



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

CÍNTIA MAIA BRAGA

**APLICAÇÃO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA
INATIVAÇÃO DE MICROORGANISMOS DETERIORANTES DE
ALIMENTOS**

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof Dr Jorge Luiz Ninow
Coorientadora: Prof^a Dr^a Gláucia Maria Falcão de Aragão

**FLORIANÓPOLIS
FEVEREIRO DE 2018.**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Braga, Cíntia Maia

Aplicação de Radiação Ultravioleta na Inativação de Microrganismos Deteriorantes de Alimentos / Cíntia Maia Braga ; orientador, Jorge Luiz Ninow; coorientador, Gláucia Maria Falcão de Aragão. 2018.

186 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. *Weissella viridescens*. 3. *Penicillium expansum*. 4. Microbiologia preditiva. 5. Produtos cárneos. I. Ninow, Jorge Luiz. II. de Aragão, Gláucia Maria Falcão. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

**Aplicação de Radiação Ultravioleta na Inativação de
Microrganismos Deteriorantes de Alimentos**

por

Cíntia Maia Braga

Tese julgada para obtenção do título de **Doutor em Engenharia de Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos** e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. Jorge Luiz Ninnow
orientador

Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria Falcão de Aragão
coorientadora

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
coordenador

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria Falcão de Aragão

Prof^a. Dr^a. Beatriz de Cássia Martins Salomão

Prof^a. Dr^a. Sandra Regina Salvador Ferreira

Dr^a. Andréia Tremarin

Florianópolis, 28 de fevereiro de 2018.

Dedico este trabalho a todos
que me ajudaram nesta
conquista.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente os meus orientadores Prof. Dr. Jorge Ninow e à Profa. Dra. Gláucia Maria Falcão de Aragão. Agradeço ao professor Jorge por sempre ter acreditado em mim e ter sempre me tratado com tanto carinho e confiança. Da mesma forma agradeço à professora Gláucia por ter me aceitado no meio do caminho, me reerguido diante de todas as dificuldades, valorizado meu esforço e acreditado no nosso trabalho. Seus ensinamentos e dedicação foram essenciais para esta conquista. Nenhuma palavra seria capaz de descrever o bem que me fez.

Agradeço ao Dr. Josamaique Veneral pela parceria no desenvolvimento do equipamento e todo o pronto suporte técnico e científico. Seu trabalho e dedicação surgiram no momento mais necessário. Além disso, pude contar com o seu apoio durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Às alunas de iniciação científica e trabalho de conclusão de curso, Larissa Ramos, Letícia Floriano e Isabella Souza, as quais foram extremamente comprometidas e dedicadas. Além do trabalho prático exaustivo, estavam sempre dispostas a aprender e contribuir com o desenvolvimento deste trabalho, dando ideias e opiniões engrandecedoras. Agradeço também ao Matheus Santos por ter elaborado os desenhos da disposição das lâmpadas no equipamento às pressas para a defesa da qualificação, momento que tive uma imensurável ajuda da Larissa para elaboração da apresentação.

Às professoras e pesquisadoras da banca examinadora. Dra. Beatriz Salomão, que tanto participou e contribuiu desde o início do desenvolvimento do trabalho, respondeu a todas as dúvidas prontamente, fez inúmeras contribuições na qualificação e na defesa final, além do parecer como relatora. Dra. Andréia Tremarin que tanto contribuiu com ideias, sugestões e seu conhecimento técnico sobre radiação ultravioleta. Dra. Sandra Ferreira desde os conhecimentos de termodinâmica transmitidos com tanto amor nas aulas, quanto as importantíssimas contribuições nas bancas de qualificação e defesa.

Ao Prof. Dr. Alessandro Nogueira pela introdução do tema e ideias, além de juntamente com o Prof. Dr. Gilvan Wosiacki (*in memoriam*) ter me inspirado a seguir a carreira acadêmica.

Aos colegas de laboratório que me acolheram e me deram suporte técnico e emocional. À Francine Oliveira que trabalhou comigo nos primeiros experimentos, dividindo assim a responsabilidade e seu precioso tempo. Nossa parceria foi em um momento muito importante.

Wiaslan Martins por estar sempre pronto e disposto para ajuda prática e teórica, no desenvolvimento dos modelos e na escrita. Danielle Severo, Camila Paganini e Natielle Menezes, sempre prontas para me ensinar e ajudar tanto na prática quanto na modelagem. Agradeço ao grupo Microbiologia Preditiva também pelas sugestões para elaboração das apresentações. Kellen Zanfonato por prontamente responder às dúvidas e pela dedicação na correção do documento para a qualificação, suas sugestões foram de grande relevância para a qualidade da escrita. Felipe Pavan pelo desenvolvimento da rotina para obtenção dos modelos dinâmicos de inativação. Francielli Martinhago por me ensinar os primeiros passos no Engebio. Sidnei Bordignon, Pâmela Goularte e Carolina Boeira, pelo carinho e disposição de sempre. Agradeço também o carinho e atenção dos demais colegas do Engebio.

Aos amigos dos outros laboratórios que foram muito importantes na caminhada para cumprimento dos créditos e apoio para desenvolvimento da tese, Camila Silveira, Mirian Feiten, Gean Aguiar, Jade Link e Daniela Mengarda.

À abertura do laboratório e disposição dos colegas dos laboratórios Latesc, Profi e LTBR para realização de análises e abrigo durante a reforma do Engebio.

À UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos pela oportunidade de desenvolvimento desta pesquisa. A todos os colegas dos outros laboratório e funcionários da UFSC que sempre estavam atentos e torcendo pelo desenvolvimento do trabalho. Aos professores do programa pela acolhida, respeito, ajuda e conhecimentos transmitidos.

Ao Prof. Ivan Bechtold pelo empréstimo do potenciômetro e disposição em conversar e tirar dúvidas.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Aos Presidentes da República Federativa do Brasil Luiz Inácio Lula da Silva e Dilma Rousseff e aos brasileiros pelo investimento em pesquisa científica e tecnológica no nosso país.

À Coleção de Culturas Tropical – Fundação André Tosello pela doação das cepas de *Penicillium expansum*.

Aos meus pais pelo suporte financeiro e emocional. O amor e confiança incondicionais foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Thamires Bonatto pela confecção da planta do primeiro equipamento. Trabalho este pedido pela Lívia Braga, a quem agradeço também por toda atenção, apoio e companheirismo.

Ao Douglas de Melo pela ajuda no desenvolvimento do trabalho me acompanhando no laboratório nos fins de semana e em momentos difíceis, além da finalização do documento e prévias de apresentação para a defesa.

Às amigas Larissa Gomes, Deborah Liguori e Michele Tonet pelas idas ao laboratório, contagem de placas, ideias, leitura do documento de qualificação, prévia de defesa e muito apoio.

Aos amigos e familiares que contribuíram diretamente devido ao apoio, torcida e orações. Agradeço também a compreensão pela minha ausência nessa fase da vida.

Ao terapeuta e amigo Gabriel Britto por me ajudar a enfrentar todas as dificuldades e transforma-las em aprendizado e crescimento para toda a vida.

Finalmente agradeço a Deus por ter me proporcionado, além da condição para desenvolvimento da tese, uma caminhada repleta de crescimento, aprendizados e presentes como pessoas que conheci e me deram amor e força, minhas famílias de Florianópolis, amigos da UFSC, família Rossi de Melo, GOJ São Francisco de Assis, família do Pilates e Movimento dos Focolares.

RESUMO

A deterioração de alimentos por microrganismos causa grandes perdas para indústrias. Então, para diminuir os prejuízos causados por deterioração, é importante conhecer o principal microrganismo deteriorante do alimento, bem como conhecer técnicas para inativação do mesmo. Os tratamentos térmicos e o uso de aditivos químicos estão entre as técnicas mais utilizadas para conservação de alimentos. Porém, o uso de calor pode alterar as características sensoriais e nutritivas dos alimentos como alteração da cor, perda de aromas e perda de compostos benéficos à saúde do consumidor. Aditivos químicos também são amplamente utilizados e possuem inúmeras desvantagens como depósito de resíduos prejudiciais à saúde, assim como ao ambiente quando descartados, além da produção de gases tóxicos prejudiciais ao manipulador destes alimentos. Diante disso, é necessário o uso de tecnologias alternativas a essas tradicionais, como tratamentos não térmicos, com destaque para o uso da radiação ultravioleta (UV-C). Esta age diretamente sobre o DNA dos microrganismos causando a morte das células. Um exemplo de alimentos altamente perecíveis que necessitam de tratamentos para sua conservação são os produtos cárneos. Juntamente com a maçã e seus produtos, os produtos cárneos estão entre os alimentos mais economicamente importantes para o estado de Santa Catarina. O estado é o maior produtor de maçãs do país e onde estão localizadas as mais importantes empresas de carnes. Além da importância para o estado, os principais microrganismos deteriorantes destes alimentos já têm sido estudados pelo grupo de pesquisa no qual o trabalho foi desenvolvido. O contaminante mais encontrado em maçãs no período pós colheita é o fungo *Penicillium expansum*, enquanto os produtos cárneos embalados a vácuo apresentam ambiente de microaerofilia, ideal para o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas (BAL), com destaque à bactéria *Weissella viridescens*. Uma ferramenta que pode ser utilizada para descrever a inativação de microrganismos tanto pela ação de calor ou uso de aditivos químicos, como pela ação da radiação UV-C é a microbiologia preditiva. Esta possibilita, através de modelos matemáticos, prever o comportamento dos microrganismos em função da aplicação de radiação UV-C. Assim, o objetivo geral deste trabalho foi estudar, com o uso da microbiologia preditiva, a inativação dos microrganismos deteriorantes de maçãs e produtos cárneos, *P. expansum* e *W. viridescens*, respectivamente, realizada pela aplicação de UV-C. Primeiramente, foi desenvolvido um equipamento com 10 lâmpadas de mercúrio de baixa pressão com emissão no comprimento de onda de 254

nm e controle de temperatura, para inativação de microrganismos deteriorantes de alimentos. A variação do número de lâmpadas permite a variação da intensidade de radiação (W/m^2) aplicada à amostra. Com o uso deste equipamento, foram realizados testes de inativação dos microrganismos contaminantes in vitro e em alimentos. Os resultados obtidos mostraram, para as cinco intensidades de radiação avaliadas (2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas acesas), que a inativação de esporos de *P. expansum* in vitro foi possível. Foram, então, realizados testes em maçãs e a técnica mostrou-se pouco eficiente, uma vez que foram necessários 60 minutos para obtenção de uma redução decimal do número de esporos inoculados. O tempo é alto se comparado às técnicas de sanitização química apontadas pela literatura, como o uso de sanitizantes à base de cloro, por exemplo. Uma vez que a técnica não foi promissora para inativação do contaminante de maçã na própria fruta, foi verificada a aplicação de radiação UV-C no seu principal produto, o suco de maçã. Apesar de não haver muita diferença no efeito das maiores intensidades de radiação avaliadas, foi constatada a possibilidade da técnica ser utilizada para preservação do suco. A inativação da bactéria deteriorante de produtos cárneos, *W. viridescens*, por UV-C também foi estudada. Cinco curvas foram obtidas para descrever a inativação de inóculo de *W. viridescens* in vitro, sendo cada curva correspondente a uma intensidade fixa de radiação UV-C. Além desses, foram realizados experimentos em produtos cárneos com a aplicação de $1,93 \text{ W}/\text{m}^2$ (10 lâmpadas), em diferentes tempos. O uso de radiação UV-C não foi eficiente para inativação da bactéria avaliada em presunto, nas condições estudadas no presente trabalho. Já os testes realizados em salsicha e linguiça mostraram a possibilidade da utilização da técnica para prolongar a vida útil destes alimentos, mesmo quando embalados. Diante disso, foram realizados estudos de vida útil de salsicha embalada a vácuo, comparando amostras irradiadas e amostras não irradiadas e foi verificado um aumento de cerca de 70% no tempo de vida útil do produto devido à diminuição da concentração inicial de microrganismo. Para todas as curvas experimentais de inativação de ambos os microrganismos testados, o modelo primário de Weibull apresentou um bom ajuste aos dados. Após o ajuste primário para a bactéria ácido láctica (BAL) estudada in vitro e para o fungo em suco de maçã, quatro modelos secundários foram testados para descrever a influência da intensidade de radiação sobre os parâmetros α (fator de forma) e β (fator de escala). Com base nos modelos primários e secundários, o modelo dinâmico proposto por Peleg (2006) foi adaptado e utilizado para a predição dos dados obtidos pela aplicação de UV-C com intensidades de radiação variando com o tempo. Com isto, foram obtidos

e validados os modelos dinâmicos da inativação de *P. expansum* em suco de maçã e de *W. viridescens* in vitro pela aplicação de radiação UV-C em diferentes intensidades de radiação variando com o tempo. Esses modelos têm grande potencial para aplicação industrial.

Palavras-chave: *Weissella viridescens*; *Penicillium expansum*; Microbiologia preditiva; UV-C; Maçã; Produtos cárneos.

ABSTRACT

Foods deterioration by microorganisms causes great losses for industries. Thus, in order to reduce the damage caused by deterioration, it is important to know the main deteriorating microorganism of the food, as well as to know techniques for its inactivation. Thermal treatments and the use of chemical additives are among the most used techniques for food preservation. However, the use of heat may alter the sensory and nutritional characteristics of foods such as color changes, aroma losses and beneficial compounds to the health of the consumer losses. Chemical additives are also widely used and there are innumerable disadvantages such as disposal of harmful to health residues as well as to the environment when discarded, in addition to the production of toxic gases harmful to the manipulator of these foods. Therefore, it is necessary to use alternative technologies to these traditional ones, such as non-thermal treatments, with emphasis on the use of ultraviolet radiation (UV-C). It acts directly on the DNA of the microorganisms causing the death of the cells. Highly perishable foods example that require treatments for their conservation are meat products. Meat products, apple and apple products are among the most economically important foods for the Santa Catarina state. The state is the largest producer of apples in the country and where the most important meat companies are located. Besides the importance for the state, the main deteriorating microorganisms of these foods have already been studied by the research group in which the work was developed. The contaminant most frequently found in apples in the post-harvest period is the fungus *Penicillium expansum*, while the vacuum-packed meat products present a microaerophilic environment, ideal for the development of lactic acid bacteria (BAL), with emphasis on the bacterium *Weissella viridescens*. A tool that may be used to describe the inactivation of microorganisms by either the heat action, or chemical additives use, or by the UV-C radiation action is the predictive microbiology. This allows, through mathematical models, to predict the microorganisms behavior as a function of the application of UV-C radiation. Thus, the general objective of this work was to study the inactivation of the apples and meat products deteriorating microorganisms, *P. expansum* and *W. viridescens*, respectively, using UV-C radiation, using the predictive microbiology. Firstly, an equipment for deteriorating food microorganisms inactivation was developed. It has 10 low pressure mercury lamps with emission at 254 nm wavelength and temperature control. The variation of the number of lamps allows the variation of the radiation intensity (W/m^2) applied to the sample. By the

use of this equipment, contaminating microorganisms inactivation tests were carried out in vitro and in food. The obtained results showed that inactivation of *P. expansum* spores in vitro was possible for the five radiation intensities evaluated (2, 4, 6, 8 and 10 lamps). Tests were then carried out on apples and the technique proved inefficient, since it took 60 minutes to obtain a decimal reduction in the number of inoculated spores. The time is high compared to the chemical sanitization techniques pointed out in the literature, such as the use of chlorine-based sanitizers, for example. Since the technique was not promising for inactivation of the apple contaminant in the fruit itself, the application of UV-C radiation in its main product, apple juice, was verified. Although there was not much difference in the effect of the highest radiation intensities evaluated, it was verified the possibility of the technique being used to preserve the juice. Inactivation of the deteriorating bacteria of meat products, *W. viridescens*, by UV-C has also been studied. Five curves were obtained to describe inactivation of *W. viridescens* inoculum in vitro, each curve corresponding to a fixed intensity of UV-C radiation. In addition to these experiments, experiments were carried out on meat products with the application of 1.93 W/m^2 (10 lamps) at different times. The use of UV-C radiation was not efficient for inactivation of the evaluated bacteria in ham, in the conditions studied in the present work. Already the tests carried out on sausages showed the possibility of using the technique to prolong the shelf life of these foods, even when packed. Therefore, vacuum packed sausage shelf life studies were performed comparing irradiated samples and non-irradiated samples. An increase of about 70% in the shelf life of the product was verified due to the decrease of the initial microorganism concentration. For all the experimental inactivation curves of both tested microorganisms, the Weibull primary model presented a good fit to the data. After the primary adjustment for lactic acid bacteria (BAL) studied in vitro and for fungus in apple juice, four secondary models were tested to describe the influence of radiation intensity on α (form factor) and β (scale factor). Based on the primary and secondary models, the dynamic model proposed by Peleg (2006) was adapted and used to predict the data obtained by applying UV-C with varying radiation intensities over time. Thus, the *P. expansum* in apple juice and *W. viridescens* in vitro inactivation dynamic models were obtained and validated by the UV-C radiation application at different radiation intensities varying by the time. These models have great potential for industrial application.

Keywords: *Weissella viridescens*; *Penicillium expansum*; Predictive microbiology; UV-C inactivation; Apple; Meat products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1 Espectro eletromagnético.....	52
Figura 2. 2 Representação da radiação UV no DNA dos microrganismos	53
Figura 2. 3 Representação esquemática dos efeitos de sombreamento de radiação UV nas superfícies de frutas arredondadas.....	58
Figura 2. 4 Curva de crescimento microbiano.....	60
Figura 2. 5 Curvas de inativação de microrganismos usualmente observadas na literatura. No gráfico (a) estão representadas as curvas: (Δ) log-linear; (x) log-linear com cauda; (\square) sigmoidal; (\circ) log-linear precedida de ombro. No gráfico (b): (Δ) bifásica; (x) côncava; (\square) bifásica com ombro; (\circ) convexa.	65
Figura 2. 6 Curvas de sobrevivência descritas pelo modelo de Weibull com diferentes valores para o fator de forma α	66
Figura 3. 1 Representação do primeiro equipamento desenvolvido.....	70
Figura 3. 2 Disposição das lâmpadas para os experimentos com 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas.....	72
Figura 3. 3 Aparato experimental para processamento não térmico de alimentos	73
Figura 3. 4 Radiômetro.....	74
Figura 3. 5 Exemplo de variação da dose de radiação pelo tempo.....	75
Figura 3. 6 Fluxograma ilustrativo do processo experimental para o preparo da suspensão de <i>P. expansum</i>	76
Figura 3. 7 Inóculo in vitro.....	78
Figura 3. 8 Maçã com inóculo para ser submetida ao tratamento por radiação UV-C	80
Figura 3. 9 Suco inoculado sob agitação, com radiômetro ao lado para aplicação da radiação UV-C com controle da dose de radiação para experimento de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.	81
Figura 3. 10 Fluxograma ilustrativo do processo experimental para inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	82
Figura 3. 11 Salsichas com inóculo de <i>W. viridescens</i>	86
Figura 3. 12 Disposição das salsichas na estufa incubadora com controle da temperatura.....	90
Figura 4. 1 Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4 e 8 lâmpadas para os experimentos de inativação de <i>P. expansum</i> in vitro.	99

Figura 4. 2	Curvas de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> in vitro, após secagem do inóculo, ao longo do tempo pela aplicação de diferentes intensidades de radiação UV-C (0,60; 1,41 e 2,20 W/m ²). A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados..	104
Figura 4. 3	Curvas de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> úmido e seco sob condição in vitro em diferentes intensidades de radiação UV-C (aproximadamente 0,50 e 1,40 W/m ²). A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.	105
Figura 4. 4	Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de <i>P. expansum</i> in vitro.	106
Figura 4. 5	Curvas de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> úmido sob condição in vitro em cinco diferentes intensidades de radiação UV-C. A linhas representam o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.	109
Figura 4. 6	Curva de inativação de <i>P. expansum</i> em maçã sob 2,20 W/m ² de radiação UV-C. A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.	111
Figura 4. 7	Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.	114
Figura 4. 8	Cinética de inativação para <i>P. expansum</i> em suco de maçã submetido a cinco intensidades de radiação (0,66; 1,26; 1,68; 1,84 e 2,14 W/m ²). O Modelo de Weibull ajustado aos dados experimentais está representado pelas curvas com diferentes traços para diferenciação das intensidades de radiação.	115
Figura 4. 9	Ajuste do modelo secundário da Raiz quadrada para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α	120
Figura 4. 10	Ajuste do modelo secundário exponencial para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β	122
Figura 4. 11	Simulação da Variação da intensidade de radiação com o tempo.	123
Figura 4. 12	Predição da cinética de inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã em função do tempo em condições variáveis de radiação (linha contínua) e os dados experimentais obtidos na condição de intensidade variável.	124
Figura 4. 13	Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.	125

Figura 4. 14	Curvas de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro pelo tempo com a aplicação de diferentes intensidades de radiação UV-C. A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull com α igual a 1,299 aos dados experimentais.	130
Figura 4. 15	Influência da intensidade de radiação sobre o fator de escala (parâmetro β) para inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro. A linha contínua representa o ajuste do modelo secundário aos dados experimentais.	132
Figura 4. 16	Curva de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro em função do tempo sob radiação UV-C com intensidade variável (a). Variação de intensidade de radiação pelo tempo (b).	133
Figura 4. 17	Curvas de inativação de <i>W. viridescens</i> em presunto, salsicha e linguiça pela aplicação de radiação ultravioleta UV-C na intensidade de 1,93 W/m ²	134
Figura 4. 18	Curva de inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo por aplicação de radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m ²	139
Figura 4. 19	Crescimento de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo sob refrigeração com e sem submissão à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m ² por 5 segundos (experimento 1).	143
Figura 4. 20	Crescimento de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo sob refrigeração com e sem submissão à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m ² por 5 segundos (experimento 2).	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 3. 1 Condições avaliadas nos experimentos de inativação de <i>P. expansum</i>	76
Tabela 3. 2 Condições avaliadas nos experimentos de inativação de <i>W. viridescens</i>	83
Tabela 3. 3 Modelos secundários avaliados para descrever a influência da intensidade de radiação no parâmetro fator de escala (β) da inativação de <i>W. viridescens</i>	94
Tabela 4. 1 Valores de intensidade de radiação para inativação de inóculo <i>P. expansum</i> in vitro seco.....	100
Tabela 4. 2 Índices estatísticos do ajuste dos modelos primários de Weibull, Log linear + cauda e Log-linear aos dados experimentais de inativação de esporos secos de <i>P. expansum</i> , pela aplicação de radiação UV-C in vitro.....	102
Tabela 4. 3 R^2 , RMSE, Fator bias e Fator exatidão referentes ao ajuste do modelo de Weibull aos dados de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> seco com a aplicação de três diferentes intensidades de radiação UV-C.	103
Tabela 4. 4 Valores de intensidade de radiação para inativação de <i>P. expansum</i> in vitro.	107
Tabela 4. 5 Parâmetros do modelo de Weibull obtidos com o parâmetro α variável e fixo (0,35).	108
Tabela 4. 6 Dados estatísticos (R^2 , RMSE, Fator bias, Fator exatidão) referentes ao ajuste do modelo de Weibull com α fixo aos dados experimentais de inativação de esporos úmidos de <i>P. expansum</i> in vitro sob a aplicação de diferentes intensidades de radiação.	110
Tabela 4. 7 Valores de intensidade de radiação para inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.	115
Tabela 4. 8 Parâmetros (alfa e beta) e índices estatísticos (R^2 , RMSE, Bias e Exatidão) obtidos pelo ajuste do modelo de Weibull para descrever a inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	118
Tabela 4. 9 Valores de R^2 para a escolha do modelo secundário que melhor descreve a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α para inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.	120
Tabela 4. 10 Valores de R^2 para a escolha do modelo secundário que melhor descreve a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β para inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.	121

Tabela 4. 11 Valores de intensidade de radiação para inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.....	125
Tabela 4. 12 Índices estatísticos do ajuste dos modelos primários de Weibull e Log linear +ombro aos dados experimentais de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro, pela aplicação de radiação UV-C.	127
Tabela 4. 13 Parâmetros do modelo de Weibull obtidos com o parâmetro α variável e fixo (1,299).....	129
Tabela 4. 14 Dados estatísticos (R^2 , RMSE, Fator bias, Fator exatidão) referentes ao ajuste do modelo de Weibull com α fixo aos dados experimentais de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro sob a aplicação de diferentes intensidades de radiação. O valor de tempo para obtenção de 6 reduções decimais (t_{6D}) também é apresentado.	131
Tabela 4. 15 Modelos secundários que descrevem a influência da intensidade de radiação (I) sobre o fator de escala (β)......	131
Tabela 4. 16 Parâmetros e dados estatísticos obtidos pelo ajuste do Modelo de Weibull aos dados de inativação de <i>W. viridescens</i> pela aplicação de radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m ²	136
Tabela 4. 17 Valores de média e desvio padrão das análises realizadas em salsicha.....	141
Tabela 4. 18 Comparação dos efeitos radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m ² por 5 segundos na vida útil de salsicha embalada a vácuo.....	145

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	29
1.1 OBJETIVOS.....	31
1.1.1 Objetivos específicos.....	31
2 REVISÃO	35
2.1 MAÇÃ.....	35
2.1.1 Suco de maçã.....	36
2.1.2 Deterioração de maçã e suco de maçã.....	37
2.1.2.1 <i>Penicillium expansum</i>	37
2.1.2.2 Métodos de desinfecção e conservação de frutas e suco de maçã.....	40
2.2 PRODUTOS CÁRNEOS: PRESUNTO, SALSICHA E LINGUIÇA.....	42
2.2.1 Deterioração de Produtos Cárneos.....	45
2.2.1.1 Bactérias ácido lácticas (BAL).....	46
2.2.1.1.1 <i>Weissella viridescens</i>	48
2.2.2 Métodos de conservação de produtos cárneos.....	49
2.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.....	50
2.4 ESTUDO DE VIDA ÚTIL.....	59
2.5 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	61
2.5.1 Modelos primários de crescimento.....	62
2.5.1.1 Modelo de crescimento de Baranyi e Roberts.....	62
2.5.2 Modelos primários de inativação.....	63
2.5.3 Modelos secundários.....	66
2.5.4 Modelos sob condições ambientais variáveis.....	67
3 MATERIAL E MÉTODOS	69
3.1 DESENVOLVIMENTO DO EQUIPAMENTO DE RADIAÇÃO UV-C.....	69
3.1.1 Medida da intensidade de radiação aplicada para inativação.....	74
3.2 INATIVAÇÃO DE <i>P. EXPANSUM</i> POR RADIAÇÃO UV-C.....	75
3.2.1 Preparo da suspensão de esporos de <i>P. expansum</i>	76
3.2.2 Seleção da cepa de <i>P. expansum</i> mais resistente.....	77
3.2.3 Inativação de esporos secos de <i>P. expansum</i> in vitro.....	77
3.2.4 Inativação de esporos úmidos de <i>P. expansum</i> in vitro.....	78
3.2.5 Inativação de esporos de <i>P. expansum</i> em alimentos.....	79
3.2.5.1 Inativação de <i>P. expansum</i> em maçã.....	79
3.3 INATIVAÇÃO DE <i>W. VIRIDESCENS</i> POR RADIAÇÃO UV-C.....	83
3.3.1 Preparo do inóculo de <i>W. viridescens</i>	83
3.3.2 Inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.....	84

3.3.3 Inativação de <i>W. viridescens</i> em presunto.....	84
3.3.4 Inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha.....	85
3.3.4.1 Salsicha submetida à radiação UV-C sem embalagem.....	85
3.3.4.2 Escolha da embalagem para inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C.....	87
3.3.4.3 Inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C.....	88
3.3.5 Inativação de <i>W. viridescens</i> em linguiça.....	88
3.4 ESTUDOS DE VIDA ÚTIL DE SALSICHA EMBALADA A VÁCUO COM INÓCULO DE <i>W. viridescens</i> SUBMETIDOS À RADIAÇÃO UV-C.....	89
3.4.1 Caracterização da salsicha utilizada no experimento de vida útil.....	91
3.5 MODELAGEM MATEMÁTICA DAS CURVAS DE INATIVAÇÃO MICROBIANA.....	92
3.5.1 Modelos primários.....	92
3.5.1.1 Modelagem do crescimento de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo.....	93
3.5.2 Modelos secundários.....	94
3.5.3 Modelo com variação da intensidade de UV-C.....	94
3.5.4 Avaliação estatística dos modelos.....	96
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
4.1 INATIVAÇÃO DE <i>P. expansum</i>	99
4.1.1 Intensidades de radiação utilizadas nos experimentos de inativação de esporos de <i>P. expansum</i> secos.....	99
4.1.2 Avaliação da cepa mais resistente à radiação UV-C.....	100
4.1.3 Inativação de <i>P. expansum</i> in vitro.....	100
4.1.4 Modelagem da inativação de esporos úmidos de <i>P. expansum</i> in vitro por radiação UV-C utilizando cinco diferentes intensidades de radiação.....	106
4.1.5 Inativação de <i>P. expansum</i> em alimentos.....	111
4.1.5.1. Inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	113
4.1.5.1.1 Teste para verificar a estabilidade dos esporos de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	113
4.1.5.1.2 Cálculo das Intensidades de radiação utilizadas para inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	114
4.1.5.1.3 Definição do modelo primário de inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	115
4.1.5.1.4 Definição dos modelos secundários de inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã.....	119

4.1.5.1.5 Definição do modelo dinâmico de inativação de <i>P. expansum</i> em suco de maçã pela aplicação de radiação UV-C.....	122
4.2 INATIVAÇÃO DE <i>W. VIRIDESCENS</i>	124
4.2.1 Cálculo das Intensidades de radiação utilizadas para inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.....	124
4.2.2 Modelos Primários de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.....	125
4.2.3 Modelos secundários de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro...131	
4.2.4 Modelo dinâmico de inativação de <i>W. viridescens</i> in vitro.....	132
4.2.5 Inativação de <i>W. viridescens</i> em alimentos.....	133
4.2.5.1 Inativação de <i>W. viridescens</i> em presunto fatiado.....	133
4.2.5.2 Inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha.....	135
4.2.5.3 Inativação de <i>W. viridescens</i> em linguiça.....	137
4.2.5.4 Inativação de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo...138	
4.3 ESTUDO DE VIDA ÚTIL DE SALSICHA EMBALADA A VÁCUO SUBMETIDA À RADIAÇÃO UV-C.....	140
4.3.1 Caracterização da Salsicha.....	140
4.3.2. Comparação da vida útil de salsichas submetidas à radiação UV-C e salsichas não irradiadas.....	143
5 CONCLUSÃO.....	147
REFERÊNCIAS.....	149

1 INTRODUÇÃO

A deterioração de alimentos por microrganismos causa grandes perdas para indústrias (MARTINS, 2015), determinando, na maioria dos casos, o final da vida útil dos alimentos. Para diminuir estes prejuízos, é necessário conhecer o principal deteriorante do alimento, bem como encontrar processos para inativar ou dificultar seu crescimento.

Os tratamentos térmicos e o uso de aditivos químicos estão entre as técnicas mais utilizadas para conservação de alimentos (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004; ALLENDE et al., 2009; ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009). O uso de calor pode alterar as características sensoriais e nutritivas dos alimentos como alteração da cor, perda de aromas e perda de compostos benéficos à saúde do consumidor (BAHÇECI; ACAR, 2007; GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004). Sanitizantes químicos como cloro também são amplamente utilizados e possuem inúmeras desvantagens como depósito de resíduos prejudiciais à saúde do consumidor, ao ambiente quando descartados, além da produção de gases tóxicos prejudiciais ao manipulador destes alimentos (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998).

Uma promissora alternativa aos tratamentos citados, de fácil aplicação, sem efeitos prejudiciais ao meio ambiente ou ao consumidor do alimento é o uso de radiação ultravioleta na faixa de comprimento de onda de 200 a 280 nm (UV-C) (BARBOSA-CANOVAS et al., 1998; MANZOCCO et al., 2016). Uma vez que o tratamento é superficial, se faz necessário o conhecimento do alimento a ser irradiado.

A aplicação de UV-C como uma técnica não térmica para prolongar a vida útil de alimentos cárneos foi encontrada em diversos estudos (CHUN et al., 2009; WAMBURA; VERGHESE, 2011; CARLI et al., 2013), porém esta técnica é mais comumente utilizada para a conservação de bebidas, sucos e frutas (TREMARIN; BRANDÃO; SILVA, 2016; SYAMALADEVI et al., 2013; GABRIEL, 2012; GÓMEZ et al., 2010; GRAÇA, et al., 2013; IBARZ et al., 2014; MANZOCCO et al., 2011; MÜLLER et al., 2014; ORLOWSKA et al., 2015; UKUKU; GEVEKE, 2010; YIN et al., 2015).

Alguns alimentos de grande importância comercial no estado de Santa Catarina são os produtos cárneos e maçã e seus produtos. Santa Catarina é o maior produtor brasileiro de maçã e estima-se que, no ano de 2017, tenha produzido 50% do volume nacional. Em relação à quantidade, a safra foi praticamente igual à 2016, quando foram colhidas 552 mil toneladas em 16 mil hectares. O grande destaque está na

qualidade das frutas colhidas, uma das mais altas da história (GOVERNO DE SANTA CATARINA, 2017).

Com forte tradição na pecuária, Santa Catarina é berço das principais empresas do setor de carnes do Brasil. O estado conta com 18 mil produtores integrados às agroindústrias e o setor de carnes gera quase 60 mil empregos diretos em frigoríficos e indústrias de beneficiamento. Como maior produtor nacional de carne suína e o segundo maior de carne de frango, Santa Catarina atende o mercado brasileiro e o exterior, com presença em mais de 120 países (GOVERNO DE SANTA CATARINA, 2017).

Para reduzir perdas por deterioração e conseguir aumentos significativos na vida útil de produtos frescos e curados, principalmente carnes vermelhas, embalagens a vácuo são amplamente utilizadas (MANTILLA et al., 2010). Os produtos cárneos embalados a vácuo, como os embutidos, geralmente passam pelo processo térmico para inativação de microrganismos. Aqueles que sobrevivem ao processo térmico são controlados pela utilização de sais de cura, que auxiliam na inibição de microrganismos anaeróbios, porém podem favorecer o crescimento de outras bactérias Gram positivas, como as bactérias lácticas (BAL), bolores e leveduras. BAL acabam tornando-se dominantes nestes produtos por serem relativamente insensíveis aos nitritos e por serem microaerófilas (GOMES, 2007; JAY, 2005).

As BAL causam alterações indesejáveis no sabor, odor e aparência dos alimentos, com diminuição da sua vida útil. A bactéria *Weissella viridescens* destaca-se como uma das principais BAL deteriorantes. Diante disso, o estudo da deterioração de carnes e produtos cárneos embalados a vácuo ou em atmosfera modificada deve ser baseado no desenvolvimento dessas bactérias (CAMARGO, 2015).

Já o contaminante e deteriorante citado em diversos trabalhos como o mais encontrado em maçãs é o *Penicillium expansum* (LABUDA et al., 2005; AMIRI; BOMPEIX, 2005; SALOMÃO et al., 2014), um fungo conhecido como responsável pelo aparecimento da “podridão azul” e pela produção da micotoxina patulina.

Para estudar a inativação dos principais deteriorantes dos alimentos, como os citados, através da aplicação de um tratamento como a radiação UV-C, faz-se uso da Microbiologia Preditiva. Esta é uma ferramenta que engloba conhecimentos de matemática, engenharia, química e biologia para tratar e prever comportamento microbiológico em determinadas condições através de modelos matemáticos (McDONALD; SUN, 2008).

Não foi encontrado na literatura estudo que indique a aplicação de radiação UV-C, para inativação de BAL, como uma alternativa para prolongar a vida útil de produtos cárneos embalados a vácuo. Assim como não foi encontrado trabalho que descreva através de modelos matemáticos a inativação de *P. expansum* em suco de maçã pela aplicação de radiação UV-C.

Diante da importância econômica de maçãs e carnes para o estado de Santa Catarina e do grupo de pesquisa em que o presente trabalho está sendo desenvolvido, em que diversas pesquisas foram desenvolvidas com BAL (CAMARGO, 2015; MARTINS, 2015; SILVA, 2015; MENEZES, 2016) e com contaminantes de maçã e seus produtos (SALOMÃO, 2009; TREMARIN, 2013), foram escolhidos dois grupos de alimentos para inativação de seus principais microrganismos deteriorantes: produtos cárneos e fruta (maçã e suco).

1.1 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar e modelar a inativação de microrganismos deteriorantes de maçãs e seus produtos (*P. expansum*) e produtos cárneos (*W. viridescens*), através do uso de radiação ultravioleta (UV-C).

1.1.1 Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Desenvolver um equipamento para aplicação de radiação UV-C para inativação de microrganismos.
- Verificar a eficiência de radiação UV-C para inativação de *P. expansum* in vitro, em maçã e em suco de maçã.
- Obter os parâmetros de inativação por UV-C dos esporos de *P. expansum* in vitro, em maçã e em suco de maçã nas intensidades de radiação fixas estudadas, através do ajuste do modelo primário aos dados experimentais.
- Descrever a influência da intensidade de UV-C sobre os parâmetros primários de inativação de *P. expansum* em suco de maçã, através de modelos secundários apropriados.

- Estabelecer e validar o modelo preditivo de inativação de *P. expansum* em suco de maçã sob condições dinâmicas de variação de intensidade de radiação, a partir do modelo primário e secundário selecionados.
- Verificar a eficiência de radiação UV-C para inativação de *W. viridescens* in vitro e na superfície de produtos cárneos (presunto fatiado, linguiça, salsicha e salsicha embalada a vácuo).
- Obter os parâmetros de inativação por UV-C de inóculo de *W. viridescens* in vitro sob diferentes intensidades de radiação fixas, através do ajuste do modelo primário aos dados experimentais.
- Descrever a influência da intensidade de UV-C sobre os parâmetros primários de inativação de *W. viridescens*, através de modelos secundários apropriados.
- Estabelecer e validar o modelo preditivo de inativação de *W. viridescens* in vitro sob condições dinâmicas de variação de intensidade de radiação, a partir do modelo primário e secundário selecionados.
- Avaliar a possibilidade de aplicar a radiação na salsicha já embalada.
- Estudar a vida útil de salsicha embalada a vácuo após tratamento superficial com UV-C para inativação de *W. viridescens*.

DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO

Por quê?

Técnicas alternativas ao tratamento térmico para conservação de alimentos e que preservem suas características naturais são necessárias. UV-C é apontada como uma das principais técnicas não térmicas para substituir os tratamentos térmicos ou a utilização de produtos químicos, prejudiciais ao meio ambiente e a saúde do consumidor, para inativação de microrganismos. Diante dos problemas de deterioração e contaminação de maçãs por fungos e de deterioração de produtos cárneos embalados a vácuo por bactérias ácido láticas, o estudo sobre a aplicação da técnica alternativa para conservação e possível aumento da vida útil destes alimentos se fez necessário.

Quem já fez?

Syamaladevi et al. (2014) e Syamaladevi et al. (2015) realizaram estudos nos quais foram obtidos modelos de inativação de *P. expansum* em frutas através da aplicação de UV-C.

Manzocco et al. (2016) obtiveram resultados relevantes para aumento da vida útil de abacaxi em fatias pela inativação de leveduras, fungos, *Enterobacteriaceae* e bactérias ácido láticas com a aplicação de radiação ultravioleta.

Chun et al. (2009) inativaram microrganismos patogênicos de presunto fatiado usando radiação UV-C.

Não foi encontrado na literatura estudo do efeito da inativação de bactérias ácido láticas na vida útil de produtos cárneos embalados a vácuo tratados com UV-C.

Hipóteses

Há a possibilidade de inativação de esporos de *P. expansum* e de *W. viridescens* in vitro e em alimentos por UV-C, permitindo o aumento da vida útil dos alimentos em que esses microrganismos são contaminantes.

Existe a possibilidade de que o efeito da UV-C sobre a inativação do *P. expansum* seja positivo e semelhante ao efeito *in vitro* e na superfície de alimentos.

Modelos matemáticos que descrevam a inativação de esporos de *P. expansum* sob diferentes intensidades de UV-C fixas e em condições dinâmicas de variação são esperados.

Espera-se que UV-C seja efetivo na inativação de *W. viridescens* in vitro e em produtos cárneos.

Modelos preditivos de inativação de inóculo de *W. viridescens* sob diferentes intensidades de UV-C fixas e em condições dinâmicas de variação são esperados.

A aplicação de UV-C em produtos cárneos embalados a vácuo pode prolongar a vida útil do produto.

Metodologia

- Inativação da suspensão de esporos de *P. expansum* in vitro, em maçã e em suco de maçã por aplicação de UV-C.
- Inativação de *W. viridescens* in vitro e em produtos cárneos por aplicação de UV-C.
- Modelagem matemática de inativação microbiana.
- Estudo de vida útil de salsicha embalada a vácuo com e sem processamento por radiação UV-C.

Respostas

- Possibilidade de inativação dos microrganismos alvos pela aplicação de UV-C nas condições estudadas
- Obtenção dos parâmetros dos modelos primários de inativação para os dois microrganismos testados.
- Obtenção do modelo secundário para inativação de *P. expansum* para diferentes intensidades de radiação, com posterior obtenção do modelo em condições dinâmicas, ou seja, variando as intensidades de radiação aplicada.
- Obtenção do modelo secundário para inativação de *W. viridescens* para diferentes intensidades de radiação, com posterior obtenção do modelo em condições dinâmicas, ou seja, variando as intensidades de radiação aplicada.
- Diferença no tempo de vida útil de produtos cárneos embalados a vácuo causada pela aplicação de UV-C para inativação de BAL.

2 REVISÃO

Esta seção tem como objetivo fornecer embasamento teórico sobre os diferentes assuntos abordados no presente trabalho.

2.1 MAÇÃ

Maçã (*Malus domestica Borkh*), uma das frutas mais produzidas e consumidas no mundo, de alto valor nutricional e econômico, é uma rica fonte de compostos antioxidantes, carboidratos, minerais essenciais e fibras dietéticas (PFANNHAUSER et al., 2001; RICE-EVANS, 2001; SADIK; SIES; SCHEWE, 2003).

As macieiras são cultivadas em todo o mundo, mas estão especialmente concentradas no hemisfério norte. O fator determinante no plantio das macieiras numa região depende do período de baixa temperatura que é necessário para o repouso vegetativo e quebra de dormência (BARRETT et al., 2005). Devido ao clima frio, a maior concentração do cultivo no Brasil está na Região Sul. O estado de Santa Catarina se destaca por ser o maior produtor brasileiro de maçã (IBGE, 2017). Há uma expectativa para 2017 que além da quantidade produzida, cerca de 552 mil toneladas, haja um aumento da qualidade das frutas produzidas (ESTADO DE SANTA CATARINA, 2017).

As maçãs podem ser classificadas em comerciais ou industriais, de acordo com a finalidade. As maçãs comerciais são consumidas frescas (*in natura*) e, portanto, devem atender a padrões rígidos de qualidade. No Brasil, os pomares não produzem frutas exclusivas para diferentes classes de maçãs. Na comercialização das maçãs, a etapa de classificação gera um descarte de 15 a 30 % de frutas que não alcançaram o padrão exigido para o consumo, apresentando algum defeito de ordem física, fisiológica ou fitopatológica (NOGUEIRA et al., 2007). Essas frutas fora do padrão comercial são direcionadas à industrialização, para a elaboração, principalmente, de sucos que são exportados na forma de concentrado (NOGUEIRA et al., 2007). As maçãs industriais também são usadas na fabricação de sidra, vinagre, purê, geleias, alimentos infantis e demais produtos (SANTOS et al., 2005; NOGUEIRA et al., 2004; NOGUEIRA; WOSIACKI, 2010; NOGUEIRA; WOSIACKI, 2012).

2.1.1 Suco de maçã

Segundo a Instrução Normativa N°1, de 07 de janeiro de 2000, o suco de maçã é definido como bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da maçã, através de processo tecnológico adequado. Deve obedecer algumas características, como cor branca e translúcida; sabor e aroma próprio; teor mínimo de sólidos solúveis (20 °C) de 10,5 °Brix; acidez total expressa em ácido málico mínima de 0,15 g/100g; açúcares totais naturais da maçã máximo de 13,5 g/100g, e acidez volátil em ácido acético máxima de 0,04 g/100g (BRASIL, 2000).

O suco de maçã pode ser processado e comercializado de diferentes formas: suco clarificado, suco polposo (não clarificado), suco concentrado congelado (clarificado ou não, com aproximadamente 42°Brix) e suco concentrado de alto teor de sólidos solúveis (70°Brix) (ROOT; BARRET, 2005). Em geral, os sucos de frutas são principalmente comercializados no mercado global na forma concentrada, pela facilidade de transporte e longa conservação (ROSA et al., 2006).

No Brasil, grande parte do descarte das maçãs é transformado em suco concentrado e cerca de 90% deste é exportado para os Estados Unidos, onde são elaborados suco de maçã reconstituído e produtos infantis, cuja matéria prima constitui de cultivares de mesa com baixos teores de ácidos e taninos e elevados teores de açúcares, com corpo de boa aceitação sensorial (NOGUEIRA et al., 2007).

O suco de maçã pronto para beber (11,5 °Brix) pode ser feito tanto a partir do suco recém extraído quanto do suco concentrado (SANT'ANA, 2007). Para a fabricação dos néctares, ocorre a etapa de formulação, onde são adicionados antioxidantes, como ácido ascórbico, e acidulantes, como ácido cítrico (BRASIL, 1988). O suco (11,5 °Brix) é comumente pasteurizado em temperaturas entre 90-95°C por poucos segundos, permitindo a estocagem em temperatura ambiente (BAHÇECI; ACAR, 2007).

A grande preocupação na indústria de sucos de maçã está principalmente relacionada aos microrganismos deteriorantes que produzem toxinas e são capazes de sobreviver ao tratamento térmico. As temperaturas necessárias para um processo de pasteurização eficaz, a partir do ponto de vista microbiológico, podem também produzir alterações organolépticas indesejáveis. Assim, a investigação sobre a microbiota de sucos inclui o desafio de avaliar a capacidade de sobrevivência e multiplicação dos microrganismos resistentes ao calor (BAHÇECI; ACAR, 2007).

2.1.2 Deterioração de maçã e suco de maçã

As espécies de fungos termorresistentes identificadas como deteriorantes de produtos à base de frutas são: *Byssochlamys nivea*, *B.fulva*, *Neosartorya fischeri*, *Talaromyces* sp. e *Eupenicillium* sp. (VALIK; PIECKOVA, 2001; SURESH et al., 1996; TOURNAS, 1994). Micotoxinas como, por exemplo, patulina, ácido bissoclâmico, variotina, fumitremorginas, e verruculogena podem ser produzidas por certas espécies de fungos termorresistentes. Linhagens de *Byssochlamys* e *Neosartorya* têm se tornado um problema industrial, devido à deterioração e à produção de micotoxinas (RICE et al., 1977; PATTERSON et al., 1981). *N. fischeri* é um potencial produtor de micotoxinas como as fumitremorginas (A, B, C) e a verruculogena (NIELSEN, 1991; SURESH et al., 1996; TOURNAS, 1994). *B. nivea* é conhecida como uma das espécies capazes de produzir patulina (PITT; HOCKING, 2009).

A patulina (PAT) é uma micotoxina produzida por algumas espécies de fungos do gênero *Penicillium*, *Aspergillus* e *Byssochlamys*, que podem crescer em vários alimentos, sendo o fungo mais importante o *Penicillium expansum* (SOUZA, 2009).

Os principais alimentos infectados são maçãs e peras, assim como seus derivados, sucos e sidras. A ocorrência de podridão nesses frutos promove a contaminação dos mesmos pela patulina. Esta micotoxina normalmente migra para o tecido sadio e é encontrada em concentrações mais altas na parte da fruta não deteriorada pelo fungo. Por esta razão, recomenda-se a retirada da podridão e do tecido sadio próximo para prevenção da contaminação pela patulina. A contaminação de sucos de maçã acontece principalmente no período de entressafras, onde as frutas estragadas são utilizadas juntamente com as sadias (CASTRO et al., 2014).

Maçãs representam um ótimo substrato para o desenvolvimento de fungos termorresistentes e a produção de micotoxinas como a patulina (SILHA; ASKAR, 1999). A contaminação de sucos de maçã com esta toxina geralmente resulta do uso de frutas com qualidade deficiente no processamento (WELKE et al., 2008).

2.1.2.1 *Penicillium expansum*

O gênero *Penicillium* foi descrito pela primeira vez na literatura científica por Johann Heinrich Friedrich Link em 1809, significando “pinçel” (LINK, 1809). Link (1809) citou três espécies *P. candidum*, *P.*

expansum e *P. glaucum*, todas produzindo um conidióforo tipo escova (estrutura de reprodução assexuada).

Penicillium é um dos gêneros de fungos mais comuns, sendo encontrado no solo, em vegetação, no ar, ambientes internos e vários produtos alimentares. Algumas espécies causam grandes perdas em pré e pós-colheita em culturas alimentares (FRISVAD; SAMSON, 2004; PITT; HOCKING 2009), além de produzir uma gama de micotoxinas (FRISVAD; SMEDSGAARD; LARSEN, 2004). Impactos positivos para indústria de alimentos também são observados, como a produção de queijos finos, tais como Camembert ou Roquefort (GIRAUD et al., 2010) e salsichas fermentadas como culturas starters (LUDEMANN et al., 2010). Sua capacidade de degradação de matéria orgânica levou a testes de espécies para a produção de novas enzimas (ADSUL et al., 2007, TERRASAN et al., 2010). Esse gênero apresenta grande importância para a produção de penicilina, que revolucionou abordagens médicas para tratar doenças bacterianas (FLEMING, 1929; THOM, 1945). O gênero era classificado como deuteromicetos devido à reprodução assexuada, porém este gênero se divide em mais de 300 espécies (KIRK et al., 2008), muitas dessas podem também realizar reprodução sexuada, possuindo outras classificações.

P. expansum, *P. digitatum* e *P. italicum* são ascomicetos (filo) filamentosos fitopatogênicos que atacam frutas. Os patógenos maceram o tecido do hospedeiro e produzem quantidades significativas de enzimas hidrolíticas, sendo a poligalacturonase especialmente abundante (YAO; CONWAY; SAMS, 1996).

P. expansum é uma espécie de fungo, do gênero *Penicillium*, economicamente importante por causar danos a maçãs, mas também é comumente encontrado em frutas cítricas, peras e cerejas. Entre os fungos isolados por Viñas et al. (1993), *P. expansum*, causador do "mofo azul", foi o mais encontrado e responsável por 70% a 80% das perdas de frutas armazenadas. Além disso, é considerado o principal produtor de patulina. Quando as maçãs contaminadas por *P. expansum* são usadas para elaborar produtos de maçã (por exemplo, sucos de frutas), esses produtos provavelmente serão contaminados com a toxina (MORALES et al., 2008).

Os locais de infecção inicial geralmente ocorrem nas áreas feridas no fruto, em algum lugar que foi perfurado ou ferido, com a entrada dos conídios (TORRES et al., 2006). Geralmente, os cortes ocorrem durante a colheita e o processamento da fruta. Conídios podem ser encontrados em todo o solo, na superfície das plantas, detritos em decomposição, casca de árvore, no ar do pomar, em tanques e água de

lavagem das frutas (SPOTTS; CERVANTES, 1993), em caixas de madeira (bins) contaminadas (SANDERSON; SPOTTS, 1995), nas salas de empacotamento e na atmosfera (AMIRI; BOMPEIX, 2005). Estes podem ser encontrados em qualquer estação, pois sobrevivem ao frio, uma vez que os fungos são psicotróficos. Como os conídios existem e sobrevivem em cada passo e ambiente dos processos de cultivo, colheita, processamento, transporte e armazenamento, as frutas feridas ou danificadas podem ser inoculadas em qualquer uma dessas fases. Depois que os conídios têm acesso ao fruto ou ao caule, germinam e formam um tubo germinativo. Este tubo de germinação continuará a crescer em hifas e eventualmente micélio para colonizar a área.

P. expansum cresce melhor em condições úmidas, frescas e com acidez. Segundo Larous et al. (2007), este fungo foi o mais encontrado em maçã com podridão. A temperatura e a umidade relativa ótimas para crescimento encontradas foram 25°C e 90%, respectivamente. O fungo cresceu de forma mais eficiente a uma faixa de temperatura de 15-25 °C, com algum crescimento ainda, de forma mais lenta, a temperaturas mais baixas e superiores.

P. expansum é a espécie microbiana mais comum no período pós-colheita em maçãs, sendo um produtor de micotoxina patulina em sucos de frutas pasteurizados (XU; BERRIE, 2005; FUNES et al., 2013).

O *Penicillium* foi o fungo mais encontrado em maçãs para processamento de suco, no estudo de Salomão et al. (2014). No entanto, a etapa de pré-concentração era suficiente para destruir completamente esporos de *Penicillium* uma vez que não foram encontrados nos estágios seguintes. Labuda et al. (2005) investigaram a incidência de fungos toxigenicos em frutas e *Penicillium* também foi relatado como o principal contaminante. Amiri e Bompeix, (2005) observaram que *P. expansum* foi a espécie mais prevalente em maçãs em salas de armazenamento. Além disso, no estudo de Salomão et al. (2014), metade das cepas de *Penicillium* foram identificadas como *P. expansum*. Durante o período de entressafra, as empresas de suco são abastecidas com maçãs armazenadas em câmeras frias. Portanto, a presença de *P. expansum* em maçãs deve ser considerada uma possível consequência do manejo pós-colheita de frutos associados com a extensão e as condições de armazenamento. Muitas vezes as maçãs não são processadas assim que recebidas na planta de processamento. Esta situação associada ao armazenamento sem nenhuma condição de refrigeração para, por vezes, mais de 5 dias, resulta em aumento no nível de patulina (SYDENHAM et al, 1995; SYDENHAM et al, 1997; SALOMÃO et al, 2014).

Este fungo tem a capacidade de produzir patulina em maçã e seus produtos (DOORES, 1983; WEIDENBÖRNER, 2001; MAFTEI et al., 2014). Patulina é uma micotoxina conhecida por causar danos oxidativos ao DNA de células humanas, que desempenha um papel na iniciação de mutagênese e câncer (LIU et al., 2003).

Maftei et al. (2014), Syamaladevi et al. (2014) e Syamaladevi et al. (2015) apontam e estudam a radiação ultravioleta como uma técnica promissora para inativação de *P. expansum*.

2.1.2.2 Métodos de desinfecção e conservação de frutas e suco de maçã

Para o controle de *P. expansum* em maçãs existem métodos biológicos, químicos e físicos.

O controle biológico pode ser feito com o uso de indutores de resistência, que estimulam a produção de substâncias naturais (MOREIRA et al., 2002; BLUM et al., 2007) como, por exemplo, a síntese de trans-resveratrol com o uso de elicitores para controle de podridões em maçãs (SAUTTER et al., 2008).

Para o controle químico, podem ser citados a utilização de fungicidas em pré e pós-colheita (PRESTES, 2003) e o cloro para desinfestação da água de lavagem e do ambiente (BEUCHAT et al., 1998).

Os fungicidas utilizados em pré e pós-colheita reduzem os microrganismos patogênicos e, pelo efeito residual, protegem as frutas durante o armazenamento e o transporte (SANHUEZA, 2018). Contudo, têm sido observados o alto custo e os riscos de contaminação ambiental e de intoxicação no momento da aplicação (ANTONIAZZI; DESCHAMPS, 2006), além da presença de resíduos nos frutos (BRACKMANN et al., 2004). Isto resulta em restrições cada vez maiores ao uso de agroquímicos, buscando alternativas que sejam eficazes no controle de doenças, mas que não comprometam a segurança do alimento e do meio ambiente (CONWAY, 2003; PERUCH; SILVA, 2005; DROBY, 2006).

Nas indústrias de frutas, o cloro (hipoclorito de sódio) é o desinfetante mais utilizado, pois a lavagem com soluções sanitizantes é a única etapa em que é possível reduzir a contaminação microbiana (ALLENDE et al., 2009; ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009). Embora uma variedade de desinfetantes, incluindo cloro, dióxido de cloro, água calcinada e ácidos orgânicos, tenham sido estudados por sua capacidade de reduzir os microrganismos, vários estudos relataram sua incapacidade de remover ou inativar alguns patógenos ou deteriorantes em produtos

frescos (KIM et al., 2000a, 2000b; KOSEKI; ITOH, 2001; PARK et al., 2001). Além disso, o cloro compromete a saúde, pois pode deixar resíduos sobre a superfície dos frutos (BEUCHAT et al., 1998). As reações químicas de cloro com matéria orgânica podem criar compostos tóxicos, tais como trihalometanos (ALLENDE et al., 2009). Somado a isso, a preparação de soluções de higienização a partir de produtos perigosos concentrados envolve riscos para os trabalhadores durante o processamento (ISSA-ZACHARIA et al., 2010). O uso de sanitizantes é prejudicial ao meio ambiente, devido ao grande consumo de água (CASANI et al., 2004) e por conter substâncias capazes de afetar diretamente os ecossistemas, alterar a oxigenação da água e até poluir rios, lagos e mares. Portanto, tem havido um grande interesse na substituição desse método químico como desinfetante de frutas.

Os tratamentos físicos incluem o controle da temperatura durante o armazenamento, sendo baixas (refrigeração em condições de atmosfera controlada) ou alta (com ar e água aquecidos) (LURIE, 2006). Segundo Kader (1992), o processo mais indicado para prolongar a vida útil pós-colheita de frutos e hortaliças é a refrigeração, pois a temperatura é um dos fatores ambientais que mais influenciam a qualidade de frutos e vegetais pós-colheita. No entanto, refrigeração não controla totalmente as podridões, sendo indicada em combinação a outros métodos. Outro aspecto importante, é que o fruto, ao ser recebido nas unidades de embalagem, deve ser refrigerado o mais rápido possível para remover o calor do campo, a fim de reduzir a respiração dos frutos e o crescimento de fungos (KUPFERMAN, 1986).

O tratamento físico mais utilizado para conservação de sucos de frutas, como suco de maçã é a pasteurização. No entanto, a pasteurização pode alterar aroma e sabor de tais produtos devido à temperatura e ao tempo de processamento, além da destruição de compostos fenólicos e consequente redução da atividade antioxidante (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004).

Uma forma de evitar essas perdas das características naturais dos alimentos é o uso de um tratamento físico não térmico. A introdução de novas tecnologias na indústria de alimentos como técnicas não-térmicas pode reduzir o tempo de processamento e melhorar as condições de operação industriais permitindo a inativação de microrganismos em temperaturas subletais, resultando em produtos de alta qualidade que preservam as características naturais. Esses produtos apresentam melhor preservação das propriedades sensorial, nutricional e funcionais dos alimentos (MAFTEI et al., 2014).

Além disso, tratamentos não térmicos são considerados mais benéficos em relação aos outros métodos de tratamento, devido a seu menor consumo de energia, redução do tempo de processamento e por não ser prejudicial ao ambiente. Técnicas não térmicas criam um equilíbrio global entre processador e expectativas dos consumidores uma vez que podem fornecer produtos de melhor qualidade e uma reduzida degradação ambiental, enquanto o processamento reduz custos e aumenta o valor agregado do produto (PEREIRA; VICENTE, 2010).

Dentre os tratamentos físicos não térmicos inclui-se a destruição das estruturas de microrganismos contaminantes com uso de radiação ultravioleta (FDA, 2011). O tratamento com a tecnologia UV-C oferece várias vantagens aos produtores de alimentos, pois não deixa resíduos, não tem restrições legais e não requer um amplo equipamento de proteção ao trabalhador (YOUSEF; MARTH, 1988; WONG et al., 1998). UV-C é usado como uma alternativa à esterilização química e redução microbiana em produtos alimentares e foi aprovado para uso como desinfetante para o tratamento de superfície de alimentos (FDA, 2011). Tem havido um interesse de longa data na aplicação de UV-C para a desinfecção de frutas e vegetais (YAUN et al., 2004). Por exemplo, Wilson et al. (1997) relataram que era viável tratar maçãs na linha de embalagem durante o processamento com radiação UV-C para controlar as perdas pós-colheita. Além disso, as lâmpadas UV-C de alta intensidade tornaram-se disponíveis e têm potencial para destruir as bactérias superficiais nos alimentos (KOUTCHMA et al., 2009), podendo ser aplicado até para conservação de produtos cárneos.

2.2 PRODUTOS CÁRNEOS: PRESUNTO, SALSICHA E LINGUIÇA

Produtos cárneos processados são aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou por meio da combinação destes tratamentos. Normalmente, o processo envolve cortes cárneos ou combinação destes, adição de condimentos, especiarias e aditivos diversos (PARDI et al., 1996).

De acordo com a Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000, entende-se por presunto, o produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior do suíno, desossado ou não, e submetido ao processo térmico adequado. Quando o membro posterior utilizado não for de suíno, o produto é denominado de presunto, seguido do nome da espécie animal de procedência. Trata-se de um produto curado, cozido ou semi-cozido, defumado ou não (BRASIL, 2000).

O Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017 define embutido como sendo produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (BRASIL, 2017).

A produção de embutidos engloba produtos cárneos ou não cárneos como ingredientes, onde cada um exerce uma função específica de acordo com a sua propriedade. Como a matéria prima dos ingredientes cárneos pode ser obtida de diversas fontes, isso acarreta em uma grande variação quanto à sua composição (REIS, 1999).

Segundo a Instrução Normativa SDA - 4, de 31/03/2000, define-se salsicha como um produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado (BRASIL, 2000).

As salsichas são feitas a partir de uma emulsão que consiste em misturar ingredientes hidrossolúveis e ingredientes lipossolúveis em um *cutter*, de preferência a vácuo e baixa temperatura. A mistura resultante, devido à extração das proteínas solúveis, torna-se viscosa e os pedaços de carne tornam-se aderentes. A massa cárnea é então enchida, ou formada, preferencialmente sob vácuo, para prevenir bolsões de ar dentro do produto. As salsichas podem ter como processo alternativo o tingimento, depelagem, defumação e a utilização de recheios e molhos (OLIVIO; SHIMOKOMAKI, 2006).

Conforme Instrução Normativa Nº4 de 2000, a matéria-prima da salsicha é basicamente composta de carne de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue, tendões, pele, gordura e alguns ingredientes opcionais como: água, proteína vegetal e/ou animal, agentes de liga, aditivos intencionais, açúcares, aromas, especiarias e condimentos. Nesta mesma normativa, consta que as salsichas deverão ser embaladas com materiais adequados para as condições de armazenamento e que assegure uma proteção apropriada contra a contaminação (BRASIL, 2000).

A salsicha é considerada o carro chefe da família dos embutidos com 27% da produção total. Teve sua origem na cidade de Frankfurt por um açougueiro de nome Johann Georghehner, na Alemanha por volta de 1484 e em 1893 o consumo explodiu nos Estados Unidos tornando-se populares em forma de cachorro quente em estádios de beisebol. Os

consumidores gostavam do produto porque ele era fácil de comer, prático e barato (PRICE; SCHWEIGERT, 1994; KORMIKIARIS, 2006).

A salsicha tipo hot-dog destaca-se como um dos produtos cárneos emulsionados mais populares, representando um importante segmento das carnes industrializadas (OLIVEIRA et al., 2012).

A salsicha é um dos produtos curados de massa fina que se caracteriza pelo seu elevado grau de divisão do seu processo de fabricação, como cura, emulsão e cozimento, etapas que requerem extrema atenção com profundos reflexos que interferem na qualidade final e na conservação do produto (TERRA, 2005).

Segundo a Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, entende-se por linguiça, o produto cárneo industrializado elaborado a partir de carnes de uma ou mais espécies de animais de açougue, obtida na forma crua ou cozida, dessecada ou não, defumada ou não, curada ou não, adicionado ou não de gorduras, toucinho, adicionado de ingredientes e embutidos em tripas naturais ou artificiais. Conforme tecnologia de fabricação (produto seco, curado, cozido, maturado) e composição das matérias-primas, as linguiças podem ser classificadas em: Linguiça Calabresa - é o produto curado obtido exclusivamente de carne suína, adicionado de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e/ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional; Linguiça Portuguesa - é o produto curado obtido exclusivamente de carnes suína adicionado de ingredientes, submetido à ação do calor com defumação (sabor acentuado de alho); Linguiça Toscana - é o produto cru e produto curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes; Paio - é o produto obtido de carnes suína e bovina (máximo de 20%) embutido em tripas natural ou artificial comestível, curado e adicionado de ingredientes, submetida a ação do calor com defumação (BRASIL, 2000).

O estado de Santa Catarina é o maior produtor nacional de carne suína e o segundo maior de carne de frango, atendendo ao mercado brasileiro e o exterior. A proteína animal é o carro chefe do agronegócio catarinense, sendo o estado berço das principais empresas do setor de carnes do Brasil. Santa Catarina conta com 18 mil produtores integrados às agroindústrias e o setor de carnes gera quase 60 mil empregos diretos em frigoríficos e indústrias de beneficiamento (SANTA CATARINA, 2018).

Ao todo, o estado embarcou em 2017 mais de 1,34 milhão de toneladas de carnes para cerca de 130 países, gerando uma receita que passa de US\$ 2,6 bilhões. No último ano, 40,4% da carne suína exportada

pelo Brasil teve origem em Santa Catarina. O estado é o maior produtor de carne suína, porém seu principal produto de exportação é a carne de frango correspondendo a 17,7 % de tudo que o estado exportou em 2017. Embora não seja um grande exportador de carne bovina, o estado embarcou 2,5 mil toneladas no último ano e as receitas com as vendas chegam a US\$ 8,3 milhões (SANTA CATARINA, 2018).

2.2.1 Deterioração de Produtos Cárneos

Os produtos cárneos são facilmente contaminados por microrganismos durante a manipulação e o processamento. A carne é considerada um excelente meio de cultura para os microrganismos, pois apresenta fatores intrínsecos que favorecem o crescimento microbiano. Sendo alguns destes: alta atividade de água, pH favorável para a maioria dos microrganismos e elevado teor de nutrientes. Além disso, não possui constituintes antimicrobianos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Em produtos cárneos, o ponto de deterioração pode ser definido por um nível tolerável de bactérias presentes, ocorrência de odores indesejáveis ou aparência inaceitável. A vida útil desses produtos depende do número e do tipo de microrganismos, na sua maioria bactérias, inicialmente presentes e seu crescimento subsequente (BORCH et al., 1996).

Carnes e muitos outros alimentos de origem animal são tipicamente deteriorados pelo crescimento e metabolismo de bactérias Gram-negativas, incluindo *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella*. Entre as Gram-positivas que deterioram carnes estão *Clostridium*, *Bacillus* e as BAL.

Grande parte da microbiota bacteriana inicial encontrada em produtos cárneos está firmemente ligada à superfície (GILL, 1982). Quando se combina temperatura de refrigeração e condições de microaerofilia (embalagens a vácuo ou embalagens com atmosfera modificada) no armazenamento dos processados cárneos, são as bactérias ácido lácticas que irão predominar como deteriorantes daquele alimento (VERMEIREN; DEVLIEGHERE; DEBEVERE, 2004; BORCH et al., 1996). Segundo Franz e von Holy (1996), tal predominância se deve também, ao fato das BAL serem resistentes ao sal e ao nitrito.

A maioria dos produtos cárneos é embalada a vácuo, ou seja, em condição de microaerofilia, com a intenção de inibir reações de oxidação e o crescimento de microrganismos deteriorantes, como por exemplo as *Pseudomonas*, aumentando assim a sua vida útil. No entanto, este meio torna-se favorável ao crescimento de alguns microrganismos anaeróbios,

ou aeróbios facultativos deteriorantes. Quando submetidos à refrigeração, as BAL têm uma vantagem considerável na velocidade de crescimento comparada com os aeróbios facultativos e com as bactérias gram-negativas (SÄDE, 2011; ALCANTARA et al., 2012). Além das BAL, *Enterobacteriaceae* e algumas vezes *Brochothrix thermosphacta* também podem se favorecer com o ambiente (GRAM et al., 2002).

A deterioração de produtos cárneos ocorre normalmente de três formas: aumento da viscosidade, acidificação e aparecimento de manchas verdes. A deterioração viscosa ocorre na parte externa do produto, sendo que leveduras e BAL dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Weissella* e *Brochothrix thermosphacta* podem ser encontradas nesse material. A acidificação é resultado da utilização de lactose e outros açúcares por microrganismos como *Lactobacillus* e *Enterococcus*, produzindo ácidos. As manchas verdes em carnes processadas são causadas pela presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode ser produzido quando o produto entra em contato com o ar, ou pelo acúmulo devido ao crescimento de microrganismos como *Weissella viridescens*, *Lactobacillus fructivorans* e *Lactobacillus jensenii* (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os produtos cárneos, como por exemplo embutidos, geralmente passam pelo processo térmico para inativação de microrganismos. Aqueles que sobrevivem ao processo térmico são controlados pela utilização de sais de cura que auxiliam na inibição de microrganismos anaeróbios, porém podem favorecer o crescimento de bolores e leveduras e de bactérias Gram positivas, como as bactérias lácticas. Bactérias lácticas acabam tornando-se dominantes nestes produtos por serem relativamente insensíveis aos nitritos (GOMES, 2007; JAY, 2005).

As BAL são identificadas como a maior população deteriorante das linguças cozidas embaladas a vácuo, elas se desenvolvem facilmente após o seu processamento térmico e também em temperaturas de refrigeração, levando a percepção de gosto azedo, exsudado leitoso, produção de *slime* e estufamento da embalagem (MARTINS, 2009; MATAGARAS et al., 2007).

2.2.1.1 Bactérias ácido lácticas (BAL)

As BAL têm como principal característica a formação de ácido láctico através da fermentação de carboidratos. Estas bactérias são microrganismos Gram-positivos, não formadores de esporos e encontrados nas formas de cocos ou bacilos, são catalase e oxidase negativos e microaerófilos e anaeróbicos facultativos (WOOD; HOLZAPFEL, 1995). São geralmente mesófilas, pois têm a temperatura

ótima de crescimento entre 30 °C e 35 °C, no entanto conseguem se desenvolver numa ampla faixa de temperatura entre 5 °C e 45 °C (MASSAGUER, 2006; SILVA, 2015).

BAL podem ser divididas em quinze gêneros, mas tradicionalmente são subdivididas em quatro: *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* e *Lactobacillus* (JAY, 2005). As espécies geralmente encontradas de forma natural em produtos cárneos são: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei*, *Weissella viridescens* (anteriormente denominada *Lactobacillus viridescens*) e *Lactobacillus curvatus*. Dentre essas, a espécie encontrada mais frequentemente em produtos cárneos é a *W. viridescens* (MORISHITA; SHIROMIZU, 2008).

O metabolismo das BAL é estritamente fermentativo, podendo ser classificadas como homofermentativas e heterofermentativas, de acordo com o produto final da fermentação que é gerado. As bactérias homofermentativas produzem ácido láctico como produto final da fermentação e nesta classificação estão incluídos os gêneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* e *Pediococcus*. Já as heterofermentativas produzem ácido láctico, dióxido de carbono, ácido acético e etanol, com isso são responsáveis pelo desenvolvimento da acidez dos produtos e também pelo aparecimento de aromas e sabores específicos. As bactérias classificadas como heterofermentativas são: *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium* e *Lactosphaera*. Os *Lactobacillus* apresentam-se tanto na forma homofermentativa quanto na heterofermentativa (JAY, 2005; MASSAGUER, 2006).

As BAL estão presentes em pequenas quantidades na microbiota inicial de alimentos como vegetais, carnes, leite, produtos lácteos, molhos para saladas, frutos do mar entre outros. Essas bactérias são geralmente associadas com a deterioração de produtos cárneos, processados, curados e embalados a vácuo ou atmosfera modificada (AM) e armazenados a temperaturas de refrigeração (BORCH et al., 1996; KORKEALA; BJORKROTH, 1997; SAMELIS et al., 2000). Condições de armazenamento como descritas facilitam o crescimento das BAL devido principalmente à microaerofilia e também à capacidade de crescerem a temperaturas de refrigeração. Vários estudos têm mostrado que as principais BAL deteriorantes de produtos cárneos embalados em AM são *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides* e, em alguns casos, *Carnobacterium* spp., e *Weissella* spp. (SAMELIS et al., 2000; TAKAHASHI et al., 2004; KOORT et al., 2005; VERMEIREN et al., 2004; VASILOPOULOS et al., 2008; AUDENAERT et al., 2010).

As salsichas avaliadas por Battistella (2008) possuíam como concentração inicial de BAL 2,06 Log₁₀ UFC/g e o fim da sua vida útil foi determinado quando a contagem dessas bactérias chegou a um nível de 10⁷ UFC/g em conjunto com a formação de viscosidade, a qual prejudicou visivelmente sua aparência. A concentração de BAL identificada no final da vida útil das salsichas do trabalho citado foi a mesma indicada nos trabalhos de Slongo et al. (2009) e Irkin et al. (2011).

Um problema bem conhecido pela indústria de carne é o esverdeamento de produtos cárneos, sendo uma das causas do desenvolvimento do microrganismo *W. viridescens* que tem sido estudado por diversos pesquisadores (HAN et al., 2011; HU et al., 2009; SANTOS et al., 2005; SILVA, 2015; MARTINS, 2015).

As BAL deteriorantes podem causar efeitos indesejados, tais como sabores e odores estranhos, descoloração, produção de gás com perda de vácuo e inchaço dos pacotes, diminuição do pH, mudanças na textura e produção de muco ou limo (líquido com aspecto leitoso), resultando em degradação prematura e redução na vida útil do produto final (BORCH et al., 1996; DAINTY; MACKEY, 1992; EGAN et al., 1998; KORKEALA; BJORKROTH, 1997; SAMELIS et al., 1998; SAMELIS et al., 2000a; SAMELIS et al., 2000b; AUDENAERT et al., 2010). A velocidade com que esses efeitos indesejados ocorrem é dependente de uma combinação de fatores intrínsecos e extrínsecos. A composição do produto, o método de embalagem e a temperatura de armazenamento são fatores citados por Borch et al. (1996). Além desses, a utilização de técnicas para inativação de microrganismos e consequente preservação do alimento podem retardar o surgimento dos efeitos indesejáveis, aumentando a vida útil do produto.

Franz e Von Holy (1996) estudaram a inativação térmica de uma combinação de BAL em salsichas. Patterson et al. (2010) avaliaram o crescimento de *W. viridescens* em carne de aves cozida. Milbourne (1983) verificou a termotolerância do mesmo microrganismo em processos industriais de inativação microbiológica. Os pesquisadores citados sugerem que a presença natural de BAL é a principal fonte de contaminação e deterioração de produtos cárneos e concluíram que nem todos os processos térmicos utilizados industrialmente são efetivos na inativação desses microrganismos.

2.2.1.1.1 *Weissella viridescens*

O gênero *Weissella* foi descrito por Collins et al. (1993) baseando-se nas sequências do gene 16S rRNA, reclassificando

Leuconostoc paramesenteroides e demais espécies relacionadas, como *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus halotolerans*, *Lactobacillus kandleri*, *Lactobacillus minor* e *Lactobacillus viridescens* para o novo gênero *Weissella*.

A espécie *W. viridescens* tem seu crescimento fortemente influenciado pela temperatura de armazenamento, mesmo em condições de refrigeração (KOUTSOUMANIS et al., 2006; CAYRÉ et al., 2007). Estudos relataram a capacidade dessa espécie de resistir a tratamentos térmicos (com $D_{60^{\circ}\text{C}} = 14,7$ min em mortadela de carne e $D_{65^{\circ}\text{C}} =$ entre 5 e 24 min dependendo dos meios de aquecimento e recuperação) e à alta pressão (400 a 600 MPa a 22 °C durante 10 min), além de conseguir crescer em temperaturas de refrigeração. Estas características favorecem o crescimento em produtos cárneos, causando deterioração dos mesmos (MILBOURNE, 1983; COMI; IACUMIN, 2012; HAN et al., 2010, 2011; PEIRSON et al., 2003).

Estudos têm associado *W. viridescens* aos processos de deterioração de lombo suíno defumado e embalado a vácuo, bacon, mortadela, salsichas embaladas a vácuo sob-refrigeração (SAMELIS et al., 2000a), salsicha de sangue espanhola (KOORT et al, 2005; DIEZ et al., 2009; GÓMEZ-ROJO et al., 2015), filés de peito de peru cozido embalado a vácuo (SAMELIS et al., 2000b) e salsichas cozidas a vácuo (IACUMIN et al., 2014).

2.2.2 Métodos de conservação de produtos cárneos

A contaminação microbiana pode ser a principal responsável tanto por perdas econômicas, provocadas pela deterioração da carne, como também problemas ligados à saúde do consumidor (JAY, 2005). Por serem ricos em nutrientes e possuírem alta umidade, os produtos cárneos são um ambiente propício à proliferação de microrganismos. Para garantir a segurança e integridade desses produtos, são utilizados alguns métodos de inativação de microrganismos. Os principais métodos de conservação são: tratamento térmico, salga, defumação, aditivos e radiações.

O tratamento térmico pode ser aplicado por meio da pasteurização ou pela esterilização. Na pasteurização, o alimento é submetido a um aquecimento moderado, podendo alcançar as temperaturas de 58 °C a 75 °C, inativando todos os patogênicos e mais uma boa parcela dos microrganismos deteriorantes. Já que a inativação não é total, é importante que o produto, depois de pasteurizado, seja mantido sob refrigeração. Na esterilização, o aquecimento geralmente é

feito com temperaturas acima de 100 °C, deixando os produtos comercialmente estéreis. Este método normalmente é aplicado em produtos enlatados que, sendo mais estáveis em temperatura ambiente, não precisam de refrigeração (ROÇA, 2000; OETTERER et al, 2006).

Segundo Drehmer (2005), sanitizantes químicos são utilizados em carcaças de animais recém-abatidos, destinados ao consumo humano, na busca de reduzir a presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes.

Tendo em vista que, ao aplicar calor as características sensoriais e nutritivas são alteradas, reduzindo a qualidade do alimento, bem como o uso de sanitizantes podem ser prejudiciais ao consumidor, métodos alternativos a esses tratamentos têm sido estudados. O processo de alta pressão hidrostática (APH) é um método não térmico, que consiste em submeter o alimento à pressurização, em um espaço confinado, a partir de um fluido que atua como meio de transferência de pressão (TORREZAN, 2003).

Outro método alternativo é a radiação, utilizado para satisfazer quatro objetivos principais: esterilização, pasteurização, desinfecção e inibição de germinação. Existem várias formas de energia radiante, emitidas de várias maneiras, com comprimentos de onda, frequência e força de penetração diversas, que atuam de formas diferentes sobre o sistema biológico. As radiações ionizantes possuem alta frequência e incluem as radiações alfa, beta, e gama, raios X e nêutrons. Os raios alfa são átomos de hélio sem dois elétrons, com baixo poder de penetração. Os raios betas são mais penetrantes que os raios alfa, porém os raios X possuem o maior poder de penetração (GAVA, 1984). As radiações não ionizantes, entre os raios X e a luz visível, incluem a radiação ultravioleta, que tem sido bastante estudada por sua eficiência na inativação de microrganismos em água e superfície de diversos materiais (GUEDES et al, 2009).

2.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

Radiação Ultravioleta-C (UV-C 254 nm) é uma alternativa para substituir desinfecção química de frutas frescas e produtos cárneos ou tratamentos térmicos destes alimentos e seus produtos (SYAMALDEVI et al., 2013; CARLI et al., 2013).

A radiação ultravioleta foi descoberta em 1801 pelo cientista alemão Johan Ritter, que percebeu uma forma invisível de luz, além do violeta capaz de oxidar haletos de prata, chamada de luz ultravioleta no fim do século XIX.

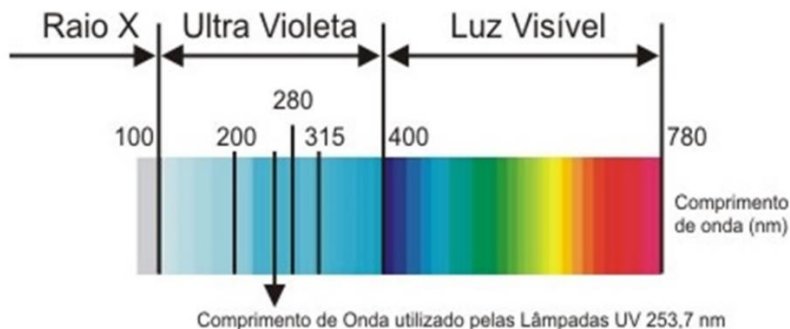
A fonte natural de luz UV-C vem do sol. As fontes artificiais são chamadas de lâmpadas UV, nas quais a luz UV é gerada pela aplicação de uma diferença de potencial que gera uma descarga elétrica dentro de um tubo de quartzo contendo uma mistura de gás (mercúrio ou xênon), o que excita esses átomos. Estes, ao voltarem ao estado original de energia, emitem luz em um comprimento de onda de 100 nm a 400 nm (LUCAS, 2003; EPA, 2017).

Segundo Koutchma e Orłowska (2012), a luz é emitida pela descarga de gás em comprimentos de onda dependentes da sua composição elementar e da excitação, ionização e energia cinética desses elementos. As descargas de gás são responsáveis pela luz emitida pelas lâmpadas UV. O fenômeno de transferência de luz UV é definido pelas características de emissão da fonte UV, além de considerar o envelhecimento da lâmpada a longo prazo e a absorção do produto. Consequentemente, o desempenho de um sistema UV depende da correspondência correta dos parâmetros da fonte UV com as demandas da aplicação UV. As fontes de UV comercialmente disponíveis incluem lâmpadas de mercúrio de baixa e média pressão (LPM e MPM), lâmpadas de excimer (EL), lâmpadas pulsadas (PL) e diodos emissores de luz (LED). LPM e EL são fontes monocromáticas, enquanto a emissão de MPM e PL é policromática. Não há relatórios sobre a aplicação de EL no processamento de frutas (KOUTCHMA; ORŁOWSKA, 2012).

As fontes de lâmpadas UV de vapor de mercúrio têm sido usadas com sucesso em tratamento de água por quase 50 anos e são consideradas fontes confiáveis para outros tratamentos de desinfecção que se beneficiam de seu desempenho, baixo custo e qualidade. Normalmente, são utilizados três tipos gerais de lâmpadas UV de mercúrio: baixa pressão (LPM), alta pressão alta saída (LPHO) e média pressão (MPM). Estes termos são baseados na pressão de vapor de mercúrio quando as luzes estão a funcionar (KOUTCHMA; ORŁOWSKA, 2012).

A luz ultravioleta (UV) é uma porção do espectro eletromagnético que varia de 100 nm a 400 nm (Figura 2.1). É subdividida em UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm), UV-C (200-280 nm), conhecido como intervalo germicida, uma vez que inativa efetivamente microrganismos; e UV de vácuo (100-200 nm), que pode ser absorvido por quase todas as substâncias e assim, pode ser transmitido apenas no vácuo (KOUTCHMA et al., 2009; GUEDES et al., 2009).

Figura 2. 1 Espectro eletromagnético



FONTE: NATURALTEC (2018)

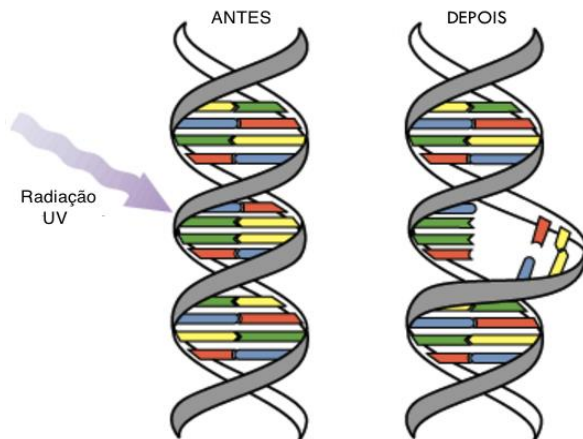
O efeito germicida da radiação ultravioleta foi detectado pela primeira vez em 1878, mas as primeiras unidades de processamento foram construídas em 1955 na Suíça e na Áustria (AGUIAR et al., 2002).

No comprimento de onda germicida (200 a 280nm), a radiação UV-C é suficiente para causar deslocamento físico de elétrons e quebra de ligações no ácido desoxirribonucleico (DNA) dos microrganismos. Isso altera seu metabolismo e reprodução, ou seja, a injúria aos sistemas de reprodução das células as leva à morte (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004; BINTSIS; LITOPOULOU-TZANETAKI; ROBINSON, 2000). Como a composição de DNA varia entre espécies, existe uma faixa de pico de absorção de UV-C (GUEDES et al., 2009). Comprimento de onda entre 250 e 270 nm é mais eficaz em termos de efeitos bactericidas, uma vez que, os fótons são melhor absorvidos pelo DNA microbiano nestes comprimentos de onda específicos (KOUTCHMA; FOMEY; MORARU, 2009).

Segundo Cutler e Zimmerman (2011), o mecanismo de inativação microbiana estabelecido por exposição à luz UV-C é a formação de dímeros de DNA. A radiação promove a quebra das ligações entre as bases nitrogenadas e a pronta união entre as bases adjacentes, ou próximas entre si na mesma fita, por ocasião de uma dobra na cadeia (Figura 2.2). A estabilidade desta nova ligação faz com que as duas fitas do DNA percam permanentemente o contato entre si nos pontos onde os dímeros são formados, prejudicando a codificação de RNA, comprometendo as funções da célula ainda em intérfase (interfase entre a mitose e a meiose, é o período do ciclo celular em que a célula aumenta o seu volume, tamanho e número de organelas) e impedindo o processo

de replicação do DNA, causando morte celular. Além disso, efeitos fotoquímicos indiretos, tais como formação de radicais livres, também podem induzir alterações ultra-estruturais (CUTLER; ZIMMERMAN, 2011).

Figura 2. 2 Representação da radiação UV no DNA dos microrganismos



FONTE: GONTIJO (2018)

Os microrganismos quando expostos ao tratamento UV recebem uma dose de luz. De acordo com EPA (2006) e Keyser et al. (2008) a dose é a energia de luz incidente por área num determinado tempo e é a forma de identificar a quantidade de energia recebida, que pode ser calculada pela Equação 2.1.

$$\text{Dosagem ou dose (J/m}^2\text{)} = \text{Intensidade (W/m}^2\text{)} \times \text{tempo (s)} \quad (2.1)$$

A intensidade é relativa ao tipo de lâmpada UV (mercúrio, amálgama, de alta pressão, média ou baixa) enquanto o tempo é o tempo de contato do produto com a energia da lâmpada (BOLTON, 2000).

Para medir a dose, Koutchma (2009) destacou que são instalados nos equipamentos sensores chamados de radiômetros (térmicos ou fotônicos).

Mone (1973) esclareceu que o tratamento UV tem uma série de vantagens frente a esse para tratamentos de cloração da água, entre os quais: o tratamento com cloro requer cuidados maiores na operação; em

pequenas instalações as fumaças do gás cloro, se liberadas, podem ser letais; o cloro por si mesmo é altamente corrosivo e tóxico; o cloro é um aditivo material que pode gerar um gosto indesejável na água e uma diminuição do seu pH; é quimicamente ativo e pode reagir com ingredientes ativos de efluentes, gerando compostos tóxicos, como por exemplo: com a amônia formando cloraminas (altamente tóxicas para peixes mesmo em baixas concentrações) e com fenóis formando clorofenóis (tóxico também).

Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2004) esclareceram que a luz UV, por se tratar de um processo físico no qual a energia é o meio germicida, tem diversas vantagens: não gera subprodutos que poderiam alterar o sabor, odor e cor no alimento, não gera resíduos químicos, é um processo frio, a seco, simples, efetivo e de baixo custo em relação a outros processos de esterilização, além de não gerar qualquer tipo de radioatividade ionizante (radiação gama).

De modo geral, sistemas de desinfecção por UV são fáceis de instalar, com mínimas paradas na planta de processamento; com pequena manutenção (apenas substituição das lâmpadas a cada 9 a 12 meses, dependendo do uso) e de fácil uso pela equipe treinada (BERSON, 2005).

Alternativas ao tratamento químico para a desinfecção de superfície de frutas e legumes frescos foram estudados (NOVAK et al., 2008; BIALKA; DEMIRCI, 2007) dentre eles a aplicação de radiação UV-C, que pode ser eficaz para inativação microbiana em superfícies de frutas e vegetais (BINTSIS et al, 2000; GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2001; ALLENDE; ARTÉS, 2003; ERKAN et al., 2001). Yaun et al. (2004) utilizaram a radiação UV para reduzir a população de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* O157: H7 na superfície de maçãs e outros vegetais e descobriram que UV-C foi mais eficaz contra estes patógenos do que 20-320 ppm de cloro.

Segundo Carli e colaboradores (2013), a radiação UV-C é utilizada em algumas indústrias de alimentos para desinfecção de carcaças, mas a profundidade de penetração da radiação é limitada (devido às dobras de pele e folículos pilosos), além de que, deve-se considerar o impacto sobre a oxidação de gordura.

Midgley e Small (2006), afirmaram que os tratamentos por UV foram associados à oxidação lipídica acelerada e ao escurecimento devido à formação de metamioglobina, particularmente nas carnes de porco e aves. Porém Elmnasser et al. (2008) afirmaram que o tratamento com luz pulsada não provocou a oxidação de ácidos graxos. Wallner-Pendleton et al. (1994) relataram que o UV não causou rancidez oxidativa prejudicial

em carcaças de aves, porque a luz UV não induz a produção de radicais livres oxidantes.

As exigências dos consumidores nos últimos anos deslocaram-se para produtos naturais e minimamente processados. Portanto, UV-C pode ser um método de preservação alternativo aos métodos tradicionais que visa inativar microrganismos indesejáveis e, ao mesmo tempo manter o alimento "fresco", bem como preservar suas propriedades nutricionais e bioativas. UV-C foi aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration* que é o órgão do governo dos Estados Unidos responsável pelo controle dos alimentos, suplementos alimentares, medicamentos, cosméticos, equipamentos médicos, materiais biológicos e produtos derivados do sangue humano) para a inativação e redução de microrganismos na superfície de alimentos e em alimentos líquidos (FDA, 2011).

Chun et al. (2009) destacaram a falta de estudos que investigue os efeitos de UV-C para redução de microrganismos indesejados em produtos cárneos prontos para consumo. Estes autores realizaram um estudo para examinar os efeitos desta técnica em presunto fatiado para inativação de patógenos e constataram que radiação ultravioleta pode ser usada para melhorar a segurança microbiana do produto.

UV-C inativa eficazmente uma variedade de microrganismos deteriorantes de alimentos, portanto, está sendo considerado como promissor método de conservação, como alternativa não-térmica. Na maioria dos estudos, lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (LPM) com a saída monocromática a 254 nm foram aplicadas para tratamentos de sidra (DONAHUE; CANITEZ; BUSHWAY, 2004) e suco de maçã (MURAKAMI et al., 2006; ORLOWSKA et al., 2015).

A eficácia da desinfecção por UV-C na superfície dos frutos é influenciada por vários fatores, incluindo: dose de UV-C (Joules por metro quadrado), intensidade de UV-C (watts por metro quadrado), tempo de exposição (segundo), características de superfície, concentração inicial de microrganismo (OTTO et al. 2011) e do tipo de microrganismo (GUERRERO-BELTRAN; BARBOSA-CANOVAS, 2004). Uma vez que a radiação UV-C tem a profundidade de penetração limitada, as características morfológicas do alimento, tais como a aspereza e a presença de feridas na superfície dos frutos, por exemplo, interfere na inativação microbiana (WONG et al, 1998; WOODLING; MORARU, 2005; SCHENK et al., 2008).

Tratamento UV-C tem sido utilizado com sucesso por muitos anos para a descontaminação de água potável (BOLTON, 2010; HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006; SONNTAG; SCHUCHMANN, 1992; TEMPLETON; HOFMANN; ANDREWS, 2006). Para outros

líquidos, tais como sucos de frutas, um dos principais fatores limitantes para a eficiência do tratamento com UV-C é a profundidade de penetração reduzida como um resultado da presença de solutos e partículas (WRIGHT et al., 2000).

Outra limitação do tratamento UV-C pode ser a formação de subprodutos indesejáveis (VALAPPIL et al., 2009). Há relatos de que UV-C pode modificar componentes de alimentos, levando à formação de compostos como o furano a partir de ácidos graxos que foi classificado pela OMS (Organização Mundial da Saúde) como potencialmente cancerígeno para os seres humanos (BULE et al., 2010; FAN; GEVEKE, 2007; FAN, 2015).

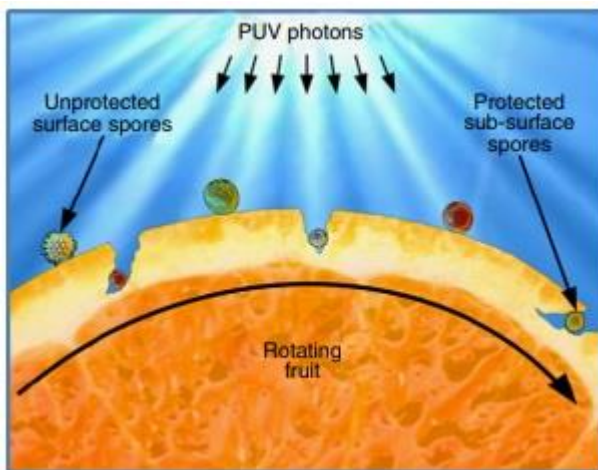
O DNA é mais sensível aos danos induzidos por UV-C do que outras biomoléculas. No entanto, há inúmeras observações de que a UV-C é capaz de modificar uma série de constituintes químicos alimentares, conduzindo à formação de novos compostos com atividades biológicas desejadas (MÜLLER et al., 2013). Além disso, no estudo de Müller et al. (2013), apesar de um ligeiro aumento na concentração de um composto potencialmente genotóxico tais como furano, tratamento com UV-C nas dosagens testadas não resultou em qualquer alteração nos efeitos citotóxicos ou genotóxicos do suco de maçã em células intestinais.

UV-C foi aprovado pela FDA para a inativação de microrganismos em superfícies de produtos alimentares e para redução de microrganismos em sucos como um tratamento substituto da pasteurização (FDA, 2011).

Segundo Lagunas-Solar (2014), a natureza da superfície exposta determina a eficácia da radiação UV-C. Em frutas e em muitos vegetais, a presença de substâncias químicas absorventes de UV limita a profundidade de penetração de radiação na superfície. Além disso, ceras naturais e adicionadas (lipídios) contribuem para a refletância difusa e especular. Refletância especular é a reflexão espelhada de UV (ou outros tipos de ondas) de uma superfície em que UV de uma única direção incidente é refletida em uma única direção de saída (refletida) e diminui os níveis de ação da radiação UV-C. Não foram relatadas medições de refletância em frutas e vegetais e, portanto, nenhuma estimativa quantitativa deste mecanismo de perda de energia é conhecida. Barreira física natural também está presente como tricomas que se combinam com as camadas naturais cerosas em algumas cultivares e com alguma rugosidade física (isto é, furos e fendas). Esta combinação resulta em sombras ou escudos para microrganismos. Outras limitações são devidas às características geométricas de algumas frutas e vegetais frescos (por exemplo, cachos de frutas, folhas dobradas em vegetais, etc.). O tecido

biológico é uma barreira eficaz à penetração de radiação UV-C. Finalmente, como os fótons de radiação UV-C se movem em trajetórias retas de sua fonte, a geometria redonda ou oval de muitas commodities fornece blindagem eficaz que força a exposição de forma precisa do caminho de incidência da radiação UV. As superfícies redondas aumentam os efeitos naturais de blindagem ou sombreamento e minimizam a interação direta dos fótons de UV-C com os patógenos alvo. Estes efeitos naturais e combinados na superfície das frutas são ilustrados esquematicamente na Figura 2.3.

Figura 2. 3 Representação esquemática dos efeitos de sombreamento de radiação UV nas superfícies de frutas arredondadas.



FONTE: LAGUNAS-SOLAR, 2014

Manzocco et al. (2011) aplicaram diferentes intensidades de radiação UV-C (1,2, 6,0, 12,0 e 24,0 kJ/m²) em fatias de maçãs e obtiveram fatias mais estáveis do que o controle (sem tratamento) em termos de crescimento microbiano, escurecimento e formação de sabores desagradáveis. Estes efeitos foram atribuídos, não só à inativação direta de microrganismos e enzimas pela radiação UV-C, mas também pela formação de uma película fina e seca sobre a superfície do produto. Esta película de proteção comestível inibiu o crescimento microbiano e impediu a desidratação durante o armazenamento e ao mesmo tempo era fina o suficiente para não haver percepção pelo consumidor.

A influência da radiação UV-C em alguns atributos de qualidade (cor, pH, teor de sólidos solúveis, índice de formol, fenólicos totais, açúcares e vitamina C) e nas atividades enzimáticas de suco de maçã foi investigada por Falguera, Pagán e Ibarz (2011). O suco foi irradiado por 120 min com uma lâmpada de mercúrio de alta pressão de 400 W, que emite em um intervalo entre 250 e 740 nm. O tratamento foi eficaz na inativação das enzimas analisadas. Não foram observadas variações em pH, teor de sólidos solúveis, índice de formol, fenólicos totais, açúcares e cor. A cor do suco não variou durante todo o experimento para a cultivar King David. Porém, os sucos feitos de Golden, Starking e Fuji, a radiação

UV prejudicou alguns dos seus pigmentos. O teor de vitamina C de algumas cultivares diminuiu por volta de 5% e em apenas uma diminuiu 70%.

Os efeitos da radiação ultravioleta sobre os microrganismos deteriorantes como bactérias ácido lácticas (MÜLLER et al., 2015; PUÉRTOLAS et al., 2009) e fungos (SYAMALADEVI et al., 2014; SYAMALADEVI et al., 2015) são descritos pelo modelo primário de Weibull.

2.4 ESTUDO DE VIDA ÚTIL

Define-se tempo de vida útil como o período de tempo que o alimento permanece estável e mantém todas as características desejáveis, incluindo a segurança em nível microbiológico (DOYLE, 2007). Outra definição seria o período de tempo ao fim do qual são percebidas diferenças significativas nas características definidas para um determinado produto (KILCAST; SUBAMANIAM, 2007). Estas diferenças podem ser em parâmetros microbiológicos, químicos, físicos ou diferenças detectadas ao nível da análise sensorial do alimento (OLIVEIRA, 2009).

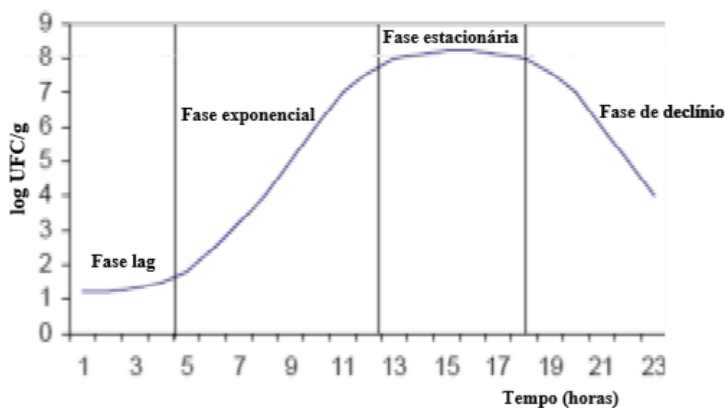
Por se tratarem de material biológico de origem vegetal ou animal, alimentos estão sujeitos a diferentes processos de deterioração, sendo os mais emergentes, aqueles de origem microbiana e que, portanto, recebem sempre o máximo de atenção. Contudo, mesmo com a prevenção adequada a esse tipo de deterioração, o alimento estará sujeito durante o seu ciclo de vida útil a uma série de outras reações, cuja velocidade, variará em função de diversos fatores, tais como: temperatura, umidade, acidez, teor de oxigênio, embalagem e outros (BATTISTELLA, 2008).

Para garantir a vida útil dos alimentos e a sua segurança microbiológica, deve-se minimizar níveis de contaminação, limitando ou impedindo a taxa de crescimento microbiano. Estratégias vêm sendo adotadas pelas indústrias alimentícias, introduzindo novas tecnologias, novas embalagens, métodos de conservação, como também em programas de qualidade (McMEEKIN et al, 1997).

Quando os microrganismos se encontram num ambiente não limitante em termos de nutrientes, como é o caso da maior parte dos alimentos, e em condições ambientais favoráveis, reproduzem-se aumentando de forma acentuada o seu número. Esta mudança no número de microrganismos é dada pelas curvas de crescimento microbiano, nas quais é representada a variação do número de microrganismos em função do tempo, tendo em conta a influência de fatores intrínsecos e/ou

extrínsecos, dado que se apresentam como condições que ditam a sobrevivência, crescimento e controle sobre os microrganismos desejáveis e/ou indesejáveis nos alimentos. Considerando um meio adequado em termos de fonte de energia, nutrientes, condições físicas e químicas favoráveis, o crescimento dos microrganismos é dado pela representação gráfica do Log (UFC/g) em função do tempo, e este é geralmente caracterizado por 4 fases distintas (FERREIRA et al., 1998). A representação de uma curva típica de crescimento microbiano confinado encontra-se na Figura 2.4.

Figura 2. 4 Curva de crescimento microbiano



FONTE: OLIVEIRA (2009)

Como pode ser visto na Figura 2.4, distinguem-se 4 fases, a fase lag, caracterizada por não se verificar crescimento e diz respeito a uma fase de adaptação em termos de ajuste fisiológico e bioquímico dos microrganismos ao ambiente. Segue-se a fase exponencial (log), em que as células microbianas reproduzem-se tão rápido quanto possível a uma velocidade constante. O valor da taxa específica de crescimento (μ) mantém-se constante atingindo o seu valor máximo (μ_{\max}), e corresponde ao declive da reta que define o crescimento nesta fase. Após esta fase de crescimento exponencial, devido ao esgotar de nutrientes no meio e/ou o acumular de metabolitos dos microrganismos, os quais podem ser inibitórios, verifica-se o cessar da divisão dos microrganismos, entrando então numa fase estacionária. Após esta fase, devido ao excesso de metabolitos tóxicos e/ou à autólise das células por enzimas líticas, ocorre

a morte das células, que é definida pela perda irreversível da capacidade destas se dividirem, o que resulta nos decréscimos da população viável, fase denominada de declínio ou morte (FERREIRA et al., 1998; BARANYI, 2009; OLIVIERA, 2009).

2.5 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

A microbiologia preditiva descreve, através de modelos matemáticos, o crescimento ou inativação de microrganismos submetidos a determinadas condições de fatores intrínsecos (pH, aw, etc) e extrínsecos (temperatura, atmosfera gasosa, etc) constantes e/ou variáveis. Assim, pode ser considerada uma área multidisciplinar por compreender áreas da matemática, engenharia, química e biologia para tratar e prever comportamento microbiológico em determinados alimentos e determinadas condições (SCHAFFNER; LABUZA, 1997; McDONALD; SUN, 2008).

Há registros de uso de modelos preditivos de microbiologia desde a década de 20 com a utilização de métodos para calcular o tempo de destruição térmica de microrganismos em alimentos (GOLDBLITH et al., 1961; NAKASHIMA et al., 2000). Um dos primeiros registros da sua aplicação, foi feito por Esty e Meyer (1922), para descrição da destruição térmica de esporos de *C. botulinum* tipo A, através de um modelo logarítmico linear, modelo este que tem por base o fato de a determinada temperatura, a velocidade de morte térmica ser constante ao longo do tempo, ou seja a percentagem de células inativadas por unidade de tempo é constante (McMEEKIN, et al., 2002; BARANYI; ROBERTS, 2004). Um avanço posterior, em 1936, por Scott, associou a velocidade de morte térmica com a disponibilidade de água na matriz, hoje denominada atividade de água. Este orientou posteriormente os seus estudos para a influência da variação da temperatura na velocidade de morte dos microrganismos (MAFART, 2005).

Através de inovações tecnológicas, tornou-se possível a aplicação de todas as teorias e conceitos da microbiologia preditiva (McMEEKIN et al., 2008). A década de 80 foi marcada pelo desenvolvimento da área devido a importantes casos de intoxicação alimentar, levando ao aumento da conscientização pública da necessidade da oferta de alimentos seguros com resultados de qualidade mais rápidos. Além disso, as aplicações práticas começaram a se materializar e se tornar mais acessíveis devido à utilização do computador. Esse contexto gerou investimentos em pesquisas principalmente pelos países Estados Unidos,

Austrália e países europeus (ROSS; McMEEKIN, 1999; TIJSKENS et al., 2001; WHITING; 1995).

Os modelos matemáticos utilizados em microbiologia preditiva podem ser classificados em modelos primários, secundários e terciários (WHITING; BUCHANAN, 1993). Os modelos primários descrevem as mudanças de quantidade de microrganismos ou outra resposta microbiana com o tempo em um conjunto de condições constantes. Os modelos secundários descrevem como as respostas de parâmetros obtidos no modelo primário variam com as condições ambientais como pH, temperatura, atividade de água ou concentração de determinado sanitizante, por exemplo. Modelos terciários acoplam modelos primários e secundários com o objetivo de gerar previsões para condições ambientais variáveis, sendo eles geralmente disponíveis de forma didática em softwares.

2.5.1 Modelos primários de crescimento

Dentre os modelos primários de crescimento, os mais utilizados na literatura são: modelo de Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994), o modelo de Gompertz (ERKMEN, 2000) e Gompertz modificado (ZWIETERING et al., 1991), modelo Logístico (ERKMEN, 2000; GIBSON et al, 1987), modelo Logístico modificado (CORRADINI; PELEG, 2005), modelo linear de três fases, conhecido também como modelo de Buchanan (BUCHANAN et al., 1997) e o modelo de Huang (HUANG, 2008).

2.5.1.1 Modelo de crescimento de Baranyi e Roberts

O modelo de Baranyi e Roberts é um dos mais utilizados devido a alguns fatores: (i) sua facilidade de uso por ter softwares disponíveis em que as equações já estão inseridas, (ii) é aplicável em condições ambientais dinâmicas, (iii) tem uma boa capacidade de ajuste, e (iv) a maior parte dos parâmetros do modelo são biologicamente interpretáveis (VAN IMPE et al., 2005; LEBERT; LEBERT, 2006).

O modelo de crescimento de Baranyi e Roberts demonstrado na Equação 2.2, procura entender as causas da fase de latência e emprega novos conceitos, como o estado fisiológico das células (BARANYI; ROBERTS, 1994).

A Equação 2.2 descreve o modelo de Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994) e na Equação 2.3 está representada a função de ajuste deste modelo.

$$\ln(N) = \ln(N_0) + \mu F(t) - \frac{1}{m} \ln \left(1 + \frac{e^{m\mu F(t)} - 1}{e^{m(\ln(N_{\text{máx}}/N_0))}} \right) \quad (2.2)$$

$$F(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln \left(e^{(-\mu t)} + e^{(-h_0)} - e^{[(-\mu t) - h_0]} \right) \quad (2.3)$$

Em que N é a concentração celular no tempo t , N_0 é a concentração celular inicial, $N_{\text{máx}}$ ($y_{\text{máx}}$) é concentração celular máxima, m é o parâmetro de curvatura do modelo e o parâmetro h_0 é considerado o estado fisiológico das células e é dado pela Equação 2.4:

$$h_0 = \mu \lambda \quad (2.4)$$

2.5.2 Modelos primários de inativação

Por muito tempo, a inativação de microrganismos foi considerada um processo que seguia o modelo cinético de primeira ordem ou modelo de Bigelow (MCMKELLAR; LU, 2004). Contudo, sabe-se hoje que esse modelo trata-se de uma exceção, e que a inativação de muitos microrganismos não ocorre de maneira log-linear. Este modelo assume que todas as células e esporos na população têm a mesma resposta a um dado tratamento letal e que sua inativação é descrita por uma cinética de primeira ordem (Equação 2.5) (SCHAFFNER; LABUZA, 1997; PELEG, 2006).

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad (2.5)$$

t é o tempo, N é a concentração de microrganismos e k é a constante de reação.

Considerando-se as condições iniciais como: $t_0=0$ e $N=N_0$, e integrando dentro de um determinado intervalo de tempo (0 a t), no qual foi aplicado o tratamento isotérmico, tem-se a Equação 2.6:

$$\ln N - \ln N_0 = -kt \quad (2.6)$$

Na forma exponencial, a Equação 2.6 pode ser escrita pela Equação 2.7:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kt} \quad (2.7)$$

ou seja: a destruição de microrganismos ocorre de forma exponencial.

Aplicando-se logaritmo decimal tem-se a Equação 2.8 que descreve a curva de sobreviventes em função do tempo, proporcional a uma constante k.

$$\log \frac{N}{N_0} = \frac{-kt}{2,303} \quad (2.8)$$

Em termobacteriologia, define-se o parâmetro D como tempo de morte térmica ou tempo de redução decimal.

D é definido como na Equação 2.9:

$$\frac{k}{2,303} = \frac{1}{D} \quad (2.9)$$

Substituindo-se a Equação 2.9 na Equação 2.8, a curva de sobreviventes pode ser descrita pela Equação 2.10:

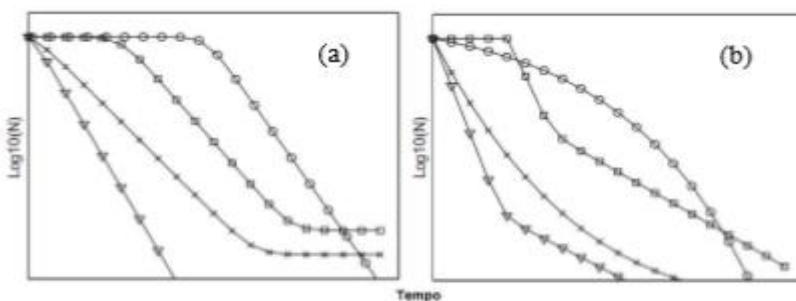
$$\log \frac{N}{N_0} = \frac{-t}{D} \quad (2.10)$$

Que é a equação de Ralm (modelo de Bigellow) para a curva de sobreviventes.

A teoria de que a inativação microbiana segue uma cinética de primeira ordem tem sido debatida por anos. Curvas de sobrevivência logarítmicas lineares são, na realidade, exceções para células vegetativas e esporos (PELEG, 2006). Sendo assim, os métodos tradicionais de primeira ordem para cálculo de esterilização não são aplicáveis e métodos matemáticos alternativos devem ser encontrados (CORRADINI et al., 2005).

Muitos microrganismos apresentam curvas de inativação não lineares, onde se observa um “ombro” no início, seguido de uma fase linear de destruição (fase logarítmica da curva). À medida que a temperatura de inativação aumenta, a fase “lag” ou “ombro” vai diminuindo, levando ao aparecimento de uma reta (SALOMÃO et al., 2007; FUJIKAWA et al., 2000). Pode ser ainda observado um comportamento de inativação logarítmica no início seguido de uma cauda (CERF, 1977). Essas diferentes curvas podem ser vistas na Figura 2.5.

Figura 2.5 Curvas de inativação de microrganismos usualmente observadas na literatura. No gráfico (a) estão representadas as curvas: (Δ) log-linear; (x) log-linear com cauda; (\square) sigmoideal; (\circ) log-linear precedida de ombro. No gráfico (b): (Δ) bifásica; (x) côncava; (\square) bifásica com ombro; (\circ) convexa.



FONTE: GEERAERD et al., 2012.

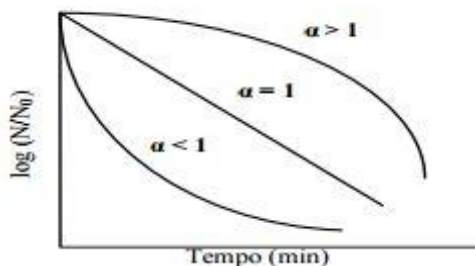
Dentre os modelos mais utilizados na literatura para descrever inativação de microrganismos está o Modelo de Weibull. Este modelo assume que as células e os esporos em uma população têm diferentes resistências e uma curva de sobreviventes é apenas a forma acumulativa de uma distribuição de agentes letais (VAN BOEKEL, 2002). Assumindo-se que o tempo de inativação t segue a distribuição de Weibull, obtém-se a Equação (2.11):

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\left(\frac{t}{\beta}\right)^\alpha \quad (2.11)$$

Onde $N(t)$ é a população de microrganismos (UFC/mL) no instante t ; N_0 a população inicial do microrganismo (UFC/mL); t é o tempo (min); α é o fator de forma e β o fator de escala ou fator de localização.

Segundo Haberbeck (2011), a direção da concavidade da curva de sobreviventes no Modelo de Weibull é uma manifestação das diferentes vias de inativação dos microrganismos (Figura 2.6). Curvas com concavidades voltadas para baixo ($\alpha > 1$) retratam uma população que progressivamente diminui, e o tempo necessário para destruir a mesma fração de microrganismos diminui com o passar do tempo. Concavidades voltadas para cima ($\alpha < 1$), formando uma cauda indicam que a população de microrganismos contém membros que morrem rapidamente. Porém, à medida que o processo de destruição ocorre, os sobreviventes são os mais resistentes, levando a um tempo maior de inativação (PELEG, 2006; ARAGÃO et al., 2007). Uma curva linear de sobreviventes, considerada como cinética de primeira ordem, é um caso especial da equação de Weibull onde $\alpha = 1$ (MCMKELLAR; LU, 2004; PELEG; COLE, 1998).

Figura 2. 6 Curvas de sobrevivência descritas pelo modelo de Weibull com diferentes valores para o fator de forma α .



Fonte: HABERBECK, 2011.

2.5.3 Modelos secundários

Os modelos secundários descrevem como as respostas de parâmetros primários variam com as mudanças de condições ambientais. Alguns exemplos são modelos polinomiais, equação tipo Arrhenius, modelo da raiz quadrada ou de Ratkowsky (2002), entre outros (MCMEEKIN et al., 2002; WHITING, 1995). Além destes modelos, Corradini e Peleg (2005) têm demonstrado que modelos empíricos, como a Equação 2.12, podem ser utilizados para descrever a variação dos parâmetros dos modelos primários com a temperatura e outros fatores como atividade de água, pH, concentração de sanitizantes, dentre outros.

$$y = a \cdot \exp(c \cdot T) \quad (2.12)$$

Em que y é o parâmetro do modelo primário, a e c são as constantes empíricas da equação e T é a temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

2.5.4 Modelos sob condições ambientais variáveis

Possíveis alterações ambientais durante o processamento de alimentos, como variação térmica ou até mesmo queima de lâmpadas durante um processamento por radiação ultravioleta podem ocorrer. Diante disso, pesquisadores como Koutsoumanis (2001) e Valdramidis et al. (2006), dentre outros, desenvolveram modelos considerando variações ambientais como temperatura ou outros fatores.

Peleg (2006) propôs um modelo não isotérmico de inativação baseado no modelo primário de inativação isotérmica de Weibull (Equação 2.11). Considerando uma população de microrganismos cuja inativação isotérmica é adequadamente descrita pelo modelo de Weibull, a construção do modelo não isotérmico segue os passos das equações 2.13 a 2.14. Inicialmente, a Equação 2.11 é reescrita como apresentada na Equação 2.13.

$$\log S(t) = -b(T)t^{\alpha(T)} \quad (2.13)$$

Em que $S(t)$, a razão de sobrevivência momentânea, é igual a $N(t)/N_0$; $b(T)$, um parâmetro do modelo, igual a $1/\beta(T)\alpha$; α é o fator de forma; β é o fator de localização, t é o tempo (min), e T é a temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Considerando a Equação 2.13 como modelo primário, a velocidade de inativação logarítmica isotérmica tempo-dependente é dada pela derivação desta equação, resultando na Equação 2.14.

$$\frac{d \log S(t)}{dt} = -b(T)\alpha(T)t^{\alpha(T)-1} \quad (2.14)$$

De acordo com este modelo proposto por Peleg (2006), o tempo que corresponde a qualquer dada velocidade de sobrevivência é chamado de t^* , o qual foi isolado da Equação 2.13, expresso pela Equação 2.15.

$$t^* = \left(\frac{-\log S(t)}{b(T)} \right)^{\frac{1}{\alpha(T)}} \quad (2.15)$$

Ao substituir a Equação 2.15 na Equação 2.14, a equação diferencial ordinária (EDO) não isotérmica é obtida, representada pela Equação 2.16. Os modelos empíricos que descrevem $b(T)$ e $\alpha(T)$, são combinados com o perfil de temperatura não isotérmico $T(t)$ para produzir os termos $b(T(t))$ e $\alpha(T(t))$.

$$\frac{d \log S(t)}{dt} = -b[T(t)]\alpha[T(t)] \left\{ \frac{-\log S(t)}{b[T(t)]} \right\}^{\frac{\alpha[T(t)]-1}{\alpha[T(t)]}} \quad (2.16)$$

A Equação 2.16 pode ser numericamente resolvida. Para tanto, deve-se fornecer ao software, que pode ser o Matlab por exemplo, o perfil de temperatura $T(t)$ e as equações do modelo secundário, que representam as variações de $b(T)$ e $\alpha(T)$. Como resultado, é possível prever a inativação microbiana com o tempo ($\log S(t)$ vs t), considerando variável a temperatura de processo.

Haberbeck (2011) utilizou o modelo proposto por Peleg (2006) para a predição dos dados não isotérmicos de inativação de *Bacillus coagulans* por tratamento termoquímico utilizando óleo essencial de orégano e o modelo foi validado.

Estes modelos podem servir de base para simulação de uma falha durante o processamento de alimentos em luz ultravioleta para inativação de microrganismos. Considerando a variação de radiação no lugar da temperatura, desta forma substituindo o perfil de temperatura por um perfil de intensidade de radiação, pode ser construído um modelo dinâmico a partir de modelos com intensidade de radiação fixos, adequadamente descritos por Weibull.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados os materiais que foram utilizados para desenvolvimento do presente estudo, os métodos de aplicação de radiação UV-C e a modelagem matemática da inativação de microrganismos deteriorantes de produtos cárneos e maçãs e seus derivados.

3.1 DESENVOLVIMENTO DO EQUIPAMENTO DE RADIAÇÃO UV-C

Para realização do trabalho se fez necessário o desenvolvimento de um equipamento com emissão de radiação UV-C para inativação dos microrganismos alvos.

Baseado nos estudos de Valappil et al. (2009) e nas dimensões das lâmpadas escolhidas (30 cm de comprimento), foram decididas as dimensões do equipamento (40 x 40 x 40 cm). Sabendo-se que a distância em que a amostra se encontra da lâmpada influencia na intensidade de radiação recebida (KOUTCHMA; ORLOWSKA, 2012; PATARO et al., 2011; ORLOWSKA et al., 2015; MÜLLER et al., 2013; CAMINITI et al., 2011), foi decidido fazer o equipamento na forma de um cubo. Assim, colocando a amostra no meio do equipamento, ela receberia a mesma dose de radiação em todas as faces. Isso era importante, pois a ideia inicial seria trabalhar com inativação de microbiota natural. Havia uma lâmpada em cada face do equipamento, totalizando 6 lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão de 8 W (Philips) cada com emissão no comprimento de onda de 253,4 nm. Cada lâmpada possui um reator de 10 W. A escolha das lâmpadas foi baseada na referência de Koutchma e Orłowska (2012), que afirmaram que as lâmpadas UV de vapor de mercúrio são consideradas fontes confiáveis para tratamentos de desinfecção, baixo custo e qualidade. Além disso foi a única lâmpada de emissão no comprimento de onda de UV-C encontrada no comércio local.

A estrutura do equipamento era de madeira. Para ajudar a reflexão da luz, o equipamento foi todo revestido por papel alumínio e fita prateada nas faces internas. O suporte para sustentação da amostra era uma rede de fio de alumínio de 0,3 mm de espessura com bases de sustentação de aço inoxidável. Este suporte foi projetado como descrito para possibilitar a passagem da radiação emitida pela lâmpada de baixo da amostra, permitindo a ação da radiação UV-C na face de baixo do alimento. A coleta dos dados de temperatura foi realizada por meio de um

termopar (tipo J) acoplado ao equipamento e posicionado o mais próximo possível do alimento a ser irradiado.

Já nos primeiros testes foi constatado que, após minutos com todas as lâmpadas acesas, havia um grande aumento de temperatura devido ao aquecimento das lâmpadas, uma vez que uma lâmpada de mercúrio aquece até 40 °C (KOUTCHMA; ORLOWSKA, 2012) e eram 6 lâmpadas ligadas aquecendo. Isto impossibilitaria o uso do equipamento como uma alternativa não térmica, como era o objetivo do trabalho, pois não haveria como confirmar se a inativação alcançada ocorreu devido à ação da radiação ultravioleta ou do aumento de temperatura do sistema. O equipamento desenvolvido pode ser visto na Figura 3.1 e sua planta baixa com mais cortes podem ser visualizados no Apêndice.

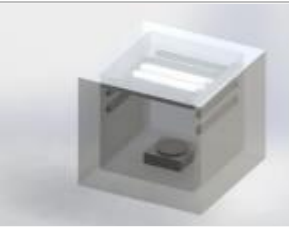
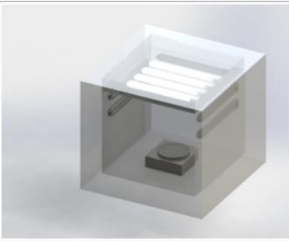
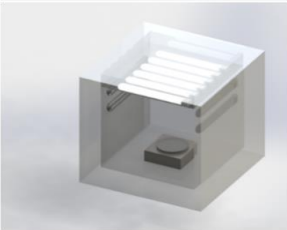
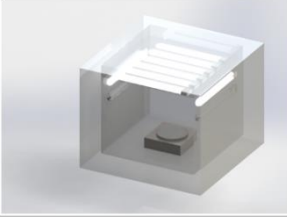
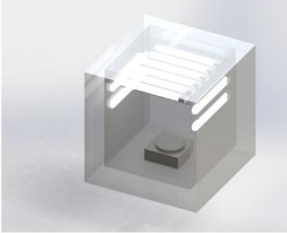
Figura 3. 1 Representação do primeiro equipamento desenvolvido.



Diante disso, surgiu a necessidade de se projetar um equipamento com controle de temperatura. O novo equipamento possui as mesmas dimensões (40 x 40 x 40 cm) do primeiro. O material utilizado para construção do equipamento é aço inoxidável, encamisado com sistema de refrigeração, estando ligado a um banho com controle de temperatura permitindo a circulação do líquido refrigerante (solução de etilenoglicol) nas paredes do equipamento, para controlar a temperatura dentro do equipamento próxima da temperatura ambiente. Além disso, foi decidido trabalhar com inativação de inóculo de microrganismo, assim o novo equipamento possui uma diferente disposição e número de lâmpadas. Pois, uma vez que o inóculo de microrganismo seria sempre na face superior da amostra, não havia necessidade de lâmpadas em todas as faces do equipamento. Com isto, foram colocadas 10 lâmpadas de 24 W (DULUX HNS L24W, OSRAM, Munique, Alemanha) cada (cada lâmpada possui um reator de 24 W), distribuídas na face superior e na

parte superior de duas faces laterais do equipamento, assim como pode ser visto na Figura 3.2. Esta disposição das lâmpadas permite variar a intensidade de radiação do equipamento.

Figura 3. 2 Disposição das lâmpadas para os experimentos com 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas

2 Lâmpadas	
4 Lâmpadas	
6 Lâmpadas	
8 Lâmpadas	
10 Lâmpadas	

O equipamento deve ser ligado 30 minutos antes do experimento, para aquecer e estabilizar as lâmpadas (TREMARIN; BRANDÃO.; SILVA, 2016). A Figura 3.3 mostra a imagem real do equipamento.

Figura 3. 3 Aparato experimental para processamento não térmico de alimentos



Os itens 1 e 4 da Figura 3.3 correspondem a um controlador de temperatura DIGIMEC e um termopar, utilizados para monitorar a temperatura dentro da câmara; item 3, fonte de energia para as lâmpadas e demais dispositivos de medida e controle do equipamento; item 2, temporizador cíclico utilizado para controlar o tempo que a lâmpada deve acender e apagar automaticamente (precisão 0,1 s); item 5, válvula de duas vias para possibilitar a coleta de gases (não utilizado); item 6, banho termostático (MQBTC99-20, Microquímica Equipamentos LTDA) utilizado para controlar a temperatura no interior do equipamento; item 7, lâmpadas germicidas de 24 W (OSRAM, Munique, Alemanha) com espectro de 254 nm; Item 8, *cooler* utilizado para circulação dos gases do interior do equipamento até o ponto de coleta (item 5).

Devido ao desgaste das lâmpadas, a intensidade de radiação emitida pelo equipamento para um mesmo número de lâmpadas pode mudar com o passar dos dias e uso (KOUTCHMA; ORLOWSKA, 2012). Por isso, para que seja conhecida a real intensidade de radiação no

experimento realizado, em todos os testes realizados era medida a intensidade de radiação.

3.1.1 Medida da intensidade de radiação aplicada para inativação

As doses de radiação, ou quantidade de radiação (mJ/cm^2) no tempo aplicado, foram medidas por um radiômetro (Modelo UV-int 150, UV Inte®grator, China) (Figura 3.4) colocado dentro do equipamento.

Figura 3. 4 Radiômetro

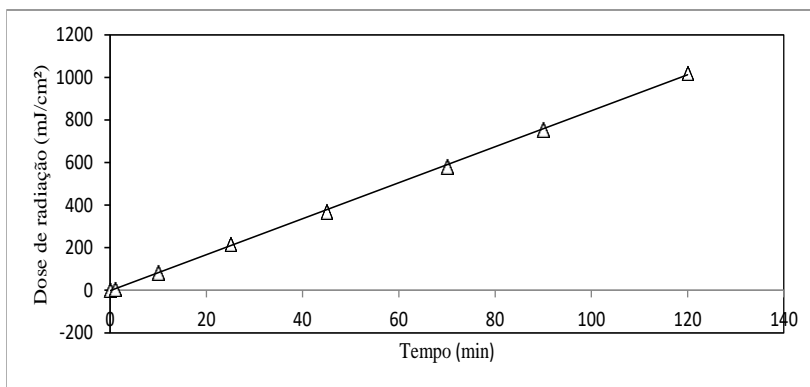


Para inativação do fungo, o radiômetro foi posicionado ao lado da amostra, com o sensor para cima e o mais próximo possível da amostra, sempre no mesmo local. Em cada aplicação de radiação foi medida a dose correspondente.

Para inativação da bactéria, foram avaliados tempos de 1 a 10 minutos para cada condição realizada (2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas) com o radiômetro colocado no mesmo local e posição dos experimentos com fungo. Este procedimento foi necessário pois devido ao limite de detecção do radiômetro não foi possível registrar a dose correspondente aos tempos estudados em segundos.

A dose de radiação aumenta ao decorrer do tempo de forma linear, como pode ser visto um exemplo na Figura 3.5.

Figura 3. 5 Exemplo de variação da dose de radiação pelo tempo.



Assim, as intensidades de radiação foram obtidas através da equação da reta (Equação 3.1):

$$y = ax + b \quad (3.1)$$

Em que o y é a dose de radiação em J/m^2 , e x é o tempo em s , a é o coeficiente angular e corresponde à intensidade de radiação em W/m^2 , b corresponde ao coeficiente linear em J/m^2 e é consequência dos desvios das medições. Uma vez que a dose de radiação fornecida pelo radiômetro é em mJ/cm^2 e o tempo medido em minutos, as devidas transformações de unidades devem ser realizadas (BOLTON, 2000).

3.2 INATIVAÇÃO DE *P. EXPANSUM* POR RADIAÇÃO UV-C

Foram realizados diversos experimentos de inativação de *P. expansum* por aplicação de radiação UV-C. Primeiramente foi necessário o preparo da suspensão de esporos do fungo. Após o preparo da suspensão, foram realizados experimentos para avaliação da cepa mais resistente, a qual seria utilizada nos experimentos de inativação seguintes e expostos na Tabela 3.1.

Tabela 3. 1 Condições avaliadas nos experimentos de inativação de *P. expansum*.

Amostra	Condição	Volume de inóculo (mL)	Intensidades avaliadas
<u>in vitro</u>	Seco	0,1	3
<u>in vitro</u>	Úmido	1	5
maçã	Úmido	0,1	1
suco de maçã	Úmido	0,5	5 + variando a intensidade

Todos os experimentos realizados foram com a suspensão de esporos na concentração inicial de 10^8 UFC/mL de suspensão.

O preparo da suspensão e os experimentos realizados estão descritos nos próximos itens.

3.2.1 Preparo da suspensão de esporos de *P. expansum*

A Figura 3.6 auxilia no entendimento do procedimento experimental realizado para preparo da suspensão de esporos de *P. expansum*.

Figura 3. 6 Fluxograma ilustrativo do processo experimental para o preparo da suspensão de *P. expansum*



As cepas do fungo *Penicillium expansum* (CCT 4680 e CCT 7549) foram doadas pela Coleção de culturas da Fundação Tropical de Culturas André Tosello (Campinas, SP, Brasil). A cepa CCT 7549 foi depositada no acervo pelo Departamento de Identificação da Fundação André Tosello – FAT (Brasil, Campinas-SP) e a cepa CCT 4680 foi isolada de sedimentos de rio da Estação Ecológica da Juréia-Itatins (Brasil, Peruibe-SP) e depositada por Pinto, I. A., conforme consta nos dados referentes aos seus históricos registrados no Catálogo de Linhagens da CCT (1996). O preparo da suspensão de esporos iniciou-se pela pré-esporulação por 7 dias a 25 °C em placas de Petri contendo meio ágar

batata dextrose (PDA, Kasvi®, Brasil) acidificado a pH 3,5 com ácido tartárico 10%.

Os esporos coletados foram adicionados às placas de esporulação, contendo meio Ágar Extrato de Malte (MEA, Kasvi®, Brasil, formulado de acordo com Pitt e Hocking (2009)), e incubados à temperatura de 25 °C por 10 dias. Após este período, adicionou-se 10 mL de água destilada estéril em cada placa e, depois da raspagem, todo o conteúdo foi filtrado em 4 camadas de gaze estéril e centrifugado a 3500 rpm (2000 x g) por 15 minutos, sendo eliminado o sobrenadante. Este procedimento foi repetido até a constatação microscópica da ausência de hifas. Ao final, foi feita a resuspensão dos esporos em água estéril com 0,5% de Tween 80 (SALOMÃO, 2009).

Para a determinação da concentração de esporos da suspensão preparada, foram realizadas diluições seriadas em água peptonada 0,1%, plaqueamento por profundidade em meio PDA (pH 3,5) e incubação a 25°C durante 4 dias. O plaqueamento foi realizado em triplicata. O resultado obtido foi expresso em esporos/mL (SALOMÃO, 2009).

3.2.2 Seleção da cepa de *P. expansum* mais resistente

Um estudo prévio para seleção da cepa mais resistente foi realizado. Para isto, após o preparo da suspensão, cada uma das cepas foi submetida ao tratamento por radiação ultravioleta, passando pelo mesmo procedimento realizado nos experimentos in vitro posteriores à escolha da cepa.

O procedimento descrito no item 3.2.3, utilizando 8 lâmpadas, nos mesmos tempos foi repetido para cada uma das duas cepas estudadas. A cepa que apresentou maior resistência ao tratamento aplicado (menor número de reduções decimais após tratamento) foi escolhida para a continuidade do trabalho.

3.2.3 Inativação de esporos secos de *P. expansum* in vitro

Em seguida do preparo da suspensão, foi inoculado 0,1mL (aproximadamente 10⁸ esporos/mL) no centro da placa de Petri formando uma circunferência (Figura 3.7) (SALOMÃO, 2009).

Figura 3. 7 Inóculo in vitro

O número de placas preparadas da forma descrita foi equivalente ao número de pontos de cada experimento. As placas inoculadas foram colocadas dentro de uma câmara de fluxo laminar por 2 horas para a secagem objetivando a fixação da suspensão. Cada uma das placas foi submetida à radiação ultravioleta por diferentes tempos dentro do equipamento de aplicação de UV-C desenvolvido para este trabalho (Figura 3.3), recebendo, conseqüentemente, diferentes doses de radiação. Ao lado da placa, foi colocado o radiômetro (Figura 3.4) para medida da dose de radiação aplicada em mJ/cm^2 . O cálculo da intensidade de radiação foi realizado como explicado no item 3.2.1. Em seguida do tratamento, foram adicionados 10mL de água peptonada 0,1 % em cada placa para resuspensão dos esporos, correspondendo à primeira diluição, de uma sequência de diluições seriais. As diluições apropriadas (1 mL) foram plaqueadas em meio PDA (pH 3,5) por profundidade e realizada incubação a 25 °C por quatro dias (SALOMÃO, 2009). O plaqueamento foi realizado em duplicata.

A suspensão inoculada na placa de Petri foi submetida a três experimentos diferenciados apenas pela intensidade de radiação aplicada, com diferentes números de lâmpadas (2, 4 e 8 lâmpadas). O experimento na maior intensidade de radiação (com o uso de 8 lâmpadas) foi repetido para verificação de repetibilidade do método.

Com estes procedimentos foram obtidas 3 curvas de inativação de *P. expansum*, cada uma delas com uma intensidade de radiação fixa.

3.2.4 Inativação de esporos úmidos de *P. expansum* in vitro

Posteriormente foram realizados os mesmos experimentos em cinco intensidades de radiação diferentes, como possibilita o

equipamento, sem a etapa de secagem e fixação da suspensão e com o inóculo de 1mL em vez de 0,1mL para verificar se o tratamento sobre a suspensão líquida é mais efetivo. As cinco condições avaliadas foram obtidas com o uso de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas respectivamente. Vale ressaltar que uma mesma disposição de lâmpadas pode obter uma diferente intensidade de radiação após longos períodos de tempo e uso, devido ao desgaste das lâmpadas (KOUTCHMA, ORLOWSKA, 2012).

3.2.5 Inativação de esporos de *P. expansum* em alimentos

Foi avaliado o efeito da radiação UV-C sobre maçãs e suco de maçã.

3.2.5.1 Inativação de *P. expansum* em maçã

Maçãs pequenas (categoria 1 e calibres 165, 180, 198 e 216, como informado pelo fornecedor, Fischer, classificação segundo a Instrução Normativa 5/2006 do Ministério da Agricultura; BRASIL, 2006), cultivar Gala, embaladas, foram adquiridas no comércio local. A fim de eliminar a microbiota natural, as maçãs foram sanitizadas superficialmente com álcool a 70% (v/v) e aferida a massa de cada fruta e colocada cada uma em uma placa de Petri (150mm x 15mm). O procedimento seguinte foi colocar cada placa com a amostra de maçã de uma vez dentro do equipamento de radiação UV-C (Figura 3.3). A maçã foi inoculada com 0,1 mL da suspensão de esporos na concentração de 10^8 UFC/mL (Figura 3.8) (SALOMÃO, 2009) e submetida à radiação UV-C por tempos pré-determinados, baseados nos resultados obtidos nos experimentos de inativação dos esporos in vitro (0, 2, 5, 10, 20 e 60 minutos). Desta forma, cada maçã recebeu uma diferente dose de radiação. A intensidade de radiação utilizada para estes experimentos foi fixa e obtida pelo uso de 10 lâmpadas.

Figura 3. 8 Maçã com inóculo para ser submetida ao tratamento por radiação UV-C



A maçã tratada foi colocada cuidadosamente em um saco de homogeneização estéril, no qual foram adicionados 100 mL de água peptonada (0,1%).

A maçã imersa em água foi manualmente massageada por 60 segundos e a suspensão foi homogeneizada para realização da primeira diluição. As diluições seguintes foram realizadas transferindo-se 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada, e assim sucessivamente. Na sequência, 1 mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri estéreis e descartáveis, previamente identificadas. Por ser por profundidade o plaqueamento, a placa foi então coberta por meio de cultura PDA fundido. As placas foram incubadas invertidas a 25 °C por quatro dias. O plaqueamento foi realizado em duplicata. Decorrido o tempo de incubação, as unidades formadoras de colônia foram contadas para a obtenção da curva de inativação em função do tempo (SALOMÃO, 2009). O experimento foi repetido para obtenção de duplicata de experimentos.

3.2.5.2 Inativação de esporos *P. expansum* em suco de maçã

O suco de maçã da cultivar Gala, concentrado inicialmente a 70° Brix, doado pela Agrícola Fischer, foi diluído em água estéril para a

correção do teor de sólidos solúveis, utilizando um refratômetro (Reichert, AR200), até 12° Brix. Em seguida, 0,5 mL da suspensão de esporos na concentração de 10^8 UFC/mL foi inoculado em 25 mL de suco (aproximadamente 4 mm de altura) em uma placa de Petri destampada (90 x 15mm) e submetida à radiação UV-C sob agitação a 200 rpm (Agitador IKA® color squid white) (Figura 3.9) por tempos pré-determinados, baseados nos resultados obtidos nos experimentos de inativação dos esporos *in vitro* (0, 2, 5, 10, 20 e 30 minutos). Em cada um dos tempos foi retirado 1 mL de amostra para verificação da concentração de esporos após o tratamento (TREMARIN; BRANDÃO; SILVA, 2016).

Figura 3. 9 Suco inoculado sob agitação, com radiômetro ao lado para aplicação da radiação UV-C com controle da dose de radiação para experimento de inativação de esporos de *P. expansum* em suco de maçã.

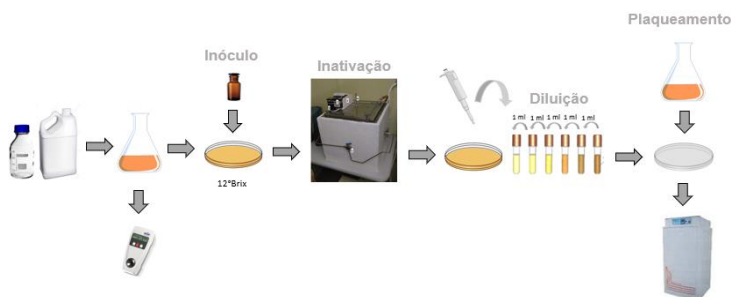


As alíquotas de suco tratado foram diluídas, transferindo 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada, e assim sucessivamente. Na sequência, 1 mL de cada diluição foi transferida para duas placas de Petri estéreis e descartáveis, previamente identificadas. A placa foi então coberta por meio de cultura ágar batata (PDA) pH 3,5. As placas foram incubadas invertidas a 25 °C por quatro dias. O plaqueamento foi realizado em duplicata. Decorrido o tempo de incubação, as unidades formadoras de colônia foram contadas para a obtenção da curva de inativação em função do tempo (TREMARIN; BRANDÃO; SILVA, 2016). O experimento foi repetido para obtenção de uma duplicata em cada uma das intensidades estudadas, obtidas com o uso de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas.

Para validação do modelo dinâmico de predição de inativação de *P. expansum* em suco de maçã, o procedimento foi realizado variando o número de lâmpadas e conseqüentemente a intensidade de radiação. O plaqueamento foi realizado em triplicata.

O procedimento descrito pode ser ilustrado pela Figura 3.10.

Figura 3. 10 Fluxograma ilustrativo do processo experimental para inativação de *P. expansum* em suco de maçã



3.2.5.3 Teste de estabilidade da suspensão de esporos de *P. expansum* em suco de maçã

Para testar a estabilidade dos esporos de *P. expansum* e garantir que a inativação foi realizada pela ação da radiação foram realizados testes em que o suco inoculado nas mesmas condições dos demais testes foi submetido aos mesmos tempos e mesmas condições de temperatura, porém sem aplicação de radiação. Para isto foram inoculados 0,5 mL de suspensão de esporos em 25 mL de suco de maçã previamente diluído para 12° Brix. Este suco com inóculo foi então colocado em estufa incubadora a 20°C. Uma alíquota de 1 mL foi retirada, diluída e plaqueada após 30 e após 60 minutos. Além disso a mesma suspensão utilizada para inocular foi mantida em geladeira e inoculada em 25 mL de suco após 3 e depois após 3,5 e 7 horas. A estabilidade foi comprovada por a concentração do inóculo permanecer a mesma em todas as situações avaliadas. Estes testes foram realizados simulando os procedimentos realizados com o suco durante os dias de experimento, onde o suco e a suspensão de esporos eram diluídos no início do dia e armazenados em geladeira até ser utilizado nos experimentos ao longo do dia. Com isto se fez necessário avaliar se este armazenamento poderia afetar na concentração inicial de esporos viáveis.

3.3 INATIVAÇÃO DE *W. viridescens* POR RADIAÇÃO UV-C

Foram realizados diversos experimentos de inativação de *W. viridescens* por aplicação de radiação UV-C. Primeiramente foi necessário o preparo do inóculo de células viáveis da bactéria. Após o preparo do inóculo foram realizados os experimentos de inativação expostos na Tabela 3.2.

Tabela 3. 2 Condições avaliadas nos experimentos de inativação de *W. viridescens*.

Amostra	Condição	Volume de inóculo (mL)	N₀*	Intensidades avaliadas
<u>in vitro</u>	úmido	0,1	10 ⁸	5 + variando a intensidade
<u>presunto</u>	úmido	0,1	10 ⁸	1
linguiça	úmido	0,1	10 ⁸	1
salsicha	úmido	0,1	10 ⁸	1
salsicha embalada	seco	0,05	10 ⁵	1

*N₀ é a concentração inicial do inóculo expressa em UFC/mL de inóculo

O preparo da suspensão e os experimentos realizados estão descritos nos próximos itens.

3.3.1 Preparo do inóculo de *W. viridescens*

A BAL *W. viridescens* (CCT 5843 ATCC 12706, Lote 22.07) foi adquirida na forma liofilizada da coleção de culturas da Fundação Tropical de Culturas André Tosello (Campinas, SP, Brasil). Conforme consta nos dados referentes aos seus históricos registrados no Catálogo de Linhagens da CCT (1996), a cepa foi isolada de produtos cárneos curados e depositada como *Lactobacillus viridescens* Niven and Evans. Esta cepa tem sido utilizada em trabalhos no grupo de pesquisa do Engebio ao qual o trabalho está inserido, tendo já seus parâmetros de cultivo bem estabelecidos (CAMARGO, 2015; MARTINS, 2015). As cepas foram reidratadas conforme indicação e cultivadas em meio de cultivo caldo MRS (de Man, Rogosa e Sharpe, 1960) (Acumedia Fabrica, Inc. Lansing, Michigan, EUA), e estocadas em microtubos de

polipropileno com meio MRS e 20% de glicerol a -24°C , até sua utilização.

A reativação da cultura para a preparação do inóculo foi realizada em 160 mL de caldo MRS a 30°C durante 18 h, atingindo concentração bacteriana de 10^9 UFC/mL (segundo resultados anteriores obtidos pelo grupo de Microbiologia Preditiva do Engebio, UFSC). Em seguida, foi realizada uma diluição em tubo de ensaio contendo água peptonada para que fosse obtida uma concentração de 10^8 UFC/mL (CAMARGO, 2015; MARTINS, 2015).

3.3.2 Inativação de *W. viridescens* in vitro

A suspensão previamente preparada foi inoculada (0,1 mL de 10^8 UFC/mL) em cada uma das placas de Petri formando uma circunferência (Figura 3.7) (SALOMÃO, 2009). Cada uma dessas placas foi submetida à radiação UV-C por diferentes tempos, dentro do equipamento de radiação UV-C (Figura 3.3), recebendo, conseqüentemente, diferentes doses de radiação. Em seguida ao tratamento, foram adicionados 9,9 mL de água peptonada em cada placa correspondente à primeira diluição, seguida pelas próximas diluições seriadas realizadas nos tubos contendo água peptonada. Foi então plaqueado em profundidade 1 mL em meio em meio MRS com dupla camada e as placas foram incubadas a 30°C , por dois dias (MARTINS, 2015; SILVA, 2015). O plaqueamento foi realizado em duplicata. Ao final desses dias, as unidades formadoras de colônia foram contadas para a obtenção das curvas de inativação em função do tempo para cada condição de intensidade de radiação atingidas com o uso de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas.

3.3.3 Inativação de *W. viridescens* em presunto

A fim de eliminar a microbiota bacteriana natural, uma peça de presunto fresca inteira de aproximadamente 3,4 kg (Presunto Seara Cozido, sem capa de gordura) foi higienizada superficialmente com álcool a 70% (v/v) e fatiada utilizando o fatiador de frios (Metvisa, modelo CFIE 250) em câmara de fluxo laminar, mediante ajuste de espessura da fatia para 1,5mm. Antes do fatiamento, a câmara de fluxo e o fatiador foram higienizados com álcool 70% (v/v) e submetidos à luz UV por 15 minutos. As fatias (cerca de 20 g) foram cortadas com um molde de diâmetro próximo ao de uma placa de Petri para ser colocado dentro desta. Em seguida, as fatias foram inoculadas com 0,1 mL da suspensão de bactéria na concentração de 10^8 UFC/mL.

Cada uma das fatias foi submetida à radiação UV-C por diferentes tempos dentro da câmara de UV-C na condição de dez lâmpadas, recebendo, conseqüentemente, diferentes doses de radiação. Em seguida do tratamento, o presunto era cuidadosamente passado para um saco estéril homogeneizador, no qual era colocado 9,9 mL de água peptonada e o presunto com a água peptonada eram massageados e agitados para homogeneização, correspondente à primeira diluição. Em seguida, as próximas diluições seriadas foram realizadas nos tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril. Foi então plaqueado em profundidade 1mL em meio MRS (de Man, Rogosa e Sharpe, 1960) em dupla camada e em duplicata. Então as placas foram incubadas a 30°C por dois dias. Ao final desses dias foram contadas as unidades formadoras de colônia para a obtenção da curva de inativação em função do tempo (SILVA, 2015).

3.3.4 Inativação de *W. viridescens* em salsicha

Salsichas frescas (Hot Dog Perdigão, Brasil) embaladas a vácuo em pacotes de 500g foram adquiridas no comércio local com tempo de vida útil de aproximadamente 7 dias. As amostras foram submetidas a experimentos diferentes; com aplicação de radiação UV-C na salsicha não embalada ou na salsicha embalada.

3.3.4.1 Salsicha submetida à radiação UV-C sem embalagem

A fim de eliminar a microbiota natural, as salsichas foram higienizadas superficialmente com álcool a 70% (v/v). Após secar o álcool, a massa de cada amostra foi aferida e colocada em uma placa de Petri (150 mm x 15 mm) individualmente. A face que fica para cima, a qual receberá o inóculo e a radiação, recebe uma marcação com caneta marcador. O procedimento seguinte foi colocar cada placa com amostra individualmente dentro da câmara de UV-C, onde a salsicha foi inoculada com 0,05 mL de inóculo na concentração de 10^8 UFC/mL (Figura 3.11).

Figura 3. 11 Salsichas com inóculo de *W. viridescens*

Cada amostra foi submetida à radiação UV-C por um tempo pré-determinado baseado nos resultados obtidos com os experimentos de inativação da bactéria in vitro (0, 1, 2, 5, 10 e 20 segundos). Desta forma, cada salsicha recebeu uma diferente dose de radiação em uma intensidade de radiação fixa obtida com o uso de 10 lâmpadas. A amostra tratada foi colocada cuidadosamente em um saco de homogeneização estéril, no qual foram adicionados 10 mL de água peptonada (0,1%). A salsicha imersa em água foi massageada e homogeneizada manualmente por 60 segundos para realizar a primeira diluição. As diluições seguintes foram realizadas transferindo 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada, e assim sucessivamente. Na sequência, 1 mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri estéreis e descartáveis, previamente identificadas, sendo colocada posteriormente dupla camada de ágar MRS, a fim de criar ambiente microaerófilo, ideal para o crescimento de BAL. O plaqueamento foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas invertidas a 30 °C por 48 horas (CAMARGO, 2015; MARTINS, 2015; SILVA, 2015).

Decorrido o tempo de incubação, as unidades formadoras de colônia foram contadas para a obtenção da curva de inativação em função do tempo. Tendo-se assim, uma estimativa dos melhores parâmetros de inativação pela intensidade de radiação UV-C e o tempo de tratamento das salsichas a ser utilizadas no experimento de vida útil. O procedimento descrito foi realizado duas vezes para obtenção de duplicata.

3.3.4.2 Escolha da embalagem para inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C

Foram realizados experimentos para verificar a possibilidade de aplicação de radiação UV-C na salsicha já embalada. Para isto, foram realizados experimentos in vitro com o acréscimo das embalagens com possibilidade de utilização para embalagem dos alimentos a ser irradiados e conservados. Assim, a suspensão previamente preparada foi inoculada (0,1 mL de 10^8 UFC/mL) em cada uma das placas de Petri formando uma circunferência (SALOMÃO, 2009). As embalagens avaliadas foram cortadas usando placa de Petri como molde e colocadas sobre o inóculo forrando todo o fundo das placas inoculadas. Cada uma dessas placas foi submetida à radiação UV-C por diferentes tempos, dentro do equipamento de radiação UV-C, recebendo, conseqüentemente, diferentes doses de radiação. Todos os experimentos foram realizados com o uso de 10 lâmpadas, ou seja, sob a mesma intensidade de radiação. Em seguida ao tratamento, foram adicionados 9,9 mL de água peptonada em cada placa correspondente à primeira diluição, seguida pelas próximas diluições seriadas realizadas nos tubos contendo água peptonada. Foi então plaqueado em profundidade 1 mL em meio em meio MRS com dupla camada e as placas foram incubadas a 30 °C, por dois dias (MARTINS, 2015; SILVA, 2015). O plaqueamento foi realizado em duplicata. Ao final desses dias, as unidades formadoras de colônia foram contadas para a obtenção das curvas de inativação em função do tempo.

Foram avaliadas duas embalagens diferentes, primeiramente uma formada por um filme de multicamadas na seguinte proporção 11% de poliéster, 14% de nylon e 75% de polipropileno nas dimensões de 17 x 12 cm, disponível no laboratório. A segunda embalagem avaliada era constituída de polietileno/poliamida (PA/PE) (saco liso APEX, Maquiplast – 12x13x0,20 cm). A escolha desta embalagem foi baseada no estudo de Manzocco et al. (2016) e indicação do fornecedor. As amostras que apresentaram inativação mesmo com o uso da embalagem indicaram a possibilidade da aplicação da radiação para inativação do

microrganismo deteriorante no alimento já embalado, possibilitando posteriores experimentos.

3.3.4.3 Inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C

Foi realizado também um experimento como descrito no item 3.3.4.1, mas foi acrescido pelo procedimento de secagem do inóculo na câmara de fluxo. Após a constatação visual de que o inóculo estava seco, após um tempo médio de 15 minutos, a salsicha foi colocada em uma embalagem de polietileno/poliamida (PA/PE) (saco liso APEX, Maquiplast – 12x13x0,20 cm), previamente higienizada com álcool 70%, e selada a vácuo (Selovac, modelo 200b). A escolha da embalagem foi baseada no estudo de Manzocco et al. (2016) e indicação do fornecedor. A salsicha embalada a vácuo foi submetida ao tratamento por UV-C em determinados tempos. Este procedimento foi realizado para verificar a possibilidade de aplicar a radiação no alimento já embalado. O procedimento descrito foi realizado duas vezes para obtenção de duplicata.

3.3.5 Inativação de *W. viridescens* em linguça

O procedimento realizado para a linguça foi o mesmo realizado para a salsicha, apenas com o acréscimo do corte de uma extremidade da linguça para caber na placa de Petri e na embalagem para realização da primeira diluição de uma série de diluições para o plaqueamento.

Linguças mistas fininhas cozidas e defumadas embaladas a vácuo em pacotes de 240 g (Perdigão, Brasil) foram adquiridas no comércio local com tempo de vida útil de aproximadamente 7 dias. A fim de eliminar a microbiota natural, as linguças foram higienizadas superficialmente com álcool a 70% (v/v). A extremidade da linguça foi retirada para ter dimensões compatíveis com a placa e saco de homogeneização utilizados. A massa foi aferida e as amostras foram colocadas em placa de Petri (150 mm x 15 mm) individualmente.

O procedimento seguinte foi colocar cada placa com linguça dentro do equipamento de inativação por radiação UV-C (Figura 3.3), onde esta foi inoculada com 0,1 mL de inóculo na concentração de 10^8 UFC/mL e submetida à radiação ultravioleta por tempos pré-determinados baseados nos resultados obtidos com os experimentos de inativação da bactéria in vitro (0, 1, 2, 5, 10 e 20 segundos). Desta forma, cada amostra recebeu uma diferente dose de radiação em uma intensidade

de radiação fixa de $1,93 \text{ W/m}^2$. A linguiça tratada foi colocada cuidadosamente em um saco de homogeneização estéril, no qual foram adicionados 100 mL de água peptonada (0,1%). A linguiça imersa em água foi homogeneizada manualmente por 60 segundos para realizar a primeira diluição. As diluições seguintes foram realizadas transferindo 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada, e assim sucessivamente. Na sequência, 1 mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri estéreis e descartáveis, previamente identificadas, sendo posteriormente colocada dupla camada de ágar MRS. As placas foram incubadas invertidas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas. O plaqueamento foi realizado em duplicata (CAMARGO, 2015; MARTINS, 2015; SILVA, 2015). Transcorrido este tempo, foram contadas as unidades formadoras de colônia para a obtenção da curva de inativação em função do tempo. O procedimento foi repetido para obtenção de duplicata.

3.4 ESTUDOS DE VIDA ÚTIL DE SALSICHA EMBALADA A VÁCUO COM INÓCULO DE *W. viridescens* SUBMETIDOS À RADIAÇÃO UV-C

Dois experimentos de vida útil foram realizados para avaliar o efeito da aplicação de UV-C para inativação de BAL em produtos cárneos embalados a vácuo.

As amostras de salsichas (Tipo Hot dog, pacote de 3,5 kg a vácuo, Perdigão, Brasil) foram higienizadas com água estéril e álcool 70%, marcadas na face a receber o inóculo e inoculadas com 0,05 mL de inóculo de *W. viridescens* na concentração de 10^5 UFC/mL de inóculo que resulta numa concentração inicial de aproximadamente 10^2 UFC/g de salsicha. Esta concentração foi escolhida porque segundo o FDA (2001), o nível de inóculo utilizado com o objetivo de estudar a estabilidade de alimentos (*Microbiological Challenge Testing*) é entre 10^2 e 10^3 células/g de produto. Além disso, esta é uma concentração inicial comumente encontrada em produtos, assim como relatado no trabalho de Battistella (2008). Após a secagem do inóculo, as amostras foram embaladas e seladas a vácuo (Selovac, modelo 200b).

O procedimento seguinte foi colocar cada amostra separadamente dentro do equipamento de radiação UV-C (Figura 3.3), onde a salsicha foi submetida à radiação UV-C na intensidade de $1,93 \text{ W/m}^2$ por 5 segundos (tempo estabelecido após os testes de inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo item 3.3.4.2). Amostras com inóculo sem tratamento por radiação UV-C foram preparadas para

comparação das diferenças no tempo de vida útil das amostras irradiadas e das não irradiadas. As salsichas avaliadas foram colocadas em uma estufa incubadora com temperatura aproximada de 8 °C (monitorada por datalogger previamente calibrado com resolução de 0,1 °C a cada cinco minutos), como pode ser visto na Figura 3.12, até atingir a fase estacionária. A escolha da temperatura de armazenamento foi baseada no estudo de Battistella (2008) e Silva (2015) e procurando simular a realidade de que costuma haver variações de temperatura com o tempo.

Figura 3. 12 Disposição das salsichas na estufa incubadora com controle da temperatura



Duas amostras, uma que foi submetida ao tratamento por UV-C e uma controle (sem tratamento), em determinados intervalos de tempo de geralmente 48 horas, foram retiradas da estufa incubadora para a determinação da concentração celular de *W. viridescens*. Um volume de 10 mL de água peptonada (0,1%) foi adicionado à salsicha na embalagem e a amostra imersa em água foi massageada e homogeneizada manualmente por 60 segundos para realizar a primeira diluição. As diluições seguintes foram realizadas transferindo-se 1 mL da diluição anterior para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada, e assim sucessivamente. Na sequência, 1 mL de cada diluição foi transferido para placas de Petri estéreis e descartáveis, previamente identificadas, sendo

posteriormente colocada dupla camada de ágar MRS. As placas foram incubadas invertidas a 30 °C por 48 horas. Este procedimento foi repetido até a identificação da contagem microbiológica de BAL estabilizar. A duração da vida útil da salsicha foi estabelecida como o tempo correspondente para a contagem atingir 10^7 UFC/g de alimento (concentração que a torna imprópria para o consumo (SLONGO et al, 2009)). Este tempo foi obtido pelo ajuste do modelo Baranyi e Roberts, descrito pela Equação 2.2.

3.4.1 Caracterização da salsicha utilizada no experimento de vida útil

Análises de atividade de água, pH e concentração de cloretos foram realizadas nas salsichas utilizadas para o estudo de vida útil. As análises foram realizadas no dia da abertura da embalagem e em triplicata com salsichas de diferentes pontos da embalagem (SILVA, 2015).

Para a análise de atividade de água, aproximadamente 2,5 g de alimento levemente triturados foram colocados em recipiente próprio para leitura no aparelho de atividade de água (Aqualab, modelo SERIES 3TE), previamente calibrado. A resolução do equipamento é de 0,001.

O pH do produto cárneo foi medido em três diferentes pontos (em cada extremidade e no centro) de três salsichas utilizando um pHmetro para sólidos (TESTO, modelo 205), previamente calibrado, com resolução de 0,01.

A determinação da concentração de cloreto de sódio (NaCl) no produto foi feita mediante análise da concentração total de cloretos e posterior conversão, segundo metodologia proposta por Aliño et al. (2011).

Para medir a concentração de cloretos, 2 g de amostra previamente triturados foram homogeneizados com água destilada em um homogeneizador Ultra Turrax (IKA, modelo T25) a 20000 rpm por um minuto. A solução obtida foi transferida para um balão volumétrico, sendo o volume de 100 mL completado com água destilada. Essa solução foi centrifugada a 9000 rpm por 10 minutos. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi analisada em analisador automático de cloretos previamente calibrado. Os resultados foram obtidos em miligramas de Cl por litro de solução. A partir desse valor foi calculada a concentração de NaCl na amostra de acordo com a Equação (3.2).

$$X_{NaCl} = \left(\frac{L V}{m}\right) \left(\frac{M_{NaCl}}{M_{Cl}}\right) 100 \quad (3.2)$$

Em que x_{NaCl} é a concentração de cloreto de sódio (g NaCl/100g produto cárneo), L é a leitura fornecida pelo equipamento (em g Cl/L de solução), V é o volume (em L) da solução (amostra + água destilada), m é a massa da amostra (em g), M_{NaCl} é a massa molar do cloreto de sódio (58,44 g/mol) e M_{Cl} é a massa molar do cloreto (35,45 g/mol).

3.5 MODELAGEM MATEMÁTICA DAS CURVAS DE INATIVAÇÃO MICROBIANA

Através das curvas obtidas com intensidade fixa de radiação para inativação de *P. expansum* in vitro e em maçãs, foram estabelecidos os modelos primários que descrevam a inativação do fungo em função do tempo em uma intensidade de radiação fixa. Para inativação do fungo em suco de maçãs foram obtidos modelos primários, secundários e um modelo dinâmico de predição da inativação do fungo em condição variável de intensidade de radiação.

Para inativação de *W. viridescens* in vitro foram estabelecidos os modelos primários, secundários e dinâmico. Modelos primários foram ajustados aos dados de inativação de *W. viridescens* em salsicha e linguiça, além da condição in vitro.

3.5.1 Modelos primários

O software GInaFIT®, Versão 1.6 (GEERAERD et al., 2012) foi utilizado para estimar os parâmetros de inativação. Para modelar a inativação por radiação UV-C de *P. expansum* foi comparada a habilidade dos modelos de Bigelow Log-linear (Equação 3.3), Log-linear + cauda (Equação 3.4) e Weibull (Equação 3.5) para descrever as curvas de sobreviventes. Para *W. viridescens* foram utilizados os modelos Log-linear + ombro (Equação 3.6) e Weibull. Os modelos foram comparados utilizando os índices estatísticos apresentados no item. 3.9.4.

Os modelos de inativação foram:

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -k \cdot t \quad (3.3)$$

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0 - N_{res}}\right) = -k \cdot t - N_{res} \quad (3.4)$$

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\left(\frac{t}{\beta}\right)^\alpha \quad (3.5)$$

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\frac{k \cdot t}{\ln(10) + \log\left(\frac{\exp(k \cdot SI)}{(1 + \exp(k \cdot SI) - 1) * \exp(k \cdot t)}\right)} \quad (3.6)$$

Em que N_0 (UFC/mL) é a concentração inicial de esporos de fungo ou concentração inicial de inóculo (UFC/mL); $N(t)$ (UFC/mL) é a concentração de sobreviventes depois do tempo t (min ou s); k é conhecido como o inverso do valor D , que é o tempo (min ou s) para reduzir em 1 ciclo logarítmico a concentração celular; N_{res} é a subpopulação mais resistente (UFC/mL) concentração; β é conhecido como fator de escala e pode ser definido como “o tempo para uma redução decimal” se $\alpha = 1$ e α é o fator de forma; SI (shoulder length) é o comprimento do ombro (min ou s).

Após a escolha do modelo primário, este foi ajustado pelo Matlab® 2015 e foram então calculados os índices estatísticos bias e exatidão (apresentados no item 3.5.4), para verificar se o modelo se ajustou bem aos dados experimentais.

3.5.1.1 Modelagem do crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo

Por mais que o experimento de vida útil não tenha sido realizado em condição isotérmica, o Modelo de Baranyi e Roberts (Equação 2.2) foi ajustado aos dados para obtenção do tempo para atingir 10^7 UFC/g de alimento. O ajuste foi realizado no programa Matlab® 2015.

3.5.2 Modelos secundários

Após a obtenção dos parâmetros primários fator de forma (α) e fator de escala (β), quatro equações correspondentes aos modelos secundários (Tabela 3.3) foram comparadas para seleção do modelo que melhor descreveu a influência da variação da intensidade de radiação sobre cada um destes parâmetro. Os valores de β foram obtidos a partir das intensidades fixas de radiação, atingidas com o uso de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas. O ajuste do modelo secundário selecionado e os resíduos do ajuste foram obtidos pelo Microsoft Office Excel® (2010).

Tabela 3. 3 Modelos secundários avaliados para descrever a influência da intensidade de radiação no parâmetro fator de escala (β) da inativação de *W. viridescens*.

Modelo secundário	Equação
Linear	$\beta = aI + b$
Raiz quadrada	$\sqrt{\beta} = b(I - I_{min})$
Tipo Arrhenius	$\ln\beta = a\left(\frac{1}{I}\right) + b$
Exponencial	$\beta = a \cdot \exp(bI)$

3.5.3 Modelo com variação da intensidade de UV-C

Para predição da inativação dos microrganismos sob intensidades variadas de radiação, foi seguido o modelo não isotérmico de inativação proposto por Peleg (2006), o qual se baseou no modelo de inativação isotérmica de Weibull (Equação 3.5). Para o desenvolvimento deste trabalho foi considerada a variação da intensidade de radiação e não da temperatura, a qual foi constante em todos os experimentos e não foi o parâmetro estudado. A Equação 3.5 pode ser reescrita como apresentada na Equação 3.7.

$$\text{Log}S(t) = -b(I)t^{\alpha(I)} \quad (3.7)$$

$S(t)$, a razão de sobrevivência momentânea, é igual a $N(t)/N_0$; $b(I)$, um parâmetro do modelo, igual a $1/\beta(I)\alpha$; α é o fator de forma; β é o fator de localização, t é o tempo (min), e I é a intensidade de radiação (W/m^2). Considerando a Equação 3.7 como modelo primário, a taxa de inativação

logarítmica tempo-dependente é dada pela derivação desta equação, resultando na Equação 3.8.

$$\frac{d \log S(t)}{dt} = -b(I)\alpha(I)t^{\alpha(I)-1} \quad (3.8)$$

De acordo com este modelo proposto por Peleg (2006), o tempo que corresponde a qualquer dada taxa de sobrevivência é chamado de t^* , o qual foi isolado da Equação 3.6, expresso pela Equação 3.9.

$$t^* = \left(\frac{-\log S(t)}{b(I)} \right)^{\frac{1}{\alpha(I)}} \quad (3.9)$$

Ao substituir a Equação 3.9 na Equação 3.8, a equação diferencial ordinária (ODE) com variação de intensidade de radiação é obtida, representada pela Equação 3.10. Os modelos empíricos que descrevem $b(I)$ e $\alpha(I)$, são combinados com o perfil de variação de intensidade de radiação $I(t)$ para produzir os termos $b(I(t))$ e $\alpha(I(t))$.

$$\frac{d \log S(t)}{dt} = -b[I(t)]\alpha[I(t)] \left\{ \frac{-\log S(t)}{b[I(t)]} \right\}^{\frac{\alpha[I(t)]-1}{\alpha[I(t)]}} \quad (3.10)$$

A Equação 3.10 pode ser numericamente resolvida. Para tanto, deve-se fornecer ao *software* a variação da intensidade de radiação $I(t)$ e as equações do modelo secundário, que representam as variações de $b[I]$ e $\alpha[I]$. Como resultado, é possível prever a inativação microbiana com o tempo ($\log S(t)$ vs t), considerando variável a intensidade de radiação de processo.

Segundo Peleg (2006), a utilização de modelos dinâmicos não é apenas útil para planejar processos, mas também para assegurarem a correção de falhas ocorridas nos equipamentos ou falhas humanas de onde os perfis descontínuos podem ser resultantes. No caso de intensidade de radiação, estas diferenças poderiam ocorrer por envelhecimento das lâmpadas ou até mesmo por queima durante o processo.

As curvas que predizem a inativação de *P. expansum* através do modelo dinâmico foram obtidas com o auxílio do *software* Matlab (MathWorks®, Natick, USA). A resolução da equação diferencial foi feita através do método de Range Kutta.

A predição obtida foi comparada às curvas de inativação experimental obtidas nas mesmas condições preditas, para validação do modelo.

3.5.4 Avaliação estatística dos modelos

Para se avaliar a capacidade preditiva do modelo de Weibull, os seguintes parâmetros estatísticos foram calculados: coeficiente de correlação (R^2) e raiz do erro médio quadrático (RMSE). O R^2 fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas. Quanto maior o valor ($0 < R^2 < 1$), melhor é a predição do modelo (JIN et al., 2009). O RMSE (Equação 3.11) apresenta o modelo de erro para os dados, por exemplo o quanto os valores preditos são próximos dos valores observados (ZIMMERMANN et al., 2011). O RMSE é uma medida da variabilidade residual e, quanto menor o seu valor, maior a capacidade do modelo de descrever os dados.

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum(\text{valor}_{\text{observado}} - \text{valor}_{\text{predito}})^2}{n - p}} \quad (3.11)$$

Em que n é o número de observações experimentais e p o número de parâmetros do modelo. Estes cálculos foram realizados pela ferramenta GInaFIT®.

Para seleção do modelo secundário, foram calculados fator bias e fator exatidão além dos mesmos índices calculados para a escolha do modelo primário. Todos os índices foram calculados com o auxílio do programa Microsoft Office Excel®.

O fator bias (Equação 3.12) é uma estimativa para avaliar a diferença média entre os valores observados e preditos. Fator bias igual a 1 significa que o valor observado é exatamente igual ao predito. No entanto, quando bias maior 1, o valor predito é maior que o observado e indica que o modelo falha de forma segura (*fail-safe*) para crescimento microbiano, enquanto fator bias menor 1, significa que o predito é menor que o observado e que o modelo falha de forma perigosa (*fail-dangerous*) (LONGHI et al., 2013). No caso de modelo de inativação vale o inverso.

$$\text{fator bias} = 10^{\left(\frac{\sum \log(\text{valor}_{\text{predito}}/\text{valor}_{\text{observado}})}{n}\right)} \quad (3.12)$$

O fator exatidão (Equação 3.13) é a medida da diferença média absoluta entre os valores preditos e observados, por se tratar de valores absolutos é sempre maior ou igual a 1, sendo que quanto maior o seu valor, menos precisa a estimativa da média.

$$\text{fator exatidão} = 10^{\left(\frac{\sum |\log(\text{valor}_{\text{predito}}/\text{valor}_{\text{observado}})|}{n}\right)} \quad (3.13)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos resultados referentes à inativação de *P. expansum* e à inativação de *W. viridescens* in vitro e em alimentos pela aplicação de radiação UV-C.

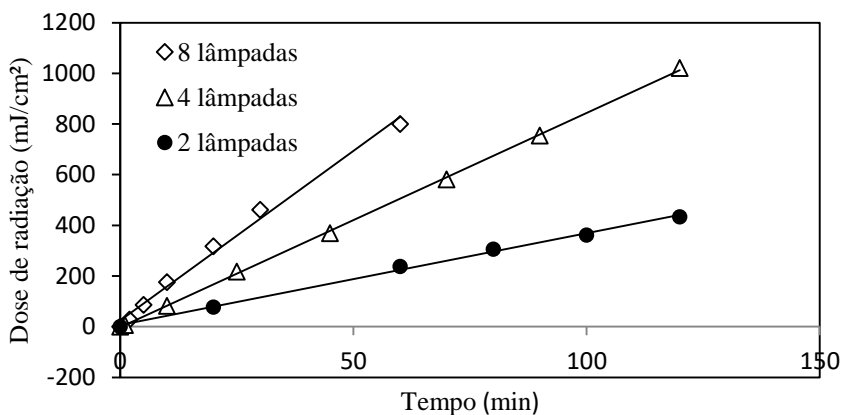
4.1 INATIVAÇÃO DE *P. expansum*

As intensidades de radiação foram medidas e calculadas para cada um dos experimentos realizados. Pois com o uso, a intensidade de radiação emitida pelo equipamento para um mesmo número de lâmpadas pode mudar com o passar dos dias devido ao desgaste das lâmpadas (KOUTCHMA; ORLOWSKA, 2012).

4.1.1 Intensidades de radiação utilizadas nos experimentos de inativação de esporos de *P. expansum* secos.

As intensidades de radiação obtidas estão descritas na Tabela 4.1, através da equação da reta, obtida pelo ajuste linear do Excel®, uma vez que a dose de radiação aumenta ao decorrer do tempo de forma linear, como pode ser visto na Figura 4.1.

Figura 4. 1 Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4 e 8 lâmpadas para os experimentos de inativação de *P. expansum* in vitro.



Os coeficientes angulares (a) das equações de reta, apresentadas na Tabela 4.1 onde y é a dose de radiação em mJ/cm^2 , e x é o tempo em minutos, são correspondentes à intensidade de radiação em que os microrganismos são submetidos em W/m^2 após o ajuste de unidades, como pode ser visto nas Equações 4.1, 4.2 e 4.3.

$$y \left[\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2} \right] = a \left[\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2 \cdot \text{min}} \right] \cdot x[\text{min}] + b \left[\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2} \right] \quad (4.1)$$

$$a = \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2 \cdot \text{min}} \cdot \frac{1 \text{min}}{60 \text{seg}} \cdot \frac{10^4 \text{cm}^2}{\text{m}^2} \cdot \frac{10^{-3}}{10^{-3}} \quad (4.2)$$

$$a = \frac{\text{W}}{\text{m}^2} \quad (4.3)$$

Tabela 4. 1 Valores de intensidade de radiação para inativação de inóculo *P. expansum* in vitro seco.

Número de Lâmpadas	Equação da Reta	R ²	Intensidade (W/m ²)
2	$y = 3,6183x + 7,0062$	0,997	0,60
4	$y = 8,4549x - 2,2755$	1,000	1,41
8	$y = 13,409x + 23,857$	0,992	2,20

4.1.2 Avaliação da cepa mais resistente à radiação UV-C

As cepas de *P. expansum* CCT 7549 e CCT 4680 foram submetidas a 2,20 W/m^2 na condição in vitro de UV-C e os resultados mostraram 2,35 e 4,02 reduções decimais, respectivamente após 45 minutos de exposição. Assim, a cepa CCT 7549 foi escolhida para continuidade dos experimentos de inativação do presente trabalho, por ter demonstrado maior resistência.

4.1.3 Inativação de *P. expansum* in vitro

Após a obtenção das curvas de inativação de *P. expansum* sob radiação UV-C, nas intensidades (0,60, 1,41 e 2,20 W/m^2), os modelos de Weibull, Log-linear e Log-linear + cauda (GEERAERD, 2012) foram ajustados aos dados experimentais e comparados, através de índices

estatísticos, para se verificar o que melhor descreve essas curvas. A Tabela 4.2 apresenta os índices estatísticos obtidos.

Tabela 4. 2 Índices estatísticos do ajuste dos modelos primários de Weibull, Log linear + cauda e Log-linear aos dados experimentais de inativação de esporos secos de *P. expansum*, pela aplicação de radiação UV-C in vitro.

Intensidade (W/m ²)	R ² Weibull	R ² Log- linear+cauda	R ² Log-linear	RMSE Weibull	RMSE Log- linear+cauda	RMSE Log- linear
0,60	0,9495	0,8833	0,8688	0,2361	0,3590	0,3108
1,41	0,9496	0,8715	0,8302	0,2619	0,4182	0,4299
2,20	0,9608	0,8895	0,8509	0,1814	0,3046	0,3310

O coeficiente de determinação (R^2) fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas. Quanto mais próximo de 1, melhor é a predição do modelo. O erro médio quadrático (RMSE) apresenta o modelo de erro para os dados, por exemplo o quanto os valores preditos são próximos dos valores observados. O RMSE é uma medida da variabilidade residual e, quanto menor o seu valor, maior a capacidade do modelo de descrever os dados.

O Modelo de Weibull foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais, apresentando valores de R^2 mais próximos de 1 para todas as condições avaliadas e menores valores de RMSE. O motivo deste modelo ser o que melhor se ajustou pode ser explicado pelo fato de a distribuição Weibull ser descrita pelos parâmetros de forma e escala. Dependendo dos valores desses parâmetros, a distribuição pode assumir diversas formas. A distribuição Weibull é uma das distribuições mais comumente usadas para modelar dados assimétricos (PAES, 2009; MINITAB 18). Syamaladevi et al. (2014) e Syamaladevi et al. (2015) também escolheram o Modelo de Weibull para descrever a inativação de *P. expansum* por radiação UV-C. Com isto foram calculados os fatores bias e exatidão, para todas as condições estudadas, e estes estão apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 R^2 , RMSE, Fator bias e Fator exatidão referentes ao ajuste do modelo de Weibull aos dados de inativação de esporos de *P. expansum* seco com a aplicação de três diferentes intensidades de radiação UV-C.

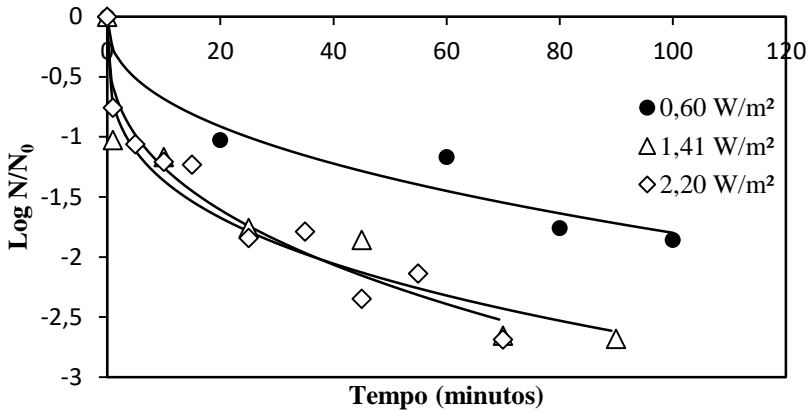
Intensidade (W/m²)	R²	RMSE	Fator bias	Fator exatidão
0,60	0,9495	0,2361	0,9990	1,1158
1,41	0,9496	0,2619	0,9733	1,1397
2,20	0,9608	0,1814	0,9812	1,1091

Os fatores bias e exatidão são índices de desempenho do modelo. Estes valores mostram se o valor predito pelo modelo está ou não próximo do valor observado. Um fator bias superior a 1,0 indica que o valor predito é maior do que o valor observado. Por outro lado, um fator bias menor do que 1,0 indica que o valor predito é menor do que o valor observado. O fator exatidão é a soma das diferenças absolutas entre os valores preditos e observados. Um fator exatidão de 1 mostra que há perfeita concordância entre todos os valores preditos e observados. Quanto maior for este valor, mais baixa é a sua precisão (SLONGO et al., 2009). Os valores de bias e

exatidão apresentados na Tabela 4.3 estão próximos de 1, mostrando que a resposta observada é próxima da resposta predita.

A Figura 4.2 apresenta as curvas obtidas a partir dos dados experimentais da inativação de esporos de *P. expansum* em radiações fixas de 0,60, 1,41 e 2,20 W/m², com o ajuste do modelo de Weibull.

Figura 4. 2 Curvas de inativação de esporos de *P. expansum* in vitro, após secagem do inóculo, ao longo do tempo pela aplicação de diferentes intensidades de radiação UV-C (0,60; 1,41 e 2,20 W/m²). A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados.

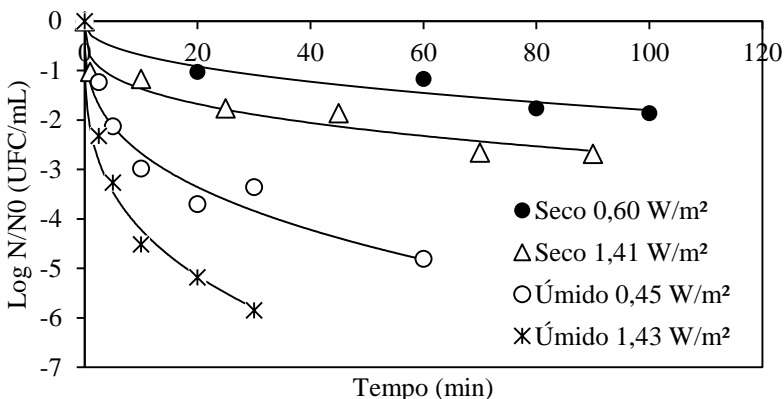


Como pode ser visto na Figura 4.2, a aplicação de uma menor intensidade de radiação (0,60 W/m²) teve menor efeito na inativação dos esporos. Para atingir aproximadamente 2 reduções logarítmicas, foram necessários mais de 100 minutos de aplicação de radiação. Com intensidade de radiação maior (1,41 e 2,20 W/m²), em aproximadamente 40 minutos, esta mesma redução foi atingida. Porém, foi constatado que não há diferença entre essas maiores intensidades de radiação para a inativação do fungo que apresenta a mesma resistência nas duas condições testadas.

Com os resultados obtidos e devido ao grande número de trabalhos com aplicação da técnica em água e sucos de frutas (BARROSO; WOLF, 2009; KOUTCHMA, 2009; KOUTCHMA; ORLOWSKA, 2012), foram realizados testes para verificar a possibilidade de um maior efeito de inativação com a suspensão de

esporos úmidos. Desta forma, foram realizados testes sem secar a suspensão colocada na placa. Os resultados obtidos apresentaram uma maior inativação, sendo confirmada a necessidade de alteração dos procedimentos com o fungo, excluindo a etapa de secagem da suspensão, para a obtenção de um maior efeito de inativação. Os resultados são apresentados na Figura 4.3.

Figura 4. 3 Curvas de inativação de esporos de *P. expansum* úmido e seco sob condição in vitro em diferentes intensidades de radiação UV-C (aproximadamente 0,50 e 1,40 W/m²). A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.



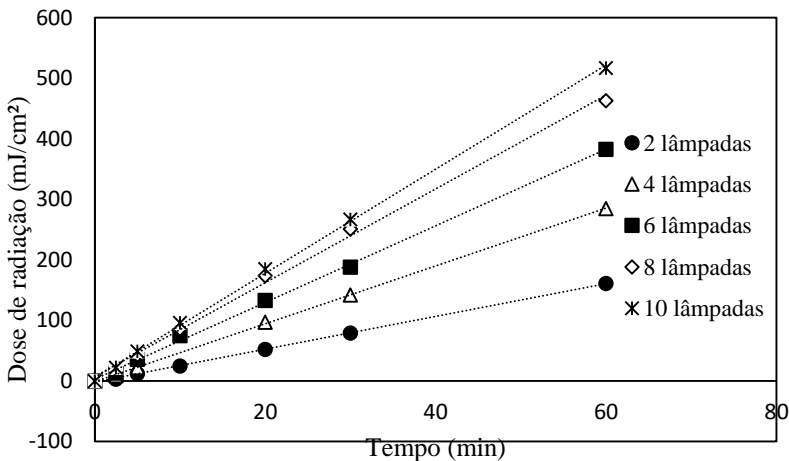
Ao se comparar os resultados de inativação de *P. expansum*, utilizando radiações por volta de 0,50 e 1,40 W/m² nas condições de inóculo seco e úmido, nota-se que o tratamento foi mais efetivo na suspensão úmida. Pois, com intensidades de aproximadamente 0,50 W/m², a aplicação de radiação por 20 minutos é suficiente para mais de 3 reduções decimais dos esporos úmidos, enquanto no mesmo tempo apenas 1 redução dos esporos secos é atingida. Diferença também foi constatada com a comparação da aplicação de aproximadamente 1,40 W/m² nas duas condições avaliadas. Com a aplicação da radiação nesta intensidade por 20 minutos consegue-se aproximadamente 1,7 reduções dos esporos secos, como previsto pelo modelo, ao passo que mais de 5 reduções dos esporos úmidos podem ser alcançadas. Na aplicação em alimentos, pode-se aumentar a eficiência do tratamento, por exemplo, através da aspersão de água nas maçãs antes da submissão à UV-C. Estes resultados comprovam também a efetividade da aplicação de UV-C para

a redução de *P. expansum* e motivou a modelagem da inativação dos esporos desse fungo in vitro, sem secar em cinco intensidades de radiação possíveis com o aparato experimental utilizado no desenvolvimento da tese, variando o número de lâmpadas.

4.1.4 Modelagem da inativação de esporos úmidos de *P. expansum* in vitro por radiação UV-C utilizando cinco diferentes intensidades de radiação

Como em todos os experimentos, fez-se necessário o cálculo das intensidades de radiação nas cinco diferentes condições testadas (2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas). As intensidades de radiação obtidas estão descritas na Tabela 4.4, através da equação da reta, obtida pelo ajuste linear do Excel, uma vez que a dose de radiação aumenta ao decorrer do tempo de forma linear, como pode ser visto na Figura 4.4.

Figura 4. 4 Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de *P. expansum* in vitro.



Os coeficientes angulares das equações de reta, apresentadas na Tabela 4.4 onde o y é a dose de radiação em mJ/cm², e x é o tempo em minutos, quando multiplicado por 1/6, são correspondentes à intensidade de radiação em que os microrganismos são submetidos em W/m², como pode ser visto nas Equações 4.1, 4.2 e 4.3.

Tabela 4. 4 Valores de intensidade de radiação para inativação de *P. expansum* in vitro.

Número de Lâmpadas	Equação da Reta	R ²	Intensidade (W/m ²)
2	$y=2,7097x - 1,9265$	1,000	0,452
4	$y=4,7767x - 1,044$	1,000	0,796
6	$y=6,335x + 2,8982$	0,999	1,056
8	$y=7,7504x - 7,2601$	0,997	1,292
10	$y=8,6007x + 5,6309$	0,999	1,433

Após a obtenção dos dados experimentais de inativação de esporos de *P. expansum* por radiação UV-C, as formas das curvas de inativação foram observadas e o modelo de Weibull, ajustado às curvas. Assim foram obtidos os modelos primários de inativação do fungo in vitro em função do tempo para cada intensidade fixa de radiação estudada.

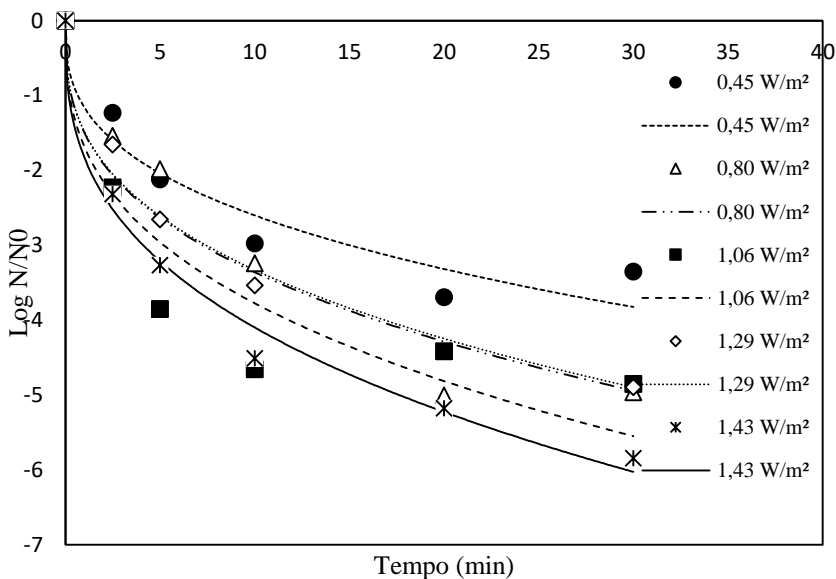
Com o modelo definido, foi possível calcular os parâmetros α e β . O parâmetro fator de forma (α) não apresentou variações relevantes entre as intensidades de radiação, portanto, foi fixado em 0,35, valor correspondente à média aritmética dos valores obtidos nas cinco condições testadas. Foi utilizado então o modelo de Weibull com α fixo para recalcular o parâmetro fator de escala (β) e o coeficiente estatístico R², apresentados na Tabela 4.5. O modelo escolhido apresentou um ajuste tão eficiente quanto Weibull com 2 parâmetros baseado nos índices estatísticos R² e RMSE apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4. 5 Parâmetros do modelo de Weibull obtidos com o parâmetro α variável e fixo (0,35).

Intensidade (W/m²)	α	B	β $\alpha=0,35096$	R² Weibull	R² $\alpha=0,35$	RMSE	RMSE $\alpha=0,35$
0,452	0,334	0,561	0,656	0,936	0,935	0,400	0,360
0,796	0,485	0,935	0,316	0,970	0,938	0,387	0,496
1,056	0,219	0,018	0,227	0,931	0,875	0,556	0,668
1,292	0,380	0,432	0,325	0,988	0,986	0,237	0,223
1,433	0,337	0,150	0,180	0,987	0,989	0,244	0,223

Com o ajuste do modelo de Weibull com α fixo aos dados experimentais, foi possível observar o comportamento de inativação com o tempo para *P. expansum*, quando submetida ao tratamento não térmico de irradiação por luz UV-C, demonstrado na Figura 4.5.

Figura 4. 5 Curvas de inativação de esporos de *P. expansum* úmido sob condição in vitro em cinco diferentes intensidades de radiação UV-C. A linhas representam o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.



Os coeficientes estatísticos R^2 , RMSE, Fator Bias e Fator Exatidão, foram calculados e apresentados na Tabela 4.6, para avaliar o ajuste aos dados experimentais e a capacidade preditiva do modelo primário Weibull com fator de forma fixo igual a 0,35.

Tabela 4. 6 Dados estatísticos (R^2 , RMSE, Fator bias, Fator exatidão) referentes ao ajuste do modelo de Weibull com α fixo aos dados experimentais de inativação de esporos úmidos de *P. expansum* in vitro sob a aplicação de diferentes intensidades de radiação.

Lâmpadas	Intensidade (W/m ²)	R ²	RMSE	Bias	Exatidão
2	0,452	0,935	0,360	0,997	1,095
4	0,796	0,938	0,496	1,079	1,137
6	1,056	0,875	0,668	0,965	1,130
8	1,292	0,986	0,223	1,028	1,060
10	1,433	0,989	0,223	1,002	1,040

Os valores demonstram que o modelo apresenta um bom ajuste, além de uma alta capacidade preditiva, com valores de fator bias e exatidão próximos de 1.

Periago et al. (2004), Van Boekel (2002) e Haberbeck (2011) também observaram que o parâmetro de forma (α) não apresentou variação considerável, e obtiveram bons resultados utilizando Weibull com α fixo.

Syamaladevi et al. (2015) conseguiram 1,8 log reduções de *P. expansum* em maçã em dois minutos com uma dose de 1,2 kJ/m², ou seja, uma intensidade de radiação de 10 W/m², aproximadamente 4,5 vezes maior do que a máxima alcançada pelo equipamento utilizado neste trabalho. Essa mesma redução citada foi alcançada no presente trabalho com a aplicação de 1,43 W/m² por 54 segundos segundo o modelo, ou seja, uma dose de aproximadamente 0,077 kJ/m². A explicação para esta necessidade de uma dose aproximadamente duas vezes maior do que a utilizada pelos pesquisadores citados poderia ser pela utilização de cepas diferentes. A diferença de comportamento entre duas diferentes cepas foi constatada também neste trabalho quando foi avaliada a cepa mais resistente e agora mais uma vez observada diante da comparação dos resultados com o trabalho de Syamaladevi e colaboradores (2015). Vale lembrar que a inativação neste trabalho foi in vitro, já nos trabalhos citados a inativação foi realizada em maçã (1,8 log CFU/g reduções), cereja (2,4 log CFU/g reduções), morango (2,6 log CFU/g reduções) e framboesa (2,8 log CFU/g reduções). A ação da radiação muda de acordo com a estrutura da superfície na qual está sendo aplicada, diferença

destacada pelo mesmo artigo devido à comparação das diferentes frutas citadas.

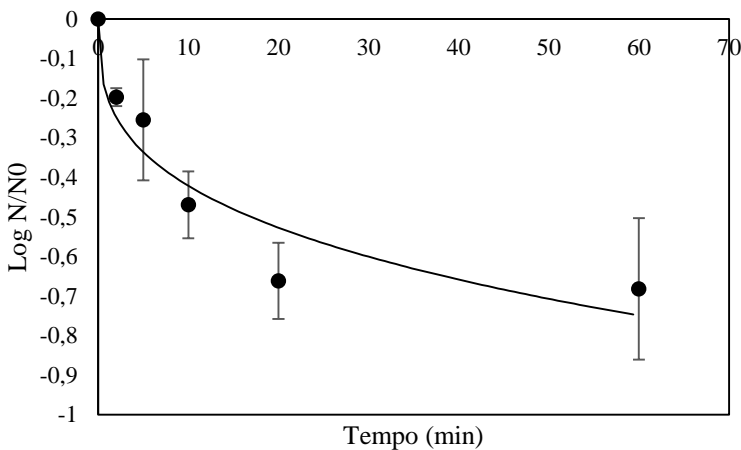
Segundo Chang et al. (1985) e Wright et al. (2000), o efeito da radiação UV em microrganismos pode variar de espécies para espécies e, na mesma espécie, pode depender da tensão, meio de crescimento, estágio de cultura, densidade de microrganismos e outras características, como o tipo e a composição dos alimentos.

4.1.5 Inativação de *P. expansum* em alimentos

Com a verificação de que ocorre a inativação de esporos de *P. expansum* in vitro, surge a possibilidade da inativação deste fungo em maçã e em suco de maçã através da aplicação da radiação UV-C

Os parâmetros para os experimentos em maçã foram estabelecidos pela análise dos primeiros resultados para a inativação in vitro. A condição avaliada foi $2,20 \text{ W/m}^2$ aplicados em uma suspensão de esporos de *P. expansum* CCT 7549 inoculada em maçã, partindo de uma concentração inicial de 10^8 UFC/mL de suspensão. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.6.

Figura 4. 6 Curva de inativação de *P. expansum* em maçã sob $2,20 \text{ W/m}^2$ de radiação UV-C. A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull aos dados experimentais.



O modelo de Weibull, mostrou bom ajuste aos dados experimentais, uma vez que RMSE foi próximo de 0 e o R^2 próximo de

1. Os parâmetros α (0,31) e β (140,55) e os dados estatísticos R^2 (0,9071) e RMSE (0,1074) foram obtidos com a ajuda da ferramenta GInaFIT do Excel®. Os fatores bias (1,0875) e fator exatidão (1,1839) próximos de 1 também demonstram o bom ajuste.

Analisando os resultados para inativação de *P. expansum* em maçã é possível observar que não foi alcançada nem uma redução logarítmica após uma hora de aplicação de radiação UV-C. Este resultado é diferente do encontrado por Syamaladevi et al. (2015) que conseguiram 1,8 reduções decimais em 2 minutos de processo, provavelmente por se tratar de uma cepa diferente da estudada no presente trabalho. Além disso, a intensidade de radiação utilizada pelos pesquisadores citados foi 4,5 vezes maior do que a estudada neste trabalho.

O tratamento parece pouco efetivo em maçã, uma vez que é necessária mais de uma hora de aplicação de radiação para inativação de um ciclo decimal do fungo. Desta forma, são necessários tempos de exposição maiores do que para o tratamento in vitro nas mesmas condições, provavelmente devido à diferença na superfície irradiada. Uma vez que, segundo Lagunas-Solar (2014), a natureza da superfície exposta determina a eficácia da radiação UV-C em frutas e em muitos vegetais pela formação de barreira física natural como tricomas que se combinam com as camadas naturais cerosas em algumas cultivares e com alguma rugosidade física (isto é, furos e fendas). Esta combinação resulta em sombras ou escudos para microrganismos. Outras limitações são devidas às características geométricas de algumas frutas e vegetais, sendo o tecido biológico uma barreira eficaz à penetração de radiação UV-C. Além disso, a geometria redonda ou oval da maçã pode aumentar os efeitos naturais de blindagem ou sombreamento e minimizam a interação direta dos fótons de UV-C com os microrganismos alvo.

Comparando os resultados apresentados na Figura 4.6 com os obtidos por Salomão et al. (2011) para sanitização de maçãs Fuji, os tempos para inativação do fungo por radiação UV-C parecem inviáveis. O trabalho citado apresentou 2,2 reduções após 1 minuto da superfície da fruta em contato com o sanitizante dicloroisocianurato de sódio na menor concentração avaliada (50 ppm). Porém o outro sanitizante avaliado, o ácido peracético, não alcançou nem uma redução, mesmo na maior concentração testada (250 ppm).

Salomão (2009) estudou a aplicação de soluções de cloro por 30 segundos e alcançou reduções maiores que 5 log decimais de esporos de *P. expansum* em maçãs de diferentes cultivares.

Segundo Gomes et al. (2014), o funcionamento da lavagem de frutas industriais e comerciais por aplicação de água potável diminuiu a

população de todos os microrganismos avaliados (leveduras e bactérias ácido lácticas) por um ciclo logarítmico, independentemente da contagem inicial. Apesar de não avaliar o efeito da sanitização sobre o microrganismo *P. expansum*, afirmam que os microrganismos avaliados no estudo apresentaram maior resistência ao desinfetante do que as cepas que são patogênicas. Conseqüentemente, a sua redução ou eliminação pode representar um indicador da eficácia deste composto contra agentes patogênicos. Desta forma, afirmam que a imersão de maçãs por 5 minutos em uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L é efetiva.

Comparando com os resultados de sanitização química citados, a aplicação de uma hora de radiação para ter o alcance de menos de uma redução decimal completa na concentração de esporos do fungo em maçã, nas condições avaliadas no presente trabalho, parece inviável. Apesar disso, vale lembrar as desvantagens do uso de cloro para sanitização, como descoloração e modificação do aroma das frutas (OLIVEIRA et al., 2003), formação de compostos tóxicos prejudiciais à saúde de manipuladores e consumidores (ALLENDE et al., 2009; ISSA-ZACHARIA et al., 2010), além dos danos causados ao meio ambiente (CASANI et al., 2005).

Uma possível alternativa para eliminação de microrganismos contaminantes como o *P. expansum* sem o uso de cloro, seria o uso da radiação UV-C diretamente no suco.

4.1.5.1. Inativação de *P. expansum* em suco de maçã

Uma vez que foram alcançadas maiores reduções de esporos do fungo na condição in vitro úmida em menor tempo de aplicação de radiação e existem trabalhos que aplicam a técnica em sucos de frutas (TREMARIN; BRANDÃO; SILVA, 2016; FALGUERA; PAGÁN.; IBARZ, 2011; GABRIEL, 2012; MÜLLER et al., 2014) foi constatada a possibilidade da aplicação da radiação no suco de maçã.

Primeiramente foi realizado um teste para verificar a estabilidade dos esporos de *P. expansum* em suco de maçã para garantir que a inativação encontrada seria proveniente apenas da ação da radiação ultravioleta e não das condições ambientais em que o experimento foi conduzido.

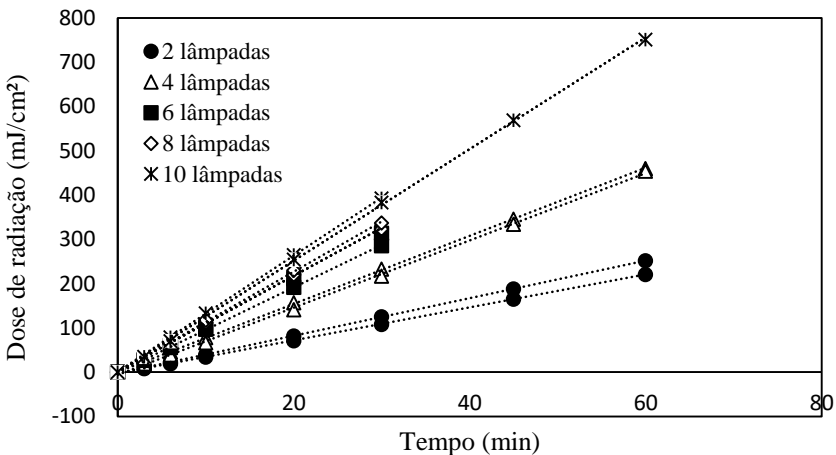
4.1.5.1.1 Teste para verificar a estabilidade dos esporos de *P. expansum* em suco de maçã

O teste confirmou que a concentração de esporos se mantém após 30 e 60 minutos nas condições dos experimentos realizados (20°C), porém sem aplicação da radiação UV-C. Além disso a suspensão inoculada em diferentes tempos também se manteve na mesma concentração quando estocada em refrigeração para inóculo em suco resfriado após 3, 5 ou 7 horas. Estes resultados garantem que a inativação observada nos testes realizados em suco de maçã foi alcançada apenas pela aplicação de radiação e não por outros fatores ambientais.

4.1.5.1.2 Cálculo das Intensidades de radiação utilizadas para inativação de *P. expansum* em suco de maçã

As intensidades de radiação obtidas estão descritas na Tabela 4.7, através da equação da reta, uma vez que a dose de radiação aumenta linearmente com o tempo, como pode ser visto na Figura 4.7.

Figura 4. 7 Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de *P. expansum* em suco de maçã.



Os coeficientes angulares das equações de reta, apresentadas na Tabela 4.7 onde o y é a dose de radiação em mJ/cm², e x é o tempo em minutos, quando multiplicado por 1/6, são correspondentes à intensidade de radiação em que os microrganismos são submetidos em W/m², como pode ser visto nas Equações 4.1, 4.2 e 4.3.

Tabela 4. 7 Valores de intensidade de radiação para inativação de *P. expansum* em suco de maçã.

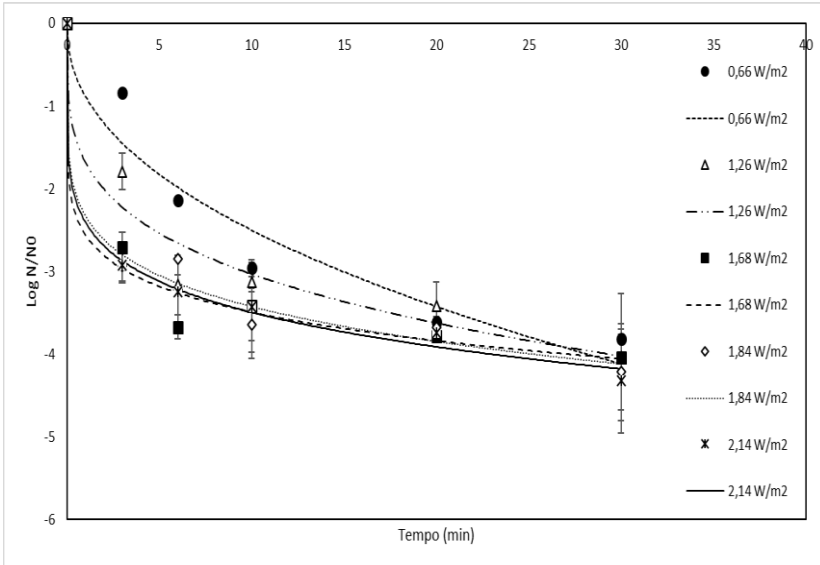
Número de Lâmpadas	Equação da Reta	R ²	Intensidade (W/m ²)	Intensidade média (W/m ²)
2	$y = 4,2264x - 2,4369$	0,999	0,704	
2	$y = 3,65x - 1,9754$	0,999	0,608	0,66
4	$y = 7,8227x - 0,7946$	1,000	1,304	
4	$y = 7,2701x - 3,1067$	0,999	1,212	1,26
6	$y = 10,55x - 1,3193$	1,000	1,758	
6	$y = 9,5779x - 0,4792$	1,000	1,596	1,68
8	$y = 10,801x + 1,4525$	1,000	1,800	
8	$y = 11,331x + 0,0294$	1,000	1,889	1,84
10	$y = 13,12x + 0,8201$	1,000	2,187	
10	$y = 12,612x - 0,7678$	1,000	2,102	2,14

4.1.5.1.3 Definição do modelo primário de inativação de *P. expansum* em suco de maçã

A concentração de microrganismos em função do tempo para cada intensidade de radiação estudada (0,66; 1,26; 1,68; 1,84 e 2,14 W/m²) está apresentada na Figura 4.8.

Figura 4. 8 Cinética de inativação para *P. expansum* em suco de maçã submetido a cinco intensidades de radiação (0,66; 1,26; 1,68; 1,84 e 2,14 W/m²). O Modelo

de Weibull ajustado aos dados experimentais está representado pelas curvas com diferentes traços para diferenciação das intensidades de radiação.



Para a obtenção do modelo primário, que descreve a variação da quantidade de microrganismos com o tempo devido à aplicação de radiação ultravioleta em uma determinada intensidade de radiação, foi testado o modelo de Weibull com o auxílio da ferramenta MATLAB®. Este modelo foi testado devido à constatação do formato da curva obtida com os dados experimentais.

Observa-se na Figura 4.8, o mesmo comportamento para todas as curvas de inativação, com a concavidade voltada para cima, comprovando que o parâmetro de forma é menor do que 1 ($\alpha < 1$) (MCKELLAR; LU, 2004). Analisando os resultados preditos pelo modelo ajustado, percebe-se que, com as três maiores intensidades de radiação estudadas, é possível alcançar por volta de três reduções logarítmicas em cinco minutos. Já com a menor intensidade ($0,66 \text{ W/m}^2$) essa mesma redução é obtida em aproximadamente 15 minutos e por volta de 10 minutos com a intensidade de $1,27 \text{ W/m}^2$. Comprovando-se assim que a intensidade de radiação interfere consideravelmente no tempo de inativação entre as três menores intensidades estudadas ($0,66$; $1,26$ e $1,68 \text{ W/m}^2$). Porém não houve diferença considerável entre os tempos para inativação com o uso das três maiores intensidades ($1,68$; $1,84$ e $2,10 \text{ W/m}^2$).

O tratamento com radiação UV-C é vantajoso por permitir a descontaminação microbiana e estabilização de cor do produto, sem afetar o seu sabor (MANZOCCO et al., 2011).

A Tabela 4.8 apresenta os valores de R^2 , RMSE, α e β , fornecidos pelo MATLAB, para cada intensidade de radiação, para o ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais

Tabela 4. 8 Parâmetros (alfa e beta) e índices estatísticos (R^2 , RMSE, Bias e Exatidão) obtidos pelo ajuste do modelo de Weibull para descrever a inativação de *P. expansum* em suco de maçã.

Lâmpadas	Intensidade	A	B	R^2 Weibull	RMSE	Bias	Exatidão
2	0,656	0,454	1,327	0,939	0,427	1,098	1,183
4	1,258	0,257	0,134	0,954	0,352	1,008	1,069
6	1,677	0,136	0,001	0,978	0,248	1,002	1,043
8	1,844	0,168	0,007	0,983	0,219	1,001	1,047
10	2,144	0,163	0,005	0,995	0,119	1,000	1,021

Com base nos dados estatísticos, vemos que o modelo de Weibull se ajustou bem aos dados experimentais, já que apresenta valores de R^2 próximos de 1, e valores de RMSE baixos, nas cinco intensidades de radiação.

Os coeficientes estatísticos fator bias e fator exatidão, foram calculados pelo programa Microsoft Excel® e apresentados na Tabela 4.8, para avaliar o ajuste do modelo primário de Weibull aos dados experimentais e sua capacidade preditiva.

Pela análise dos índices estatísticos, pode-se dizer que o modelo de Weibull apresenta um bom ajuste aos dados experimentais, além de uma alta capacidade preditiva, com valores de fator bias e exatidão muito próximos de um, indicando que os valores preditos são muito próximos dos valores observados.

4.1.5.1.4 Definição dos modelos secundários de inativação de *P. expansum* em suco de maçã

Para a obtenção do modelo secundário que melhor descreve a influência da intensidade de radiação (0,66; 1,26; 1,68; 1,84 e 2,14 W/m²) nos parâmetros α e β de inativação obtidos pelo modelo de Weibull, foram comparadas quatro equações matemáticas: Linear, Raiz Quadrada, Exponencial e Arrhenius.

Os modelos secundários foram escolhidos com base nos valores de R^2 obtidos com o ajuste do modelo aos parâmetros de inativação de *P. expansum* (α ou β) obtidos pelo ajuste do modelo primário e também pela análise visual do melhor ajuste da curva aos dados experimentais.

Os valores de R^2 para cada um dos modelos testados para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α estão apresentados na Tabela 4.9.

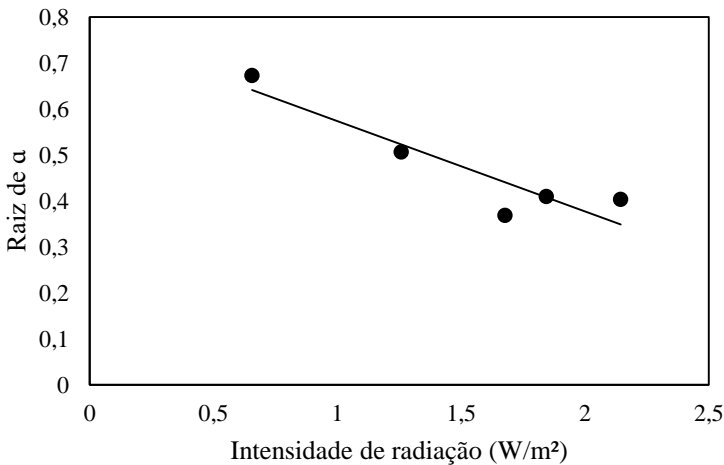
Tabela 4. 9 Valores de R^2 para a escolha do modelo secundário que melhor descreve a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α para inativação de *P. expansum* em suco de maçã.

Modelo	Equação	R^2
Linear	$a = -0,2076 * (I) + 0,5503$	0,8483
Raiz quadrada	$\sqrt{a} = -0,1966 * (I) + 0,7707$	0,8453
Tipo Arrhenius	$\ln a = 1,0622 * \left(\frac{1}{I}\right) - 2,3815$	0,8491
Exponencial	$a = 0,6756 * \exp^{0,762*(I)}$	0,8286

Os quatro modelos avaliados apresentam valores de R^2 próximos. Desta forma o modelo foi escolhido visualmente. Os modelos da Raiz Quadrada e o Modelo de Arhenius eram os que visualmente passavam mais próximos dos pontos experimentais, então o Modelo da Raiz Quadrada foi o escolhido por ser mais simples e mais comumente utilizado na Microbiologia Preditiva.

A Figura 4.9 mostra o ajuste do modelo secundário para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α .

Figura 4. 9 Ajuste do modelo secundário da Raiz quadrada para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário α .



Os índices estatísticos fator bias e exatidão foram calculados para avaliar a capacidade preditiva do modelo escolhido. Os valores

encontrados foram 1,000 e 1,072, respectivamente. Com isto é possível afirmar que os valores preditos são próximos dos observados.

Os valores de R^2 para cada um dos modelos testados para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β estão apresentados na Tabela 4.10.

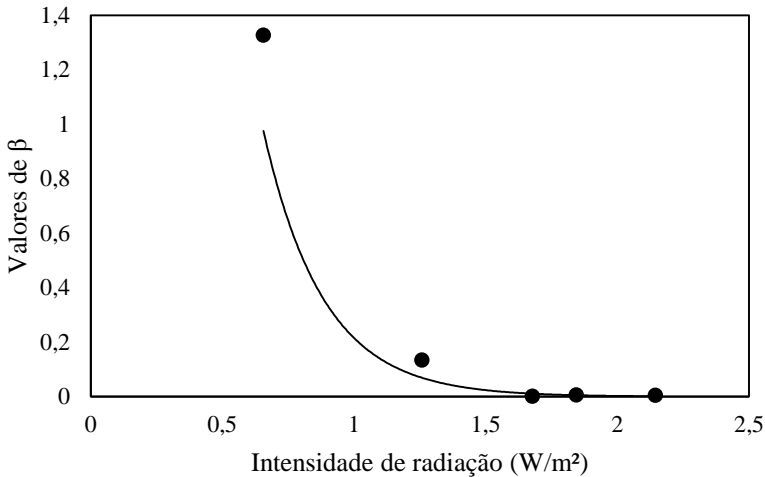
Tabela 4. 10 Valores de R^2 para a escolha do modelo secundário que melhor descreve a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β para inativação de *P. expansum* em suco de maçã.

Modelo	Equação	R^2
Linear	$\beta = -0,877 * (I) + 1,6243$	0,7632
Raiz quadrada	$\sqrt{\beta} = -0,7572 * (I) + 1,4879$	0,8541
Tipo Arrhenius	$\ln\beta = 5,9524 * \left(\frac{1}{I}\right) - 8,4722$	0,7871
Exponencial	$\beta = 17,439 * \exp^{-4,393*(I)}$	0,7714

Apesar do Modelo da Raiz Quadrada apresentar R^2 mais próximo de 1, o Modelo Exponencial foi escolhido por visualmente apresentar melhor ajuste para um maior número de intensidades de radiação, possibilitando posteriormente a obtenção de um modelo dinâmico utilizando as intensidades de radiação mais altas estudadas para suco de maçã.

A Figura 4.10 mostra o ajuste do modelo secundário para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β .

Figura 4. 10 Ajuste do modelo secundário exponencial para descrever a influência da intensidade de radiação sobre o parâmetro primário β .

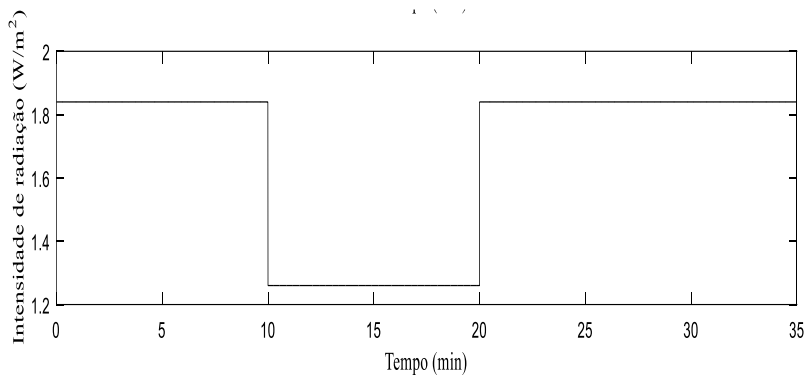


Os índices estatísticos fator bias e exatidão, foram calculados para avaliar a capacidade preditiva do modelo, e assim como no parâmetro α , indicaram que os valores preditos são próximos dos observados, com valores de 0,990 e 2,231, respectivamente.

4.1.5.1.5 Definição do modelo dinâmico de inativação de *P. expansum* em suco de maçã pela aplicação de radiação UV-C.

Após a seleção dos modelos primários e secundários, foi utilizada a avaliação das respostas obtidas em condições de radiação constantes para prever a inativação microbiana em condições que variam com o tempo. Para isto foi utilizada a equação de Peleg (Equação 3.10), baseada no modelo primário de Weibull. Neste caso, a condição que varia com o tempo é a intensidade de radiação. Considerando que a inativação também possa variar ao longo do tempo, a variação de intensidade de radiação apresentada na Figura 4.11 foi utilizada para validação do modelo dinâmico. Após a obtenção da predição de inativação baseada no modelo dinâmico selecionado, foi realizado um experimento para posterior validação do modelo proposto.

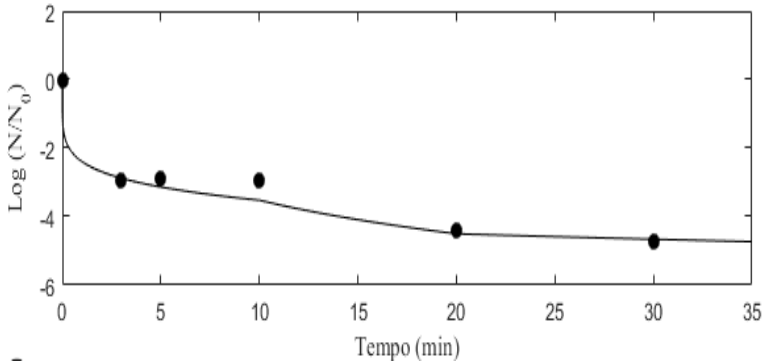
Figura 4. 11 Simulação da Variação da Intensidade de radiação com o tempo.



A Figura 4.11 demonstra a simulação da variação de radiação. Primeiramente foi simulado o uso de 8 lâmpadas acesas ($1,84\text{W/m}^2$) num instante de tempo de 10 minutos. Após este tempo foi simulada a queima de 4 lâmpadas e o processo continuou com 4 lâmpadas ($1,26\text{W/m}^2$) por mais 10 minutos. Por fim as 4 lâmpadas foram acesas novamente ($1,84\text{W/m}^2$) por mais 15 minutos. Assim foi obtida a Figura 4.12, a partir da equação derivada de Weibull e os parâmetros α e β dependentes da intensidade de radiação como proposto por Peleg (2006) (Equação 3.10).

A Figura 4.12 mostra a predição do modelo (linha contínua) e os dados experimentais obtidos na condição de intensidade variável.

Figura 4. 12 Predição da cinética de inativação de *P. expansum* em suco de maçã em função do tempo em condições variáveis de radiação (linha contínua) e os dados experimentais obtidos na condição de intensidade variável.



Modelo dinâmico que descreva a inativação de *P. expansum* por radiação UV-C não foi encontrado na literatura. Diante disso vale destacar a importância de um modelo que proporcione a simulação de um processo real em que haja variação da intensidade de radiação ao longo do tempo de processo, podendo assim prever a consequência dessa variação sobre o comportamento dos esporos do fungo estudado.

Os modelos matemáticos obtidos neste estudo possibilitam a utilização do tratamento por radiação ultravioleta para conservação de suco de maçã, uma vez que essa tecnologia além de eliminar os microrganismos deteriorantes como o *P. expansum*, é uma tecnologia conhecida por preservar as características naturais do produto, como aroma, sabor, cor, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

4.2 INATIVAÇÃO DE *W. viridescens*

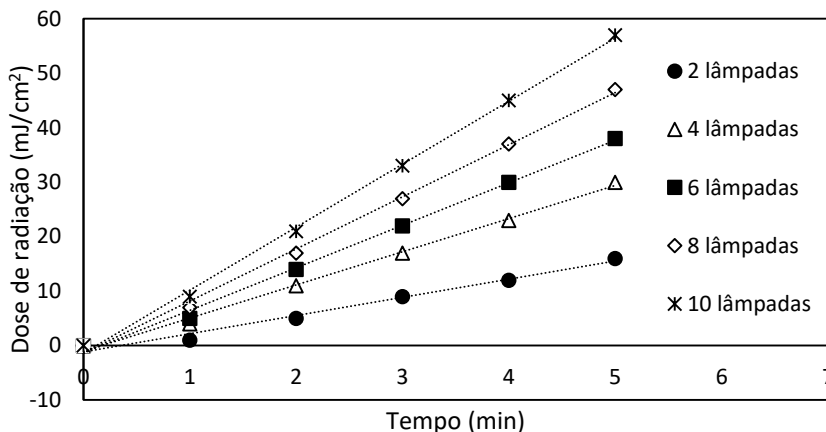
Para verificação da possibilidade do uso de radiação UV-C para inativação de *W. viridescens*, como forma de conservação de produtos cárneos embalados a vácuo, foram realizados testes in vitro.

4.2.1 Cálculo das Intensidades de radiação utilizadas para inativação de *W. viridescens* in vitro

Uma vez que a dose de radiação aumenta ao decorrer do tempo de forma linear, como pode ser visto na Figura 4.13, as intensidades de

radiação foram obtidas pelo ajuste da reta aos dados experimentais e estão descritas na Tabela 4.11.

Figura 4. 13 Curvas para obtenção da intensidade de radiação com a utilização de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas para os experimentos de inativação de *W. viridescens* in vitro.



Os coeficientes angulares das equações de reta, apresentadas na Tabela 4.11 onde y é a dose de radiação em mJ/cm^2 , e x é o tempo em minutos, quando multiplicado por $1/6$, são correspondentes à intensidade de radiação em que os microrganismos são submetidos em W/m^2 , como pode ser visto nas Equações 4.1, 4.2 e 4.3.

Tabela 4. 11 Valores de intensidade de radiação para inativação de *W. viridescens* in vitro.

Número de Lâmpadas	Equação da Reta	R^2	Intensidade (W/m^2)
2	$y=3,3429x - 1,1905$	0,9835	0,56
4	$y=6,0857x - 1,0476$	0,9958	1,01
6	$y=8,0545x - 1,9091$	0,9961	1,30
8	$y=9,5714x - 1,4286$	0,9973	1,60
10	$y=11,571x - 1,4286$	0,9982	1,93

4.2.2 Modelos Primários de inativação de *W. viridescens* in vitro.

Após a obtenção das curvas de inativação de *W. viridescens* sob radiação UV-C, os modelos de Weibull e Log-linear + ombro (GEERAERD et al, 2012) foram ajustados aos dados experimentais e comparados, através de índices estatísticos, para se verificar o que melhor descreve essas curvas. Os índices estatísticos R^2 e RMSE referentes a esses ajustes são apresentados na Tabela 4.12.

Tabela 4. 12 Índices estatísticos do ajuste dos modelos primários de Weibull e Log linear +ombro aos dados experimentais de inativação de *W. viridescens* in vitro, pela aplicação de radiação UV-C.

Lâmpadas	Intensidade (W/m ²)	R ² Log-linear +		R ²		RMSE Log-linear +		RMSE	
		ombro	Weibull	Weibull	Weibull	ombro	ombro	Weibull	Weibull
2	0,56	0,9987	0,993	0,993	0,1232	0,2351	0,1918	0,1918	0,1918
4	1,01	0,9949	0,995	0,995	0,1991	0,695	0,695	0,695	0,695
6	1,30	0,9592	0,949	0,949	0,7615	0,076	0,076	0,076	0,076
8	1,60	0,9956	0,999	0,999	0,1958	0,644	0,644	0,644	0,644
10	1,93	0,9578	0,953	0,953	0,7040	0,644	0,644	0,644	0,644

Através da análise dos resultados apresentados na Tabela 4.12, é possível dizer que os dois modelos se ajustaram bem aos dados experimentais. O modelo de Weibull apresentou valores de R^2 mais próximos de 1 nas condições de 1,01 e 1,60 W/m^2 e menor valor de RMSE em todas as intensidades menos na condição de 0,56 W/m^2 . Chun et al. (2009) tiveram como resultado o modelo de Weibull com melhor ajuste para os dados de inativação de microrganismos contaminantes de presunto fatiado. Com base no trabalho citado e no bom ajuste obtido, o Modelo de Weibull foi escolhido como o modelo primário para descrever a inativação de *W. viridescens* in vitro por radiação UV-C. Segundo Müller et al. (2015), embora outras funções de adaptação incluídas no GInaFiT® possam ser mais adequadas para a descrição de alguns dos dados medidos, a função de Weibull ajusta a cinética da inativação com fenômenos do ombro ou da cauda de uma maneira mais exata do que a cinética de primeira ordem usada geralmente.

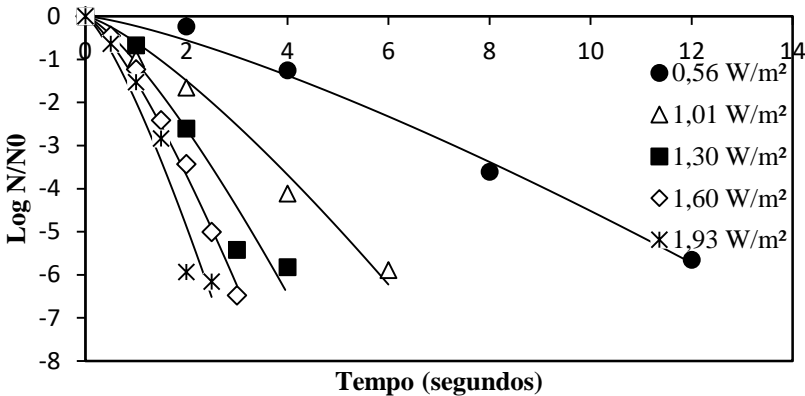
O modelo de Weibull (Equação 3.5) apresenta os parâmetros α (fator de forma) e β (fator de escala). Existem estudos que afirmam que o parâmetro α não varia consideravelmente com a temperatura e pode ser considerado constante (CORRADINI; NORMAND; PELEG, 2008; VAN BOEKEL, 2002; HABERBECK, 2011). No presente trabalho, foi constatado que isso também acontece para variação na intensidade de radiação UV-C. A Tabela 4.13 mostra os valores α e de β obtidos pelo modelo de Weibull com α variável. Observa-se que os valores de α são bem próximos, sendo o valor médio de 1,299. Foi, então, feito um novo ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais, com α fixo e os valores de β obtidos para cada intensidade de radiação são apresentados na Tabela 4.13.

Tabela 4. 13 Parâmetros do modelo de Weibull obtidos com o parâmetro α variável e fixo (1,299).

Intensidade (W/m²)	α	B	β $\alpha=1,299$	R² Weibull	R² $\alpha=1,299$	RMSE Weibull	RMSE $\alpha=1,299$
0,56	1,344	3,259	3,132	0,993	0,993	0,2351	0,209
1,01	1,051	1,095	1,468	0,995	0,980	0,1918	0,345
1,30	1,192	0,852	0,954	0,949	0,946	0,695	0,617
1,60	1,488	0,854	0,732	0,999	0,993	0,076	0,199
1,93	1,420	0,657	0,590	0,953	0,950	0,644	0,592

Na Figura 4.14 são apresentadas as curvas de inativação de *W. viridescens*, nas intensidades de radiação de 0,56, 1,01, 1,30, 1,60 e 1,93 W/m², obtidas com o uso de 2, 4, 6, 8 e 10 lâmpadas, respectivamente, nas quais foi ajustado o modelo de Weibull com α fixo (1,299).

Figura 4. 14 Curvas de inativação de *W. viridescens* in vitro pelo tempo com a aplicação de diferentes intensidades de radiação UV-C. A linha contínua representa o ajuste do Modelo de Weibull com α igual a 1,299 aos dados experimentais.



O modelo de Weibull com o fator de forma (α) fixo mostrou um bom ajuste aos dados experimentais, como pode ser visualizado na Figura 4.14. Na mesma Figura, pode ser observado que, com o aumento da intensidade de radiação, houve um aumento da velocidade de inativação do microrganismo alvo.

A Tabela 4.14 apresenta os índices estatísticos R², RMSE, fator bias, fator exatidão e o tempo para atingir 6 reduções decimais (*t*6D), obtidos pelo ajuste do modelo primário. Apesar de valores de R²=0,95 e RMSE mais altos para as intensidades de 1,30 e 1,93 W/m² do que os valores obtidos para as demais intensidades, o modelo foi considerado ter um bom ajuste aos dados experimentais. Os fatores bias e exatidão também confirmam o bom ajuste do modelo, por apresentarem valores próximos de 1. Todos os dados estatísticos destacam que o ajuste do modelo aos dados experimentais sob intensidade 1,60 W/m² foi bastante satisfatório. O tempo para atingir 6 reduções decimais (*t*6D), o número de

reduções decimais geralmente considerado suficiente para pasteurização (HABERBECK et al., 2012), diminui com o aumento da intensidade de radiação.

Tabela 4. 14 Dados estatísticos (R^2 , RMSE, Fator bias, Fator exatidão) referentes ao ajuste do modelo de Weibull com α fixo aos dados experimentais de inativação de *W. viridescens* in vitro sob a aplicação de diferentes intensidades de radiação. O valor de tempo para obtenção de 6 reduções decimais ($t6D$) também é apresentado.

Lâmpadas	Intensidade	R^2	RMSE	Bias	Exatidão	$t6D$ (s)
2	0,56	0,993	0,209	1,197	1,229	12,45
4	1,01	0,980	0,345	0,879	1,163	5,84
6	1,30	0,946	0,617	1,076	1,166	3,80
8	1,60	0,993	0,199	1,086	1,102	2,91
10	1,93	0,950	0,592	1,091	1,165	2,35

4.2.3 Modelos secundários de inativação de *W. viridescens* in vitro

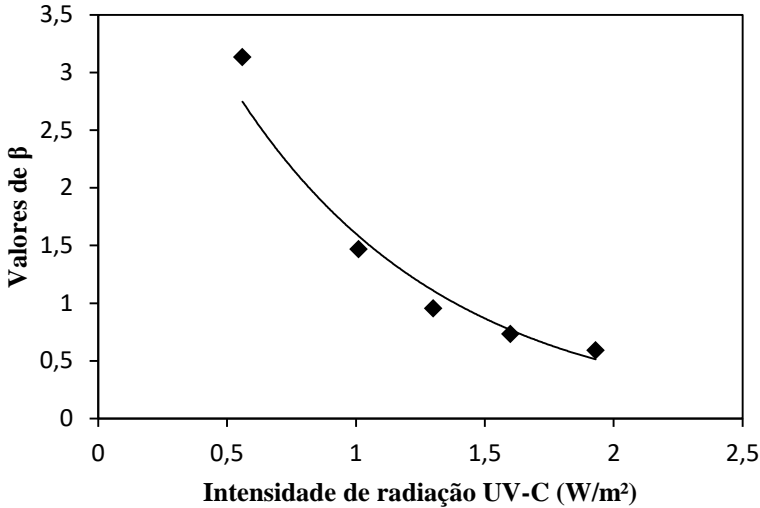
Os modelos secundários descrevem como os parâmetros primários variam com as mudanças de condições ambientais. O valor de α foi fixado. Modelos secundários que descrevam a influência da variação da intensidade de radiação sobre o parâmetro β foram avaliados.

Dentre os modelos secundários testados (Tabela 4.15), o escolhido foi o modelo exponencial de intensidade de radiação *versus* o parâmetro β (Figura 4.15). Este modelo apresentou R^2 , fator bias e fator exatidão mais próximos de 1.

Tabela 4. 15 Modelos secundários que descrevem a influência da intensidade de radiação (I) sobre o fator de escala (β).

Modelo	Equação	R^2
Linear	$\beta = -1,804 * (I) + 3,6843$	0,8446
Raiz quadrada	$\sqrt{\beta} = -0,7242 * (I) + 2,0433$	0,9083
Tipo Arrhenius	$\ln\beta = 1,2881 * \left(\frac{1}{I}\right) - 1,1313$	0,9494
Exponencial	$\beta = 5,4584 * \exp^{-1,226*(I)}$	0,9611

Figura 4. 15 Influência da intensidade de radiação sobre o fator de escala (parâmetro β) para inativação de *W. viridescens* in vitro. A linha contínua representa o ajuste do modelo secundário aos dados experimentais.



Os índices estatísticos que descrevem a predição do modelo aos dados experimentais foram R^2 igual a 0,961, fator bias de 1,022 e exatidão de 1,109.

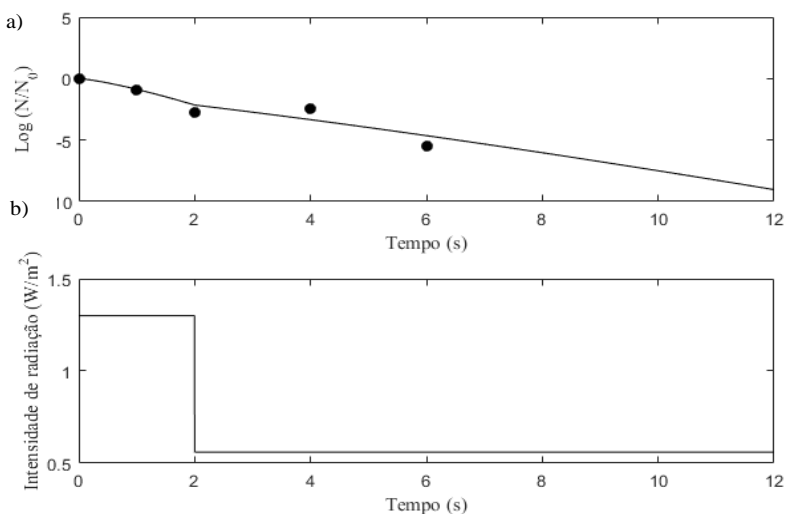
4.2.4 Modelo dinâmico de inativação de *W. viridescens* in vitro

Através dos modelos primário e secundário, foi obtido o modelo dinâmico de inativação baseado no modelo proposto por Peleg (2006) (Equação 3.10) para predição da inativação de *W. viridescens* sob intensidades variadas de radiação, dentro da faixa estudada (0,56-1,93 W/m²).

A Figura 4.16 mostra um exemplo de processo em que pode haver uma variação de intensidade de radiação UV-C, supondo que o processo fosse estabelecido para o uso de seis lâmpadas (1,30 W/m²) e quatro dessas lâmpadas queimassem e o processo continuasse com duas lâmpadas (0,56 W/m²). O modelo previu bem a inativação da bactéria submetida à variação de intensidade de radiação e pode ser usado para prever a inativação com outras variações de intensidade, dentro da faixa estudada. Os dados experimentais obtidos simulando a mesma variação de intensidade de radiação predita e apresentada na Figura 4.16 estão apresentados pelo marcado preto, sendo considerada a condição

dinâmica, demonstrando que o modelo foi capaz de prever bem os dados experimentais de variação de intensidade de radiação. Além disso os índices estatísticos bias de 0,98 e exatidão 1,149 comprovam a capacidade preditiva do modelo.

Figura 4. 16 Curva de inativação de *W. viridescens* in vitro em função do tempo sob radiação UV-C com intensidade variável (a). Variação de intensidade de radiação pelo tempo (b).



4.2.5 Inativação de *W. viridescens* em alimentos

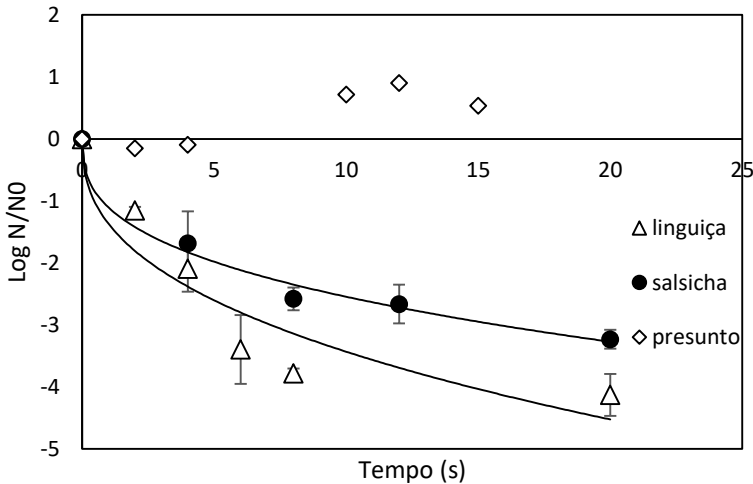
Diante dos resultados obtidos pelos estudos in vitro e da importância de estudo com aplicação em alimentos, foram realizados testes em produtos cárneos em que as BAL, especialmente a *W. viridescens*, são deteriorantes.

4.2.5.1 Inativação de *W. viridescens* em presunto fatiado.

Os testes foram realizados inicialmente em presunto fatiado. Não foi alcançada nenhuma redução do microrganismo inoculado devido à aplicação de radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m², como pode ser visto na Figura 4.17. Esse resultado provavelmente foi devido à rugosidade das fibras proporcionada pelo fatiamento do presunto que

fazem com que haja penetração da suspensão, impossibilitando a inativação por UV-C, uma vez que o tratamento é apenas superficial e a radiação UV-C tem a profundidade de penetração limitada. As características morfológicas do alimento, tais como a aspereza e a presença de feridas na superfície interferem na inativação microbiana (WONG et al, 1998;. WOODLING; MORARU, 2005;. SCHENK et al., 2008). Segundo Bachmann (1975), isto ocorre porque o efeito germicida é obtido apenas aplicando luz UV-C direta no alvo. Não é eficaz na sombra, nos poros ou nos orifícios. Syamaladevi et al. (2013) destacaram que a eficácia do tratamento com aplicação de UV depende das propriedades morfológicas e superficiais do alimento, apesar de terem comparado a interferência da superfície de frutas e não de produtos cárneos. Chun et al. (2009) conseguiram inativar microrganismos patogênicos inoculados em presunto fatiado, aplicando radiação UV-C a 5 W/m^2 , mas o fatiamento, que não foi descrito por ter sido adquirido já fatiado, provavelmente foi diferente do realizado no presente trabalho.

Figura 4. 17 Curvas de inativação de *W. viridescens* em presunto, salsicha e linguiça pela aplicação de radiação ultravioleta UV-C na intensidade de $1,93 \text{ W/m}^2$.



4.2.5.2 Inativação de *W. viridescens* em salsicha

Diante dos problemas de deterioração de salsichas pela presença de BAL e do tratamento de inativação de microrganismos por UV-C ser mais efetivo em alimentos com superfície lisa foram realizados testes em salsicha. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.17. Pode-se observar o efeito da inativação por UV-C nesse produto.

O modelo de Weibull obtido para inativação de *W. viridescens*, na concentração inicial de 10^8 UFC/g de salsicha, mostrou bom ajuste aos dados experimentais, uma vez que RMSE foi próximo de 0 e o R^2 próximo de 1. Os parâmetros α e β e os dados estatísticos R^2 , RMSE, Bias e Exatidão também demonstram o bom ajuste, como pode ser visto na Tabela 4.16.

Tabela 4. 16 Parâmetros e dados estatísticos obtidos pelo ajuste do Modelo de Weibull aos dados de inativação de *W. viridescens* pela aplicação de radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m².

Alimento	Intensidade (W/m²)	α	β	R² Weibull	RMSE	Bias	Exatidão
Salsicha	1,93	0,362	0,755	0,988	0,162	1,004	1,043
Linguiça	1,93	0,399	0,453	0,892	0,599	1,050	1,191

Em 20 segundos foram alcançadas mais de 3 reduções decimais de *W. viridescens* em salsicha, ao passo que, na mesma intensidade de radiação, 2,3 segundos foram suficientes para 6 reduções nos testes realizados in vitro. Assim como foi observado nos resultados obtidos para inativação de *P. expansum* in vitro e em maçã, o tratamento é mais eficiente na superfície da placa de Petri, onde o inóculo fica mais exposto à radiação do que na superfície do alimento que possui poros, como explicado por Bachmann (1975).

Os 20 segundos para mais de 3 reduções é pouco tempo se comparado ao encontrado por Borch et al. (1988) que relataram que uma redução de 6 log decimais nas populações de *W. viridescens* exigiu 40 min a 68 °C no processamento de salsicha. Tendo como intuito o controle desta bactéria, poderia haver uma redução do tempo de tratamento térmico da salsicha com posterior aplicação de radiação UV-C.

4.2.5.3 Inativação de *W. viridescens* em linguiça

Diante dos resultados para inativação de BAL em salsicha pela aplicação de radiação UV-C, surgiu a possibilidade de inativação deste microrganismo deteriorante em outros alimentos cárneos com superfície parecida com a testada. Somado a isso estão os problemas relacionados com contaminação de linguiças. As linguiças curadas cozidas sofrem com o problema de deterioração superficial e alterações organolépticas, já que estas são conservadas em temperatura ambiente e são muito manipuladas em seu processamento. As BAL têm sido apontadas como principais responsáveis pela deterioração de linguiças e salsichas cozidas embaladas a vácuo, caracterizando como principais defeitos sensoriais a fermentação, aroma e sabor azedo do alimento (FREIBERGER et al., 2016). Então foi realizado um experimento visando a inativação de *W. viridescens* em “linguiça mista fininha cozida e defumada”.

A Figura 4.17 apresenta o resultado da aplicação de luz UV-C na superfície de linguiça e pode-se observar que houve inativação da BAL estudada.

O Modelo de Weibull se ajustou bem aos dados experimentais de inativação de *W. viridescens* em linguiça. Os valores dos fatores bias e exatidão apresentados na Tabela 4.16 comprovam este resultado.

Os resultados obtidos foram próximos aos encontrados para salsicha. Na Tabela 4.16 é possível observar que valores de α para salsicha e linguiça são próximos e menores que 1. Estes resultados de valor de forma (α), confirmam o comportamento do microrganismo semelhante

para os dois alimentos, com curvas de inativação com concavidade para cima, como pode ser observado na Figura 4.17.

As diferenças na inativação desses dois alimentos ocorreu pela diferença na superfície destes, uma vez que a radiação UV-C é um tratamento superficial. Esta diferença pode ser ocasionada pela diferença de porosidade das tripas utilizadas para a produção destes ou mesmo por se tratar de um alimento de base de massa fina e outro de massa grossa.

De qualquer forma, uma vez que as BAL são apontadas como os principais microrganismos deteriorantes de produtos cárneos embalados a vácuo, os resultados apresentados elucidam a possibilidade de aplicação de UV-C como uma alternativa para conservação e aumento de vida útil de alimentos cárneos como salsicha e linguiça.

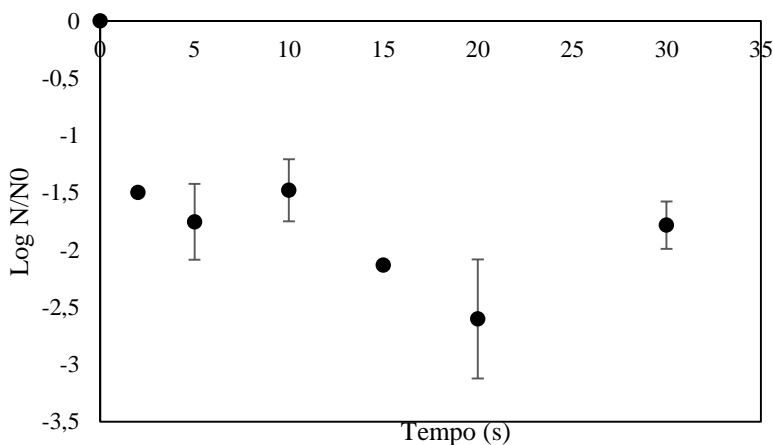
4.2.5.4 Inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo

Os resultados obtidos pela aplicação de UV-C para inativação de *W. viridescens* em salsicha e linguiça evidenciaram a possibilidade de realizar o procedimento no alimento já embalado. A vantagem da aplicação da técnica no alimento embalado seria eliminar a possibilidade de contaminação posterior à etapa de embalagem. O alimento escolhido para os posteriores estudos foi a salsicha, devido à sua grande demanda de mercado e devido à inativação ser menos efetiva, requerendo mais estudos.

Os resultados dos experimentos de inativação de *W. viridescens* in vitro com embalagem demonstraram que a embalagem de multicamadas impede a ação da radiação UV-C sobre o microrganismo. Já a embalagem PA/PE permitiu a ação da radiação uma vez que foi observada inativação nas amostras forradas com esta embalagem, sendo esta a escolhida para os experimentos seguintes realizados com salsicha embalada a vácuo.

Na Figura 4.18, está apresentada a inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada com aplicação de UV-C na intensidade de 1,93 W/m². Analisando os resultados, é possível observar que, mesmo embalada ocorre a inativação da bactéria. Isto acontece porque a embalagem PA/PE selecionada, além de ser uma embalagem indicada para produtos cárneos foi utilizada no estudo de Manzocco et al. (2016) em que foi constatado o efeito da radiação no produto mesmo embalado. Outras embalagens de outros materiais poderiam ter agido como uma barreira, impedindo a ação da radiação UV-C.

Figura 4. 18 Curva de inativação de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo por aplicação de radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m².



O tempo necessário para duas reduções logarítmicas do microrganismo alvo com a barreira (a embalagem) é de menos de 15 segundos. Estes resultados são promissores, uma vez que o produto embalado está protegido de contaminações posteriores à aplicação da radiação.

Segundo Vermeiren et al. (2004), os microrganismos e a maioria de suas células vegetativas são eliminados com o processo térmico, os produtos cárneos cozidos curados são produtos aquecidos a temperaturas de 65-75°C, porém após o tratamento térmico estão expostos a recontaminação provinda do ambiente produtivo e do excesso de manipulação do produto. Além disso, segundo Bolzan e Silva (2012), a vida útil de produtos emulsionados é limitada devido à contaminação após cozimento causado pela manipulação, no processo de embalagem e retirada das tripas. As bactérias lácticas são as que predominam, causando a deterioração em salsichas embaladas a vácuo. Com isto é ressaltada a importância do tratamento ser realizado no produto já embalado.

Manzocco et al. (2016) avaliaram a alteração na vida útil de fatias de abacaxi submetidas à radiação UV-C para inativação de leveduras, bactérias ácido lácticas e fungos. As amostras irradiadas tiveram um crescimento de 2 ciclos logarítmicos menor de leveduras e BAL do que as amostras sem tratamento. Além disso, não houve diferença no crescimento, de nenhum dos microrganismos avaliados, entre as fatias

submetidas ao tratamento antes ou depois de embaladas. A embalagem utilizada no trabalho citado foi PA/PE, assim como a utilizada neste trabalho. Diante dos presentes resultados de inativação de *W. viridescens* em salsicha e os resultados encontrados por Manzocco e colaboradores (2011) em abacaxi, a aplicação de radiação UV-C no produto cárneo já embalado se fez promissora para o aumento de vida útil do alimento.

Uma vez que os posteriores estudos de vida útil de salsicha embalada a vácuo submetidas à radiação UV-C seriam realizados, fez-se necessária a determinação do tempo de processo mais adequado para reduzir a contaminação e permitir o aumento do tempo de vida útil.

Segundo o FDA (2001), o nível de inóculo utilizado com o objetivo de estudar a estabilidade de alimentos (Microbiological Challenge Testing) é entre 10^2 e 10^3 células/g de produto. Esta concentração foi encontrada em salsichas no início da vida útil no trabalho de Battistella (2008). Diante disso, os experimentos de vida útil seriam realizados a partir desta concentração inicial indicada e não seriam necessárias reduções maiores que 10^2 para observar um efeito na vida útil do produto, uma vez que Manzocco et al. (2016) não encontraram nenhuma redução e mesmo assim constataram efeito no tempo final de vida útil do produto analisado. Com isto e com os resultados apresentados na Figura 4.18, o tempo de irradiação no produto escolhido para análise do efeito da radiação na vida útil de salsichas embaladas a vácuo foi de 5 segundos, uma vez que os resultados de inativação em salsicha embalada não tem diferença que justifique a escolha de um tempo maior.

4.3 ESTUDO DE VIDA ÚTIL DE SALSICHA EMBALADA A VÁCUO SUBMETIDA À RADIAÇÃO UV-C

Nesta seção serão apresentados os resultados do estudo de vida útil da salsicha embalada a vácuo com e sem tratamento de radiação UV-C.

4.3.1 Caracterização da Salsicha

Análises para caracterização da matéria prima utilizada nos dois estudos de vida útil foram realizadas e os resultados estão apresentados na Tabela 4.17.

Tabela 4. 17 Valores de média e desvio padrão das análises realizadas em salsicha.

Análise	Experimento 1			Experimento 2		
	Média	Desvio padrão	Análise	Média	Desvio padrão	Desvio padrão
pH	6,406	0,037	pH	6,433	0,027	0,027
Atividade de água	0,964	0,000	Atividade de água	0,965	0,000	0,000
NaCl (% em massa)	2,702	0,003	NaCl (% em massa)	2,748	0,015	0,015

Com a análise dos resultados apresentados na Tabela 4.17, é possível afirmar que as salsichas utilizadas nos dois experimentos possuíam as mesmas características físico-químicas como pH, atividade de água e concentração de cloretos. Esperava-se que as amostras tivessem as mesmas características, uma vez que os experimentos foram realizados com salsichas da mesma marca.

Hoffmann (2001) afirma que a atividade de água característica de produtos cárneos fica em torno de 0,98. Próximo desse valor, Garrido et al. (2010) analisaram presunto fatiado e encontraram valores em torno de 0,95 e 0,961. Desta forma, o valor de atividade de água para a salsicha encontrado no presente trabalho (0,96) encontra-se de acordo com os valores citados na literatura. Apesar disso o valor foi acima dos encontrados por Bolzan e Silva (2012) que avaliaram cinco diferentes marcas de salsichas compradas no comércio de Francisco Beltrão (Paraná) que variaram de 0,93 a 0,94.

Os valores de pH de 6,40 e 6,43 encontrados para a salsicha estão de acordo com o citado por Battistella (2008) em que o valor inicial de pH das salsichas utilizadas para uma das temperaturas estudadas foi de 6,42.

Segundo Angelini (2011) não há legislação que controle o teor de sal adicionado em formulações cárneas no Brasil, apenas a tabela de composição da salsicha norte americana apresenta valor de 2,64% de NaCl em 100g de produto. Percentuais variando de 2,16% a 3,05% foram encontrados em estudo realizado por Angelini (2011) em sete marcas comerciais de salsichas brasileiras comercializadas na cidade de Belo Horizonte e Porto Alegre, valores estes próximos aos encontrados neste estudo. Bolzan e Silva (2012) avaliaram cinco diferentes marcas de salsichas compradas no comércio de Francisco Beltrão (Paraná) e estas tinham concentração de cloreto de sódio de 2,08 a 3,20%. Apenas uma das marcas avaliadas no trabalho citado apresentou concentração maior que 3%, que segundo Salgado et al. (1999) é a concentração máxima recomendada para produtos cárneos devido ao sabor.

A concentração de NaCl encontrada para as amostras utilizadas neste trabalho foram de 2,7 e 2,75%. Os valores encontrados estão dentro do esperado, uma vez que Bressan et al. (2007), apesar de referirem-se mais especificamente a produtos cárneos fatiados, afirmam que esses alimentos apresentam teores de sal entre 2 a 4%. Além disso, Ferreira (2004) concluiu em seu trabalho que há inibição caracterizada pelo aumento da fase lag do crescimento de *W. viridescens* quando a concentração de sal no meio é superior a 2,8%. As amostras do presente

trabalho estão com teores de cloretos abaixo desta concentração de “inibição” do crescimento.

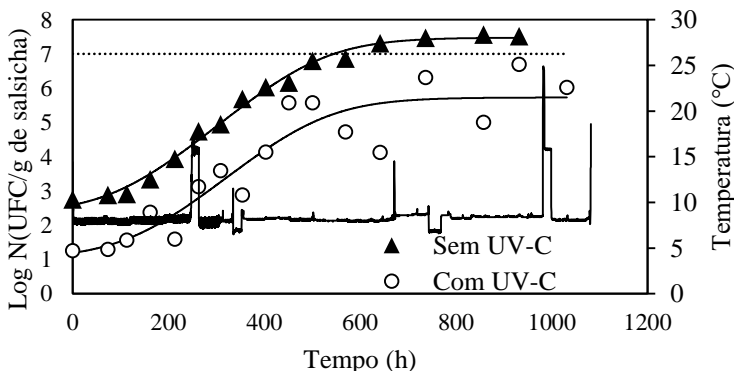
Segundo Gava (1984), a maior parte das bactérias, incluindo as BAL, são capazes de se desenvolver em alimentos com atividade de água maior que 0,90 e pH próximo da neutralidade, sendo que as bactérias produtoras de ácido desenvolvem-se, sem prejuízos, em meio levemente ácido.

Diante dos resultados apresentados e do fato do armazenamento avaliado no estudo ser a vácuo, as características das salsichas selecionadas são propícias para a realização do estudo de crescimento de *W. viridescens*.

4.3.2. Comparação da vida útil de salsichas submetidas à radiação UV-C e salsichas não irradiadas

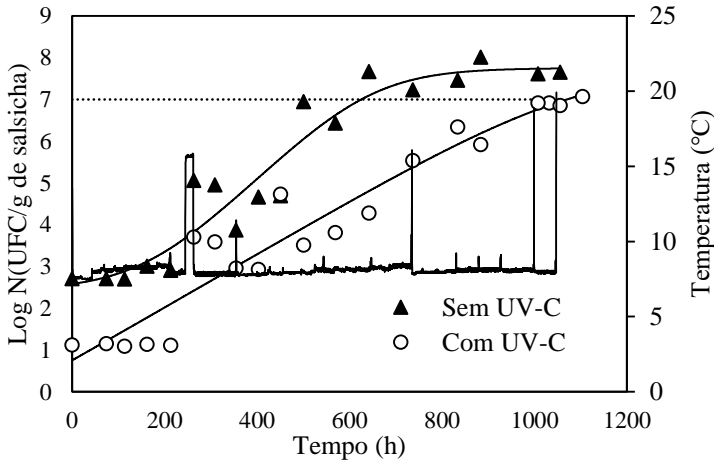
De acordo com a Vigilância Sanitária (BRASIL, 1999), os produtos cárneos devem ser armazenados numa faixa de temperatura entre 0 °C e 10 °C. Diante disso foram realizados dois estudos de vida útil de salsichas sob condição de refrigeração com pequenos abusos de temperatura para simular a realidade. Nestas condições de armazenamento foram comparadas amostras anteriormente submetidas ao tratamento com radiação UV-C e amostras não irradiadas. Os resultados destes estudos estão apresentados nas Figuras 4.19 e 4.20.

Figura 4. 19 Crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo sob refrigeração com e sem submissão à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m² por 5 segundos (experimento 1).



Para auxílio da análise dos resultados o modelo de Baranyi e Roberts (Equação 2.2) foi ajustado aos dados experimentais. A partir do modelo, foi possível obter os tempo para fim da vida útil do produto que estão apresentados na Tabela 4.18.

Figura 4. 20 Crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo sob refrigeração com e sem submissão à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m² por 5 segundos (experimento 2).



O modelo de Baranyi e Roberts também foi ajustado aos dados do segundo experimento de vida útil realizado, tanto para os dados obtidos a partir de amostras irradiadas como para os dados referentes às amostras não irradiadas. Desta foram, foram obtidos também os tempos de fim de vida útil das amostras avaliadas e apresentados na Tabela 4.18.

Tabela 4. 18 Comparação dos efeitos radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m² por 5 segundos na vida útil de salsicha embalada a vácuo.

	Redução da concentração inicial	Tempo de vida útil (dias)	Aumento da vida útil* (dias)
SEM UV 1		22,7	
COM UV 1	1,5	?	?
SEM UV 2		26,06	
COM UV 2	1,6	44,60	18,5

* em relação à amostra não irradiada

Segundo Slongo (2008), o ponto de deterioração causado pelo crescimento de BAL é definido como 10^7 UFC/g de alimento. Para Gogou et al. (2015) pode ser estendido até o crescimento deste grupo de bactérias atingir a concentração de $1,5 \times 10^7$ UFC/g. Diante dessas referências, foi estabelecido para o presente estudo que o tempo necessário para a concentração de BAL atingir 10^7 UFC/g de salsicha seria equivalente ao tempo que determina o fim da vida útil do produto.

No primeiro experimento (Figura 4.19) apenas as amostras não irradiadas atingiram a concentração final de vida útil, pois com 43 dias acabaram as amostras e nenhuma delas havia passado de 6,7 log decimais. Além disso as amostras irradiadas apresentaram aspectos aceitáveis para o consumo.

As amostras avaliadas não irradiadas que atingiram esta concentração estabelecida, foi verificado visulamente a presença de mela, aroma característico de salsicha mais forte e no segundo experimento foi verificado também a presença de gás nos pacotes. Estas características eram esperadas para o produto no final de sua vida útil, uma vez que *W. viridescens* é associada a processos de deterioração em produtos à base de carne tais como a presença de limo, odores e sabores desagradáveis, perda de vácuo, inchaço dos pacotes, descoloração e uma diminuição no pH (BJÖRKROTH; HOLZAPFEL, 2006; COMI; IACUMIN, 2012; SAMELIS et al., 2000a, b).

Battistella (2008) avaliou a vida útil de salsichas armazenadas a 6,5°C e obtiveram como tempo final da vida útil 26 dias em que as BAL iniciaram com uma contagem média de 2,06 log₁₀ UFC/g e terminaram com valor médio de 7,87 log₁₀ UFC/g de salsicha. No presente trabalho, foram considerados tempos finais de vida útil das salsichas não irradiadas de 22 e 26 dias para os dois experimentos realizados, mesmo partindo de

uma concentração inicial de 2,7 e 2,75 log₁₀ UFC/g de salsicha e tendo como concentração final 7 log₁₀ UFC/g de salsicha. Além disso, a temperatura predominante no presente trabalho foi de 8°C com alguns abusos de temperaturas de até 16°C em ambos os experimentos. O tempo de vida útil das amostras não irradiadas foi pouco maior do que o esperado se comparado à referência devido às salsichas utilizadas terem passado por tratamento térmico já embaladas pelo fabricante e por desinfecção com água destilada estéril e álcool 70 % antes do inóculo para realização do experimento. Ambos os processos podem ter prolongado a vida útil do produto em relação ao avaliado por Battistella (2008).

Após a análise dos resultados apresentados nas Figuras 4.19 e 4.20 e na Tabela 4.18 é de destaque o efeito da radiação sobre a concentração inicial da amostra, uma vez que há uma redução de no mínimo 1,5 log decimal de UFC/g de salsicha em ambos os testes. Com isto, o efeito final da vida útil é de um aumento de mais de 18 dias, o que representa um aumento de mais de 70% do tempo de vida útil do produto.

Como exposto por Noskowa (1978), Cayré et al (2005), Blickstad et al (1993), Von Holy et al (1991), Jay (2005), Mantis et al (2007), Pérez-Chabela et al (2008), Massaguer (2006), Ferreira (2004), Sachindra et al (2005), Liu, Yang e Le (2006) e Battistella (2008), as BAL fazem parte da microbiota predominante de produtos cárneos embalados a vácuo. Essas bactérias apresentam um comportamento irregular em sua estabilidade frente ao calor. Segundo Noskowa (1978), algumas cepas isoladas de produtos cárneos foram inativadas a uma temperatura de 60°C em tempos que oscilaram entre 1 e 28 minutos, porém outras linhagens, dentre elas, a *W. viridescens*, não foram destruídas quando submetidas a uma temperatura de 80°C por 5 minutos, a 75°C em 10 minutos, a 70°C em 15 minutos, a 65°C em 30 minutos, a 60°C em 60 minutos, a 55°C em 120 minutos e a 50°C em 175 minutos. Segundo Battistella (2008), algumas cepas de *Lactobacillus* suportam temperatura de 65°C por aproximadamente 120 minutos. Diante dessas informações, o resultados de aumento de 70 % da vida útil de salsicha pela aplicação de 5 segundos de uma intensidade de 1,93 W/m² de radiação UV-C se mostra uma ótima alternativa ao tratamento térmico da salsicha já embalada ou a ser somado a ele como etapa final para garantir mais tempo do produto com qualidade.

5 CONCLUSÃO

Após a realização do presente trabalho, foi possível concluir e destacar os pontos descritos a seguir.

O equipamento para aplicação de radiação UV-C para inativação de microrganismos está desenvolvido e pode ser utilizado para estudos da inativação de *P. expansum* e *W. viridescens* in vitro e em alimentos. Este possibilita a aplicação de diferentes intensidades de radiação e controle de temperatura para garantia do tratamento não térmico, com seus benefícios.

O modelo primário de Weibull é capaz de descrever a inativação por radiação UV-C de *P. expansum* in vitro, em maçã e em suco de maçã, sob condições fixas de intensidade de radiação. A influência da intensidade de radiação sobre os parâmetros gerados pelo modelo primário que descreva a inativação de *P. expansum* em suco de maçã é descrita adequadamente por equações empíricas. Um modelo de inativação sob intensidades de radiação variáveis baseado no modelo proposto por Peleg (2006) está estabelecido, validado e avaliado com bons índices estatísticos, como bias e exatidão. Este modelo possibilita prever os efeitos de condições reais de processo de aplicação de radiação UV-C sobre a inativação do microrganismo deteriorante estudado. Apesar dos bons resultados para preservação do suco, a aplicação da radiação se mostra pouco eficiente para inativação do microrganismo em maçã, se comparada a tempos de sanitização química relatados na literatura.

A radiação UV-C pode ser aplicada para inativação de *W. viridescens* in vitro e na superfície de salsicha (sem embalagem e embalada a vácuo) e linguiça calabresa fininha, pois sua eficiência está comprovada, uma vez que aproximadamente dois segundos são suficientes para obtenção de até 4,97 reduções decimais da BAL estudada. O Modelo de Weibull apresenta bom ajuste a esses dados de inativação. Porém, devido aos resultados obtidos neste trabalho, o tratamento não é indicado para inativação em presunto fatiado, uma vez que se trata de um tratamento superficial e o microrganismo pode ficar nos poros e fibras formados pelo fatiamento, protegido da ação da radiação. Diante do bom ajuste do Modelo de Weibull para descrever a inativação de *W. viridescens* in vitro e dos modelos secundários, um modelo de predição da inativação sob condições variáveis de radiação pôde ser obtido. O modelo dinâmico estabelecido está validado com a realização de tratamento do inóculo sob variação de intensidade de radiação e bons índices estatísticos de verificação do poder preditivo do modelo.

Por meio dos estudos de vida útil se constata que a aplicação de 5 s de $1,93 \text{ W/m}^2$ de radiação UV-C pode aumentar o tempo de vida útil de salsicha em até 70%. Desta forma, uma vez que as BAL fazem parte da microbiota predominante de produtos cárneos embalados a vácuo, o tratamento por radiação UV-C se mostra uma boa alternativa de etapa final na produção de salsicha para garantir sua qualidade por mais tempo.

Os resultados e modelos obtidos neste trabalho são de grande importância para a consolidação da aplicação da técnica não térmica radiação UV-C em alimentos.

REFERÊNCIAS

- ADSUL, M. G.; BASTAWDE, K. B.; VARMA, A. J., et al. Strain improvement of *Penicillium janthinellum* NCIM 1171 for increased cellulase production. **Bioresource Technology**, 98, 1467–1473, 2007.
- AGUIAR, A. M. S. et al. **Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de águas com turbidez e cor moderadas**. Engenharia Sanitária e Ambiental, Vol. 7 - Nº 1 - jan/mar 2002 e Nº 2 - abr/jun 2002.
- ANGELINI, A. P. R. **Quantificação do colágeno, da composição centesimal e estudo do balanço de massa dos nutrientes declarados, na avaliação da qualidade de salsichas**. Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG, 2011.
- ALCANTARA, M. D. et al. Principais microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v.6 n.1, p. 1-20, 2012.
- ALLENDE, A.; ARTÉS, F. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed ‘Lollo Rosso’ lettuce. **Food Research International**, 36, 739–746, 2003.
- ALLENDE, A.; MC EVOY, J.; TAO, Y.; LUO, Y. G. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. **Food Control**, 20 230–234, 2009.
- ALIÑO, M.; FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J.M. Development of a low-sodium ready-to-eat desalted cod. **Journal of Food Engineering**, 107, 304–310, 2011.
- AMIRI, A.; BOMPEIX, G. Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre- and postharvest environments: consequences for decay development. **Plant Pathology**, v. 54, n. 1, p. 74-81, 2005.

ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C. Análise de crescimento de duas cultivares de cevada após tratamentos com elicitores e fungicidas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1065-1071, 2006.

ARAGÃO, G. M. F. et al. Evaluation of the Weibull and log normal distribution functions as survival models fo *Escherichia coli* under isothermal and non isothermal conditions. **Internnational Journal of Foods Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 243-257, 2007.

AUDENAERT, K.; HAENE, K.; MESSENS, K. et al. Diversity of lactic acid bacteria from modified atmosphere packaged sliced cooked meat products at sell-by date assessed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. **Food Microbiology**, v.27, p.12-18, 2010.

BAHÇEÇI, K. S.; ACAR, J. Modeling the combined effects of pH, temperature and ascorbic acid concentration on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. **International Journal of Food Microbiology**, 120, 3, 266-273, 2007.

BARANYI, J. ComBase: A free internet tool to predict microbial responses to food environments (presented to officers of the Food Standards Agency, UK). Institute o Food Research, Norwicch, UK. 2009.

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.

BARBOSA-CANOVAS, G. V.; POTHAKAMURY, U. R.; PALOU, E.; SWANSON, B. G. **Nonthermal preservation of foods**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1998.

BARRETT, D. M.; SOMOGYI, L.; RAMASWAMY, H. **Processing Fruits: Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press, 2005.

BARROSO, L. B.; WOLFF, D. B. Radiação ultravioleta para desinfecção de água. **Disc. Scientia**. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas, S. Maria, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2009.

BATTISTELLA, P. M. D. **Análise de sobrevivência aplicada à estimativa de vida de prateleira de salsicha**. 2008, 82 f. Dissertação

(Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BERSON. UV disinfection in the dairy industry. 2005. Disponível em: <<http://www.foodprocessing.com.au/articles/158-UV-disinfection-in-the-dairyindustry>>. Acesso em 17 de janeiro de 2018.

BEUCHAT, L. R.; NAIL, B. V.; ADLER, B. B.; CLAVERO, M. R. S. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. **Journal of Food Protection**, 61(10), 1305–1311, 1998.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Decontamination of *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-Light. **Journal of Food Science**, 72(9), M391–M396. Food Protection, 61(10), 1305–1311, 2007.

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; ROBINSON, R. K. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry: a critical review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, 637–645, 2000.

BJÖRKROTH, J.; HOLZAPFEL, W. Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. Springer, New York, NY, USA, pp. 267–319, 2006.

BLUM, L. E. B. et al. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo azul em maçãs ‘Fuji’ e ‘Gala’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 2, p. 265-268, 2007.

BOLTON, J. R. **Ultraviolet applications handbook** (2010), Bolton Photosciences Inc.

BOLTON, J. Terms and definitions in ultraviolet disinfection. In: PROCEEDINGS OF “DISINFECTION 2000”. 2000, New Orleans. Water Environment Federation. Alexandria: 2000. 25-40.

BOLZAN, M. E.; SILVA, J. **Avaliação dos parâmetros físico-químicos e qualidade microbiológica de salsichas acondicionadas em**

diferentes embalagens. 2012. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Francisco Beltran, PR.

BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M. L.; BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 103-120, 1996.

BORCH, E.; NERBRINK, E.; SVENSSON, P. Identification of major contamination sources during processing of emulsion sausage. **International Journal of Food Microbiology**, 7, 4, 317–330, 1988.

BRACKMANN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C.A. Armazenamento de nêspas (*Eriobotryia japonica*, Lindl.) cv. Mizuho em atmosfera modificada. **Revista Científica Rural**, v.9, p.18-24, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 5, de 9 de fevereiro de 2006.** Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade Da Maçã. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000.** Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade Da Maçã. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000.

BRASIL. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todos do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 dez. 1988. Seção I.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União** de 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017.** Disponível em <http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/2511_GED.pdf> Acesso em 23 de novembro de 2017.

- BRESSAN, M. C. et al. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 433-438, 2007.
- BLICKSTAD, E.; MOLIN, G. 1993. The Microbial Flora of Smoked Pork Loin and Frankfurter sausage Stored in Different Atmospheres at 4°C. **J. Appl. Bacteriol.** 54: 45-56.
- BUCHANAN, R. L., WHITING, R. C., DAMERT, W. C. When is simple good enough: A comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. **Food Microbiology**, v. 14, p. 313-326, 1997.
- BULE, M. V.; DESAI, K. M.; PARISI, B.; PARULEKAR, S. J.; SLADE, P.; SINGHAL, R. S.; RODRIGUEZ, A. Furan formation during UV-treatment of fruit juices. **Food Chemistry**, 122, 937-942, 2010.
- CAMARGO, A. P. R. S. **Modelagem do crescimento de bactérias ácido lácticas em cultura pura e mista sob condições isotérmicas e não isotérmicas de cultivo**. 2015, 195 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- CAMINITI, I. M.; NOCI, F.; MUÑOZ, A.; WHYTE, P.; MORGAN, D. J.; CRONIN, D. A.; LYNG, J. G. Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend. **Food Chemistry**, 124, 1387-1392, 2011.
- CARLI, E. M.; TERRA, N. N.; FRIES, L. M.; DE MENEZES, C. R.; PALEZI, S. C. Descontaminação de cortes suínos com ácidos orgânicos comerciais, solução salina acidificada e luz ultravioleta, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1195-1204, 2013.
- CASANI, S.; ROUBANY, M. KNOCHEL, S. A discussion paper on challenger and limitations to water reuse and hygiene in the food industry. **Water Research**, v. 39, p. 1134-1146, 2004.
- CASTRO, I. M.; DE SOUSA, D. B.; TEIXEIRA, A. S.; DOS ANJOS, M. R.; DE SOUZA, M. L. M. Análise de contaminante em suco de maçã: Quantificação de patulina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/ UV-DAD). **Comunicado Técnico 202 Embrapa**, Rio de Janeiro, RJ, ISSN 0103 5231, Julho, 2014.

CAYRÉ, M. E.; GARRO, O.; VIGNOLO, G. Effect of Storage Temperature and Gas Permeability of Packing Film on the Growth of Lactic Acid Bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in Cooked Meat Emulsions. **Food Microbiology**. 22: 505-512, 2005.

CAYRÉ, M. E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. Selección de un Modelo Primario para Describir la Curva de Crecimiento de Bacterias Lácticas y *Brochothrix thermosphacta* sobre Emulsiones Cárnicas Cocidas. **Información Tecnológica [online]**, v.18, p.23-29, 2007.

Catálogo de Linhagens da CCT, Coleção de Culturas Tropical - CCT, **Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello**, 1ª Ed., 1996.

CERF, O. A review: tailing of survival curves of bacterial spores. **The Journal of Applied Bacteriology**, v. 42, n. 3, p. 405-415, 1977.

CHANG, J. C. H.; OSSOFF, S. F.; LOBE, D. C.; DORFMAN, M. H.; DUMAIS, C. M.; QUALLS, R. G.; JOHNSON, J. D. UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, 49, 6, 1361–1365, 1985.

CHUN, H.; KIM, J.; CHUNG, K.; WON, M.; SONG, K. B. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteric* serovar *Thyphimurium*, and *Campylobacter jejuni* in ready-to-eat sliced ham using UV-C radiation, **Meat Science**, 83, 599-603, 2009.

COLLINS, M. D.; SAMELIS, J.; METAXOPOULOS, J.; WALLBANKS, S. Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.595–603, 1993.

COMI G.; IACUMIN L. Identification and process origin of bacteria responsible for cavities and volatile off flavour compounds in artisan cooked ham. **International Journal of Food Science & Technology**, v.47, p.114-121, 2012.

CONWAY, G. Produção de alimentos no século XXI: biotecnologia e meio ambiente. São Paulo: Estação Liberdade, 2003. 375 p.

- CORRADINI, M. G. et al. Prediction of an organism's inactivation patterns from three survival ratios determined at the end of three non-isothermal heat treatments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, n. 1-2, p. 98-111, 2008.
- CORRADINI, M. G.; PELEG, M. Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experimental data. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 187-200, 2005.
- CUTLER, T. D.; ZIMMERMAN, J. J. Ultraviolet irradiation and the mechanisms underlying its inactivation of infectious agents. **Anim Health Res Rev.**,12:15–23, 2011.
- DAINTY, R. H.; MACKEY, B. M. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. **J. Appl. Bacteriol.**, v.73, p. S103–S114, 1992.
- DIEZ, A. M.; JAIME, I.; ROVIRA, J. The influence of different preservation methods on spoilage bacteria populations inoculated in morcilla de Burgos during anaerobic cold storage. **International Journal of Food Microbiology**, v.132, p.91–99, 2009.
- DONAHUE, D. W., CANITEZ, N., BUSHWAY, A. A. UV inactivation of *E. coli* O157: H7 in apple cider: quality, sensory and shelf-life analysis. **Journal of Food Processing and Preservation**, 28(5), 368-387, 2004.
- DOORES, S. The microbiology of apples and apple products. **Crit Rev Food Sci Nutr** 19:133-149, 1983.
- DOYLE, M. E. PhD. **Microbial Food Spoilage – Losses and Control Strategies**. Food Research Institute, University of Wisconsin – Madison, 2007. p.2.
- DREHMER, A. M. F. **Quebra de peso das carcaças suínas e estudo da vida de prateleira da carne**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

DROBY, S., Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. **Acta Horticulturae**, 709, 45–51, 2006.

EGAN, A.F.; SHAY, B.J.; ROGERS, P.J. Factors affecting the production of hydrogen-sulfide by *Lactobacillus sake* L13 growing on vacuum-packaged beef **J. Appl. Bacteriol.**, v.67, p. 255–262, 1998.

ELMNASSER, N.; DALGALARRONDO, M.; ORANGE, N.; BAKHROUF, A.; HAERTLÉ, N.; FEDERIGHI, M.; et al. Effect of pulsed-light treatment on milk proteins and lipids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 1984-1991, 200.

ENGIN, B.; KARAGUL YUCEER, Y. Effects of ultraviolet light and ultrasound on microbial quality and aroma-active components of milk. **Journal of the science of food and agriculture**, 6, 1245-52, 2012.

EPA. Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term to enhanced surface water treatment rule. United States Environmental Protection Agency. Disponível em: <
<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=600006T3.txt>>. Acesso em: 30 setembro 2017.

ERKAN, M.; WANG, C. Y.; KRIZEK, D. T. UV-C radiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. **Environmental and Experimental Botany**, 45, 1–9, 2001.

ERKMEN, O. Predictive modelling of *Listeria monocytogenes* inactivation under high pressure carbon dioxide. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 514-519, 2000.

ESTY, J. R.; MEYER, K. F. The heat resistance of spores of *Bacillus botulinus* and allied anaerobes. XI. **J Infect Dis**, 31, 650–653, 1922.

FALGUERA, V.; PAGÁN, J.; IBARZ, A. Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. **LWT - Food Science and Technology**, 44, 115-119, 2011.

FAN, X. Furan formation from fatty acids as result of storage, gamma, irradiation, UV-C and heat treatments. **Food Chemistry**, 175, 439-444, 2015.

FAN, X.; GEVEKE, D. Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. **J. Agric. Food Chem.** 55, 19, 7816-7821, 2007.

FDA. Evaluation and definition of Potentially Hazardous Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. A report of the Institute of Food Technologists for the Food and Drugs Administration of the United States Department of Health and Human Services. December 31, 2001.

FDA (United States Food and Drug Administration). **Ultraviolet radiation for the processing and treatment of food. Code of Federal Regulations**, 179, 2011.

FERREIRA, L. D. **Utilização da Microbiologia Preditiva na Avaliação do Crescimento de Bactérias Ácido Láticas em Presunto Fatiado**. 2004. Dissertação Mestrado Engenharia Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2004.

FERREIRA, W. F. C.; SOUSA, J. C. F. *Microbiologia*, v. 1, Lidel – Edições Técnicas. 1998 p.15.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **British Journal of Experimental Pathology**, 10, 226–236, 1929.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu, 2008 182 p.

FRANZ, C. M. A. P.; VON HOLY, A. Bacterial populations associated with pasteurized vacuum-packed Vienna sausages. **Food Microbiology**, v. 13, p. 165-174, 1996.

FREIBERGER, R M. C. P.; SANT ANNA, E. S.; FRANCHIN, P R.; DEGENHARDT, R. Utilização de ácidos orgânicos como conservantes

em linguças curadas cozidas embaladas a vácuo. **Segurança Alimentar e Nutricional**, 23, 2, 2016.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**, 49, 1–174, 2004.

FRISVAD, J. C.; SMEDSGAARD J.; LARSEN T. O., et al. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, 49, 201–241, 2004.

FUJIKAWA, H.; MOROZUMI, S.; SMERAGE, G. H.; TEIXEIRA, A. A. Comparison of capillary and test tube procedures for analysis of thermal Inactivation kinetics of molde spores. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 10, p. 1404-1409, 2000.

FUNES, G. J.; GÓMEZ, P. L.; RESNIK, S. L.; ALZAMORA, S. M. Application of pulsed light to patulin reduction in Mellvaine buffer and apple products, **Food Control**, 30, 405-410, 2013.

GABRIEL, A. A. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and spoilage yeasts in germicidal UV-C-irradiated and heat-treated clear apple juice, **Food Control**, 25, 425-432, 2012.

GARRIDO, V.; GARCÍA-JALÓN, I.; VITAS, A. I. Temperature distribution in Spanish domestic refrigerators and its effect on *Listeria monocytogenes* growth in sliced ready-to-eat ham. **Food Control**, v. 21, n. 6, p. 896–901, 2010.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo, Nobel, 1984.

GEERAERD, A. H.; VAN IMPE, J. F. GInaFIT, Geeraerd and Van Impe Inactivation model Fitting Tool. **Version 1.6**, Katholieke Univesiteit Leuven, Belgium, 2012.

GIBSON, A. M. ; BRATCHELL, N. ; ROBERTS, T. A. The effect of sodium chloride and temperature on rate and extent of growth of

Clostridium botulinum type A in pasteurized pork slurry. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 62, p. 479-490, 1987.

GILL, C. O. Meat Microbiology: **Microbial interactions in meats**. Applied Science Publishers Ltda. London, 1982.

GIRAUD, F.; GIRAUD, T.; AGUILETA, G.; FOURNIER, E.; SAMSON, R.; CRAUD, C.; LACOSTE, S.; ROPARS, J.; TELLIER, A.; DUPONT, J. Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing. **International Journal of Food Microbiology**, 137, 204–213, 2010.

GOLDBLITH, S. A.; JOSLYN, M. A.; NICKERSON, J. T. R. Introduction to thermal procession of foods: An anthology of food science, v.1, **AVI Publishing Company**, 1961.

GOMES, A.C.R. **Processamento tecnológico de carnes curadas**. São Paulo: 2007. Originalmente apresentado para obtenção do grau de especialização no curso de pós-graduação "Lato Sensu" em vigilância Sanitária, Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Castelo Branco, 2007.

GOMES, T. A.; FILHO, M. R. S.; ZIELINSKI, A. A. F.; PIETROWISKI, G. A. M.; NOGUEIRA, A. Microbial levels in apple must and their association with fruit selection, washing and sanitization. **Journal of Food Safety**, 34, 141-149, 2014.

GÓMEZ, P. L.; ALZAMORA, S. M.; CASTRO, M. A.; SALVATORI, D. M. Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: Microorganism, color and compression behavior, **Journal of Food Engineering**, 98, 60-70, 2010.

GÓMEZ-ROJO, E. M.; ROMERO-SANTACREU, L.; JAIME, I.; ROVIRA, J. A novel real-time PCR assay for the specific identification and quantification of *Weissella viridescens* in blood sausages. **International Journal of Food Microbiology**, 2015.

GONTIJO, R. Disponível em:

<http://www.rafaelgontijo.com.br/radiacao.html>. Acesso em 17 de janeiro de 2018.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; WANG, C. Y.; BUTA, J. G.; KRIZEK, D. T. Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe ‘Tommy Atkins’ mangoes. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 767–773, 2001.

GOVERNO DE SANTA CATARINA, Notícias. **Mudanças na regulamentação para o transporte de maçãs garante qualidade aos consumidores catarinenses**. Publicado: 3 Março 2017. Disponível em: <<http://www.sc.gov.br/index.php/noticias/temas/agricultura-e-pesca/mudancas-na-regulamentacao-para-o-transporte-de-macas-garante-qualidade-aos-consumidores-catarinenses>>. Acesso em: 27 de setembro de 2017.

GOVERNO DE SANTA CATARINA, Notícias. **Santa Catarina fatura 2,6 bilhões de dólares com exportações de carnes em 2017**. Publicado: 12 Jan 2018. <<http://www.sc.gov.br/index.php/noticias/temas/agricultura-e-pesca/santa-catarina-fatura-2-6-bilhoes-de-dolares-com-exportacoes-de-carnes-em-2017>>. Acesso em: 19 de março de 2018.

GOVERNO DE SANTA CATARINA, Notícias. **Santa Catarina tem alta nas exportações de carne suína e de frango no primeiro trimestre de 2017**. Publicado: 07 Abril 2017. <http://www.sc.gov.br/index.php/noticias/temas/agricultura-e-pesca/santa-catarina-tem-alta-nas-exportacoes-de-carne-suina-e-de-frango-no-primeiro-trimestre-de-2017>. Acesso em: 27 de setembro de 2017.

GRAÇA, A.; SALAZAR, M.; QUINTAS, C.; NUNES, C. Low dose UV-C as na eco-innovative disinfection system on minimally processed apples. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 1-7, 2013.

GRAM, G.; RAVN, L.; RASCH, M; BRUHN, J.B.; CHRISTENSEN, A.B.; GIVSKOV, M. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, v.78, p.79-97, 2002.

GUEDES, A. M. M. et al. TECNOLOGIA DE ULTRAVIOLETA PARA PRESERVAÇÃO DE ALIMENTOS. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 27, n. 1, p.59-70, jun. 2009. Disponível em:

<<http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/14953>>. Acesso em: 18 nov. 2016.

GUERRERO-BELTRAN, J. A.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**, 10(3), 137–147, 2004.

HABERBECK, L. U. **Modelagem da inativação isotérmica e não isotérmica de *Bacillus coagulans* por tratamento termoquímico utilizando óleo essencial de orégano**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

HABERBECK, L. U.; RIEHL, C. A. S.; SALOMÃO, B. C. M.; ARAGÃO, G. M. F. *Bacillus coagulans* spore inactivation through the application of oregano essential oil and heat. **LWT - Food Science and Technology**, 46, 267-273, 2012.

HAN, Y.; JIANG, Y.; XU, X.; SUN, X.; XU, B.; ZHOU, G. Effect of high pressure treatment on microbial populations of sliced vacuum-packed cooked ham. **Meat Science**, v. 88, p. 682-688, 2011.

HAN, Y.; XU, X.; JIANG, Y.; ZHOU, G.; SUN, X.; XU, B. Inactivation of food spoilage bacteria by high pressure processing: evaluation with conventional media and PCR–DGGE analysis. **Food Research International**, v.43, p.1719–1724, 2010.

HIJNEN, W. A.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. **Water Research**, 40, 3-22, 2006.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, v. 9, p. 23-30, 2001.

HU, P.; ZHOU, G.; XU, X.; LI, C.; HAN, Y. Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16S rDNA-DGGE. **Food Control**, v. 20, p. 99–104, 2009.

IACUMIN, L.; ANDYANTO, D.; MANZANO, M.; COMUZZO, P.; ANDCOMI, G. A case of spoilage in wurstel sold in an Italian supermarket. **Food Control**, v.43, p.245–250, 2014.

IBARZ, R.; GARVÍN, A.; FALGUERA, V.; PAGÁN, J.; GARZA, S.; IBARZ, A. Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp, **Food Research International**, 66, 158-166, 2014.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Fevereiro 2017.

IRKIN R.; ESMER, O. K.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DEGIRMENCIOGLU, A. Influence of packaging conditions on some microbial properties of minced beef meat at 4 °C storage. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v.17, p.655-663, 2011.

ISSA-ZACHARIA, A.; KAMITANI, Y.; MUHIMBULA, B. K.; NDABIKUNZE, B. K. A review of microbiological safety of fruits and vegetables and the introduction of electrolyzed water as an alternative to sodium hypochlorite solution. **African Journal of Food Science**, 4, 13, 78–789, 2010.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Editora Artmed, Porto Alegre, 6ª ed., 2005.

JIN, T. et al. Effects of pH and temperature on inactivation of *Salmonella typhimurium* DT104 in liquid whole egg by pulsed electric fields. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 367-372, 2009.

KADER, A. A. Postharvest biology and technology: on overview. IN: **Postharvest tecnology of horticultural crops**. 2.ed. Oakland, Ca: University of California, 1992.

KEYSER, M.; MÜLLER, I. A.; CILLIERS, F. P.; NEL, W.; GOUWS, P. A. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 9, 348-354, 2008.

KILCAST, D.; SUBAMANIAM, P. (Editated by). **The stability and shelf-life of food**. 2000. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. Cap. 1.

KIM, C.; HUNG, Y.; BRACKETT, R. E. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. **J. Food Prot.** 63, 19-24, 2000a.

KIM, C.; HUNG, Y.; BRACKETT, R. E. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. **Int. J. Food Microbiol.** 61, 199-207, 2000b.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. 2008) Dictionary of the Fungi (10th ed.). Wallingford, UK: CABI. 2008. p. 505. [ISBN 978-0-85199-826-8](#).

KOORT, J.; MURROS, A.; COENYE, T.; EEROLA, S.; VANDAMME, P.; SUKURA, A.; BJORKROTH, J. *Lactobacillus oligofermentans* sp. nov., associated with spoilage of modified-atmosphere-packaged poultry products. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.71, p.4400–4406, 2005.

KORKEALA, H.; BJÖRKROTH, K. J. Spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages: a review. **J. Food Prot.** v.60, p.724-731, 1997.

KOSEKI, S.; ITOH, K. Prediction of microbial growth in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. **J. Food Prot.** 64, 1935-1942, 2001.

KOUTCHMA, T. Advances in UV light technology for non-thermal processing of liquid foods. **Food Bioprocess Technology**, 2, 138-155, 2009.

KOUTCHMA, T. N.; FOMEY, L. J.; MORARU, C. I. Ultraviolet light in food technology **Principles and applications**, CRC Press Taylor & Francis Group, 2009. 261 p.

KOUTCHMA, T.; ORLOWSKA, M. Ultraviolet light for processing fruits and fruit products. In: RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. **Advances in fruit processing technologies**, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2012. 439p.

KOUTSOUMANIS, K. Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 4, p. 1821-1829, 2001.

KOUTSOUMANIS, K.; STAMATIOU, A.; SKANDAMIS, P.; NYCHAS, G. J. E. Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions. **Applied and Environmental Microbiology [online]**, v.72, n.1, p.124-134, 2006.

KUPFERMAN, E. Control of Major Postharvest Apple Diseases. **Post Harvest Pomology Newsletter**, v. 4, n. 3, 1986. Disponível em: <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/pgDisplay.php?article=N4I3B>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2018.

LABUDA, R.; KRIVÁNEK, L. L.; TANCIONOVÁ, D.; MÁTÉOVÁ, S.; HRUBCOVÁ, S. Mycological survey of ripped service tree fruits (*Sorbus domestica* L.) with an emphasis on toxinogenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, n. 2, p. 215-223, 2005.

LAGUNAS-SOLAR, M. C. Food Technologies: Pulsed ultravioleta radiation processing. **Encyclopedia of Food Safety**, Volume 3, 225-238, 2014.

LAROUS, L.; HANDEL, N.; ABOOD, J.K.; GHOUL, M. **The growth and production of patulin mycotoxin by *Penicillium expansum* on apple fruits and its control by the use of propionic acid and sodium benzoate**. Department of Biology, College of Science, University of Setiff. Setiff, Algeria, 2007.

LEBERT, I.; LEBERT, A. Quantitative prediction of microbial behaviour during food processing using an integrated modelling approach: a review. **International Journal of Refrigeration**, v. 29, n. 6, p. 968-984, 2006.

LINK, J. H. F. **Observationes in ordines plantarum naturales**. Dissertatio I". Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin (in Latin). 1809. 3, 42p.

LIU, B.; YU, F.; WU, T.; LI, S.; SU, M.; WANG, M.; SHIH, S. Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed mycotoxin, patulin and citrinin. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 191, n. 3, p. 255-263, 2003.

LIU, F.; YANG, R. Q.; LI, Y. F. Correlations Between Growth Parameters of Spoilage Micro-organisms and Shelf-life of Pork Stored Under Air and Modified Atmosphere at -2, 4 and 10°C. **Food Microbiology**. 23: 578-583, 2006.

LONGHI, D. A.; DALCANTON, F.; ARAGÃO, G. M. F. DE; CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B. Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions. **Journal of Theoretical Biology**, v. 335, p. 88–96, 2013.

LUCAS, J. Integrating MAP with new germicidal techniques. In: AHVENAINEN, R. **Novel food packaging techniques**. Boca Ratón, Flórida: CRC, 2003. Chap. 15

LUDEMANN, V.; GRECO, M.; RODRÍGUEZ, M. P. et al. Conidial production by *Penicillium nalgiovense* for use as starter cultures in dry fermented sausages by solid state fermentation. **LWT – Food Science and Technology**, 43, 315–318, 2010.

LURIE, S. The effect of high temperature treatment on quality of fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.712, p.165-173, 2006.

MAFART, P. Food engineering and predictive microbiology: on the necessity to combine biological and physical Kinetics. **International Journal of Food Microbiology**, 100: 239251, 2005.

MAFTEI, N. A.; RAMOS-VILLARROEL, A. Y.; NICOLAU, A. I.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Influence of processing parameters on the pulsed-light inactivation of *Penicillium expansum* in apple juice. **Food Control**, 41, 27-31, 2014.

MANTILLA, S. P. S.; MANO, S. B.; VILTAL, H. C.; FRANCO, R. M. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 8, n. 4, p. 437-448, 2010.

MANTIS, F.; BURRIEL, A. R.; SABATAKOU, O.; VACALOPOULOS, A.; RAMANTANIS, S. Some Factors Determining the Shelf Life of Vacuum Packed Heat-Treated Greek Sausages. **Veterinarski Arhiv**, 77 (3): 229-235, 2007.

MANZOCCO, L.; DA PIEVE, S.; BERTOLINI, A.; BARTOLOMEOLI, I.; MAIFRENI, M.; VIANELLO, A.; NICOLI, M. C. Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. **Postharvest Biology and Technology**, 61, 165-171, 2011.

MANZOCCO, L.; PLAZZOTTA, S.; MAIFRENI, M.; CALLIGARIS, S.; ANESE, M.; NICOLI, M. C. Impact of UV-C light on storage quality of fresh-cut pineapple in two different packages. **LWT-Food Science and Technology**, 1138-1143, 2016.

MARTINS, E. A. **Listeria Monocytogenes em produtos fatiados do tipo ready-to-eat, presunto cozido e salame, comercializados no município de São Paulo: ocorrência, quantificação e sorotipagem**. 2009, 76f. Tese (Doutorado da Faculdade de Saúde Pública) – Universidade São Paulo, São Paulo, 2009.

MARTINS, W. F. **Predição do crescimento de Weissella viridescens sob condições não isotérmicas**. 2015, 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

MASSAGUER, P. R. Microbiologia dos processos alimentares. Ed. Varela, São Paulo, SP, 2006.

MATAGARAS, M.; SKANDAMIS, P.; NICHAS, G. J. E. Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. **Meat Science**, 77, p.348-356, 2007.

McDONALD, K.; SUN, D. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **International Journal of Food Microbiology** v. 128, n. 1, p. 2-9, 2008.

McMKELLAR, R. C.; LU, X. Modelling Microbial Response in Food. CRC series in contemporary food science. CRC PRESS Boca Raton, London, New York, Washington D. C., 2004.

McMEEKIN, T. A.; OLLEY, J.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T. Predictive microbiology: Towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, p. 395-407, 2002.

McMEEKIN, T. A.; BROWN, J.; KRIST, K.; MILES, D.; NEUMEYER, K.; NICHOLS, D. S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. Quantitative microbiology: a basis for food safety. **Emerg Infect Dis.**, 3, 4, 541-9, 1997.

McMEEKIN, T.; BOWMAN, J.; MCQUESTIN, O.; MELLEFONT, L.; ROSS, T.; TAMPLIN, M. The future of predictive microbiology: Strategic research, innovative applications and great expectations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, p. 2-9, 2008.

MENEZES, N. M. C. **Efeito da adição de óleo essencial de orégano sobre a vida útil de presunto fatiado embalado a vácuo: modelagem em condições isotérmicas e não-isotérmico**. 2016, 53 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

MIDGLEY, J.; SMALL, A. Review of new and emerging technologies for red meat safety. **Meat and Livestock Australia Final Report Food Safety**. PRMS.083, 2-72, 2006.

MILBOURNE, K. Thermal Tolerance of *Lactobacillus viridescens* in Ham. **Meat Science**, v. 9, p. 113-119, 1983.

MINITAB 18. Disponível em: <https://support.minitab.com/en-us/minitab/18/help-and-how-to/probability-distributions-and-random-data/supporting-topics/distributions/weibull-distribution/>. Acesso em: 27 de janeiro de 2018.

MONE, J.G. Ultraviolet Water Purification. Pollution Engineering Magazine. vol.5 no.12. 1973.

MORALES, H.; SANCHIS, V.; COROMINES, J.; RAMOS, A. J.; MARIN, S. Inoculum size and intraspecific interactions affects *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. **Food Microbiology**, v. 25, n. 2, 378-385, 2008.

MOREIRA, E.; FRAGA, L. A. MENDONÇA, M. H.; MONTEIRO, O. C. Synthesis, optical, and photocatalytic properties of a new visible-light-active ZnFe₂O₄-TiO₂ nanocomposite material. **J. Nanopart Res**, 14, 1-10, 2012.

MORISHITA, Y.; SHIROMIZU, K. Characterization of lactobacilli isolated from meat and meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 3, p. 19-29, 2008.

MÜLLER, A.; BRIVIBA, K.; GRÄF, V., GREINER, R.; HERRMANN, C.; KUBALLA, T.; STAHL, M. R. UV-C treatment using a Dean vortex technology – impact on apple juice enzymes and toxicological potential. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 20, 238-243, 2013.

MÜLLER, A.; NOACK, L.; GREINER, R.; STAHL, M. R.; POSTEN, C. Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2014.

MÜLLER, A.; PIETSCH, V. L.; SCHNEELE, J. S.; STAHL, M. R.; GREINER, R.; POSTEN, C. Effect of temperature and pH value on the UV-C sensitivity of *Escherichia coli* and *Lactobacillus plantarum*. **LWT - Food Science and Technology**, 64, 699-705, 2015.

MURAKAMI, E. G.; JACKSON, L.; MADSEN, K.; SCHICKEDANZ, B. Factors affecting the ultraviolet inactivation of *Escherichia coli* K12 in apple juice and a model system. **Journal of Food Process Engineering**, 29(1), 53-71, 2006.

NAKASHIMA, S. M. K.; ANDRÉ, C. D. S.; FRANCO, B. D. G. M. Aspectos básicos da microbiologia preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, n. 33, p. 41-51, 2000.

NATURALTEC. Disponível em: <http://www.naturaltec.com.br/Desinfeccao-Ultravioleta-UV-Agua.html>. Acesso em 17 de janeiro de 2018a.

NIELSEN, P. V. Preservative and temperature effect on growth of three varieties of the heat-resistant mould, *Neosartorya fischeri*, as measured

by an impedimetric method. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 6, p. 1735-1740, 1991.

NOGUEIRA, A.; PHOLMAN, B.; WOSIACKI, G. Características de qualidade de cultivares de maçã. Avaliação físico-química e sensorial de quinze cultivares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 347-352, 2004.

NOGUEIRA, A.; TEIXEIRA, S. H.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G. Influência do processamento no teor de minerais em sucos de maçãs. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 259-264, 2007.

NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. **Sidra**. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Org.). *Bebidas Alcoólicas - Ciência e Tecnologia*. 1 ed. São Paulo: Blucher, v. 1, p. 113-142. 2010.

NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. **Apple cider fermentation**. In *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology*, Vol. xix (Y.H. Hui and E. Özgül Evranuz, eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, 2012. pp. 209–235.

NOSKOWA, G. L. *Microbiologia de las Carnes Conservadas por el Frio*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España, 1978.

NOVAK, J.; DEMIRCI, A.; HAN, Y.; HAN, Y. Novel chemical processes: Ozone, supercritical CO₂, electrolyzed oxidizing water, and chlorine dioxide gas. **Food Science and Technology International**, 14(5), 437–441, 2008.

OETTERER, M.; APARECIDA, M.; D'ARCE, B. R.; SPOTO, M. H. F. *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1. Ed. São Paulo: Manole, 2006. 632p.

OLIVEIRA, M. F. *Evolução da carga microbiológica de uma refeição pré-cozinhada – Resultados experimentais e Microbiologia Preditiva*. Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro. Departamento de Química, 2009.

ÖLMEZ, H.; KRETZSCHMAR, U. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption

and environmental impact. **LWT: Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 686-693, 2009.

ORLOWSKA, M.; KOUTCHMA, T.; KOSTRZYNSKA, M.; TANG, J. Surrogate organisms for pathogenic O157:H7 and non-O157 *Escherichia coli* strains for apple juice treatments by UV-C light at three monochromatic wavelengths, **Food Control**, 47, 647-655, 2015.

OTTO, C.; ZAHN, S.; ROST, F.; ZAHN, P.; JAROS, D.; ROHM, H. Physical methods for cleaning and disinfection of surfaces. **Food Engineering Reviews**, 3(3-4), 171-188, 2011.

PAES, Â. T. O que fazer quando a distribuição não é normal? Por dentro da estatística. *einstein*: **Educ Contin Saúde**. 7(1 Pt 2): 3-4, 2009.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, 1996. v.2.

PARK, C. M; HUNG, Y. C.; DOYLE, M. P. EZEIKE, G. O. I.; KIM, C. Pathogens reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water. **J. Food Sci**. 66(9), 1368-1372, 2001.

PATARO, G.; MUÑOZ, A.; PALGAN, L.; NOCI, F.; FERRARI, G.; LYNG, J. G. Bacterial inactivation in fruit juices using a continuous flow Pulsed Light (PL) system. **Food Research International**, 44, 1642-1648, 2011.

PATTERSON, D. S. P.; SHREEVE, B. J.; ROBERTS, A.; MacDONALD, S. M. Verruculogen produced by soil fungi in England and Wales. **Applied and Environmental Microbiology**, 42(5), 916-917, 1981.

PATTERSON, M. F.; McKAY, A. M.; CONNOLLY, M.; LINTON, M. Effect of high pressure on the microbiological quality of cooked chicken during storage at normal and abuse refrigeration temperatures. **Food Microbiology**, v. 27, p. 266-273, 2010.

PEIRSON, M. D.; GUAN, T. Y.; HOLLEY, R. A. Thermal resistances and lactate and diacetate sensitivities of bacteria causing bologna

discoloration. **International Journal of Food Microbiology**, v.86, p.223–230, 2003.

PELEG, M. **Advanced quantitative microbiology for foods and biosystems**: models for predicting growth and inactivation. Boca Raton: Taylor e Francis, 2006.

PELEG, M.; COLE, M. B. Reinterpretation of microbial survival curves. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 5, p. 353-380, 1998.

PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing, **Food Research International**, 43, 1936-1943, 2010.

PÉREZ-CHABELA, M. L.; TOTOSAUS, A.; GUERRERO, I. J. Evaluation of Thermotolerant Capacity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Sausages and the Effects of their Addition on the Quality of Cooked Sausages. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas. 28 (1): 132-138, 2008.

PERIAGO, P. M.; VAN ZUIJLEN, A.; FERNANDEZ, P. S.; KLAPWIJK, P. M.; TER STEEG, P.F.; CORRADINI, M. G.; PELEG, M. Estimation of the non-isothermal inactivation patterns of *Bacillus sporothermodurans* IC4 spores in soups from their isothermal survival data. **International Journal of Food Microbiology**, 95, 205–218, 2004.

PERUCH, L. A. M.; SILVA, A. C. F. da. Avaliação de híbridos de repolho, couve-flor e brócolis sob cultivo orgânico, em duas épocas de plantio, no litoral Catarinense. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p.87-90, 2006.

PFANNHAUSER, W.; FENWICK, G.R.; KHOKHAR, S. Biologically-active phytochemicals in food, Analysis, Metabolism, Bioavailability and Function, **The Royal Society of Chemistry**, Cambridge, 2001.

PITT, J.I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**, Springer, vol. 519, 2009.

PRESTES, M. L. de M. **A pesquisa e a construção do conhecimento científico**: do planejamento aos textos, da escola à academia. 2. ed. São Paulo: Rêspel, 2003.

PUÉRTOLAS, E.; LÓPEZ, N.; CONDÓN, S.; RASO, J.; ÁLVAREZ, I. Pulsed electric fields inactivation of wine spoilage yeast and bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, 130, 49-55, 2009.

RATKOWSKY, D. A. Some examples of, and some problems with, the use of nonlinear logistic regression in predictive food microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, p. 119-125, 2002.

REIS, R. A. A.; SANTOS, W. L. M.; OLIVEIRA, A. L. 12/1999. **Identificação da Hidroxiprolina como Índice de Qualidade de Salsicha Comercializada em Belo Horizonte-MG**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 51 (6): 589-594.

RICE-EVANS, C. Flavonoid antioxidants, **Curr. Med. Chem.** 8, p. 797–807, 2001.

ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, 2000. 202p.

ROOT, W.H.; BARRET, D.M. Apples and apple processing. In: BARRET, D.M.; SOMOGYI, L.; RAMASWAMY, H. (Ed.). **Processing Fruits: Science and technology**. Boca Raton. CRC Press. 2005.

ROSA, S. E. S.; COSENZA, J. P.; SOUZA, L. T. Panorama do setor de bebidas no Brasil BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 23, p. 101-150, mar. 2006. Disponível em: <https://goo.gl/H3HSG7>. Acesso em: 24 jul. 2017.

ROSS, T.; McMEEKIN, T. A. Predictive Microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 41-264, 1999.

SACHINDRA, N. M.; SAKHARE, P. Z.; YASHODA K. P.; NARASIMHA RAO, D. 2005. Microbial Profile of Buffalo Sausage During Processing and Storage. *Food Control*. 16: 31-35.

SÄDE, E. **Leuconostoc spoilage of refrigerated, packaged foods**. Helsinki – Finland, 2011. Originalmente apresentada para obtenção do

grau de mestre Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, 2011

SADIK, C. D.; SIES, H.; SCHEWE, T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure–activity relations and mode of action, **Biochem. Pharmacol.** 65, p. 773–781, 2003.

SALGADO, J. M.; GALVÃO, M. E. L.; STORER, M. de L. P.; BRAZACA, S. G.C. Utilização da carne de capivara na elaboração de salsicha e fiambre. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 83-92, jan./jun.1999

SALOMÃO, B. C. M. **Detecção de patulina e desinfecção de maçãs destinadas à produção de suco.** 2009, 238 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SALOMÃO, B. C. M.; MULLER, C.; DO AMPARO, H. C.; ARAGÃO, G. M. F. Survey of molds, yeast and *Alicyclobacillus* spp. from a concentrated apple juice productive process. **Brazilian Journal of Microbiology**, 45, 1, 49-58, 2014.

SALOMÃO, B. C. M.; MULLER, C.; MASSAGUER, P. R.; ARAGÃO, G. M. F. Aplicação de dicloroisocianurato de sódio e ácido peracético para redução de esporos de *Penicillium expansum*, *Byssoschlamys fulva* e *Alicyclobacillus acidoterrestris* na superfície de maçãs e em soluções aquosas. **Alim. Nutr.**, 22, 2, 219-230, 2011.

SALOMÃO, B. C. M.; SLONGO, A. P.; ARAGÃO, G. M. F. Heat resistance of *Neosartorya fischeri* in various juices. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 676-689, 2007.

SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; GEORGIADOU, K.G.; METAXOPOULOS, J. Evaluation of the extent and type of bacterial contamination at different stages of processing of cooked ham. **J. Appl. Microbiol.**, v. 84, p. 649–660, 1998.

SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; REMENTZIS, J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid

bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 41 °C. **Food Microbiology**, v. 17, p. 329-340, 2000a.

SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; REMENTZIS, J. The spoilage microflora of cured, cooked turkey breasts prepared commercially with or without smoking **Int. J. Food Microbiol.**, v.56, p. 133–143, 2000b.

SANDERSON, P. G.; SPOTTS, R. A. Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by species of *Penicillium*. **Phytopathology**, v. 85, n. 1, p. 103-10, 1995.

SANHUEZA, R. M. V. Doenças causadas por fungos e bactérias. Macã fitossanidade. **Frutas do Brasil**, 38. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/3DoencasFungosBacteriasFitossanidade_000fid2gwr302wyiv80z4s473bgkr6gj.pdf. Acesso em: 28 de janeiro de 2018.

SANT'ANA, A. S. **Avaliação quantitativa do risco da patulina em suco de maçã**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; SILVA, N. C. C.; DENARDI, F. Composição química de sucos provenientes de maçãs de dez diferentes genótipos. Safra 2002/2003. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 2, p. 87-91, 2005.

SAUTTER, C. K.; STORCK, L.; RIZZATTI, M. R.; MALLMANN, C. A.; BRACKMANN A. Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 9, 43, 2008.

SCHAFFNER, D. W.; LABUZA, T. P. Predictive microbiology: where are we and where are we going? **Food Technology**, v. 51, p. 95-99, 1997.

SCHENK, M.; GUERRERO, S.; ALZAMORA, S. M. Response of some microorganisms to ultraviolet treatment on fresh-cut pear. **Food and Bioprocess Technology**, 1, 384–392, 2008.

SILHA, H.; ASKAR, A. Patulin in apple juice and children's apple food-II. Technological and Analytical Aspects. **Fruit Processing**, v. 5, n. 3, p. 164-167, 1999.

SILVA, N. B. **Modelagem matemática do crescimento de *Lactobacillus viridescens* sob condições não isotérmicas em presunto fatiado embalado a vácuo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015. 89 f.

SLONGO, A., ROSENTHAL, A., CAMARGO, L.M.Q., DELIZA, R., MATHIAS, S.P., ARAGÃO, G.M.F., Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydro-static pressure. **Food Sci. Technol.** 42, 303–306, 2009.

SONNTAG, C. VON; SCHUCHMANN, H. P. UV Disinfection of Drinking Water and By-Product Formation – Some Basic Considerations. **Aqua**, 41, 2, 67-74, 1992.

SOUZA, M. de L. M. **Determinação simultânea de micotoxinas em milho e ração para frangos pelo método multianálito por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem**. Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009. 116 f.

SPOTTS, R. A.; CERVANTES, L. A. Filtration to Remove Spores of *Penicillium expansum* from water in pome fruit packinghouses. **Tree Fruit Postharvest Journal**, v. 4, n. 1, p. 16-18, 1993.

SURESH, E. R.; ETHIRAJ, S.; JAYARAM, H. L. Heat resistance of *Neosartorya fischeri* isolated from grapes. **J. Food Sci. Technol.**, v. 33, n. 1, p. 76-77, 1996.

SYAMALADEVI, R. M.; ADHIKARI, A.; LUPIEN, S. L.; DUGAN, F.; BHUNIA, K.; DHINGRA, A.; SABLANI, S. S. Ultraviolet-C light inactivation of *Penicillium expansum* on fruit surfaces, **Food Control**, 50, 297-303, 2015.

SYAMALADEVI, R. M.; LUPIEN, S. L.; BHUNIA, K.; SABLANI, S. S.; DUGAN, F.; RASCO, B.; KILLINGER, K., DHINGRA, A.; ROSS, C. UV-C light inactivation kinetics of *Penicillium expansum* on pear

surfaces: Influence on physicochemical and sensory quality during storage. **Postharvest Biology and Technology**, 87, 27-32, 2014.

SYAMALADEVI, R. M.; LU, X.; SABLANI, S. S.; INSAN, S. K.; ADHIKARI, A.; KILLINGER, K., RASCO, B.; DHINGRA, A.; BANDYOPADHYAY, A.; ANNAPURE, U. Inactivation of *Escherichia coli* population on fruit surfaces using ultravioleta-C light: Influence of fruit surface characteristics. **Food Bioprocess Technology**, 6, p. 2959-2973, 2013.

SYDENHAM, E. W.; VISMER, H. F.; MARASAS, W. F.; BROWN, N. L., SCHLECTER, M.; RHEEDER, J. P. The influence of deck storage and initial processing on patulin levels in apple juice. **Food Addit Contamin**, 45, 429-434, 1997.

SYDENHAM, E. W.; VISMER, H. F.; MARASAS, W. F. O.; BROWN, N.; SCHLECHTER, M.; VAN DER; WESTHUIZEN, L.; RHEEDER, J. P. Reduction of patulin in apple juice samples influence of initial processing. **Food Control**, 6, 195-200, 1995.

TAKAHASHI, H.; KIMURA, B.; YOSHIKAWA, M.; GOTOU, S.; WATANABE, I.; FUJII, T. Direct detection and identification of lactic acid bacteria in a food processing plant and in meat products using denaturing gradient gel electrophoresis. **J. Food Prot.**, v.67, p. 2515–2520, 2004.

TEMPLETON M. R.; ANDREWS R. C.; HOFMANN R. Impact of iron particles in groundwater on the UV inactivation of bacteriophages MS2 and T4. **J Appl Microbiol** 101(3):732–741, 2006.

TERRASAN, C. R. F.; TEMER, B.; DUARTE, M. C. T., et al. Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*. **Bioresource Technology**, 101, 4139–4143, 2010.

THOM, C. Mycology present penicillin. **Mycologia** 37, 460–475, 1945.

TIJSKENS, L. M. M.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; NICOLAI, B. M. **Food Process Modelling**. Woodhead Publishing Limited, Cambring, England, 2001.

TORRES, R.; TEIXIDÓ, N.; VIÑAS, I.; MARI, M.; CASALINI, L.; GIRAUD, M.; USALL, J. Efficacy of Candida sake CPA-1 Formulation for Controlling *Penicillium expansum* Decay on Pome Fruit from Different Mediterranean Regions. **Journal of Food Protection**, **69**, 11, 2703–11, 2006.

TORREZAN, R. Uso da tecnologia de alta pressão para a inativação de microrganismos em produtos cárneos. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 2, p.249-266, jul. 2003.

TOURNAS, V. Heat resistant fungi of importance to the food and beverage industry. **Crit. Rev. Microbiol**, Boca Raton, v. 20, n. 4, p. 243-263, 1994.

TREMARIN, A.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Inactivation kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice submitted to ultraviolet radiation, **Food Control**, 1-6, 2016.

TREMARIN, A. **Modelagem matemática do crescimento de *Byssoschlamys fulva* e *Neosartorya fischeri* em suco de maçã solidificado sob condições isotérmicas e não isotérmicas**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013. 217 f.

UKUKU, D. O.; GEVEKE, D. J. A combined treatment of UV-light and radio frequency electric field for the inactivation of *Escherichia coli* K-12 in apple juice, **International Journal of Food Microbiology**, 138, 50-55, 2010.

VALAPPIL, Z. A.; FAN, X.; ZHANG, H. Q.; ROUSEFF, R. L. Impact of Thermal and Nonthermal Processing Technologies on Unfermented Apple Cider Aroma Volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, 924–929, 2009.

VALDRAMIDIS, V. P. et al. Microbial dynamics versus mathematical model dynamics: The case of microbial heat resistance induction. **Journal of Food Engineering**, v. 7, n. 1-2, p. 80-87, 2006.

VALÍK, L.; PIECKOVÁ, E. Growth modelling of heat-resistant fungi: the effect of water activity. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 63, n. 1-2, p. 11-17, 2001.

VAN BOEKEL, M. On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1-2, p. 139-159, 2002.

VAN IMPE, J.; POSCHET, F.; GEERAERD, A.; VEREECKEN, K. Towards a novel class of predictive microbial growth models. **International Journal of Food Microbiology**, v. 100, n. 1-3, p. 97-105, 2005.

VASILOPOULOS, C.; RAVYTS, F.; DE MAERE, H.; DE MEY, E.; PAELINCK, H.; DE VUYST, L.; LEROY, F. Evaluation of the spoilage lactic acid bacteria in modified-atmosphere-packaged artisan-type cooked ham using culture-dependent and culture-independent approaches. **J. Appl. Microbiol.**, v.104, p. 1341-1353, 2008.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. **International Journal of Food Microbiology**, 96, 149-164, 2004.

VIÑAS, I.; DADON, J.; SANCHIS, V. Citrinin-producing capacity of *Penicillium expansum* strains from apple packinghouses of Lerida (Spain). **International Journal of Food Microbiology**, v. 19, 2, 153-156, 1993.

VON HOLY, A.; CLOETE, T.E.; DYKES, D.A. Quantification and Characterization of Microbial Populations Associated with Spoiled, Vacuum Packed Vienna Sausages. **Journal Food Microbiology**. 8:95-104, 1991.

WALLNER-PENDLETON, E. A.; SUMMER, S. S.; FRONING, G. W.; STETSON, L. E. The use of ultraviolet radiation to reduce *Salmonella* and psychrotrophic bacterial contamination on poultry carcasses. **Poultry Science**, 73, 1327-1333, 1994.

WAMBURA, P.; VERGHESE, M. Effect of pulsed ultraviolet light on quality of sliced ham, **LWT-Food Science and Technology**, 44, 2173-2179, 2011.

WEIDENBÖRNER, M. (2001). **Encyclopedia of food mycotoxins**. Berlin: Springer, 294p.

WELKE, J. E. **Fungos toxigênicos em maçãs e ocorrência de patulina nos sucos derivados**. 2008. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 142 p.

WHITING, R.; BUCHANAN, R. A classification of models in predictive microbiology – replay. **Food Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 175-177, 1993.

WHITING, R. C. Microbial modelling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, p. 467-494, 1995.

WILSON, C. L.; GHAOUTH, E. L.; UPCHURCH, B.; STEVENS, C.; KHAN, V.; DROBY, S.; CHALUTZ, E. Using an on-line UV-C apparatus to treat harvested fruit for controlling postharvest decay. **Technology and Product Reports**, 7, 3, 278-282, 1997.

WRIGHT, J. R.; SUMMER, S. S.; HACKNEY, C. R.; PIERSON, M. D.; ZOECKLEIN, B. W. Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* o157:H7 in unpasteurized apple cider. **J. Food Protect.** 63, 563-567, 2000.

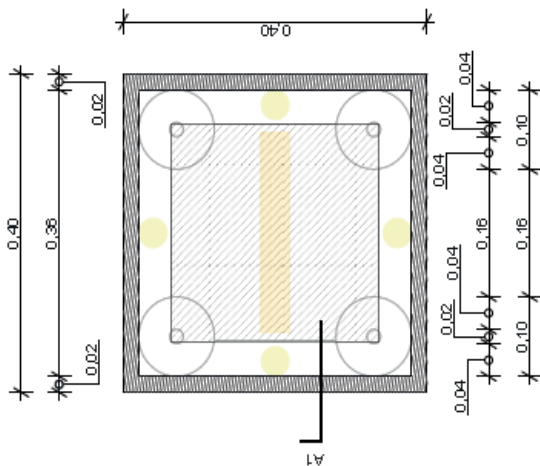
WONG, E.; LINTON, R. H.; GERRARD, D. E. Reduction in *Escherichia coli* and *Salmonella senftenberg* on pork skin and pork muscle using ultraviolet light. **Food Microbiology**, 15, 415–423, 1998.

WOOD, B. J. B.; HOLZAPFEL, W. H. **The genera of lactic acid bacteria**. Glasgow: Chapman e Hall, 1995.

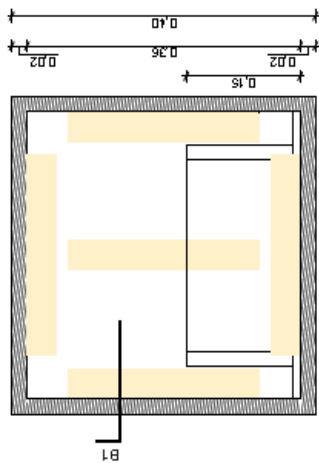
WOODLING, S. E.; MORARU, C. I. Influence of surface topography o the effectiveness of pulsed light treatment for the inactivation of *Listeria innocua* on stainless-steel surfaces. **Journal of Food Science**, 70, 7, M345–MM351, 2005.

- WRIGHT, J. R.; SUMNER, S. S.; HACKNEY, C. R.; PIERSON, M. D.; ZOECKLEIN, B. W. Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider. **Journal of Food Protection**, 63, 5, 563–567, 2000.
- XU, X. M.; BERRIE, A. M. Epidemiology of mycotoxigenic fungi associated with *Fusarium ear* blight and apple blue mould: a review. **Food Additives and Contaminants**, 22, 290-301, 2005.
- YAO, C.; CONWAY, W. S.; AND SAMS, C. E. Purification and characterization of a polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* in apple fruit. **Phytopathology**, 86, 1160-1166, 1996.
- YAUN, B. R.; SUMNER, S. S.; EIFERT, J. D.; MARCY, J. E. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. **International Journal of Food Microbiology**, 90, 1, 1–8, 2004.
- YIN, F.; ZHU, Y.; KOUTCHMA, T.; GONG, J. Inactivation and potential reactivation of pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice following ultraviolet light exposure at threemonochromatic wavelengths, **Food Microbiology**, 46, 329-335, 2015.
- YOUSEF, A. E.; MARTH, E. H. Inactivation of *Listeria monocytogenes* by ultraviolet energy, **Journal of Food Science**, 53, 2, 571-573, 1988.
- ZIMMERMANN, M. et al. Modeling the influence of water activity and ascospore age on the growth of *Neosartorya fischeri* in pineapple juice. **LWT- Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 239-243, 2011.
- ZWIETERING, M. H.; DEN BESTEN, H. M. W. Modelling: One word for many activities and uses. **Food Microbiology**, v. 28, p. 818-822, 2011.
- ZWIETERING, M. H.; DE KAOS, J. T.; HASENACK, B.E.; DE WIT, J.C.; VAN 'T RIET, K. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. **Appl. Environ. Microbiol.** 57, 1094-1101, 1991.

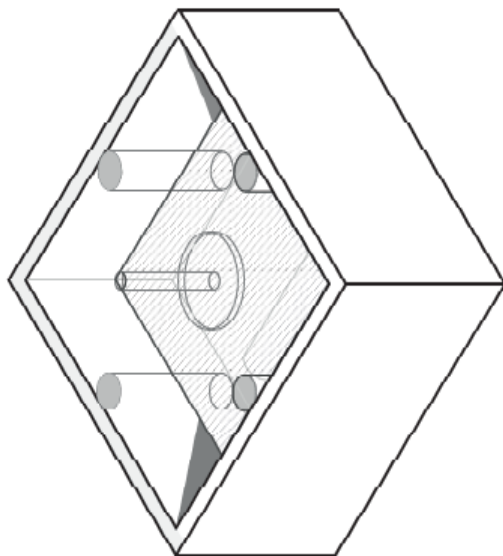
APÊNDICE



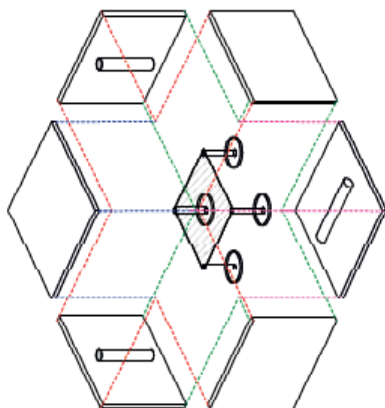
PLAN TA BAIKA
1/5



CORTE A1
1/5



SEÇÃO 31 EMPERSPECTIVA ISOMÉTRICA



PERSPECTIVA ISOMÉTRICA EXPLORADORA

