O tratamento hidrotérmico combinado com solução clorada na concentração de 200 mg.L⁻¹ de CRT ocorreu a 46,1 °C por 65 min. A presença de *S. Typhimurium* na superfície de mangas inoculadas após o tratamento hidrotérmico com ou sem cloro foi confirmada em todos os experimentos, exceto no primeiro experimento, quando apenas uma manga do lote foi contaminada na concentração de 10⁵ UFC/manga; seguido-se do tratamento hidrotérmico com cloro. A transferência de *Salmonella* da superfície da manga inoculada para as frutas não inoculadas, foi frequentemente menor que 50 %, tanto para o tratamento hidrotérmico com cloro ou sem cloro. A exceção constatada foi no experimento em que cinco unidades da fruta de um total de 10 foram inoculadas. Nesta situação, observou-se que houve 60 % de transferência de *Salmonella* para as superfícies de mangas não inoculadas, do tratamento hidrotérmico sem cloro. Dessa forma, conclui-se que o tratamento hidrotérmico com cloro foi mais eficiente na redução das taxas de transferência do patógeno inoculado na casca da manga, independente da concentração do inóculo e mesmo quando se aumentou o número de frutas contaminadas. Os resultados enfatizam a importância de realizar a adequada cloração da água utilizada no tratamento hidrotérmico na prevenção contra *Salmonella* aderida à superfície das frutas.

Palavras-chave: Manga; *Salmonella*; Sanitizante; Transferência microbiana, Tratamento hidrotérmico.

1. INTRODUÇÃO

É crescente a discussão que envolve relatos de surtos alimentares causados pelo consumo de frutas frescas e outros vegetais pela comunidade científica (CALLEJÓN et al., 2015; DENIS et al., 2016; HERMANN; HALLE; GOULD, 2015). Esses produtos geralmente estão expostos à contaminação microbiana que pode ocorrer desde a colheita, durante o transporte, processamento e distribuição (ALEGRE et al., 2010). No Brasil, entre 2007 e 2016 ocorreram mais de 6.000 surtos de origem alimentar, sendo que 0,6 % estiveram relacionados ao consumo de frutas, produtos de frutas e similares, e *Salmonella* foi o principal patógeno identificado em aproximadamente 7,5 % dos surtos (BRASIL, 2016).

Na União Europeia, são relatados anualmente mais de 100.000 casos de salmoneloses em humanos e as frutas estão entre os alimentos crus que representam maior risco de contaminação por este patógeno, atrás apenas dos vegetais folhosos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2017). Enquanto que nos Estados Unidos estima-se que *Salmonella* seja responsável por cerca de um milhão de doenças causadas pela ingestão de alimentos, 19 mil hospitalizações e 380 mortes, a cada ano (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2017). Em resposta a tais surtos, as agências de segurança de alimentos nos Estados Unidos, passaram a corrigir algumas regulamentações para importação de frutas frescas, entre elas, o tratamento de imersão em água quente (T102 – a *Treatment Manual*) referente à importação de mangas (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016). Isso porque, mesmo após a sua implantação em 1988, ocorreram surtos por *Salmonella* relacionados ao consumo de mangas importadas do Brasil, em 1999 (SIVAPALASINGAM et al., 2003), Peru, em 2001 (BEATTY et al., 2004) e do México, em 2012 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC, 2012). A ocorrência destes surtos, em parte, se deve ao fato de que, os galpões de processamento da fruta, são estruturas abertas, facilitando a entrada de animais que transportam patógenos humanos, como *Salmonella* e dessa forma, possibilita a contaminação da água utilizada no tratamento a quente (SIVAPALASINGAM et al., 2004).

Desta forma, as mangas para serem exportadas aos Estados Unidos devem

receber o tratamento hidrotérmico que consiste na imersão das frutas em água quente (46,1 °C) durante 65 min, esse tempo é válido para mangas com peso de até 375 g (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016). Entre as novas diretrizes para que o tratamento hidrotérmico ocorra em conformidade está a exigência da cloração da água em 200 mg/L⁻¹ de CRT utilizada na etapa do banho de imersão (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016).

Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da utilização da água clorada na etapa do banho hidrotérmico em mangas na redução de *Salmonella* da superfície desta fruta e na transferência deste patógeno para outras frutas não contaminadas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Mangas (*Mangifera indica* L.) da variedade Tommy Atkins foram adquiridas no comércio de Viçosa/MG. Frutos maduros, sem lesões e com peso de até 375 g foram coletados em sacolas plásticas esterilizadas e transportadas ao Laboratório de Higiene e Microbiologia de Alimentos (LHMA) do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), à temperatura ambiente.

2.2 Sanitização das frutas

A lavagem e sanitização das mangas seguiram as instruções descritas por Bastos et al. (2006). As mangas foram lavadas em água corrente e limpas utilizando esponja e detergente neutro massageando-as manualmente por 10 min. Posteriormente, foi realizada a sanitização em solução clorada na concentração de 200 mg.L⁻¹ de cloro residual total (CRT), por 5 min, pH 6,5 ± 0,2. A solução clorada foi preparada a partir do produto comercial (Sumaveg Diversy Brasil Indústria Química Ltda, São Paulo, Brasil) em água com temperatura entre 10 a 15 °C. Foi utilizado o tiosulfato de sódio (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) a 0,25 % (m/v), 5 min, para a neutralização do agente sanitizante (SCOLFARO et al., 2017). Após a sanitização de cada lote de mangas, uma das frutas foi utilizada como controle negativo.

2.3 Recuperação de *S. Typhimurium*

S. enterica subsp. *enterica* sorovar Typhimurium ATCC 14028 foi utilizado nesta etapa. Uma alíquota do micro-organismo, congelada a -18 °C em caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI, Himedia, São Paulo, Brasil) foi transferida para tubos contendo 10 mL de caldo Triptona de Soja (TSB, Kasvi, Paraná, Brasil) e incubada a 37 ± 1 °C/12 h. A cultura foi transferida novamente para outro tubo com caldo TSB e incubada a 37 ± 1 °C/6 h.

A suspensão de células foi padronizada a uma absorvância de 0,1 em espectrofotômetro (Kazuaki IL-227, São Paulo, Brasil) no comprimento de onda de 625 nm equivalente a aproximadamente 10^8 UFC/mL. Quando necessário, o inóculo foi diluído em água peptonada tamponada (BPW, Kasvi, Paraná, Brasil) para se alcançar a concentração de 10^5 UFC/mL.

2.4 Inoculação de *S. Typhimurium*

Nesta etapa, as mangas foram numeradas na sequência de um a dez, para identificação. As mangas que receberam a inoculação foram colocadas individualmente em um prato de vidro esterilizado e em seguida foi distribuído 3 mL do inóculo em cada fruta, por gotejamento, conforme metodologia adaptada de Harris et al. (2001). A fruta incubada foi deixada em repouso a 25 °C, por 2 h, para fixação do inóculo. Foram estudadas duas concentrações de inóculo, 3×10^5 e 3×10^8 UFC/manga, separadamente.

2.5 Tratamento hidrotérmico combinado com cloro

Em um recipiente de aço inoxidável com capacidade de 20 L, previamente higienizado, foram preparados 2 L de solução clorada na concentração de 200 mg.L^{-1} de CRT, pH $6,5 \pm 0,2$, utilizando água esterilizada na temperatura entre 10 a 15 °C, conforme fabricante (Sumaveg Diversy Brasil Indústria Química Ltda, São Paulo, Brasil). A solução clorada foi previamente aquecida, com auxílio de dois ebulidores elétricos (EB Distribuidora, Gravataí, RS, Brasil, 770 W de potência) até a temperatura de $46,1 \pm 1$ °C, para a simulação do tratamento hidrotérmico. Para o acompanhamento

da temperatura, utilizou-se um termostato digital (MasTech Tecnologia Ltda, São Paulo, Brasil) com medidas da temperatura em intervalos de tempo de 5 min.

Manualmente, utilizando luvas de látex (Supermax, Brasil Importadora S/A, Paraná Brasil), as mangas contaminadas e as mangas não contaminadas foram imersas na solução sanitizante aquecida, para a simulação do tratamento hidrotérmico. Os experimentos A, B, C, D, E, F (Tabela 1) receberam o tratamento hidrotérmico por 65 min, com controle da temperatura. Não houve agitação das mangas, durante o banho.

Tabela 1: Tratamentos hidrotérmicos conduzidos em duas concentrações de inóculo (10^5 e 10^8 UFC/manga) em seis experimentos (A, B, C, D, E, F) de acordo com o número de mangas inoculadas (1, 3, 5), simulando baixo (10 %), médio (30 %) e alto (50 %) nível de contaminação

Concentração do inóculo (UFC/manga)	Experimentos	Número de Mangas inoculadas	Contaminação (%)	Simulação de nível
10^5	A	1	10	baixo
	B	3	30	médio
	C	5	50	alto
10^8	D	1	10	baixo
	E	3	30	médio
	F	5	50	alto

Após a simulação do banho hidrotérmico, foram adicionados 2 L de tiosulfato de sódio (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) a 0,25 % (m/v) por 5 min, para a neutralização do agente sanitizante. Posteriormente, as mangas foram retiradas do recipiente de aço inoxidável manualmente, com as mãos enluvadas e colocadas em placas de Petri esterilizadas, por 30 min, em temperatura ambiente para o seu arrefecimento.

2.6 Tratamento hidrotérmico sem cloro

Da mesma forma, os procedimentos dos Experimentos A, B, C, D, E, F mencionados no item 2.5, bem como as duas concentrações de inóculo analisadas (10^5 e

10⁸ UFC/manga) foram realizados sem a adição do cloro na água do tratamento hidrotérmico.

2.7 Avaliação da transferência microbiana

A metodologia adotada para verificação da presença por *S. Typhimurium* nas superfícies das mangas foi fundamentada a partir do método Organização Internacional para Padronização (ISO) 6579:2002 (ANONYMOUS, 2002). As mangas foram colocadas individualmente, em sacos plásticos esterilizados contendo 200 mL de água peptonada tamponada (BPW, Kasvi, Paraná, Brasil) e massageadas manualmente, por 2 min. As amostras (saco com a fruta) foram incubadas a 37 ± 1 °C por 18 ± 2 h. Após a incubação, foram semeadas alíquotas de 0,1 mL e 1,0 mL dessa suspensão para 10 mL de caldo Rappaport–Vassiliadis (RVS, Himedia, São Paulo, Brasil), seguindo de incubação em banho-maria a 41,5 ± 1 °C por 24 ± 3 h e para 10 mL de caldo Mueller Kauffman Tetracionato Novobiocina (MKTTn, Kasvi, Paraná, Brasil), incubado a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h, respectivamente.

Foram retiradas alíquotas dos caldos RVS e MKTTn e realizadas estrias em placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Kasvi, Paraná, Brasil) e Ágar Hektoen (HE, Kasvi, Paraná, Brasil), incubadas a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h. Colônias presuntivas de *Salmonella* nas placas de XLD e HE foram recuperadas em Ágar Nutriente (NA, Himedia, São Paulo, Brasil) e incubadas a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h. Testes bioquímicos foram realizados, por semeadura em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia, São Paulo, Brasil), Ágar Lisina Ferro (LIA, Himedia, São Paulo, Brasil), Ágar Sulfito de Hidrogênio, Indol e Motilidade (SIM, Himedia, São Paulo, Brasil) e caldo Uréia de Christensen (Kasvi, Paraná, Brasil), incubados a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h.

Culturas que apresentaram resultados típicos de *Salmonella* foram testados por aglutinação com o anti soro somático polivalente (Poli O, BD Difco, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* por fruta.

2.8 Análise dos resultados

Todos os experimentos ocorreram em duplicata e foram repetidos três vezes. Os resultados dos ensaios de transferência de *S. Typhimurium* nas superfícies de mangas foram avaliados por análise descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se recuperou *Salmonella* spp. das amostras de mangas utilizadas como o controle negativo, selecionadas após a etapa de sanitização. Nesta pesquisa, os experimentos simularam a transferência que pode ocorrer quando mangas Tommy Atkins contaminadas por *S. Typhimurium* e mangas não contaminadas são tratadas com água aquecida, considerada obrigatória para exportação da fruta, aos Estados Unidos. *S. Typhimurium* não foi recuperado da superfície de manga inoculada, com 10^5 UFC/manga, após o tratamento hidrotérmico com cloro, no experimento A. Contudo, nos demais experimentos, foi detectado a presença do patógeno das superfícies de mangas inoculadas, após o tratamento hidrotérmico com ou sem cloro. A predominância de *Salmonella* nas superfícies das mangas, mesmo após os tratamentos hidrotérmicos, sugere que o procedimento, adotado como controle sanitário, pode apresentar falhas e, portanto, é necessário que sua técnica seja analisada e discutida a fim de minimizar riscos associados à contaminação por patógenos nestas frutas.

Neste estudo, utilizou-se a temperatura, o tempo e a cloração da água do banho de imersão de acordo com a recomendação proposta pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016), que é a utilização de 46,1 °C, por 65 min, e 200 mg.L⁻¹ de cloro residual total, respectivamente. Contudo, temperaturas mais elevadas da água podem influenciar no amadurecimento mais rápido da fruta e com isso, trazer prejuízos para a comercialização da manga (BENDER; SEIBERT; BRECHT, 2003). Ao passo que, o aumento da concentração de cloro pode causar um forte cheiro do sanitizante e provocar um sabor desagradável nas mangas (SERTTHIKUL; MAHAKARNCHANAKUL; SAJJAANANTAKUL, 2003).

Dessa forma, aumentar a temperatura ou a concentração do cloro no banho de imersão de mangas para evitar possíveis contaminações microbiológicas não são opções

válidas. Porém, é possível sugerir que o prolongamento do tempo do tratamento hidrotérmico, pode diminuir a prevalência de *S. Typhimurium* na superfície das frutas. Por outro lado, a ausência do patógeno na superfície de mangas do experimento A, após o tratamento hidrotérmico com cloro, sugere que este fato possa ter ocorrido pela combinação da baixa concentração do inóculo, 10^5 UFC/fruta e pelo número de mangas inoculadas, apenas uma, em um lote de 10 frutas, aumentando a possibilidade de dispersão do patógeno na solução clorada. Além disso, soma-se também a este fato, o efeito térmico do tratamento e do poder oxidante do cloro.

Na Tabela 2 observa-se a porcentagem de transferência de *S. Typhimurium* nas superfícies de mangas contaminadas para outras superfícies das frutas não contaminadas, após o banho de imersão com e sem cloro.

Tabela 2: Porcentagem de transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas Tommy Atkins contaminadas para superfícies de mangas não contaminadas, após a etapa do tratamento hidrotérmico com e sem a adição de cloro

Concentração do inóculo (UFC/manga)	Número de mangas inoculadas	Experimento	Tratamento hidrotérmico com cloro (%)	Tratamento hidrotérmico sem cloro (%)
10^5	1	A	ND	ND
	1, 2 e 3	B	ND	ND
	1, 2, 3, 4 e 5	C	20,00	40,00
10^8	1	D	ND	11,11
	1, 2 e 3	E	14,28	28,57
	1, 2, 3, 4 e 5	F	40,00	60,00

•ND: não detectado

Observa-se que, nos experimentos A e B, não foi detectada a transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas para as outras frutas, em ambos os tratamentos hidrotérmicos. A menor porcentagem (11,11 %) detectada oriunda da transferência de *S. Typhimurium* das superfícies de mangas para as demais frutas ocorreu no experimento D relativo ao tratamento hidrotérmico sem cloro. No experimento F observou-se a maior porcentagem (60 %) de transferência do patógeno no tratamento hidrotérmico sem cloro.

Foi percebido que a concentração do inóculo, o número de frutas contaminadas e a presença ou ausência do cloro no tratamento hidrotérmico são fatores que influenciam na porcentagem de transferência de *S. Typhimurium* da superfície de manga. Quanto mais baixo foi a concentração inicial do inóculo, menor a transferência de *Salmonella*. Este resultado foi potencializado quando o experimento foi realizado com sanitizante. Ao passo que, quanto maior o número de mangas contaminadas por *S. Typhimurium*, maior é a proporção da porcentagem de transferência observada nos experimentos, em ambos os tratamentos hidrotérmicos.

A efetividade do tratamento hidrotérmico a 46,1 °C por 65 min, combinado com cloro, na transferência de *Salmonella* de superfície de manga, realizado sob as condições correspondentes aos parâmetros de operação recomendados para a segurança alimentar, não foi relatado em outros estudos científicos. Outras pesquisas semelhantes ao tema relacionaram a redução de *Salmonella* da casca de frutas em função da temperatura da água (UKUKU; PILIZOTA; SAPERS, 2004); do tratamento por imersão com ou sem cloro (UKUKU; HUANG; SOMMERS, 2015; UKUKU; FETT, 2006); e da quantidade de frutas em razão da quantidade de solução sanitizante (BEUCHAT; DAVID; ALALI, 2012).

Embora tenha se observado uma baixa detecção de *Salmonella* para as superfícies de mangas não contaminadas (Tabela 3), é importante ressaltar que a transferência do patógeno já foi reportada e o motivo esteve relacionado à água utilizada nos tanques de processamento (SIVAPALASINGAM et al., 2004). A água pode ser contaminada por distintos motivos, incluindo a exposição de animais em galpões durante o processamento. Desta forma, após o tratamento hidrotérmico, as fibras alimentares da fruta que esta aquecida se contraem durante o resfriamento e uma diferença de pressão hidrostática interna entre os gases, absorve a água, assim como também, absorve os patógenos (BUCHANAN et al., 1999). Por isso, a água utilizada no processamento de frutas deve ser filtrada e adequadamente clorada e se a água fria for utilizada posteriormente, é necessário que se tenha um mínimo de 30 minutos de arrefecimento entre água quente e fria (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016).

Penteado, Eblen e Miller (2004) explicam que se ocorrer a internalização do patógeno, os tratamentos convencionais de descontaminação da superfície da fruta não reduzirão o risco potencial de um surto alimentar quando o produto for consumido. O uso de água não tratada ou que não está adequadamente clorada ou que se torna

contaminada durante o processamento pode servir como vetor para contaminação de mangas e para internalização de patógenos. Este processo inclusive já foi evidenciado em pesquisas sobre tomates (ZHUANG; BEUCHAT; ANGULO, 1995), maçãs (BUCHANAN et al., 1999) e mangas (BORDINI et al., 2007; PENTEADO; EBLEN; MILLER, 2004) e, os autores concluíram que geralmente este processo ocorre através do pedúnculo (UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2016). Porém, não é descartada a transferência de *Salmonella* da casca para a polpa das frutas. Inclusive, já foi evidenciado em outros estudos, que isto pode ocorrer durante o descascamento ou o corte da fruta (GILBERT et al. 1955; GKANA; LIANOU; NYCHAS, 2016; LIN; WEI, 1997; WANG; RYSER, 2016).

A Tabela 3 demonstra a porcentagem total da contaminação de *S. Typhimurium* entre as superfícies de mangas Tommy Atkins após os tratamentos hidrotérmicos com ou sem o sanitizante.

Tabela 3: Porcentagem da contaminação total por *S. Typhimurium* entre as superfícies de mangas após a etapa do tratamento hidrotérmico com e sem a adição de cloro

Concentração do inóculo (UFC/manga)	Número de mangas inoculadas	Experimento	Tratamento hidrotérmico com cloro (%)	Tratamento hidrotérmico sem cloro (%)
10⁵	1	A	ND	10
	1, 2 e 3	B	30	30
	1, 2, 3, 4 e 5	C	60	70
10⁸	1	D	10	20
	1, 2 e 3	E	40	50
	1, 2, 3, 4 e 5	F	70	80

•ND: não detectado

Não foi detectada contaminação de *S. Typhimurium* na superfície de manga no experimento A, após o tratamento hidrotérmico com cloro. A maior porcentagem de contaminação do patógeno ocorreu no experimento F (80 %), observada no tratamento hidrotérmico sem cloro. De forma geral, percebe-se que os experimentos tratados com cloro apresentaram porcentagens menores de contaminação por *Salmonella* das superfícies de mangas quando comparados às porcentagens dos valores dos

experimentos tratados sem o sanitizante. Esses resultados sugerem que o tratamento hidrotérmico com cloro foi mais eficiente em relação ao tratamento hidrotérmico sem o sanitizante. Porém, as interpretações destes resultados, não podem ser conclusivos e devem levar em consideração fatores que não foram analisados neste estudo.

Desta maneira, são considerados fatores limitantes desta pesquisa a condição do inóculo e o método de inoculação (SINGH et al., 2002), tipo de superfície (hidrofóbica, hidrofílica, lisa, rugosa) (HAN et al., 2001), método de aplicação do sanitizante (imersão, pulverização, lavagem) (SINGH et al., 2002), temperatura da água (ANNOUS et al., 2001; BUCHANAN et al., 1999; LIA et al., 2001), processamento da amostra (homogeneização, lavagem manual), monitoramento do cloro livre (RUSHING; ÂNGULO; BEUCHAT, 1996) e método de recuperação bacteriana (meio seletivo) (HAN et al., 2001). Portanto, não se pode afirmar que, os menores valores das porcentagens observadas são decorrentes da eficácia do tratamento hidrotérmico combinado com cloro.

Diante do exposto, ressalta-se que a lavagem em água de frutas ou hortaliças é considerada essencial para remoção das sujidades destes vegetais, contudo não é capaz de remover completamente os micro-organismos que possam estar aderidos a superfícies destes alimentos, sendo então necessário que ocorra a cloração adequada da água, com a finalidade de reduzir a contaminação por patógenos. Os resultados deste estudo indicam que a exposição de superfícies de mangas Tommy Atkins durante o tratamento hidrotérmico com solução clorada pode reduzir o risco de uma infecção causada por salmonelose.

4. CONCLUSÃO

O tratamento hidrotérmico com cloro não é suficiente para eliminar *S. Typhimurium* da superfície de mangas, principalmente em concentrações de inóculo superiores da 3×10^8 UFC/manga. O tratamento hidrotérmico com sanitizante demonstrou ter efeito contra a transferência de *S. Typhimurium* para as superfícies de mangas não inoculadas.

Agradecimentos

Os autores reconhecem o apoio financeiro prestado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) Processo: CAG - APQ-02856-16.

5. REFERÊNCIAS

- ALEGRE, I. et al. Fate of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria innocua* on minimally-processed peaches under different storage conditions. **Food Microbiology**, v. 27, n. 7, p. 862–868, 2010.
- ANNOUS, B. A. et al. Efficacy of washing with a commercial flatbed brush washer, using conventional and experimental washing agents, in reducing populations of *Escherichia coli* on artificially inoculated apples. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 2, p. 159–163, 2001.
- BASTOS, M. DO S. R. **Processamento Mínimo de Frutas**. Coleção Agroindústria Familiar. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 38p.
- BENDER, R. J.; SEIBERT, E.; BRECHT, J. K.. Efeito de tratamento térmico na atividade da ACC oxidase em mangas 'Keitt'. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, [online], v.15, n.3, p.145-148, 2003.
- BEUCHAT, L. R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 413–423, 2002.
- BEUCHAT, L. R.; MANN, D. A. Survival and growth of acid-adapted and unadapted *Salmonella* in and on raw tomatoes as affected by variety, stage of ripeness, and storage temperature. **Journal of food protection**, v. 71, n. 8, p. 1572–1579, 2008.
- BORDINI, M. E. B. et al. Incidence, internalization and behavior of *Salmonella* in mangoes, var. Tommy Atkins. **Food Control**, v. 18, n. 8, p. 1002–1007, 2007.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. **Secretaria da Vigilância em Saúde**. Brasília, DF, Jun. 2016.
- BUCHANAN, R. L. et al. Contamination of intact apples after immersion in an aqueous environment containing *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 5, p. 444–50, 1999.
- CALLEJÓN, R. M. et al. Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the

United States and European Union: trends and causes. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, n. 1, p. 32–38, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of human *Salmonella* Agona infections linked to whole, fresh imported papayas (Final Update)**. Disponível em:

<<https://www.cdc.gov/salmonella/2011/papayas-8-29-2011.html>>. Acesso em: 1 out. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of *S. Braenderup* infections associated with mangoes (Final Update)**.

2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/braenderup-08-12/index.html>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

DENIS, N. et al. Prevalence and trends of bacterial contamination in fresh fruits and vegetables sold at retail in Canada. **Food Control**, v. 67, p. 225–234, 2016.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. **Foods of non-animal origin: what are the risks?** Disponível em:

<<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150313>>. Acesso em: 8 out. 2017.

GILBERT, E. et al. An outbreak of salmonellosis traced to watermelon. **Public Health Reports**, v. 70, n. 3, p. 311–313, 1955.

GKANA, E.; LIANOU, A.; NYCHAS, G.-J. E. Transfer of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from beef to tomato through kitchen equipment and the efficacy of intermediate decontamination procedures. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 7, p. 1252–1258, 2016.

HAN, Y. et al. Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 degree c. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 11, p. 1730–1738, 2001.

HARRIS, L. J. et al. Efficacy and reproducibility of a produce wash in killing *Salmonella* on the surface of tomatoes assessed with a proposed standard method for produce sanitizers. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 10, p. 1477–82, 2001.

HERMANN, K. M.; HALLE, A. J.; GOULD, L. H. Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States, 1973–2012. **Epidemiology Infection**, v. 143, n. 14, p. 3011–3021, 2015.

LIA, Y. et al. Changes in appearance and natural microflora on iceberg lettuce treated in warm, chlorinated water and then stored at refrigeration temperature Author links open overlay panel. **Food Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 299–308, 2001.

LIN, C.; WEI, C. Transfer of *Salmonella* Montevideo onto the interior surfaces of tomatoes by cutting. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 7, p. 858–862, 1997.

PENTEADO, A. L.; EBLEN, B. S.; MILLER, A. J. Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangos during simulated postharvest insect disinfestation procedures. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 1, p. 181–184, 2004.

RUSHING, J. W.; ÂNGULO, F. J.; BEUCHAT, L. R. **Implementation of a HACCP program in a commercial fresh-market tomato packinghouse: a model for the industry**. United States Department. of Agriculture. Clemson University, Charleston, SC. 1996.

SCOLFORO, C. Z. et al. Modeling the fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in the pulp and on the outer rind of canary melons (*Cucumis melo* (Indorus Group)). **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 290–297, 2017.

SERTTHIKUL, C.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; AJJAANANTAKUL, T. Using of sanitizers and heat treatments to enhance microbiological safety of minimally processed mangoes. Proceedings of the 2nd Postharvest Technol. Cong. KhonKaen, Thailand. (Abstract] (PDF) **Microbial Safety of Tropical Fruits**. 2003.

SINGH, N. et al. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. **Food Microbiology**, v. 19, n. 2, p. 183–193, 2002.

SIVAPALASINGAM, S. et al. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, n. 12, p. 1585–1590, 2003.

SIVAPALASINGAM, S. et al. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. **Journal Food Protection**, v. 67, n. 10, p. 2342–2353, 2004.

UKUKU, D. O.; FETT, W. F. Effects of cell surface charge and hydrophobicity on attachment of 16 *Salmonella* serovars to cantaloupe rind and decontamination with sanitizers. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 8, p. 1835–1843, 2006.

UKUKU, D. O.; HUANG, L.; SOMMERS, C. Efficacy of sanitizer treatments on survival and growth parameters of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut pieces of cantaloupe during storage. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 7, p. 1288–1295, 2015.

UKUKU, D. O.; PILIZOTA, V.; SAPERS, G. M. Effect of hot water and hydrogen peroxide treatments on survival of *Salmonella* and microbial quality of whole and fresh-

cut cantaloupe. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 3, p. 432–437, 2004.

UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA. Nonchemical treatments: heat, hot water immersion treatment. In: **Treatment Manual**. Washington, United States: USDA-APHIS, 2016. p. 934.

WANG, H.; RYSER, E. T. Quantitative transfer of *Salmonella* Typhimurium LT2 during mechanical slicing of tomatoes as impacted by multiple processing variables.

International Journal of Food Microbiology, v. 234, p. 76–82, 2016.

ZHUANG, R. Y.; BEUCHAT, L. R.; ANGULO, F. J. Fate of *Salmonella* Montevideo on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 6, p. 2127–2131, 1995.

CAPÍTULO 2

O manuscrito foi escrito e delimitado conforme as exigências da revista *International Journal of Food Microbiology* – ISSN: 0168-1605.

Incidência e modelagem do crescimento de *S. enterica* em manga Tommy Atkins sob diferentes temperaturas

Jacqueline V. Bairros¹, Nélio J. Andrade¹, Maria C. D. Vanetti², Wilmer E. L. Peña^{1*}

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*Autor Correspondente: Prof. Wilmer E. L. Peña: wilmer.pena@ufv.br Campus Universitário. CEP: 36570-900. Viçosa, MG, Brasil.

Destaques

Salmonella spp. não foi isolada de mangas Tommy Atkins.

O crescimento de *S. enterica* ocorre com maior prevalência na casca do que na polpa da manga.

Temperaturas entre 20 e 35 °C potencializaram o crescimento do patógeno, em casca e polpa de manga.

Construiu-se modelo secundário sobre efeito da temperatura nos parâmetros cinéticos de crescimento de *Salmonella* em manga.

Resumo

Mangas exportadas do Brasil aos Estados Unidos já foram causa de surto de origem alimentar envolvendo *S. enterica*. A presença deste patógeno em frutas, pode estar relacionada à capacidade de multiplicação em condições adequadas de pH, atividade de água e temperatura. O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de *Salmonella* em manga Tommy Atkins (*Mangifera indica* L.) e estimar os parâmetros cinéticos de crescimento deste patógeno inoculado em casca e polpa de manga, sob condições de temperatura de 7 a 35 °C. Não foi verificada ocorrência de *Salmonella* spp. nas 100 amostras de manga coletadas em estabelecimento comercial. Para determinação dos parâmetros cinéticos de crescimento, foi utilizada *S. enterica* subsp. *enterica* inoculada na casca e na polpa da manga na concentração de 10^2 UFC/g . Os resultados mostraram que não houve diferença significativa nos parâmetros cinéticos (λ , G e μ) quando avaliados entre casca e polpa de manga sob a mesma temperatura. Os valores da fase λ em casca e polpa de manga a 7 e 10 °C diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) dos valores da fase λ em temperaturas acima de 15 °C. Houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) nos valores do G de *S. enterica* inoculada na casca de manga entre as temperaturas a 7, 10 e 15 °C, enquanto que na polpa da fruta, esta diferença estatística ($p \leq 0,05$) também foi observada a 20 °C. Nas temperaturas de 7, 10 e 15 °C os valores da μ de *S. enterica* obtidos em casca e polpa de manga, diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) dos valores da μ a 20, 25, 30 e 35°C. A partir dos valores obtidos dos parâmetros cinéticos da fase lag λ , do tempo de geração G e da taxa de crescimento μ , pode-se concluir que casca e polpa de manga Tommy Atkins oportunizaram o crescimento de *S. enterica*, em temperaturas variando de 7 e 35 °C. Contudo, nas temperaturas mais baixas o desenvolvimento de *S. enterica* foi mais lento, pois apresentou maior tempo de fase lag e menores valores das taxas de crescimento. Os modelos secundários criados foram capazes de descrever o efeito da temperatura no logaritmo natural da fase lag e na raiz quadrada da taxa de crescimento de *S. enterica* em casca e polpa de manga. Além disso, os dados obtidos com os modelos secundários, quando comparados com os dados de crescimento deste patógeno obtidos a partir de modelos computacionais (PMP e ComBase) apresentaram pequena variação dos valores da $\ln \lambda$ e $\sqrt{\mu}$. Desta forma, os resultados deste estudo comprovam a capacidade de *S. enterica* crescer em casca e polpa de manga Tommy Atkins, sob temperaturas de armazenamento que variam entre 7 a 35 °C.

Palavras-chave: contaminação; fruta tropical; enteropatógeno; multiplicação microbiana.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, dados da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde, indicaram que entre 2007 e 2016 ocorreram 6.632 surtos de doenças causadas por alimentos, sendo *Salmonella* o principal patógeno envolvido, em aproximadamente 7,5 % dos casos confirmados. Frutas, produtos de frutas e similares representaram 0,6% da relação destes alimentos, nos surtos em geral (BRASIL, 2016).

Sabe-se que *Salmonella* é uma bactéria enteropatogênica que pode estar amplamente difundida no ambiente e que pode contaminar os frutos a partir do contato com o solo, poeira, água, fezes de animais e pela manipulação humana (CDC, 2015). Além disso, pode ocorrer transferência do patógeno via contaminação cruzada no momento do descasque e/ou corte da fruta (CDC, 2015) assim como, ocorrer a internalização do patógeno durante o tratamento hidrotérmico (BORDINI et al., 2007).

Mangas exportadas do Brasil para os Estados Unidos foram causa de um grave surto de origem alimentar envolvendo *Salmonella* Newport, em 1999. O surto resultou em 78 vítimas, em 13 estados americanos, acometendo dois óbitos (SIVAPALASINGAM et al., 2003). Outro caso de salmonelose em mangas ocorreu em 2001, também nos Estados Unidos. A infecção por *Salmonella* Saintpaul foi confirmada em 19 indivíduos, em dois estados diferentes. Neste surto, identificou-se o Peru como país de procedência da fruta (BEATTY et al., 2004). Outro surto, dessa vez envolvendo *Salmonella* Braenderup em mangas exportadas do México acometeram 127 pessoas, nos Estados Unidos, em 2012 (CDC, 2012).

Outras frutas também já estiveram associadas a surtos por contaminação com *Salmonella* Typhimurium em tomates (CDC, 2006), *Salmonella* Thompson e *Salmonella* Panama como mamões (CDC, 2011a; 2017), *Salmonella* Agona em melões (CDC, 2011b). A presença deste patógeno em frutas, pode estar relacionada à capacidade de multiplicação em condições adequadas de pH, atividade de água e temperatura (KEERTHIRATHNE et al., 2016). A temperatura é o fator ambiental de grande influência no crescimento de bactérias nos alimentos (MCMEEKIN et al., 2008). Dessa forma, estudos de modelagem do efeito deste fator no crescimento de *Salmonella* em frutas, têm sido relatados nos últimos anos (PENTEADO et al., 2014; PENTEADO e LEITÃO, 2004; REZENDE et al., 2016; SCOLFORO et al., 2017).

Para descrever o efeito desses fatores no desenvolvimento microbiano, modelos matemáticos tem sido ajustados a partir de dados experimentais sob condições

definidas. Essas equações matemáticas obtidas auxiliam na compreensão de como esses fatores ambientais favorecem ou não a multiplicação, inibição ou morte dos microrganismos, contribuindo dessa forma para segurança dos alimentos.

Neste estudo, foi avaliado a incidência de *S.* em manga e determinado os parâmetros cinéticos de crescimento: fase lag λ , tempo de geração G , taxa de crescimento μ e população máxima κ , de *S. enterica* em casca e polpa de manga Tommy Atkins, sob condições de temperaturas entre 7 a 35 °C.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Mangas variedade Tommy Atkins foram avaliadas quanto à incidência de *Salmonella*, seguindo as normas da ISO 6579:2002 (ANONYMOUS, 2002). Foram analisadas 100 unidades adquiridas em diferentes pontos comerciais da cidade de Viçosa/MG, durante o período de janeiro a abril de 2017. Frutos maduros, sem lesões e com peso médio de 300 g foram coletados em sacolas plásticas esterilizadas e transportadas para o Laboratório de Higiene e Microbiologia de Alimentos (LHMA) do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em temperatura ambiente e imediatamente analisadas.

2.2 Detecção de *Salmonella*

Cada fruta foi colocada em sacola plástica esterilizada contendo 250 mL de água peptonada tamponada (BPW, Kasvi, Itália), seguindo-se por massagem manual, por 2 min. As amostras (sacola com a fruta) foram incubadas a 37 ± 1 °C por 18 ± 2 h. Após a incubação, foram semeadas alíquotas de 0,1 mL e 1,0 mL dessa suspensão em 10 mL de caldo Rappaport–Vassiliadis (RVS, Himedia, Índia), seguindo de incubação em banho maria a $41,5 \pm 1$ °C por 24 ± 3 h e para 10 mL de caldo Mueller Kauffman Tetracionato Novobiocina (MKTTn, Kasvi, Itália), incubado a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h, respectivamente.

Foram retiradas alíquotas dos caldos RVS e MKTTn e realizadas estrias em placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Kasvi, Itália) e Ágar Hektoen (HE,

Kasvi, Itália), incubadas a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h. Colônias presuntivas de *Salmonella* nas placas de XLD e HE foram recuperadas em Ágar Nutriente (NA, Himedia, Índia) e incubadas a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h. Testes bioquímicos foram realizados, por semeadura em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia, Índia), Ágar Lisina Ferro (LIA, Himedia, Índia), Ágar Sulfito de Hidrogênio, Indol e Motilidade (SIM, Himedia, Índia) e caldo Uréia de Christensen (Kasvi, Itália), incubados a 37 ± 1 °C por 24 ± 3 h. Culturas que apresentaram resultados típicos de *Salmonella* foram testados por aglutinação com o anti soro somático polivalente (Poli O, BD Difco, Brasil). Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* por fruta.

2.3 Determinação dos parâmetros de crescimento (fase lag λ , tempo de geração G, taxa de crescimento μ e população máxima κ) de S. enterica em casca e polpa de manga Tommy Atkins

2.3.1 Amostras

Mangas variedade Tommy Atkins foram utilizadas nesta etapa do estudo. As mangas foram higienizadas seguindo as instruções descritas no Processamento Mínimo de Frutas (BASTOS, 2006). As mangas foram lavadas em água corrente utilizando esponja e detergente neutro massageando-as por 10 min. Posteriormente, foi realizada a sanitização em solução clorada na concentração de 200 mg L^{-1} de cloro residual total, por 5 min, pH $6,5 \pm 0,2$. A solução clorada foi preparada a partir do produto comercial (Sumaveg, Brasil) em água com temperatura entre 10 a 15 °C. Foi utilizado o tiosulfato de sódio (Sigma-Aldrich, USA) a 0,25 % (m/v), 5 min, para a neutralização do agente sanitizante (SCOLFORO et al., 2017).

2.3.2 Cultura bacteriana

S. enterica subsp. *enterica* isolado de alface (SILVA, 2013) foi utilizado nesta etapa. O micro-organismo congelado a -18 °C em caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI, Himedia, Brasil) foi transferido para tubos contendo 10 mL de caldo Tripton de Soja (TSB, Kasvi, Itália) e incubado a 37 ± 1 °C por 12 h. A cultura foi transferida novamente para outro tubo com caldo TSB e incubada a 37 ± 1 °C por 6 h. O inóculo

foi padronizado a 0,1 de absorvância em espectrofotômetro (Kazuaki IL-227, Brasil) no comprimento de onda de 625 nm, equivalente a 10^8 UFC.mL⁻¹ (SCOLFORO et al. 2017).

2.3.3 Avaliação do pH e Aw

As medidas de pH e atividade de água (Aw) foram realizadas conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Para análise do pH foram pesados 10 g da polpa da fruta e maceradas em 100 mL de água destilada. Em seguida, foi realizada a leitura em pHmetro (Ion PHB-500, Brasil). A Aw foi mensurada utilizando o medidor de atividade de água de ponto de orvalho 4TE (AquaLab®, Decagon, Washington, USA).

2.3.4 Inoculação e enumeração de *S. enterica*

Para a retirada da casca da fruta foi utilizado bisturi e um molde de 5 cm², esterilizados. Já a polpa da fruta foi retirada com auxílio de faca esterilizada removendo cortes da polpa com peso de aproximadamente 1 g. Casca e polpa da fruta foram colocadas individualmente, em placas de Petri esterilizadas e inoculadas com 0,1 mL de *S. enterica* para obter uma concentração final em torno de 10^2 UFC/g. As amostras foram incubadas em diferentes temperaturas (7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C) e a enumeração de *Salmonella* foi realizada em tempos diferentes de acordo com a temperatura de incubação (baseado em dados de crescimento da bactéria simulados pelo Programa - PMP, versão 7.0, disponibilizado pelo Departamento de Agricultura - Serviço de Pesquisa Agrícola USDA - ARS).

Para a enumeração bacteriana as amostras foram individualmente transferidas para frascos de vidro contendo 9 mL de água peptonada 0,1 % (BD, Difco, Brasil), seguindo de homogeneização em vortex (Vortex Genie® 2 G-560, Scientific Industries, Inc., Bohemia, Nova York, USA), durante 2 min. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas e o plaqueamento em Ágar XLD (Kasvi, Itália), pela técnica de microgotas (MORTON, 2001). As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C por até 24 h e os resultados expressos em UFC/g da amostra. Este experimento foi realizado duas vezes e em duplicata.

2.3.5 Modelagem do crescimento

Os dados de crescimento de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem de 7 a 35 °C foram ajustadas segundo o modelo de Baranyi (BARANYI e ROBERTS, 1994) (Equações 1-3), utilizando o DMFit, versão 2.1. Excel (www.ifr.ac.uk/safety/DMFit).

$$\ln(N(t)) = \ln(N_0) + \mu_{\max} A(t) - \ln \left[1 + \frac{e^{\mu_{\max} A(t)} - 1}{e^{(N_{\max} - N_0)}} \right] \quad \text{Equação 1;}$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \left(\frac{e^{(-\mu_{\max} t)} + q_0}{1 + q_0} \right) \quad \text{Equação 2;}$$

$$\lambda = \frac{\ln \left(1 + \frac{1}{q_0} \right)}{\mu_{\max}} \quad \text{Equação 3;}$$

Em que: $\ln(N(t))$ [$\ln(\text{UFC/mL})$] é o logaritmo natural da concentração de células no tempo t [h]; $\ln(N_0)$ é o logaritmo natural da concentração inicial de células; μ_{\max} [1/h] é a taxa máxima específica de multiplicação; $A(t)$, é a função de ajuste; $\ln(N_{\max})$ é o logaritmo natural da concentração máxima de células; q^0 , é uma medida do estado fisiológico da célula quando $t=t_0$; λ , tempo de lag

O modelo de Ratkowsky et al. (1982) foi usado para descrever a fase lag λ e a taxa de crescimento μ em função da temperatura (Equações 4 e 5).

$$\ln \lambda = \alpha(T - T_0) \quad \text{Equação 4;}$$

$$\sqrt{\mu_{\max}} = \alpha(T - T_0) \quad \text{Equação 5;}$$

Para o cálculo da fase lag λ , os dados foram transformados em logaritmo natural ($\ln \lambda$). A μ_{\max} é a taxa máxima de multiplicação microbiana, α é o coeficiente de

regressão, T é a temperatura de incubação (°C); T_0 é a temperatura mínima nominal (°C).

Os modelos obtidos neste estudo foram comparados com modelos implementados com dados de crescimento gerados pelo programa PMP (Programa de Modelagem de Patógenos) fornecido pelo Departamento de Agricultura (USDA) e pelo programa ComBase Predictor (<https://www.combase.cc/index.php/en/>) nas condições de pH e A_w da fruta analisada.

2.4 Análise dos resultados

Os parâmetros cinéticos de crescimento, fase lag λ , tempo de geração G , taxa de crescimento μ e população máxima κ de *S. enterica*, em casca e polpa de manga, foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) seguidos pelo teste t de Tukey utilizando o *software Statistica 7.0*. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos estatisticamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência de *Salmonella* foi avaliada em 100 amostras de mangas Tommy Atkins. Neste estudo, o patógeno não foi detectado, apesar da crescente associação de frutas e vegetais frescos com surtos de doenças provocadas por alimentos contaminados (LYNCH et al. 2009) e principalmente relacionados à infecção por *Salmonella* (CDC, 2017; 2012; 2006). Outros estudos também demonstraram a baixa incidência deste patógeno em frutas. Bordini et al. (2007) analisaram 100 unidades de manga Tommy Atkins e *S. enterica* foi encontrada na superfície de apenas duas amostras. Penteado e Leitão (2009) analisaram melão, melancia e mamão, totalizando 120 superfícies amostrais e não foi detectado *Salmonella* em nenhuma das frutas. Rezende et al. (2009) obtiveram cinco amostras contaminadas com *Salmonella* entre as 585 superfícies de caquis analisados. O mesmo autor e seus colaboradores, em 2016, analisaram 200 unidades de abacate e maçã, observando a casca e a polpa dos frutos, totalizando 800 análises, e obtiveram apenas três amostras positivas contaminadas com *S. Typhimurium* na polpa de maçã.

A ausência do patógeno pode estar relacionada a vários fatores, entre eles, as boas práticas agrícolas que ocorrem ainda na lavoura e que se estendem ao correto

processamento das frutas pós colheita. Rezende et al. (2016) sugeriram em seu estudo, que o motivo da baixa incidência de *Salmonella* em casca e polpa de abacates e maçãs esteve relacionado aos processos de colheita, manuseio, distribuição ou armazenamento destas frutas, que ocorreram em condições higiênicas adequadas. Embora, os estudos confirmaram baixa incidência deste patógeno nas frutas analisadas, Perez-Rodriguez et al. (2014) recomendaram a implementação de estratégias de amostragem para análise microbiológica em frutas, levando-se em conta o aumento do consumo destes alimentos (SILVA; SMITH-MENEZES e DUARTE, 2016). Ressalta-se então, sobre a importância de gerar dados sobre a incidência de *Salmonella* em mangas, no intuito de desenvolver formas de controle deste patógeno e suas consequências no âmbito da saúde pública.

Na Tabela 1, é possível observar os valores dos parâmetros cinéticos de *S. enterica* observados na casca e polpa de manga. De modo geral, o menor tempo da fase lag λ (0,50 e 0,69 h), o menor tempo de geração G (1,00 e 1,10 h), e o maior valor de taxa de crescimento μ (0,69 e 0,63 1/h) ocorreram respectivamente, na temperatura de 35 °C.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos de crescimento (tempo de latência (λ), tempo de geração (G) e taxa de crescimento (μ)) de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C

Temperatura (°C)	Parâmetros cinéticos	Casca	Polpa
7	λ (h)	25,32 ± 3,07 ^{aC}	25,2 ± 2,78 ^{aC}
	G (h)	35,56 ± 1,40 ^{aD}	35,37 ± 1,06 ^{aE}
	μ (1/h)	0,02 ± 0,00 ^{aA}	0,02 ± 0,00 ^{aA}
10	λ (h)	11,60 ± 3,52 ^{aB}	16,38 ± 4,00 ^{aB}
	G (h)	16,21 ± 2,37 ^{aC}	13,99 ± 0,27 ^{aD}
	μ (1/h)	0,04 ± 0,03 ^{aA}	0,05 ± 0,01 ^{aA}
15	λ (h)	8,34 ± 1,27 ^{aAB}	7,67 ± 1,15 ^{aA}
	G (h)	9,19 ± 0,75 ^{aB}	8,55 ± 0,96 ^{aC}
	μ (1/h)	0,08 ± 0,01 ^{aAB}	0,08 ± 0,01 ^{aA}
20	λ (h)	3,01 ± 0,13 ^{aA}	2,48 ± 0,80 ^{aA}
	G (h)	3,40 ± 0,01 ^{aA}	3,37 ± 0,14 ^{aB}
	μ (1/h)	0,20 ± 0,00 ^{aB}	0,21 ± 0,01 ^{aC}
25	λ (h)	1,00 ± 0,71 ^{aA}	1,53 ± 0,52 ^{aA}
	G (h)	1,94 ± 0,19 ^{aA}	1,89 ± 0,19 ^{aAB}
	μ (1/h)	0,36 ± 0,03 ^{aC}	0,37 ± 0,04 ^{aD}
30	λ (h)	0,66 ± 0,26 ^{aA}	1,48 ± 0,36 ^{aA}
	G (h)	1,35 ± 0,22 ^{aA}	1,13 ± 0,10 ^{aA}
	μ (1/h)	0,51 ± 0,08 ^{aD}	0,61 ± 0,05 ^{aB}
35	λ (h)	0,50 ± 0,36 ^{aA}	0,69 ± 0,31 ^{aA}
	G (h)	1,00 ± 0,01 ^{aA}	1,10 ± 0,04 ^{aA}
	μ (1/h)	0,69 ± 0,01 ^{aE}	0,63 ± 0,02 ^{aB}

^a Letras minúsculas diferentes na mesma linhas e para o mesmo parâmetro cinético indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) de acordo com ANOVA seguida do teste t Tukey, em função da temperatura de estocagem de *S. enterica* entre a matriz alimentícia (casca ou polpa de manga).^{ABCDE} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e para o mesmo parâmetro cinético indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) de acordo com ANOVA seguida do teste t Tukey, em função da temperatura de estocagem de *S. enterica* por matriz alimentícia (casca ou polpa de manga). Resultados expressos como média e desvio padrão de duas repetições.

Sabe-se que a temperatura é um fator que influencia na velocidade de multiplicação dos micro-organismos (MCMEEKIN et al., 2008). Considerando a temperatura ótima de multiplicação de *Salmonella* em torno de 37 °C (ICMSF, 2003), condições ambientais favoráveis (clima tropical) e os resultados da Tabela, se torna preocupante a comercialização destas frutas, pois na maioria das vezes é comercializada sem refrigeração adequada. De acordo com Penteado et al. (2014) há necessidade de se analisar a sanidade de casca e polpa de frutas visto que, *Salmonella* pode se desenvolver e ser facilmente transferido no momento do corte ou então, na contaminação de superfícies e equipamentos.

Pelos resultados não houve diferença estatística entre os valores dos parâmetros cinéticos λ , G e μ de *S. enterica* quando analisados entre casca e polpa de manga sob a mesma temperatura. Embora não se tenha observado diferenças significativas do mesmo parâmetro cinético entre as matrizes alimentícias, dados de literatura indicam que tempo de fase lag, o tempo de geração e a taxa de crescimento podem apresentar valores distintos de acordo com o tipo e a matriz da fruta analisados (ABADIAS et al., 2008; CAPONIGRO et al., 2010).

Foi possível observar (Tabela 1) que os valores da λ de *S. enterica* em casca e polpa de manga, resultaram em diferenças significativas ($p \leq 0,05$) analisados por matriz alimentícia, nas temperaturas de 7 e 10 °C, em comparação as demais temperaturas estudadas. Na casca da fruta obteve-se os valores da λ de *S. enterica* de 25,32 h a 7 °C e, 11,60 h a 10 °C. Nestas mesmas temperaturas, na polpa da manga esses valores foram de 25,20 e 16,38 h, respectivamente. Desta forma, observou-se que os maiores valores da fase lag ocorreram a 7 °C, tanto na casca quanto na polpa de manga. Nas temperaturas acima de 15 °C, em ambas as matrizes alimentícias, não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

O valor do G de *S. enterica* analisado em casca de manga a 7, 10 e 15 °C apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) por matriz alimentícia (Tabela 1). Na casca da fruta obteve-se os valores de G de *S. enterica* de 35,56 h a 7 °C, 16,21 h a 10 °C e 9,19 h a 15 °C. O valor do tempo de geração de *S. enterica* em polpa de manga a 7, 10, 15, 20, 30 e 35°C apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) observado por matriz alimentícia. Os valores de G encontrados para este parâmetro foram de 35,37; 13,09; 8,55; 3,77; 1,13 e 1,10 h, respectivamente, ou seja, quanto menor a temperatura estudada, maior o valor do tempo de geração encontrado.

Os parâmetros cinéticos, λ e G de *S. enterica* foram afetados pelas condições de temperatura e pela matriz da fruta (casca ou polpa de manga). Em baixas temperaturas, os micro-organismos apresentaram crescimento lento e em parte, isso pode estar relacionado à redução nas atividades enzimáticas e metabólicas (RUSSELL, 2002). Beuchat (2002) explica que a capacidade de sobreviver e/ou crescer do patógeno está relacionada à sua condição metabólica, que sofre influência direta de fatores intrínsecos e extrínsecos. Portanto, a temperatura de armazenamento é um desses fatores que afetam os parâmetros cinéticos de crescimento (BEUCHAT, 2002) microbiológico. Contudo, na tentativa de sobrevivência, *Salmonella* ainda é capaz de se adaptar ao ambiente, em resposta ao estresse causado pela baixa temperatura. Esta fase de adaptação bacteriana pode demorar horas ou até dias (MOREY e SINGH, 2012), isto explica os altos valores de λ e de G a 7 °C, neste estudo.

Conforme a Tabela 1, os valores da μ de *S. enterica* apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) por matriz alimentícia, nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C. Na casca da fruta os valores da taxa de crescimento de *S. enterica* foram de 0,20; 0,36; 0,51 e 0,69 1/h e na polpa foram 0,21; 0,37; 0,61 e 0,63 1/h, respectivamente. Pode-se observar que os valores encontrados para a taxa de crescimento do patógeno em casca e polpa de manga estão muito próximos entre si e ocorreram nas temperaturas mais elevadas. Diante desse resultado, pode-se discutir que o comportamento do patógeno é influenciado, não somente por fatores externos, como também por características próprias do alimento.

A manga variedade Tommy Atkins possui pH que varia entre 3,5 a 3,7 (LUCENA et al., 2007) chegando até mesmo a 4,6 conforme Manica et al. (2001). Neste estudo, foi observado o pH de 4,2 na polpa da manga, possibilitando o crescimento de *Salmonella* uma vez que este patógeno foi capaz de se desenvolver em valores de pH menores (BEUCHAT e MANN, 2008; KEERTHIRATHNE et al., 2016; STRAWN e DANYLUK, 2010a, 2010b). Além disso, o valor da A_w medido na polpa de manga foi de 0,987, evidenciando que a manga é um potencial substrato para o crescimento de *Salmonella*, já que, este patógeno consegue multiplicar-se em valores de A_w variando entre 0,940 e 0,990 (JAY, LOESNER e GOLDEN, 2005).

De modo geral, os maiores valores da taxa de crescimento de *Salmonella* foram observados na polpa da manga em relação à casca. As diferenças desses valores da μ do patógeno entre as matrizes alimentícias podem ser explicados pela presença da microbiota natural da fruta e pela composição de nutrientes. Neste estudo, não se

analisou a contaminação da microbiota natural em casca e polpa de manga, e nem se pesquisou sobre a maneira com que a presença desta contaminação pode afetar o crescimento de *Salmonella*, nas matrizes alimentícias estudadas. Além disso, há de se considerar que, na polpa de manga encontram-se nutrientes, como açúcares e vitaminas, que podem fornecer substrato para favorecer o crescimento de *Salmonella*, diferentemente da casca.

Pela Figura 1, é possível verificar que *S. enterica* cresceu tanto na casca como na polpa de manga incubadas a temperaturas entre 7 a 35 °C. O patógeno atingiu populações máximas κ de 8 a 9 log UFC/g, em ambas as matrizes alimentícias. Os dados experimentais representaram curvas características de multiplicação microbiana indicando bom ajuste ao modelo de Baranyi e Roberts (1994) ($R^2 > 0,98$) para as condições de temperaturas estudadas. Não foram observadas diferenças significativas deste parâmetro cinético na casca e/ou na polpa de manga.

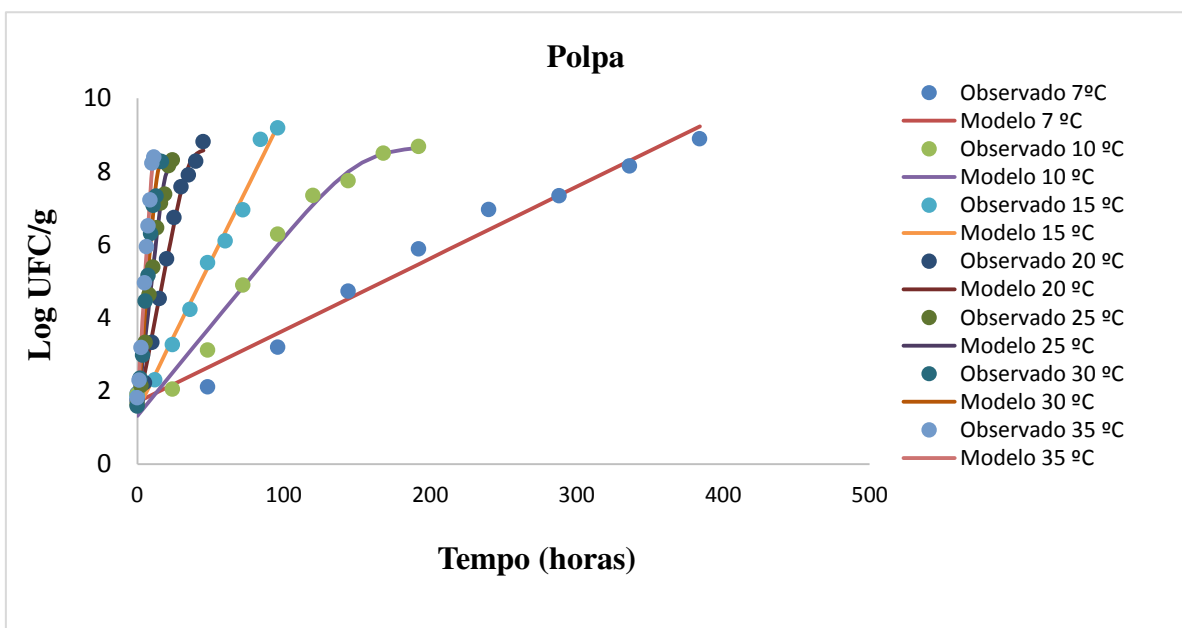
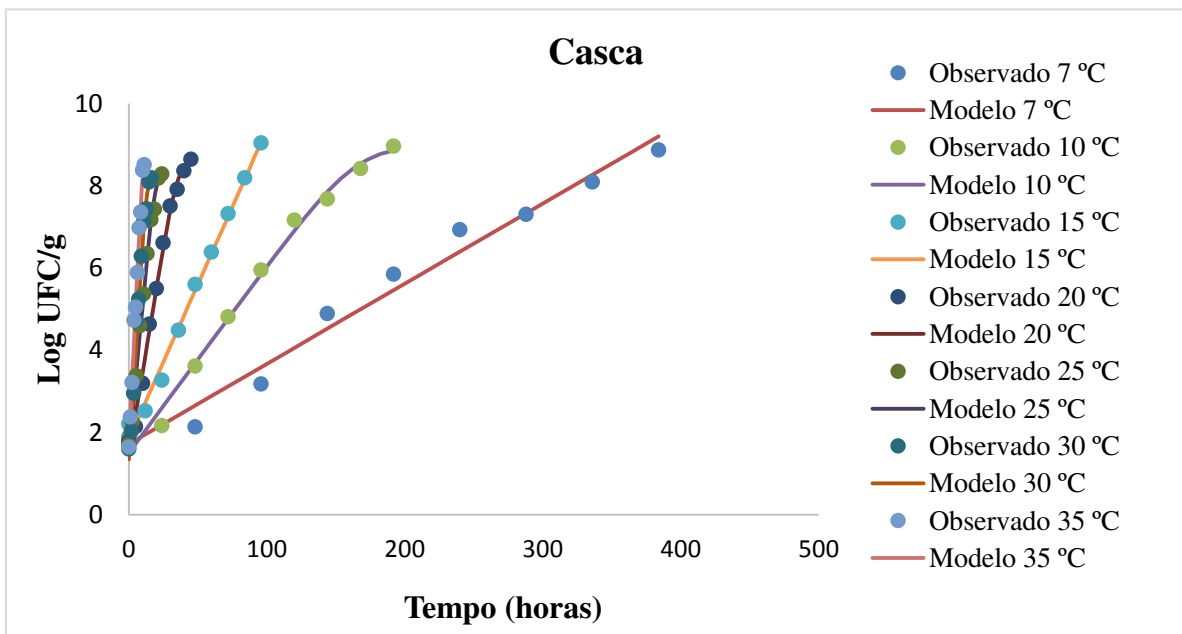


Figura 1. Crescimento de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C

Estes resultados demonstram que o crescimento de *Salmonella* pode ser acelerado em temperaturas mais elevadas e ser mais pronunciado após um período de incubação mais longo. No estudo de Pentead e Leitão (2004), o crescimento de *Salmonella* Enteritidis em polpa de melancia, melão e mamão ocorreu sob condições de 10, 20 e 30 °C, atingindo populações entre 8 e 9 log UFC/g, exceto em mamão onde a população

atingiu o valor máximo de 4 log UFC/g a 10 °C. Os autores relacionaram a acidez da polpa de mamão (valor médio de pH 4,8) um fator inibitório para o crescimento do patógeno combinado a baixa temperatura. Entretanto, neste estudo, a acidez da manga não impediu que o patógeno atingisse valores maiores da população. É possível que o estresse, causado pelo pH da polpa da manga, possa ter ativado o sistema de resposta a ácido do micro-organismo e desta forma, possibilitado o crescimento (FOSTER e SPECTOR, 1995; STRAWN e DANYLUK, 2010a; KEERTHIRATHNE et al. 2016). Além disso, em condições de armazenamento a 10 °C, o crescimento de *Salmonella* é mais lento, porém não é fator inibitório.

Esses fatos evidenciaram que o crescimento de *Salmonella* pode ocorrer em casca e polpa de diversas frutas, e que uma vez iniciada a multiplicação, níveis altos de população bacteriana podem ser encontrados. Determinar a população máxima é necessário, pois alguns estudos sugerem que a dose infecciosa do patógeno pode ser menor que 1000 célula, dependendo do estado de saúde do hospedeiro (BRASIL, 2016).

Conforme a Figura 1, é possível observar que *Salmonella* necessitou de mais horas para atingir valores mais altos da população, nas temperaturas mais baixas. É evidente que o controle da temperatura pode auxiliar na manutenção da qualidade da manga, evitando o aumento da taxa respiratória e conseqüentemente, uma deterioração mais rápida (SIM et al., 2013). Por isso, sugere-se que o armazenamento dessa fruta ocorra em temperatura entre 10 a 13 °C (HATTON, 1990; MEDLICOTT et al. 1990). No entanto, não se pode afirmar sobre como ocorre o modo de armazenamento de frutas pelo consumidor. Nesse sentido há potencial muito grande para que ocorra o crescimento de *Salmonella* caso o fruto esteja contaminado por este patógeno.

Diante deste contexto, fica evidente que a temperatura em que a manga é exposta, após a colheita, é um dos fatores determinantes no comportamento da *S. enterica* e, portanto, deve ser controlada durante o transporte, armazenamento, distribuição, comercialização até chegar ao consumidor final. Neste estudo, para melhor esclarecer o efeito da temperatura no tempo de fase lag e na taxa de crescimento foi utilizado o modelo de raiz quadrada de Ratkowsky et al. (1982). Para a criação dos modelos secundários, foram utilizados os valores médios de λ e μ de *S. enterica* em casca e polpa de manga e comparados com modelos criados a partir de dados de crescimento de *Salmonella* spp. obtidos pelos modelos terciários, PMP e ComBase (BARANYI e TAMPLIN, 2004) (Tabela 2, Figura 2).

Tabela 2: Modelos secundários obtidos dos valores médios da fase lag λ e da taxa de crescimento μ de *S. enterica* em casca e polpa de manga sob condições de estocagem a 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C e comparação com valores obtidos nos programas computacionais PMP e ComBase.

	Logaritmo natural da fase lag λ	R ²	Raiz Quadrada da taxa de crescimento μ	R ²
Casca	$\ln \lambda = -0,1458*(T-4,072)$	0,96	$\sqrt{\mu} = 0,025612*(T-2,324453)$	0,99
Polpa	$\ln \lambda = -0,128*(T-3,9411)$	0,95	$\sqrt{\mu} = 0,025467*(T-1,854400)$	0,98
PMP	$\ln \lambda = -0,1162*(T-2,60929)$	0,88	$\sqrt{\mu} = 0,04102*(T-3,450000)$	0,98
ComBase	$\ln \lambda = -0,1561*(T-8,91095)$	0,94	$\sqrt{\mu} = 0,02285*(T-4,504399)$	0,99

Conforme a Tabela 2, o R² dos modelos secundários de $\ln \lambda$ de *S. enterica* foram de 0,96 e 0,95, em casca e polpa de manga, respectivamente e, utilizando os valores do PMP e do ComBase foi de 0,88 e 0,94. O ajuste dos modelos secundários R² dos valores da $\sqrt{\mu}$ de *S. enterica* em casca e polpa de manga foram 0,99 e 0,98, assim como, os valores obtidos pelo PMP e ComBase de 0,98 e 0,99. Esses dados indicam que a fase lag e a taxa de crescimento desse patógeno em casca e polpa de manga foram excelentes. Desta forma, os modelos secundários construídos neste estudo, podem ser aplicados na predição do comportamento de *S. enterica* em casca e polpa de manga afetados pela temperatura.

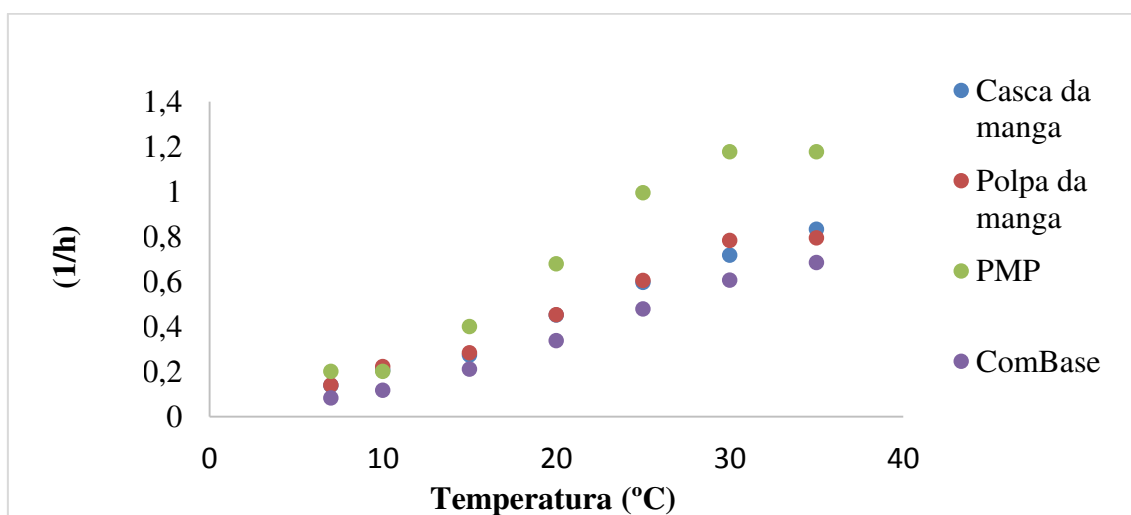
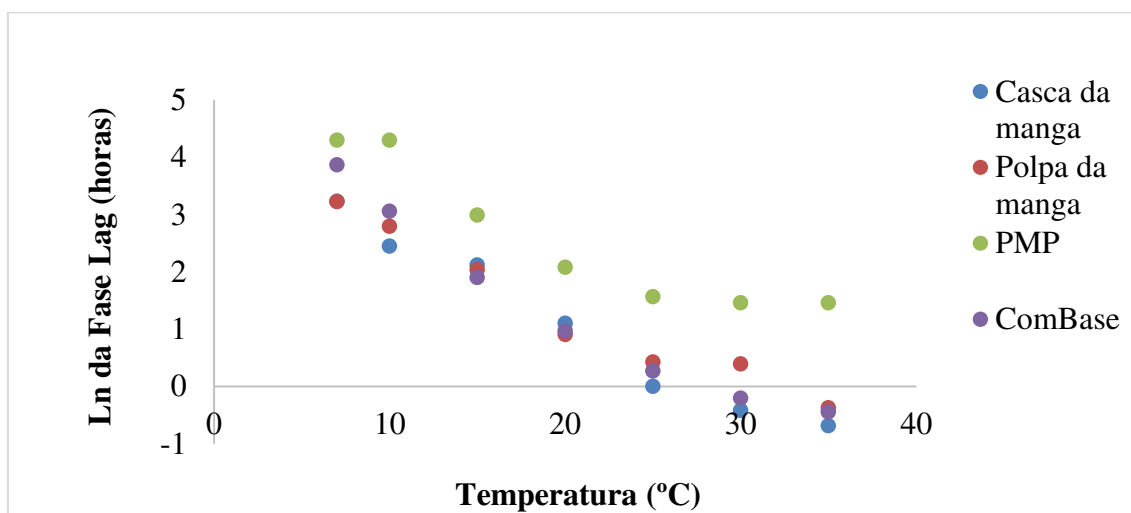


Figura 2. Variação do efeito da temperatura no crescimento de *S. enterica* a partir dos valores médios da fase lag λ e da taxa de crescimento μ observados na casca e polpa de manga comparada com os valores obtidos pelos programas computacionais PMP e ComBase

Como observado na Figura 2, a temperatura afeta os valores de $\ln \lambda$ e da $\sqrt{\mu}$ de *S. enterica* indicando variação entre as matrizes da fruta (casca e polpa) comparado aos valores derivados do PMP e ComBase. O valor do $\ln \lambda$ de *S. enterica* variou 1,50 h entre o PMP e a polpa de manga na temperatura de 10°C. A maior influência da temperatura observada foi a 30 °C, quando o valor da $\sqrt{\mu}$ do patógeno variou 0,57 1/h, entre o PMP comparado ao ComBase.

Essas diferenças entre os valores da fruta em comparação ao *software* podem ser resultantes do modo de construção das curvas de crescimento microbiano, já que os modelos computacionais, PMP e ComBase, em sua maioria, utilizaram dados experimentais a partir de meios de cultura (BARANYI et al. 1995), enquanto que, neste estudo, utilizou-se o próprio alimento. Desta forma, os modelos secundários desenvolvidos aqui, permitem a predição do crescimento de *S. enterica* em casca e polpa de manga Tommy Atkins sob o efeito das diferentes variações na temperatura durante o seu processamento até o consumidor final. Assim, o controle da temperatura durante as condições de estocagem, é um fator determinante para o controle do crescimento de *S. enterica* nesta fruta.

4. CONCLUSÃO

Embora não tenha sido encontrado o patógeno *Salmonella* nas amostras analisadas ressalta-se a importância de investigar a incidência deste micro-organismo em manga, visto que já houve reincidência de surtos neste alimento.

Os resultados confirmaram que *S. enterica* foi capaz de se adaptar, crescer e atingir elevada população microbiana tanto em casca quanto em polpa de manga, em ampla faixa de temperatura.

Observa-se que a geração de dados sobre o comportamento microbiano em frutas ácidas, como a manga, ainda é muito pouco abordado em estudos científicos. Diante da complexidade dos fatores que contribuem para o crescimento deste micro-organismo nestas matrizes há necessidade de aprofundar as pesquisas neste tema.

Agradecimentos

Os autores reconhecem o apoio financeiro prestado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) Processo: CAG - APQ-02856-16.

5. REFERÊNCIAS

ABADIAS, M. et al. Microbiological quality of fresh, minimally processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**, v.123, p.121–129, 2008.

ANONYMOUS. **ISO 6579:2002 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.** Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/29315.html>>. Acesso em: 28 mar. 2017.

BARANYI, J. et al. Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature. **International Journal of Food Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 61–75, 1995.

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3–4, p. 277–294, 1994.

BARANYI, J.; TAMPLIN, M. L. ComBase: a common database on microbial responses to food environments. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 9, p. 1967–71, 2004.

BASTOS, M. DO S. R. **Processamento Mínimo de Frutas**. Coleção Agroindústria Familiar. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 38p.

BEATTY, M. E. et al. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 9, p. 1337–1338, 2004.

BEUCHAT, L. R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 413–423, 2002.

BEUCHAT, L. R.; MANN, D. A. Survival and growth of acid-adapted and unadapted *Salmonella* in and on raw tomatoes as affected by variety, stage of ripeness, and storage temperature. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 8, p. 1572–1579, 2008.

BORDINI, M. E. B. et al. Incidence, internalization and behavior of *Salmonella* in mangoes, var. Tommy Atkins. **Food Control**, v. 18, n. 8, p. 1002–1007, 2007.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>>. Acesso em: 1 out. 2017.

CAPONIGRO, V. et al. Variation of microbial load and visual quality of ready-to-eat salads by vegetable type, season, processor and retailer. **Food Microbiology**, v.27, p.1071-1077, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections linked to tomatoes (FINAL UPDATE)**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/2006/tomatoes-11-2006.html>>. Acesso em: 1 out. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION — CDC. **Multistate outbreak of *Salmonella* Braenderup infections associated with mangoes (Final Update)**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/braenderup-08-12/index.html>>. Acesso em: 1 out. 2017.

FOSTER, J. W. 1.; SPECTOR, M. P. How *Salmonella* survive against the odds. **Annual Review Microbiology**, v.49, p.145-174, 1995.

HATTON, T. T. 1990. R. Of chilling injury with temperature manipulation; P. 269–280. IN: WANG, C. Y. Chilling injury of tropical horticultural commodities. **Hortscience**, v. 29, n. 9, p. 986–988, 1994.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Summary for policymakers. In: Intergovernmental panel on climate change (Ed.). **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. 4^o ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. p. 1–30.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS - ICMSF. Factors that Influence Microbial Growth. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, n. supplement, p. 21–32, 2003.

JAY, J. M., LOESNER, M. J., GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**, 7th ed., Chapman and Hall, New York, USA, 2005.

KEERTHIRATHNE, T. et al. A review of temperature, pH, and other factors that influence the survival of *Salmonella* in mayonnaise and other raw egg products. **Pathogens**, v. 5, n. 63, p. 1–11, 2016.

LUCENA, E. M. P. et al. Alterações físicas e químicas durante o desenvolvimento de mangas “Tommy Atkins” no Vale do São Francisco, Petrolina-PE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 96–101, 2007.

LYNCH, M. F.; TAUXE, R. V.; HEDBERG, C. W. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 3, p. 307, 2009.

MANICA, I. et al. **Manga: tecnologia, produção, agroindústria e exportação**. 1^o ed. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

McMEEKIN, T. et al. The future of predictive microbiology: strategic research, innovative applications and great expectations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, n. 1, p. 2–9, 2008.

MEDLICOTT, A. P.; SIGRIST, J. M. M.; SY, O. Ripening of mangos following low-temperature storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 3, p. 430–434, 1990.

MOREY, A.; SINGH, M. Low-Temperature survival of *Salmonella* spp. in a model food system with natural microflora. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 3, p. 218–223, 2012.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P.; ITO K (Eds.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. Washington: **American Public Health Association**, cap. 7, p. 66 – 67, 2001.

PENTEADO, A. L.; CASTRO, M. F. P. M. DE.; REZENDE, A. C. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *Listeria monocytogenes* in mango (*Mangifera indica* L.) pulp : growth, survival and cross-contamination. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 94, n. January, p. 2746–2751, 2014.

PENTEADO, A. L.; LEITÃO, M. F. F. Growth of *Salmonella* Enteritidis in melon, watermelon and papaya pulp stored at different times and temperatures. **Food Control**, v. 15, n. 5, p. 369–373, 2004.

PENTEADO, A. L.; LEITÃO, M. F. F. Detecção de *Listeria* spp. e *Salmonella* spp. em superfícies de melão (*Cucumis melo*), melancia (*Citrullus vulgaris*) e mamão (*Carica papaya*), pelo método imunoenzimático TECRA VIA e procedimentos de cultura. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 172–173, p. 130–135, 2009.

PEREZ-RODRIGUEZ, F.; BEGUM, M.; JOHANNESSEN, G. S. Study of the cross-contamination and survival of *Salmonella* in fresh apples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 184, p. 92–97, 2014.

RATKOWSKY, D. A. et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. **Journal of Bacteriology**, v. 149, n. 1, p. 1–5, jan. 1982.

REZENDE, A. C. B. et al. Occurrence of *Salmonella* spp. in persimmon fruit (*Diospyrus kaki*) and growth of *Salmonella* Enteritidis on the peel and in the pulp of this fruit. **Food Control**, v. 20, n. 11, p. 1025–1029, 2009.

REZENDE, A. C. B. et al. Incidence and growth of *Salmonella enterica* on the peel and pulp of avocado (*Persea americana*) and custard apple (*Annona squamosa*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 235, p. 10–16, 2016.

RUSSELL, N. J. Bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. An overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, n. 1–2, p. 27–34, 2002.

SCOLFORO, C. Z. et al. Modeling the fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in the pulp and on the outer rind of canary melons (*Cucumis melo* (Indorus Group)). **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 290–297, 2017.

- SILVA, F. M. DE A.; SMITH-MENEZES, A.; DUARTE, M. DE F. DA S. Consumo de frutas e vegetais associado a outros comportamentos de risco em adolescentes no nordeste do Brasil. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 34, n. 3, p. 309–315, 2016.
- SILVA, N. B. **Avaliação da microbiota de alface (*Lactuca sativa*) comercializada no município de Alegre-ES. 2013.** Disponível em:
<<http://repositorio.ufes.br/handle/10/4906>>. Acesso em: 2 out. 2017.
- SIM, H. L. et al. Behavior of *Salmonella* spp. and natural microbiota on fresh-cut dragon fruits at different storage temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, n. 3, p. 239–244, 2013.
- SIVAPALASINGAM, S. et al. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, n. 12, p. 1585–1590, 2003.
- STRAWN, L. K.; DANYLUK, M. D. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on fresh and frozen cut pineapples. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 3, p. 418–424, 2010a.
- STRAWN, L. K.; DANYLUK, M. D. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. **International Journal of Food Microbiology**, v. 138, n. 1–2, p. 78–84, 2010b.
- UNITED STATES DEPARTEMENT OF AGRICULTURE - USDA. Nonchemical treatments: heat, hot water immersion treatment. In: **Treatment Manual**. Washington, United States: USDA-APHIS, 2016. p. 934.

CONCLUSÃO GERAL

Devido às suas propriedades funcionais, cada vez mais haverá interesse na comercialização e consumo de manga. Devido a isto, é necessário criar estratégias que visem barrar condições de contaminação por patógenos nesta fruta.

S. Typhimurium apresentou redução nos valores de transferência das superfícies de manga inoculadas, durante a combinação do tratamento hidrotérmico com cloro em comparação apenas ao tratamento hidrotérmico. Conclui-se que a utilização do cloro, no tratamento hidrotérmico, potencializou para que ocorresse valores menores na taxa de transferência do patógeno para outras frutas.

S. enterica conseguiu se desenvolver em casca e polpa de manga em condições de estocagem sob diferentes temperaturas, porém os dados dos parâmetros cinéticos acima de 20 °C promoveram melhores condições de desenvolvimento do patógeno, bem como a polpa da fruta em relação à casca.

Diante disso, conclui-se que a microbiologia preditiva, se torna uma ferramenta necessária na área da segurança dos alimentos, podendo demonstrar o comportamento deste patógeno em manga, sob diferentes temperaturas de armazenamento.