

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

THIAGO FRANCISCO HENRIQUE CHAVES

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROTÓTIPO DE LUZ ULTRAVIOLETA
PARA TRATAMENTO DE ALIMENTOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2018

THIAGO FRANCISCO HENRIQUE CHAVES

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROTÓTIPO DE LUZ ULTRAVIOLETA
PARA TRATAMENTO DE ALIMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel

CAMPO MOURÃO
2018



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Departamento acadêmico de Alimentos - DALIM
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTÓTIPO DE LUZ ULTRAVIOLETA PARA TRATAMENTO DE ALIMENTOS

Por

THIAGO FRANCISCO HENRIQUE CHAVES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 11 de junho de 2018 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel
Orientador

Roberta de Souza Leone
Membro titular

Karla Silva
Membro titular

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente meus pais por darem a oportunidade de estar concluindo a graduação, o suporte e apoio deles tornaram as coisas mais fáceis. Para minha vó que tanto me ajuda, e hoje passa por momentos difíceis, mas acima de tudo nunca deixou de acreditar na minha capacidade.

Agradeço à minha namorada Mayra, que entrou em minha vida na parte final da graduação, mas mesmo assim teve seu papel importante, estando comigo nos momentos difíceis onde as coisas estavam apertadas, nunca deixou de acreditar em mim, por mais que eu mesmo em alguns momentos não o fizesse.

Aos amigos que fiz durante a graduação, por se tornarem minha segunda família, ao nosso companheirismo, que nos une e nos fortalece a cada dia. Obrigado a todos, são muitos, não citarei os nomes.

A meus amigos que ficaram em minha cidade, que tanto torcem por mim e querem meu bem, que senti muita saudade em certos momentos.

Um agradecimento especial a todos aqueles que fizeram parte da minha graduação, professores, orientadores, colegas, técnicos, dentre outros. Que me ajudaram na construção do conhecimento e sabedoria.

E por último Deus que tem estado ao meu lado em todos os momentos, que me deu clareza para tomar decisões importantes, que me abriu os olhos em situações delicadas.

Agradeço a todos que estão e que tiveram comigo

RESUMO

CHAVES, T. F. H. **Desenvolvimento de um protótipo de luz ultravioleta para tratamento de alimentos**. 2018. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

Se iniciou uma forte tendência na valorização da saúde que afetam diretamente nas decisões de consumo, gerando um aumento da demanda por produtos e serviços orientados a uma vida saudável. Com isso os tratamentos não térmicos, como o de radiação ultravioleta germicida (UV-C) ganharam força. Pois causam mínimas alterações em um produto fresco e são capazes de reduzir a carga microbiana, aumentando a vida útil, além de não produzir resíduos tóxicos que potencialmente podem prejudicar o meio ambiente. Com isso este trabalho tem como objetivo desenvolver um equipamento que seja capaz de tratar alimentos sólidos através da radiação ultravioleta, reduzindo contaminações microbianas, estendendo a vida do alimento. O protótipo desenvolvido foi responsável pelas aplicações dos tratamentos de luz ultravioleta (265 e 280 nm) em amostras, a fim de inativar microrganismos. Para a verificação dos efeitos do tratamento foram realizadas análises microbiológicas, onde o objetivo era a contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos. Aplicaram-se análises estatísticas nos resultados para verificação de diferenças significativas nos métodos comparados. Os resultados deste estudo mostraram uma redução microbiana significativa, apontando uma melhoria na inativação de mesófilos e psicotróficos em relação à amostra *in natura*. Quando comparados com os resultados obtidos através do tratamento da câmara de fluxo laminar, não se teve diferenças significativas. Porém mais estudos sobre os reais efeitos no crescimento microbiano, nas propriedades físico-químicas e sensoriais.

Palavras-chave: ultravioleta, germicida, inativação, microrganismo, protótipo, tratamento, inativação, significativo.

ABSTRACT

CHAVES, T. F. H. **Development of a prototype ultraviolet light for food treatment.** 2018. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

It started a strong trend in the valuation of the health that affect directly in the decisions of consumption, generating an increase of the demand for products and services oriented to a healthy life. Non-thermal treatments, such as germicidal ultraviolet radiation (UV-C), gained strength. Because they cause minimal changes in a fresh product and are capable of reducing the microbial load, increasing the useful life, besides not producing toxic residues that can potentially harm the environment. This work aims to develop an equipment that is capable of treating solid foods through ultraviolet radiation, reducing microbial contamination, extending the life of the food. The prototype developed was responsible for the applications of ultraviolet light treatments (265 and 280 nm) in samples in order to inactivate microorganisms. To verify the effects of the treatment, microbiological analyzes were carried out, where the objective was the counting of mesophilic and psychrotrophic microorganisms. Statistical analyzes were applied to the results to verify significant differences in the methods compared. The results of this study showed a significant microbial reduction, indicating an improvement in the inactivation of mesophiles and psychrotrophs in relation to the in natura sample. When compared with the results obtained by the treatment of the laminar flow chamber, there were no significant differences. But more studies on the real effects on microbial growth, physical-chemical and sensory properties.

Keywords: ultraviolet, germicide, inactivation, microorganism, prototype, treatment, inactivation, significant

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Visão frontal protótipo inicial (parte interna adaptada)	18
Figura 2 - Visão frontal do protótipo antigo (pintado)	19
Figura 3 - Visão frontal do protótipo final.....	20
Figura 4 - Visão interna do protótipo final.....	21
Figura 5 Teclado e mostrador digital	22
Figura 6 Gráfico de irradiância vs distância da fonte luminosa (265 nm)	23
Figura 7 Gráfico de irradiância vs distância da fonte luminosa (280 nm)	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Microrganismos aeróbios Mesófilos	26
Tabela 2 Microrganismos aeróbios Psicotróficos	26
Tabela 3 análise de variância e teste F para mesófilos.....	27
Tabela 4 Teste t-Student para análises(mesófilos)	27
Tabela 5 Análise de variância e teste F para Psicotróficos	28
Tabela 6 Teste t-Student para análises (Psicotróficos).....	28
Tabela 7 Aplicação do teste t-Student entre as análises 1 e 2 de mesófilos e psicotróficos	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	IRRADIAÇÃO UV-C.....	13
3.2	SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO TÉRMICO POR UV-C	13
3.3	ALFACE AMERICANA	14
3.4	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	14
3.4.1	Contagem de placas.....	15
3.4.2	Contagem total de mesófilos aeróbicos.....	15
3.4.3	Contagem total de psicrotróficos aeróbicos.....	16
4	MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1	AMOSTRA.....	17
4.2	MATERIAIS	17
4.3	EQUIPAMENTOS.....	17
4.4	MÉTODOS	17
4.4.1	Construção do equipamento.....	17
4.4.2	Uso do equipamento.....	24
4.4.3	Preparo de diluições.....	24
4.4.4	Contagem total de microrganismos	25
4.5	AVALIAÇÃO DE RESULTADOS	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1 INTRODUÇÃO

Muito se sabe que um dos grandes problemas da indústria está na relação qualidade e vida de prateleira dos produtos. Para que haja essa boa relação o alimento passa por diversos processos, sendo um dos mais usados para garantir essas características é o processamento térmico. A maioria dos processos de preparação e conservação de alimentos conta com a aplicação ou a remoção de calor (FELLOWS, 2006).

O tratamento térmico por sua vez é responsável por destruição de enzimas, redução ou eliminação da microbiota e morte de insetos, fazendo com que se estenda sua vida de armazenamento (KWOK et al. 1995). Este tipo de tratamento é efetivo em diversos produtos como, por exemplo, em leite, bebidas vegetal tal como leite de soja, leite de amêndoas entre outras. Estes são meios ideais para o crescimento microbiano e, portanto, a sua qualidade pode facilmente deteriorar-se devido ao rápido crescimento de microrganismos deteriorantes (KWOK et al. 1995).

O tratamento com calor sobre a qualidade do alimento, o sobreaquecimento, no entanto, causa alterações químicas indesejáveis que podem conduzir à destruição de aminoácidos e vitaminas, escurecimento, e desenvolvimento de sabor desagradável (KWOK et al. 1995).

Uma forte tendência na valorização da saúde que afetam diretamente nas decisões de consumo, gerando um aumento da demanda por produtos e serviços orientados a uma vida saudável. Visto que hoje em dia os consumidores modernos estão cada vez mais exigentes quanto a alimentos que tenham seus atributos sensoriais preservados, seguros, saudáveis, naturais e frescos, produzidos de forma ambientalmente correta com métodos sustentáveis. Para abordar os desafios e problemas enfrentados pela indústria de alimentos, tecnologias alternativas para o processamento de alimentos, estão sendo pesquisadas e estudadas (KOUTCHMA, 2009).

Para atender a estas demandas dos consumidores, o processamento não térmico dos alimentos surge como uma alternativa viável. Neste sentido os tratamentos por radiação, como a radiação ultravioleta (UV-C) denominada UV germicida, vêm sendo estudada apresentando resultados promissores na qualidade dos produtos e na sua aplicação industrial. Estes resultados indicam que o tratamento

com UV-C causa mínimas alterações em um produto fresco e é capaz de reduzir a carga microbiana (AMIT, 2017).

O uso da radiação ultravioleta é um dos vários processos físicos que tradicionalmente são utilizados para a esterilização ou higienização de superfícies visando à redução da contaminação microbiológica (ALEXANDRE, 2008). A faixa de comprimento de onda da luz UV para processamento de alimentos varia de 100 a 400 nm. Esta gama pode ser subdivida em: UV-A (315 a 400 nm) que é normalmente a responsável pelo bronzeamento na pele humana; UV-B (280 a 315 nm) promove queimaduras de pele podendo conduzir ao Câncer; e UV-C (200 a 280 nm), faixa germicida, pois inativa eficazmente bactérias e vírus (KOUTCHMA, 2009).

A irradiação ultravioleta tem efeito microbicida se for utilizada com intensidade e tempo de exposição suficiente, encontrando aplicações diversas como na esterilização do ar, de superfícies de equipamentos e de embalagens de alimentos. Fontes com comprimentos de ondas inferiores a 200 nanômetros são ineficientes, visto que as ondas são rapidamente absorvidas pelo oxigênio e pela água (ALEXANDRE et al. 2008).

O sucesso da esterilização pela radiação ultravioleta depende de uma série de fatores, sendo o principal a presença de sujidades na superfície. Como os raios UV têm baixo poder de penetração, podem ser facilmente absorvidos por partículas sólidas na superfície. Sendo assim, os microrganismos podem ser protegidos por poeira (ALEXANDRE et al. 2008).

Na conservação de alimentos, a luz UV-C é empregada principalmente para a pasteurização de produtos líquidos e sólidos, como por exemplo, aplicações em sucos de tomate (BHAT, 2016). Em alimentos sólidos, como por exemplo tomates verdes, foi avaliada a eficácia da luz UV-C na inativação de *Salmonella*. Populações de *Salmonella* inoculadas diminuíram significativamente (LIM et al. 2016).

De forma geral, os tratamentos com luz UV-C, na preservação de alimentos, detém a capacidade de melhorar ou manter parâmetros de qualidade, favorecendo uma elevada possibilidade de exploração comercial (LIM et al. 2016).

A sua principal vantagem frente ao tratamento térmico está na possibilidade da luz UV fornecer produtos alimentares de melhor qualidade sem comprometer a sua segurança e também é ambientalmente correta (BHAT, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um equipamento que seja capaz de tratar alimentos sólidos através da radiação UV, reduzindo a contaminação microbiana.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- ✓ Construir de um protótipo para tratamento de alimentos através de radiação UV emitida por LED (Light Emitting Diode);
- ✓ Aplicar em alface americana, avaliando o seu efeito no crescimento de microrganismos psicrotróficos e mesófilos após o tratamento com a radiação;
- ✓ Comparar os efeitos desse tratamento com os efeitos do tratamento via câmara de fluxo laminar;
- ✓ Determinar eficiência na capacidade de redução da contagem microbiana

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 IRRADIAÇÃO UV-C

A irradiação UV-C (200-280 nanômetros) pertencente a uma pequena parte do espectro eletromagnético, é um método de desinfecção não térmica, caracteriza-se também por custos baixos de equipamentos e manutenção (NARITA et al. 2018).

De acordo com as pesquisas, o tratamento com UV-C tem muitos benefícios e pode compensar os defeitos da tecnologia térmica. Comparado com o tratamento térmico, o tratamento com UV-C, pode aumentar o valor comercial e nutricional, reduzir o impacto destrutivo sobre a qualidade sensorial e remover a contaminação microbiana, e com isso retardar a deterioração do alimento (PATARO, 2015).

O efeito da UV-C danifica o DNA microbiano pelo bloqueio da transcrição e a replicação do DNA, perdendo funções celulares e levando a morte celular (KIM et al. 2017).

3.2 SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO TÉRMICO POR UV-C

Tratamentos térmicos são usados para estender a vida de prateleira de vegetais, inativando microrganismos e enzimas. No entanto, o processamento térmico geralmente induz alterações indesejáveis que são responsáveis pela perda de nutrientes, alteração da cor e alterações nas propriedades sensoriais (RIGANAKOS et al. 2017).

Segundo Riganakos et al. (2017) tratamento com radiação ultravioleta é realizado a baixas temperaturas e é classificado como um método de desinfecção não térmica.

As vantagens associadas a esta tecnologia são: nenhum produto tóxico é formado durante o tratamento, certos contaminantes orgânicos podem ser removidos, nenhum gosto ou odor é formado no tratamento, requer muito pouca energia quando comparado aos processos de pasteurização térmica. O suco de fruta como por

exemplo, que sofre pasteurização ou esterilização térmica tende a mudar de cor e perder alguns de seus aromas e vitaminas durante o processo de aquecimento, diferente do tratamento através da UV, onde as características são mantidas (RIGANAKOS et al. 2017).

3.3 ALFACE AMERICANA

Originária da região do mediterrâneo, a alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais importante no mundo e a mais comercializada no Brasil, sendo consumida, principalmente, in natura, na forma de saladas e constitui-se na espécie mais popular dentre aquelas em que as folhas são consumidas cruas e ainda frescas (YURI, 2017).

Entre os tipos de alface cultivados atualmente, tem-se destacado a alface americana, que visa atender, principalmente, as redes de *fast foods* (SALA et al. 2012).

O crescimento da participação da alface americana no mercado nacional vem crescendo de maneira considerável nos últimos anos. Houve um crescimento de 26 % em 2002, e em 2012 se registrou um crescimento de 36 % na produção e consumos. Isso se deve ao fato da hortaliça apresentar um elevado teor de vitaminas, possuir grande quantidade de sais minerais e ter características sensoriais as quais agradam mais e mais o consumidor. Além de apresentar uma maior durabilidade pós colheita, possibilitando o transporte para grandes distâncias (BRZEZINSKI et al. 2017).

3.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

É fundamental a realização de análises microbiológicas dos alimentos para se conhecer as condições de higiene as quais se encontram, os riscos que estes podem causar à saúde e a vida útil do mesmo. Esse tipo de análise é indispensável para verificação de padrões e especificações de tratamentos aplicados em alimentos.

O procedimento a ser empregado é determinado pelo tipo de alimento e pelo propósito da análise específico da análise. As análises podem depender também dos tipos de microrganismos a serem avaliados no estudo (SILVA, 2002).

3.4.1 Contagem de placas

O método de contagem de microrganismos em placas, é uma forma que pode ser utilizado para vários tipos de microrganismos como aeróbios mesófilos, aeróbios psicrótróficos, termófilos, bolores e leveduras, variando se o tipo de meio, a temperatura e o tempo de incubação (SILVA, 2002).

Por este modo, amostras são homogeneizadas, diluídas em série com os devidos diluentes, plaqueadas com ou sobre um meio de ágar apropriado e incubadas. Após o período de incubação (apropriado para cada tipo de microrganismo), todas as colônias visíveis são contadas a partir da premissa de que cada célula forme uma colônia, fixada ao meio que lhe permita o crescimento (SILVA, 2002).

Segundo Silva (2002) este método certamente é o mais utilizado nos laboratórios de análises microbiológicas, pois diferentes grupos de microrganismos podem ser enumerados de acordo com o meio de cultura, tempo de cultura, temperatura de incubação empregados no objeto de estudo

3.4.2 Contagem total de mesófilos aeróbicos

Contagem que detecta o número de bactérias mesófilas (35-37 °C), presentes tanto na forma vegetativa como na forma esporulada, no alimento inoculado à placa.

O número de mesófilos aeróbios encontrados em um alimento, tem sido um dos principais indicadores microbiológicos de qualidade dos alimentos, indicando a limpeza, a desinfecção. Esta determinação permite também obter informações relevantes no que diz respeito sua vida útil e cuidados que não foram tomados ao longo da manipulação do alimento.

3.4.3 Contagem total de psicotróficos aeróbicos

Bactérias psicotróficas são fatores críticos para a manutenção da alface pois são capazes de crescer em temperaturas abaixo de 7 °C, temperatura na qual normalmente, a alface é armazenada. Estes microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no solo nas plantas e nos animais, sendo assim, o contato da alface com alguma das fontes citadas pode acarretar em contaminação por psicotróficos (CASTRO et al. 2009).

A avaliação de microrganismos psicotróficos, torna-se fundamental, pois em um período de tempo relativamente curto, e em temperaturas de refrigeração, podem multiplicar-se rapidamente, elevando a quantidade de microrganismos acima de níveis aceitáveis (CASTRO et al. 2009).

A contagem total é feita a partir da mesma premissa que é feita a contagem dos mesófilos, são contadas a partir das colônias que crescem em meio ao ágar de crescimento microbiano (SAEKI et al. 2010)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

Foram utilizadas folhas de alface do tipo americana *in natura*, adquiridas junto ao comércio municipal da cidade de Campo Mourão (PR).

4.2 MATERIAIS

Para análises microbiológicas foram utilizados os seguintes reagentes: meio de cultura Plate Count Agar (PCA), Água destilada e Peptona bacteriológica.

4.3 EQUIPAMENTOS

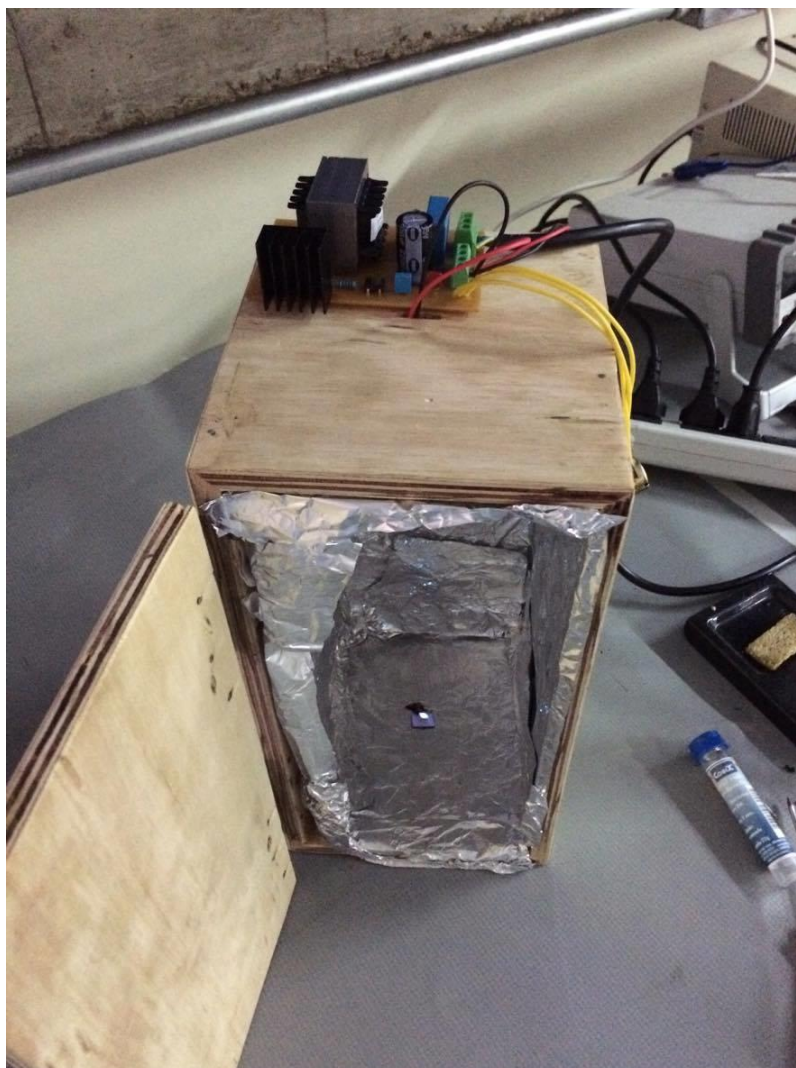
Equipamentos utilizados para a realização dos experimentos, câmara de fluxo laminar (diluição de amostras e tratamento), autoclave (esterilização de materiais), balança analítica (pesagem), Stomacher® (homogeneização) e protótipo construído em parceria com o Departamento do Curso de Engenharia Eletrônica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (tratamento através da radiação ultravioleta das amostras).

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Construção do equipamento

Durante as etapas iniciais do projeto um protótipo inicial foi desenvolvido (Figuras 1 e 2), com o auxílio do laboratório de madeiras de Engenharia Civil e com o suporte de um aluno de Engenharia Eletrônica. Em testes iniciais aplicados em couve e alface detectou-se a necessidade de determinar a variação do fluxo de energia, ou seja, a intensidade luminosa, conforme a distância da fonte luminosa.

Figura 1 - Visão frontal protótipo inicial (parte interna adaptada)



Fonte Autoria própria

Figura 2 - Visão frontal do protótipo antigo (pintado)



Fonte: Autoria própria

Dessa forma foi possível ajustar as dimensões do protótipo final para que a amostra pudesse receber a maior quantidade de energia possível. Com isso foi possível construir o protótipo final, com tamanho otimizado para melhor aproveitamento da radiação. Além do acréscimo de 5 LEDs de 265 e 280 nm que permitiu aumentar a área de alcance superficial da luz em contato com a amostra. A instalação de um painel digital e um teclado facilitou a interação e manuseio do usuário com o protótipo. O protótipo final é apresentado na Figura 1, sendo este o utilizado para realização dos tratamentos.

Figura 3 - Visão frontal do protótipo final



Fonte: Autoria própria

A carcaça do equipamento foi construída com material em MDF (Medium Density Fiberboard). Seu interior conta com cinco placas, onde cada uma delas abriga dois LEDs emissores de radiação ultravioleta de comprimentos de onda de 265 e 280 nanômetros, cada placa fica em uma das superfícies da caixa como mostra a Figura 4, com exceção da porta.

Figura 4 - Visão interna do protótipo final



Fonte: A autoria própria

Ainda no interior do equipamento, para acomodação da amostra. Há uma grelha como mostra a Figura 4, construída de fio de cobre esmaltado, a qual movimenta-se verticalmente permitindo a regulagem de altura apropriada.

Considerando propriedades refletivas a caixa foi pintada com tinta branca brilhante, afim de fazer com que a luz ultravioleta seja espalhada por toda a região do equipamento, para maior efetividade do tratamento.

O controlador tem basicamente quatro etapas, sendo o ajuste de tensão para o nível desejado, limitação de corrente ao valor máximo consumido pelos LEDs, o ajuste de intensidade, e por último o chaveamento dos LEDs desejados.

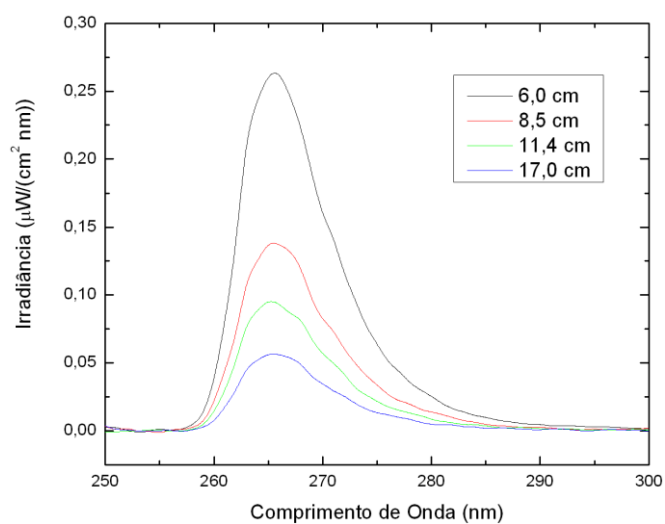
A seleção do comprimento de onda a ser utilizado é feita a partir de um teclado numérico e mostrador digital conforme mostra Figura 5.

Figura 5 Teclado e mostrador digital

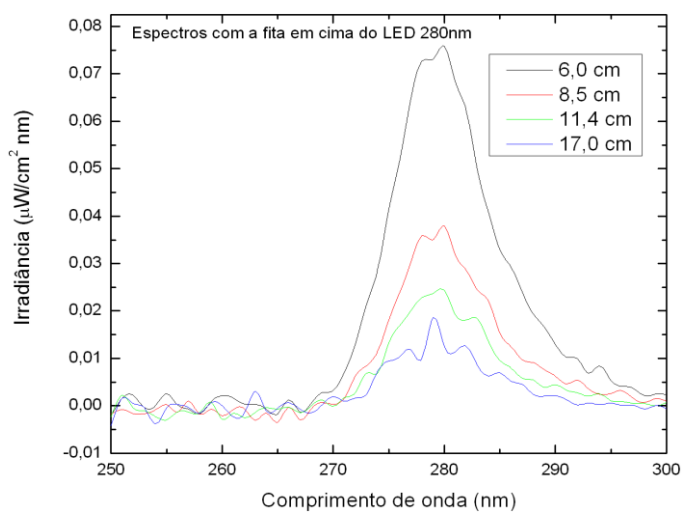


Fonte: Aatoria própria

O equipamento tem altura de 17 cm, o qual foi baseado em análises com um espectroradiômetro (Gooch & Housego, OL 756, acoplado à uma fibra óptica Gooch & Housego, OL 730 7Q-1.0) realizadas no Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá. Nesta análise determinou-se a intensidade dos LEDs a diferentes alturas da fonte luminosa e permitiu determinar que a altura ideal onde a radiação do LED é aproveitada de uma melhor forma é de 6 cm em relação ao ponto superficial da amostra, como mostram as Figuras 5 e 6. Posicionando a grelha no centro do equipamento a altura é equivalente a 8,5 cm, altura a qual leva em consideração o tamanho da amostra.

Figura 6 Gráfico de irradiância vs distância da fonte luminosa (265 nm)

Fonte: Autoria própria

Figura 7 Gráfico de irradiância vs distância da fonte luminosa (280 nm)

Fonte: Autoria própria

4.4.2 Uso do equipamento

A utilização do equipamento foi realizada dentro da cabine de fluxo laminar, para a precaução de contaminantes exteriores.

Para o uso do equipamento, fez-se uma desinfecção em toda a região interna, ligou-se os LEDs de 265 ou 280 nm durante 15 minutos e fechou-se a portinhola para esterilização do equipamento.

Após o tempo de esterilização desligou-se os LEDs e acomodou-se a amostra na grelha de modo que a maior área superficial ficasse direcionada à fonte de radiação. Ligou-se novamente os LEDs e deixou pelo período determinado para o tratamento.

Após o período de tratamento, os LEDs eram desligados, e a amostra foi retirada para o preparo da análise microbiológica.

4.4.3 Preparo de diluições

Para as análises microbiológicas as amostras foram separadas em quatro grupos, um *in natura* e os demais sofreram tratamento com radiação ultravioleta.

O grupo de amostra *in natura* não sofreu nenhum tipo de tratamento. Já os demais grupos que sofreram tratamento de radiação com o equipamento foram utilizadas LEDs de diferentes comprimentos de onda. O primeiro foi feito com o LED de 265 nanômetros, com intensidade máxima, durante quinze minutos com altura de 8,5 cm em relação aos LEDs superiores e inferiores. O segundo grupo foi tratado com LED de 280 nanômetros, utilizando-se os mesmos parâmetros adotados no LED de comprimento de 265 nanômetros. Para o tratamento do último grupo foi utilizado a câmara de fluxo laminar, durante quinze minutos a uma altura de 25 centímetros de distância da fonte luminosa.

Para a preparação das amostras foram pesados 10 gramas e misturadas junto a 90 mililitros de água peptonada, passando em seguida pela homogeneização, com a utilização do Stomacher®. Após isso, realizaram-se as diluições de 10^{-1} a 10^{-4} .

4.4.4 Contagem total de microrganismos

Para a determinação de bactérias mesófilas e psicotrófica de acordo com SILVA, 2003 utiliza-se meio de cultura PCA para contagem, e o sistema de semeadura utilizado foi o de *Pour Plate*.

O alimento preparado (SILVA, 2003) foi analisado pipetando-se 1 mililitro de cada diluição para placas de Petri esterilizadas fazendo de cada diluição placas duplicatas; em seguida foram vertidos cerca de 20 mililitros de meio de cultura em forma líquida a temperatura de 45° C. Depois de agitada em movimentos circulares para promover a homogeneização do meio de cultura com o inóculo, esperou-se a solidificação do ágar, para serem invertidas e incubadas.

Para as placas de crescimento de bactérias mesófilas, a incubação foi feita em estufa com temperatura de 35-37°C, durante 48 horas. As placas de contagem de bactérias psicotróficas foram incubadas em geladeira, com temperatura próxima aos 7°C, onde ficaram durante 8 dias.

Transcorrido o tempo de incubação fez-se a contagem do número de colônias, com o auxílio de um contador de colônias. Multiplicou-se a média aritmética das duplicatas pelo respectivo valor de diluição obtendo resultados expressos na base logarítmica em unidades formadoras de colônia por grama (UFC g⁻¹).

4.5 AVALIAÇÃO DE RESULTADOS

Para avaliação de resultados foi aplicado o teste t-Student para verificação de diferenças entre as amostras. Para a realização deste teste foi utilizado as ferramentas do BioEstat 5.3®. O nível de significância adotado foi o de 5%

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos nas análises microbiológicas de aeróbios mesófilos.

Tabela 1 Microrganismos aeróbios Mesófilos

	Análises	Contagem (UFC g ⁻¹)		Média das Duplicatas (UFC g ⁻¹)
Controle (<i>in natura</i>)	1ª análise	5,908	6,004	5,956
	2ª análise	6,041	6,212	6,127
Tratamento (265nm)	1ª análise	5,602	5,708	5,655
	2ª análise	5,462	5,447	5,455
Tratamento (280nm)	1ª análise	5,279	5,447	5,363
	2ª análise	5,748	5,681	5,715
Câmara de fluxo laminar	1ª análise	5,000	5,204	5,102
	2ª análise	5,699	5,833	5,766

A Tabela 2 demonstra os resultados avaliados através das análises de aeróbios psicotróficos.

Tabela 2 Microrganismos aeróbios Psicotróficos

	Análises	Contagem (UFC g ⁻¹)		Média das Duplicatas (UFC g ⁻¹)
Controle (<i>in natura</i>)	1ª análise	5,672	5,568	5,620
	2ª análise	5,544	5,602	5,573
Tratamento (265nm)	1ª análise	4,903	4,845	4,874
	2ª análise	4,477	4,903	4,690
Tratamento (280nm)	1ª análise	4,813	4,857	4,835
	2ª análise	4,903	4,699	4,801
Tratamento Câmara	1ª análise	4,204	4,568	4,386
	2ª análise	4,079	4,000	4,040

A Tabela 3 mostra a aplicação do Teste F, onde avalia-se as variâncias de dados transformados dos microrganismos aeróbios mesófilos. Onde os valores encontrados de $p < 0,05$.

Com isso aplicou-se o método estatístico t-Student para avaliação de diferenças significativas entre as médias das duplicatas no intervalo de confiança de 5% demonstrado na Tabela 4.

Tabela 3 análise de variância e teste F para mesófilos

Causas da Variação	GL	SQ	QM	F
1ª análise	3	0.816	0.272	24.0837
2ª análise	3	0.459	0.153	23.5935

Tabela 4 Teste t-Student para análises(mesófilos)

Análises	Média das duplicatas UFC g ⁻¹			
	Controle (<i>in natura</i>)	Tratamento (265nm)	Tratamento (280nm)	Tratamento Câmara
1ª análise	5,956a	4,874b	5,363bc	5,102c
2ª análise	6,127a	5,455b	5,715b	5,766b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste t-Student $p > 0,05$.

Como observado na Tabela 4, a primeira análise de contagem de placas observou-se uma diferença significativa entre as todas as médias das amostras tratadas em relação a *in natura*, na confiança de 0,05. As amostras do equipamento (265 nm) não tiveram diferença em relação ao tratamento (280 nm). A do tratamento de 265 nm em comparação com o teste da câmara de fluxo laminar, obteve uma diferença significativa entre elas.

Em relação à segunda análise, as médias entre os tratamentos 265 nm, tratamento 280 nm e da câmara de fluxo laminar, não obtiveram diferenças significativas entre si, todavia se diferenciaram da amostra controle. O mesmo se observa entre os diferentes comprimentos de onda UV. Observa-se que o comprimento de onda 265 nm não proporcionou maior efeito germicida sobre as folhas de alface em comparação ao resultado obtido com 280 nm.

Doyle e Erickson (2008) afirmaram que as intervenções aplicadas, mesmo brandas devem ter reduções de microrganismos. Semelhante aos resultados deste estudo que demonstraram a diminuição comparados com as amostras *in natura*. De acordo com Lim, (2016) a aplicação de radiação ultravioleta (germicida) afim de inativar *Salmonella* em tomates verdes, apresentou resultados significativos durante o tratamento, observando uma redução microbiana relevante em suas análises.

Tabela 5 Análise de variância e teste F para Psicrotróficos

Causas da Variação	GL	SQ	QM	F
1ª análise	3	1.568	0.523	28.1428
2ª análise	3	2.371	0.79	27.175

A Tabela 5 contempla os resultados da análise da variância das médias obtidas através da contagem de placas para microrganismos aeróbios psicrotróficos.

Tabela 6 Teste t-Student para análises (Psicrotróficos)

Análises	Média das duplicatas UFC g ⁻¹			
	Controle (in natura)	Equipamento (265 nm)	Tratamento (280 nm)	Tratamento Câmara
1ª análise	5,620a	4,874b	4,835b	4,386b
2ª análise	5,573a	4,690b	4,801b	4,040b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste t-Student $p > 0,05$

Em relação aos microrganismos psicrotróficos a análise estatística aplicada (t-Student) demonstrou que todas as amostras tratadas por radiação sofreram diminuição microbiana para ambas as análises, levando em conta a referência da amostra controle. Entretanto não se observa diferença entre comprimento de onda aplicado, como já observado para a contagem de mesófilos. Com um nível de 5 % de significância as amostras tratadas não diferenciam entre si.

Lee, (2012) em seu estudo comparou o tratamento de dióxido de cloro aquoso em relação ao tratamento combinado de dióxido de cloro e UV-C, em folhas de alface romana. Os resultados demonstraram que após o tratamento em diferentes diluições, o tratamento com dióxido de cloro alcançou maior diminuição de carga microbiana. Todavia, quando comparado ao tratamento com radiação UV-C, a redução microbiana

foi ainda maior nas amostras analisadas, evidenciando efetividade da radiação ultravioleta.

Tabela 7 Aplicação do teste t-Student entre as análises 1 e 2 de mesófilos e psicrotróficos

Microrganismo	Parâmetro	1ª análise	2ª análise
Mesófilos	Controle (in natura)	5,956a	6,127a
	Tratamento 265 nm	5,655a	5,455a
	Tratamento 280 nm	5,363a	5,715b
	Tratamento Câmara	5,102a	5,766b
Psicrotróficos	Controle (in natura)	5,620a	5,573a
	Tratamento 265 nm	4,874a	4,690a
	Tratamento 280 nm	4,835a	4,801a
	Tratamento Câmara	4,386a	4,040a

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste t-Student $p > 0,05$

A Tabela 7 demonstra aplicação de análise estatística que visa a comparação entre as análises 1 e 2 em todos os parâmetros avaliados. Observa-se que os resultados na maioria dos casos são significativamente iguais, com exceção da comparação do tratamento de 280 nm e da câmara de fluxo laminar para mesófilos, que mostraram diferença quando aplicados o teste t-Student. O fato dos resultados terem essa diferença se dá pela distinção de amostras e a manipulação aplicadas sobre elas antes de serem adquiridas.

Com relação aos resultados encontrados, poderiam ter sido melhores. As amostras foram posicionadas no equipamento de forma que a radiação não alcançasse a quantidade máxima de energia emitida pelos LEDs, como mostra as Figuras 6 e 7. Onde demonstram que a altura que melhor aproveita a energia é a de 6 cm. A grelha para este estudo foi posicionada no centro do equipamento (8,5 cm das fontes luminosas) para um aproveitamento efetivo de todos os LEDs, mas o fato de que a energia recebida pela amostra foi metade de que ela poderia receber na distância de 6,0 cm, influenciou diretamente nos resultados, apesar de diferenças significativas encontradas.

Quanto ao funcionamento o equipamento se mostrou de fácil manuseio sendo necessários o acionamento de alguns botões não necessitando nenhum tipo de treinamento específico.

Em relação à segurança, devido a construção física do equipamento é possível garantir que a radiação fique confinada no seu interior, resguardando a segurança do usuário.

Os resultados deste estudo mostraram uma redução microbiana significativa, apontando uma melhoria na inativação de mesófilos e psicrotróficos em relação à amostra *in natura*. Quando comparados com os resultados obtidos através do tratamento da câmara de fluxo laminar, não se teve diferenças significativas. Porém mais estudos sobre os reais efeitos no crescimento microbiano, nas propriedades físico-químicas e sensoriais.

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do protótipo possibilitou uma alternativa ao estudo dos efeitos da radiação ultravioleta em alimentos. A tecnologia LED se mostrou versátil como fonte de emissão UV, por ser um componente compacto e de fácil manuseio, permitindo inúmeras aplicações as quais as lâmpadas convencionais são limitadas.

O tratamento com UV-C nesta pesquisa proporcionou resultados positivos, foi observado uma redução significativa da carga microbiana de mesófilos e psicrotróficos apesar da redução não ser muito expressiva, quando comparados com as amostras *in natura*. A radiação aplicada se mostrou eficaz no tratamento da amostra.

Portanto, a tecnologia UV-C poderia ser uma técnica alternativa ao tratamento térmico. Todavia mais pesquisas devem ser realizadas a respeito do uso e seus efeitos, no crescimento microbiano, nas propriedades físico-químicas e sensoriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, Fernanda Antunes; FARIA, José de Assis Fonseca; CARDOSO, Claudio Fernandes. Evaluation of ultraviolet radiation in the sterilization of plastic packaging. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, 2008.

AMIT, Jaiswal K. Food Processing Technologies Impact on Product Attributes. Boca Raton: CRC press, 2017.

BHAT, Rajeev. Impact of ultraviolet radiation treatments on the quality of freshly prepared tomato (*Solanum lycopersicum*) juice. **Food Chemistry**, v. 213, p. 635-640, jun. 2016.

BRZEZINSKI, Cristian Rafael et al. Produção de cultivares de alface americana sob dois sistemas de cultivo/Production of iceberg lettuce cultivars under two cropping systems. **Revista Ceres**, v. 64, n. 1, p. 83, 2017.

CASTRO, Vinícius Lourenço Faleiro; ALVARENGA, Verônica Ortiz; MAITAN, Valéria Ribeiro. Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Leite em um Entrepasto. **Estudos**, v. 36, n. 4, p. 809-816, 2009.

DOYLE, M. P.; ERICKSON, M. C. Summer meeting 2007—the problems with fresh produce: an overview. **Journal of applied microbiology**, v. 105, n. 2, p. 317-330, 2008.

FELLOWS, Peter J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

KIM, Do-Kyun; KIM, Soo-Ji; KANG, Dong-Hyun. Bactericidal effect of 266 to 279 nm wavelength UVC-LEDs for inactivation of Gram positive and Gram negative foodborne pathogenic bacteria and yeasts. **Food Research International**, v. 97, p. 280-287, 2017.

KOUTCHMA, T. Advances in Ultraviolet Light Technology for Non-thermal Processing of Liquid Foods. **Food Bioprocess Technol**, Canada, v. 2, p. 138 – 155, jan. 2009.

KWOK, K.; et al. Review: Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 263-295, mar. 1995.

LEE, Ji Hye et al. Sensory and microbiological qualities of romaine lettuce and kale affected by a combined treatment of aqueous chlorine dioxide and ultraviolet-C. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 53, n. 5, p. 387-396, 2012

LIM, Winnie; HARRISON, Mark A. Effectiveness of UV light as a means to reduce Salmonella contamination on tomatoes and food contact surfaces. **Food Control**, v. 66, p. 166-173, fev. 2016.

NARITA, Kouji et al. Disinfection and healing effects of 222-nm UVC light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mouse wounds. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 178, p. 10-18, 2018.

PATARO, Gianpiero et al. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 103-111, jun. 2015.

RIGANAKOS, Kyriakos A. et al. Comparison of UV-C and thermal treatments for the preservation of carrot juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 42, p. 165-172, 2017.

SAEKI, Erika K.; MATSUMOTO, Leopoldo S. Contagem de mesófilos e psicrotóxicos em amostras de leite pasteurizado e UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 377, p. 29-35, 2010.

SALA, Fernando Cesar; DA COSTA, Cyro Paulino. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira Retrospective and trends of Brazilian lettuce crop. **Horticultura brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.

SILVA, Maria Cecília da. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo 2002.

YURI, Jony Eishi et al. Desempenho agrônomo de genótipos de alface americana no Submédio do Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 292-297, 2017.