



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Beatriz Oliveira Ortiz

**MODELAGEM DE INATIVAÇÃO *Paecilomyces niveus* EM DIFERENTES  
IRRADIÂNCIAS DE LUZ ULTRAVIOLETA (UV-C) EM SUCO DE MAÇÃ  
CLARIFICADO**

FLORIANÓPOLIS  
2020

**Beatriz Oliveira Ortiz**

**Modelagem de Inativação *Paecilomyces niveus* em Diferentes Irradiâncias de Luz Ultravioleta (UV-C) em Suco de Maçã Clarificado**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gláucia Maria Falcão de Aragão

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Natielle Maria Costa Menezes

FLORIANÓPOLIS

2020

## **AGREDECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Marinalva e Severiano, por tudo que fizeram e ainda fazem por mim, por me ensinarem a caminhar e, assim, poder seguir meus próprios passos. Muito obrigada por serem meus pais; eu amo vocês.

À professora Gláucia por me orientar e à Natielle por me coorientar, por todos os ensinamentos que me fizeram evoluir e me tornar uma pessoa melhor.

Aos membros da banca examinadora professor Bruno e Camila por aceitarem o meu convite.

À minha irmã Karla por todo o cuidado e preocupação, por ser o meu suporte nos momentos de dificuldade que passei durante a graduação, sempre me dando bons conselhos. Agradeço à minha irmã Leticia por todo apoio e parceria, e por ser uma pessoa espetacular que sempre me ajudou quando eu precisei. Agradeço aos meus amigos e amigas Aline, Djaíni, Ana Luiza, Marielle, Charles, por acreditarem em mim e fazerem minha vida mais alegre.

Agradeço ao meu namorado loane por tudo que tem feito por mim, por ter me ajudado na correção deste trabalho e por ser essa pessoa incrível que enche minha vida de luz e muito amor.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação.

À Universidade Federal de Santa Catarina, ao departamento de engenharia química e engenharia de alimentos por proporcionar ambiente de aprendizagem, toda a infraestrutura para realização desse trabalho e da minha formação.

Agradeço a todos que me fizeram chegar até aqui de forma direta e indireta. Sou muito grata a todos que fizeram parte da minha jornada e contribuíram para que eu pudesse concluir essa etapa da minha vida.

Gratidão!

## RESUMO

Os esporos de *Paecilomyces niveus* são uns dos principais deteriorantes de produtos de frutas, que impactam negativamente na indústria processadora de frutas e na saúde dos consumidores por serem resistentes ao calor e produtores de patulina. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi estudar e modelar o efeito do tratamento com luz UV-C em diferentes irradiâncias na inativação de esporos de *P. niveus* em suco de maçã clarificado. Amostras contendo 30 mL de suco de maçã (pH 3,6,  $12 \pm 0,1^\circ$  Brix) foram inoculadas com 0,1 mL de suspensão de esporos de *P. niveus* obtendo uma concentração inicial de aproximadamente 5 log de UFC/mL. Em seguida, as amostras foram expostas a irradiação UV-C em diferentes níveis de irradiância de 36, 21, 13 e 6,5 W/m<sup>2</sup> em intervalos de tempo de 0 a 30 min. Os modelos primários de Weibull e log-linear mais cauda foram ajustados aos dados experimentais com o propósito de modelar a cinética de inativação de *P. niveus*. Em seguida, modelos secundários foram usados para descrever como os parâmetros cinéticos de inativação variam com as mudanças das irradiâncias de luz UV-C. A habilidade preditiva de cada um dos modelos foi analisada por meio dos índices estatísticos R<sup>2</sup> e RMSE. Todas as curvas de inativação apresentaram concavidade para cima e com cauda. O modelo log-linear mais cauda teve o melhor ajuste aos dados experimentais, apresentando bons resultados para os índices estatísticos de RMSE de 0,19 a 0,34 e R<sup>2</sup> de 0,96 a 0,98. No maior nível de irradiância de 36 W/m<sup>2</sup>, obteve-se a redução de 4 log da população *P. niveus* em aproximadamente 10 min. O modelo secundário linear teve o melhor desempenho para descrever a influência das irradiâncias de UV-C sobre o parâmetro primário de velocidade de inativação,  $k_{max}$ , apresentando valores de R<sup>2</sup> de 0,97 e RMSE de 0,025. O tratamento não térmico de luz UV-C é promissor para a preservação de alimentos, pois foi capaz inativar os esporos de *P. niveus* em suco de maçã.

**Palavras chaves:** Luz UV-C. Modelo log-linear mais cauda. *Paecilomyces niveus*. Suco de maçã.

## ABSTRACT

Spores of *Paecilomyces niveus* are one of the main deteriorators of fruit products, which have a negative impact on the fruit processing industry and consumer health as they are heat-resistant and producers of patulin. Thus, the aim of this research was to study and model the effect of UV-C light treatment on different irradiances in spore inactivation of *P. niveus* in clarified apple juice. Samples containing 30 mL of apple juice (pH 3.6,  $12 \pm 0.1$  ° Brix) were inoculated with 0.1 mL of spore suspension of *P. niveus* obtaining an initial concentration of approximately 5 log CFU/mL. Then these samples were exposed to UV-C irradiation at different levels of irradiance of 36, 21, 13 and 6.5 W/m<sup>2</sup> at intervals of 0 to 30 min. The primary models Weibull and log-linear plus tail were fitted to the experimental data in order to model the inactivation kinetics of *P. niveus*. Then, secondary models were used to describe how the kinetic parameters of inactivation vary with changes in UV-C light irradiance. All inactivation curves had a concave upward and a tail. The log-linear model with tail had the best fit to the experimental data, showing good results for the statistical indexes of RMSE from 0.19 to 0.34 and R<sup>2</sup> from 0.96 to 0.98. At the highest irradiance level of 36 W/m<sup>2</sup>, a reduction of 4 log of *P. niveus* population was obtained in approximately 10 min. The secondary linear model had the best performance to describe the influence of UV-C irradiance on the primary parameter of inactivation speed,  $k_{\max}$ , presenting R<sup>2</sup> values of 0.97 and RMSE of 0.025. The non-thermal treatment of UV-C light is promising for food preservation, as it was able to inactivate the spores of *P. niveus* in apple juice.

**Keywords:** UV-C light. Log-linear plus tail model. *Paecilomyces niveus*. Apple juice.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espectro eletromagnético.....	16
Figura 2 –Efeito germicida da luz UV-C no DNA de micro-organismo. ....	17
Figura 3 – Curvas de sobrevivência: (a) log-linear; (b) log-linear com ombro; (c) log-linear com cauda; (d) log-linear com ombro e cauda; (e) bifásica; (f) côncava para cima e para baixo.....	21
Figura 4 – <i>P. niveus</i> em meio PDA .....	26
Figura 5 – <i>P. niveus</i> em meio MEA .....	27
Figura 6 – Refratômetro digital para ajuste do °Brix.....	27
Figura 7 – Equipamento de radiação UV-C para as irradiâncias de 36 e 21 W/m <sup>2</sup> ...	28
Figura 8 – Equipamento de radiação UV-C para as irradiâncias de 13 e 6,5 W/m <sup>2</sup> . .	29
Figura 9 – Radiômetro.....	29
Figura 10 – Esquema do procedimento experimental de inativação por luz UV-C....	30
Figura 11 – Modelo de Weibull ajustado aos dados experimentais de inativação de esporos de <i>P. niveus</i> em suco de maçã 12 °Brix em diferentes irradiâncias de UV-C. As linhas tracejadas representam o ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais. As barras de erro (I) correspondem à triplicata de cada ponto. ....	33
Figura 12 – Modelo log-linear mais cauda ajustado aos dados de inativação de esporos de <i>P. niveus</i> em suco de maçã 12 °Brix em diferentes irradiâncias de UV-C. A linha sólida representa o modelo de log-linear mais cauda ajustado aos dados experimentais. As barras de erro (I) correspondem à triplicata de cada ponto. ....	34
Figura 13 – Ajuste do modelo secundário da raiz quadrada para descrever a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro primário $k_{max}$ .....	37
Figura 14 – Ajuste do modelo secundário linear para descrever a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro primário $k_{max}$ .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros do modelo de Weibull para diferentes irradiâncias de UV-C	34
Tabela 2 – Parâmetros do modelo log-linear + cauda em diferentes irradiâncias de UV-C.....	35
Tabela 3 – Índices estáticos para o modelo log-linear mais cauda e de Weibull em diferentes irradiâncias de UV-C.....	35
Tabela 4 – Índices estáticos dos modelos secundários que descrevem a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro de inativação $k_{\max}$ de <i>P. niveus</i> .....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UV	Ultravioleta
MEA	Meio Ágar Extrato de Malte
PDA	Ágar Batata Dextrose
UV-A	Ultravioleta de onda longa
UV-B	Ultravioleta de onda média
UV-C	Ultravioleta de onda curta
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drugs Administration
LMP	Lâmpadas de baixa pressão
MPM	Lâmpada de média pressão
UFC	Unidade formações de colônias
N	Concentração microbiana (UFC/mL)
N <sub>0</sub>	Concentração microbiana inicial (UFC/g)
t	Tempo (min)
$\delta$	Parâmetros de escala
$\rho$	Fator de forma
N <sub>res</sub>	Densidade populacional residual (log (UFC/mL))
k <sub>max</sub>	Velocidade inativação da parte log-linear da curva (cm <sup>2</sup> /mJ)
g	Força da gravidade
rpm	Rotações por minutos
W	Watts
I	Irradiância (W/m <sup>2</sup> )
R <sup>2</sup>	Coeficiente de determinação
RMSE	Raiz do erro quadrático médio
n	Número de observação experimentais
$\beta$	Número de parâmetros do modelo
HHP	Alta pressão

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
1.1	OBJETIVOS .....	11
1.1.1	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>11</b>
1.1.2	<b>Objetivo Específicos .....</b>	<b>11</b>
1.1.3	<b>Justificativa.....</b>	<b>12</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>13</b>
2.1	SUCO DE MAÇÃ.....	13
2.2	FUNGOS FILAMENTOSOS TERMORRESISTENTES.....	14
<b>2.2.1</b>	<b><i>Paecilomyces niveus</i> .....</b>	<b>15</b>
2.3	RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C).....	16
2.4	MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	19
<b>2.4.1</b>	<b>Modelos Matemáticos .....</b>	<b>20</b>
2.4.1.1	<i>Modelos Primários.....</i>	<b>22</b>
2.4.1.1.1	Modelo de Weibull .....	<b>22</b>
2.4.1.1.2	Modelo Log-Linear com Cauda .....	<b>23</b>
2.4.1.2.	<i>Modelos Secundários.....</i>	<b>24</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
3.1	MICRO-ORGANISMO E PREPARAÇÃO DA SUSPENSÃO DE ESPOROS.....	26
3.2	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA DE SUCO .....	27
3.3	TRATAMENTO POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C).....	28
3.4	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA .....	29
3.5	MODELAGEM MATEMÁTICA .....	30
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
4.1	MODELAGEM PRIMÁRIA.....	33

4.2	MODELAGEM SECUNDÁRIA.....	36
5.	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>39</b>
	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>40</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A região Sul é onde se concentra a maior produção de maçã do Brasil, com destaque para Santa Catarina, que é o maior produtor. Na indústria processadora de maçã, o suco vem se destacando como principal produto, que é importante para economia brasileira, visto que nos últimos anos vem aumentando a demanda pelo suco pronto para beber, em paralelo à tendência de consumo de alimentos saudáveis (HF BRASIL, 2018; SEBRAE, 2018).

Um grande problema na indústria processadora de frutas é a presença de fungos termorresistentes. As espécies mais comumente encontradas em produtos de frutas pasteurizados são *Paecilomyces niveus*, *Paecilomyces fulvus*, *Aspergillus fischeri*, *Talaromyces flavus* e *Eupenicillium brefeldianum*, pois são capazes de sobreviver ao tratamento térmico (pasteurização) normalmente utilizado no processamento destes tipos de produto e, por consequência, causam deterioração, gerando, assim, grandes perdas econômicas para esse setor da indústria (TOURNAS; TRAXLER, 1994; SANT'ANA et al., 2009; YANG et al., 2017; PIECKOVÁ et al., 2020).

O *Paecilomyces niveus* é um importante fungo termorresistente que, além de deteriorar suco de maçã e produtos de frutas, é capaz de produzir micotoxinas, como a patulina, sendo considerado um problema de saúde pública por causar danos à saúde dos consumidores (BEUCHAT; ROLAND, 1984; TOURNAS, 1994; SANT'ANA, 2007).

Contudo, novas tecnologias não térmicas para a conservação de alimentos vêm sendo estudadas, e entre elas se destaca a radiação UV-C. Ela tem efeito germicida capaz de inativar microrganismos como vírus, bactérias, protozoários, leveduras, fungos e algas, e compreende o comprimento de onda de 200-280 nm (com 90% de emissão a 253,7 nm). Logo, a radiação UV-C pode ser uma alternativa ao tratamento térmico, eficiente na inativação de microrganismos termorresistentes como *P. niveus* em suco de maçã. Ela conserva as propriedades nutricionais e sensoriais do produto e, com isso, atende à demanda do mercado consumidor por produtos mais saudáveis (KEYSER et al., 2008; KOUTCHMA et al., 2009) e impacta na economia do Brasil.

Uma importante ferramenta para o estudo de inativação de vários microrganismos, como os fungos termorresistentes, é a microbiologia preditiva. Ela é capaz de descrever matematicamente o crescimento e inativação de micro-

organismos presentes em alimentos em diferentes condições (WHITING, 1995). Deste modo, a microbiologia preditiva é uma área promissora e muito útil para a indústria de alimentos, podendo prever a segurança microbiológica de produtos, identificando os pontos críticos de controle no processamento, e sendo importante no desenvolvimento de novas tecnologias (LABUZA; FU, 1993; McMEEKIN; ROSS, 2002; BARANYI; ROBERTS, 1994). É uma área que vem se desenvolvendo cada vez mais e ganhando espaço. Além disso, é uma ferramenta valiosa para a microbiologia de alimentos (BARANYI; ROBERTS, 1994; VAN IMPE et al., 1992; LOBACZ; BARANYI, 2007).

Na literatura, encontram-se trabalhos sobre inativação de fungos termorresistentes, porém poucos estudos sobre inativação de *P. niveus* com luz UV-C. Como os esporos de *P. niveus* estão associados à deterioração de vários produtos de frutas pasteurizados, por serem capazes de resistir ao tratamento térmico, e são considerados um grande problema para indústria processadora de frutas, esta problemática foi a força motriz desta pesquisa. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar, a partir da modelagem matemática, a influência do tratamento não térmico por luz UV-C em diferentes irradiâncias na cinética de inativação dos esporos de *P. niveus* em suco de maçã.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar e modelar a cinética de inativação de *Paecilomyces niveus* em suco de maçã clarificado usando radiação ultravioleta UV-C em diferentes irradiâncias.

### 1.1.2 Objetivo Específicos

Para que o objetivo geral fosse alcançado, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- Avaliar as curvas de inativação de *P. niveus*, em suco de maçã clarificado, nas irradiâncias de UV-C de 6,5, 13, 21 e 36 W/m<sup>2</sup>;
- Ajustar o modelo de Weibull aos dados de inativação de *P. niveus*;
- Ajustar o modelo de log-linear mais cauda aos dados de inativação de *P. niveus*;

- Comparar os modelos de Weibull e log-linear mais cauda na inativação de *P. niveus*;
- Definir um modelo secundário que melhor descreva a influência das irradiâncias de UV-C sobre os parâmetros do modelo primário selecionado.

### 1.1.3 Justificativa

Os esporos de *Paecilomyces niveus* são reconhecidos como uns dos principais deteriorantes de produtos de frutas pasteurizados, tendo sua resistência ao tratamento térmico e sua capacidade de produzir patulina relatadas por diversos estudos. Sendo assim, esse fugo é considerado um grande problema para a indústria processadora de frutas e para a saúde pública. Devido ao seu potencial de inativar uma ampla variedade de micro-organismos e preservar as qualidades nutricionais e sensoriais dos produtos, a luz UV-C tem se mostrado uma alternativa ao tratamento térmico. Entretanto, ainda existem poucos estudos que aplicam tecnologias alternativas na inativação de esporos de *P. niveus*. Por essa razão, esta pesquisa se mostra relevante e busca contribuir com o desenvolvimento de novas tecnologias não térmicas para a preservação de alimentos, pois estuda a inativação dos esporos de *P. niveus* em suco de maçã por luz ultravioleta UV-C.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 SUCO DE MAÇÃ

Santa Catarina é considerado o estado maior produtor de maçã no país. Somente em 2017, esse setor movimentou mais de R\$ 6 bilhões, gerando mais de 150 mil empregos diretos e indiretos. A maçã catarinense se destaca pela sua qualidade e, assim, vem ganhando espaço no mercado internacional e vem gerando mais renda para os produtores e para todo o estado (SEBRAE, 2019).

Na cadeia produtiva, a maçã é destinada para o consumo *in natura* e para a industrialização, sendo esta última uma forma de agregar valor à matéria-prima que foi rejeitada para a comercialização *in natura*. Nos últimos anos, em torno de 30% da safra brasileira de maçã tem sido direcionada para industrialização e, dentro disso, cerca de 20 a 25% foi destinada à produção de suco. O mercado brasileiro de suco de frutas industrializado vem crescendo, visto que, em 2018, 15% da produção de suco foi destinada ao mercado interno, enquanto que, há alguns anos, apenas 5% o era. E o responsável por essa expansão são os sucos prontos para beber (SEBRAE, 2018; HF BRASIL, 2018).

O suco pronto para beber se caracteriza por ter a quantidade de sólidos solúveis de 11,5 °Brix e pode ser feito através do suco recém-extraído ou pela diluição do suco concentrado. A técnica para a conservação de suco é o processo de pasteurização, que é caracterizado pela aplicação de calor com a temperatura de 90-95 °C por 15-30 segundos (BAHÇECI; ACAR, 2007). No entanto, o uso do tratamento térmico com altas temperaturas gera perdas sensoriais e organolépticas para o produto (TOURNAS, 1994).

A maçã e seus derivados são excelentes substratos para o desenvolvimento de fungos termorresistentes. Estes, por sua vez, podem gerar grandes perdas econômicas para a indústria de sucos pasteurizados, pois podem sobreviver ao processamento térmico, deteriorar produtos e produzir micotoxinas – como a patulina –, causando grandes perdas comerciais e danos à saúde dos consumidores (SILHA; ASKAR, 1999; WELKE et al., 2009).

## 2.2 FUNGOS FILAMENTOSOS TERMORRESISTENTES

Os fungos filamentosos termorresistentes são os principais deteriorantes de produtos de frutas pasteurizados, como sucos, polpas, concentrados, geleias, frutas enlatadas, néctares e purês, pois são produtores de esporos resistentes ao calor, chamados de ascósporos (KOTZEKIDOU, 1997; PITT; HOCKING, 2009; SILVA; GIBBS, 2009; TOURNAS, 1994).

A produção de ascósporos é característica dos fungos filamentosos termorresistentes pertencentes ao filo *Ascomycota*. Seus esporos são desenvolvidos em estruturas em forma de saco chamadas de “ascos”, e cada asco contém de 4 a 8 ascósporos (SCRIBAN, 1985; TOURNAS, 1994). A produção dessas estruturas resistentes é um mecanismo de sobrevivência da espécie, pois esses fungos podem permanecer por um longo período em estado de dormência no solo, nas frutas e seus derivados, e, quando as condições ambientais forem favoráveis, os esporos passam pela germinação e dão origem a células idênticas às originais. Com isso, os ascósporos de *Paecilomyces spp.* são conhecidos por serem resistentes ao tratamento térmico (SCRIBAN, 1985; HOUBRAKEN et al. 2008; SILAVA; GIBBS, 2009).

Na fabricação dos produtos de frutas pasteurizados, como o suco de maçã, as altas temperaturas ativam os ascósporos dormentes, provocando sua germinação e crescimento, e, logo, resultam na deterioração do produto final durante a estocagem, o que gera grandes perdas econômicas para esse setor da indústria de alimentos (VALÍK; PIECKOVÁ, 2001; BEUCHAT, 1986; SPLITTSTOESSER et al., 1972).

Os gêneros de fungos resistentes ao calor mais frequentemente encontrados e estudados nos produtos de frutas são *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Talaromyces* e *Eupenicillium* (HOCKING; PITT, 1984; SPLITTSTOESSER et al., 1972; TOURNAS, 1994; SANT’ANA et al., 2009; SALOMÃO et al., 2007). Os gêneros mais referidos na literatura são *Paecilomyces* e *Aspergillus* (KOTZEKIDOU, 1997; SLONGO; ARAGÃO, 2006; TOURNAS; TRAXLER, 1994). Isto mostra que existe uma grande preocupação da indústria acerca da deterioração causada pelos fungos termorresistentes (SALOMÃO et al., 2007; PIECKOVÁ et al., 2020).

Além disso, outro problema ocasionado pelos fungos termorresistentes, de interesse da saúde pública, é a produção de micotoxinas. Estas, quando ingeridas, podem causar danos e alterações biológicas prejudiciais tanto para o ser humano

quanto para animais. São exemplos de micotoxinas patulina, ácido bissoclâmico, bissotoxina A, assimetrina e veriotina fumitremorginas A e C, verruculogena, fischerina e eupenifeldina (TOURNAS, 1994; YANG et al., 2017; BEUCHAT; RICE, 1979; PANAGOUE et al., 2010).

### **2.2.1 *Paecilomyces niveus***

*Paecilomyces niveus* é reconhecido como importante fungo termorresistente, deteriorante de frutas e produtos de frutas, e, por isso, uma preocupação para a indústria processadora de suco. Entre os males causados por ele estão grandes perdas econômicas, bem como a produção de compostos tóxicos danosos para a saúde dos consumidores (PITT; HOCKING, 2009).

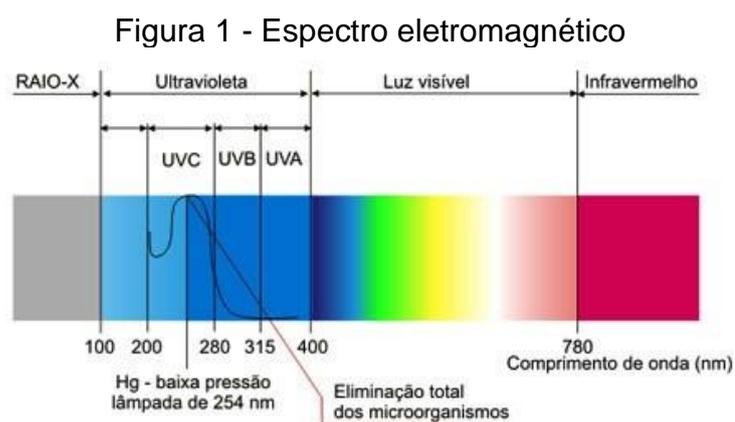
De acordo com Pitt e Hocking (1997), as colônias de *P. niveus* normalmente apresentam coloração de branco a creme em meio de Ágar Extrato de Malte (MEA). A temperatura ótima de crescimento é em torno de 30 °C, mas ele tem capacidade de crescer em temperaturas de 11 a 43 °C e ampla faixa de pH (3-8) (TOURNAS, 1994; PITT; HOCKING, 2009).

Os ascósporos de *P. niveus* são muito resistentes ao calor, podendo resistir às temperaturas de inativação acima de 85-90 °C (KOTZEKIDOU, 1997; SANT'ANA et al., 2009). Por isso, o tratamento térmico de pasteurização não é suficiente para a eliminação de ascósporos termorresistentes, e aumentar a temperatura não é desejável devido às perdas nutricionais e sensoriais (KEYSER et al., 2008; CHOI; NIELSEN, 2005). Isto pode ser visto no trabalho de pesquisadores que isolaram *P. niveus* em vários produtos de frutas pasteurizados, como suco de maçã (WELKE et al., 2009), néctar de abacaxi (FERREIRA et al., 2011), purê de morango (ARAGÃO, 1989; SANTOS et al., 2018) pasta de tomate em lata (KOTZEKIDOU, 1997), entre outros.

Além de ser resistente ao calor, *P. niveus* é conhecido como a espécie capaz de produzir patulina, uma micotoxina que tem demonstrado ação carcinogênica, mutagênica (LIU et al., 2003), configurando, assim, um problema de saúde pública (TOURNAS, 1994; SANT'ANA, 2007). Estudos relatam que o suco de maçã é a principal bebida contaminada por patulina (SILIHA; ASKAR, 1999; ROLAND; BEUCHAT, 1984; BAERT et al., 2006).

### 2.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C)

A luz ultravioleta (UV) é uma radiação eletromagnética que se destaca por apresentar importantes aplicações, como tratamento de efluente, água, alimentos, descontaminação de superfícies, desinfecção do ar e derivação fotoquímica (KOUTCHMA et al., 2009; GOUVÊA et al., 2014). Ela abrange a faixa de comprimento de onda de 100 a 400 nm do espectro eletromagnético e é subdividida em UV-A (315 a 400 nm), UV-B (280 a 315 nm) e UV-C (100 a 280 nm) (Figura 1). A faixa ultravioleta de onda curta, UV-C, é conhecida por ter efeito germicida, sendo eficiente na inativação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, principalmente no comprimento de 254 nm (KOUTCHMA, 2009; BINTSIS et al., 2000; CAMINITI et al., 2012).



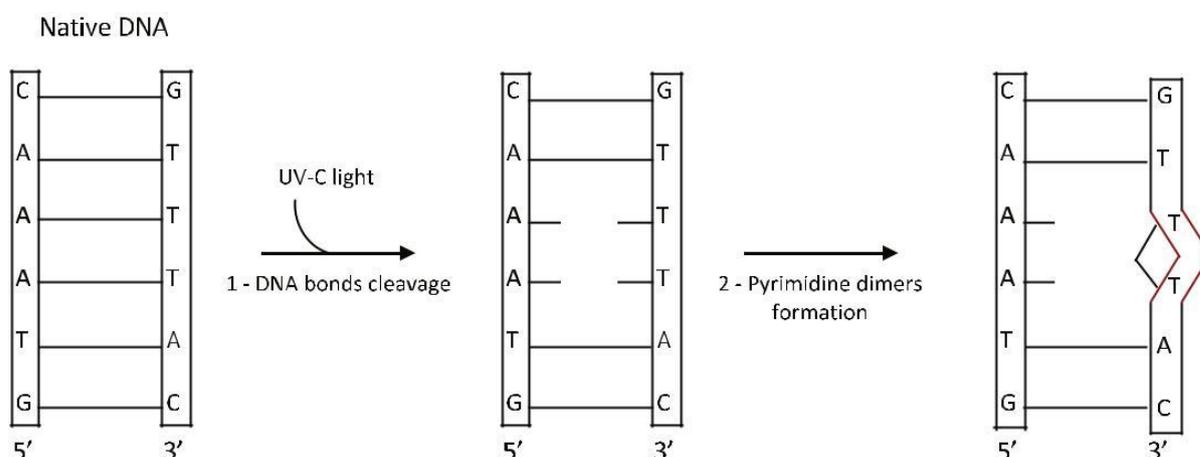
Fonte: LANZA (2016)

Por causa do seu efeito letal, a radiação UV-C vem sendo aplicada em ampla variedade de micro-organismos, sendo capaz de inativar vírus, bactérias, fungos, leveduras, protozoários e algas. Note-se que se encontram na literatura vários trabalhos que comprovam o efeito germicida da luz UV-C na inativação microbiana, como na inativação de *Alicyclobacillus acidoterrestris* (TREMARIN et al., 2017) e *Neosartorya fischeri* (MENEZES et al., 2019) em suco de maçã, *Escherichia coli* e *Salmonella senftenberg* em pele e músculo de porco (WONG et al., 1998), *Listeria monocytigenes* na carne de frango (KIM et al., 2002), e *Samonella typhimurium* em carcaça de aves (WALLNER-PENDLETON et al., 1994), entre outros.

A inativação microbiana por radiação UV-C decorre das alterações por reações fotoquímicas na estrutura da molécula de DNA microbiano. O mecanismo de inativação acontece da seguinte forma: a luz UV-C é absorvida pelas bases

nitrogenadas do DNA do micro-organismo, resultando na formação de dímeros de pirimidina, especialmente de timina (MITCHELL et al., 1992; HARM, 1980) (Figura 2). Isso acontece porque os fótons de UV-C absorvidos causam o deslocamento de elétrons, provocando a quebra de algumas ligações e resultando na formação de fotoprodutos, que inibem a transcrição e replicação do DNA e levam à chamada morte clonogênica (BOLTON; LINDEN, 2003). Portanto, a luz UV-C induz reações fotoquímicas no material genético microbiano, inibindo a formação de novas cadeias de DNA e levando à morte celular do micro-organismo. Deste modo se configura o efeito germicida da irradiação UV-C (KOUTCHMA, 2009; FRANZ et al., 2009).

Figura 2 - Efeito germicida da luz UV-C no DNA de micro-organismo.



Fonte: SOUZA; KOUTCHMA, 2020

O efeito germicida difere entre os micro-organismos, já que uns são mais resistentes que outros. Isso advém das suas características, pois a sensibilidade pela radiação UV-C varia de acordo com a estrutura da parede celular, composição, espessura, presença de proteínas que absorvem radiação UV-C na estrutura dos ácidos nucleicos, e capacidade de reparo do DNA dos micro-organismos (GIESE; DARBY, 2000; SHAMA, 2003). A partir disso, os fungos e leveduras demonstram ser mais resistentes ao tratamento por UV-C em alimentos líquidos do que as bactérias (KOUTCHMA, 2009).

Contudo, as características do micro-organismo não são o único fator que interfere na letalidade por luz UV. Outros fatores como as condições de processamento, propriedades do meio e as condições ambientais afetam o desempenho do efeito germicida da radiação UV-C (SOUZA; KOUTCHMA, 2020).

Devido aos avanços da ciência e às novas abordagens de engenharia, a luz UV-C tem se destacado como uma tecnologia não térmica promissora para tratamento de alimentos. Recentemente, vários estudos relataram sua eficácia na eliminação e redução de uma ampla variedade de micro-organismos em produtos alimentícios, principalmente no tratamento de alimentos líquidos. A maioria dos estudos estão relacionados a suco de frutas, tais como suco de maçã (KEYSER et al., 2008; FRANZ et al., 2009; CHAR et al., 2010; MENEZES et al., 2019; CAMINITI et al., 2012), suco de uva branca (BAYSAL et al., 2013; UNLUTURK; ATILGAN, 2014; GUERRERO-BELTRÁN et al., 2009), suco de laranja (CARRILLO et al., 2017; CHAR et al., 2010), suco de abacaxi (MANSOR et al., 2014), néctar de manga (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOCAS, 2006), néctar de pêsego (FLORES-CEVANTES; LÓPEZ-MALO, 2013), entre outros.

A radiação UV-C já vem sendo utilizada comercialmente para o tratamento de produtos líquidos, visto que a regulamentação da *Food and Drugs Administration* (FDA) aprovou o uso dessa tecnologia como alternativa ao tratamento de pasteurização em sucos naturais (FDA, 2004); e na Europa, ela já vem sendo usada para desinfecção de água e ar e na indústria alimentícia. É notável que a radiação UV-C vem ganhando cada vez mais interesse industrial pelo seu potencial de preservação de alimentos como alternativa ao tratamento térmico convencional (KOUTCHMA et al., 2009).

Para gerar luz ultravioleta UV-C, as fontes mais usadas são lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (LMP) e de média pressão (MPM). Elas emitem a luz na faixa de 253,7 nm, sendo eficientes na inativação de uma grande diversidade de micro-organismos. São fontes bem conhecidas, confiáveis, de baixo custo e que tem um bom desempenho na desinfecção. As lâmpadas de mercúrio são tradicionalmente usadas no tratamento de água e vêm sendo aplicadas no tratamento de alimentos (MASSACHELEIN, 2002; KOUTCHMA et al., 2009). A LMP é a única lâmpada aprovada pela regulamentação dos EUA, Canadá e União Europeia para sistemas de desinfecção à base de UV, desta forma sendo predominante no tratamento por UV em alimentos líquidos (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2012; KOUTCHMA, 2009; FDA, 2018).

Em relação à qualidade microbiológica do produto alimentício através do uso de radiação ultravioleta, o alimento deve ser exposto a uma determinada dose de UV-C que garanta a redução microbiana exigida. A dose de UV-C, chamada também de fluência, é um parâmetro de processo que interfere na letalidade do micro-organismo

e refere-se à energia incidida na superfície do produto alimentício por unidade de área, que é medida em joule por metro quadrado ( $J/m^2$ ). A intensidade da radiação UV-C também é dada como intensidade de fluxo ou irradiância, e é medida em watt por metro quadrado ( $W/m^2$ ). Basicamente, é a energia recebida da lâmpada pela amostra por unidade de área por segundo durante o tratamento (SOUZA; KOUTCHMA, 2020; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007).

A radiação UV-C é uma tecnologia não térmica importante para a preservação das características nutricionais, sensoriais e aspectos de qualidade dos sucos de frutas, que não gera resíduos químicos nem produtos indesejados (GUERRERO BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004; ANTONIO-GUTIÉRREZ et al., 2019). Por ser um método de preservação físico de baixo custo e menor complexibilidade, quando comparado com o processamento térmico, é uma alternativa ao tratamento térmico de pasteurização. Além disso, devido à demanda dos consumidores por alimentos saudáveis, vem ganhando cada vez mais relevância na indústria (KOUTCHMA et al., 2009).

## 2.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

A microbiologia preditiva é uma ferramenta eficaz para estipular a vida útil de alimentos, sendo importante para o estudo de cinética de vários micro-organismos deteriorantes e patogênicos em alimentos, como os fungos termorresistentes deteriorantes de suco de frutas (WHITING; BUCHANAN, 1993;).

Por meio dos modelos matemáticos preditivos, é possível prever o comportamento de inativação e crescimento dos microrganismos submetidos a diferentes condições ambientais durante o processamento, transporte, distribuição e armazenamento de alimentos, com propósito de garantir a segurança microbiológica e a qualidade dos produtos alimentícios (GEERAERD et al., 2004; LEBERT, I; LEBERT, A, 2006; HUANG, 2014; NAKASHIMA et al., 2000).

A microbiologia preditiva de alimentos é uma área multidisciplinar, pois abrange conhecimentos de microbiologia de alimentos, engenharia e estatística para prever comportamentos microbianos em alimentos (SCHAFFNER; LABUZA, 1997). Deste modo, é uma área promissora para a engenharia de alimentos, visto que é utilizada para estudo e desenvolvimento de novas tecnologias – como a radiação UV-C –, equipamentos, aumento de vida útil de produtos, identificação de pontos críticos

de controle, e desenvolvimento de novos produtos e processos. Configura-se, assim, como uma ferramenta indispensável para a manutenção da qualidade e segurança dos alimentos na cadeia produtiva e distribuição de alimentos (BARANYI; ROBERTS, 1994; BRUCKNER et al., 2013; SOUZA; KOUTCHMA, 2020).

Os modelos matemáticos usados na microbiologia preditiva são classificados como modelos primários, secundários e terciários. Os modelos primários descrevem as mudanças na população microbiana em função do tempo, frente a um só conjunto de condições constantes. Os modelos secundários descrevem a dependência dos parâmetros do modelo primário a uma ou mais condições ambientais (WHITING; BUCHANAN, 1993; HUANG, 2014). Os modelos terciários consistem na integração entre os modelos primário e secundário através de uso softwares, facilitando a aplicação das equações matemáticas (PEREZ-RODRIGUEZ; VALERO, 2013).

Com a evolução da microbiologia preditiva, vários modelos matemáticos foram desenvolvidos para descrever as curvas de inativação e crescimento microbiano, e modelos lineares e não lineares foram testados para estudar a cinética de muitos micro-organismos.

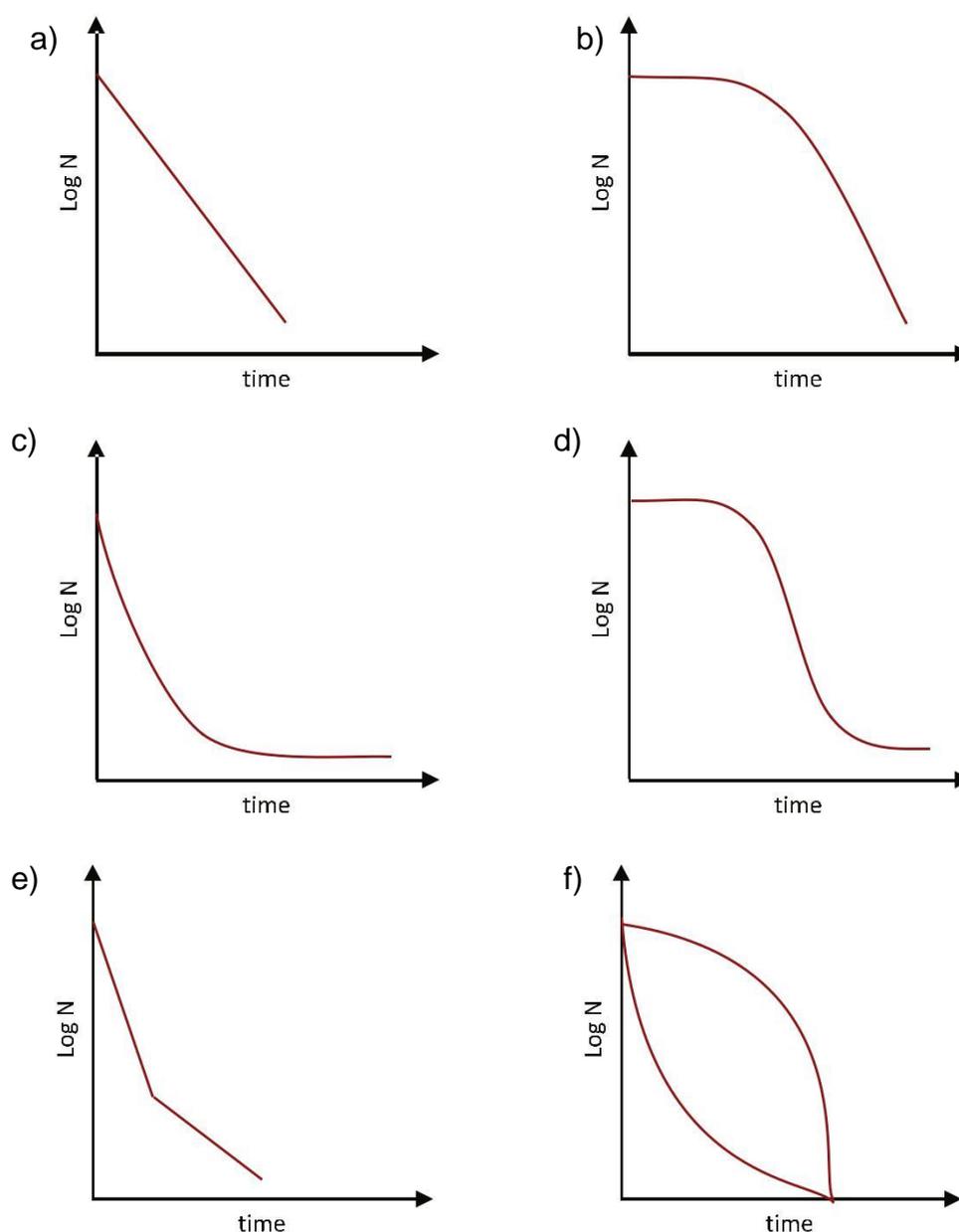
#### **2.4.1 Modelos Matemáticos**

Existem várias abordagens de modelagem propostas para descrever a inativação de micro-organismos, de modo que na literatura se encontra uma certa variedade de modelos preditivos, como Weibull, Baranyi e Roberts, log-linear, log-linear com ombro e/ou cauda, bifásico, Gompertz modificado, Geeraerd, entre outros (GEERAERD et al., 2005; BARANYI; ROBERTS, 1994).

Os tipos de curva de inativação normalmente observados estão representados na Figura 3. A curva log-linear (Figura 3 a) apresenta a modelagem mais simples e segue uma cinética de primeira ordem, na qual descreve a redução no número de log de sobreviventes diminuindo de maneira linear com o tempo (SCHAFENER; LABUZA, 1997). Existem curvas de inativação que apresentam uma parte linear com a presença de ombro (Figura 3 b), cauda (Figura 3 c), ou ombro e cauda (Figura 3 d). Isso acontece devido à heterogeneidade na inativação, que depende de fatores microbiológicos e fatores experimentais (KOUTCHMA, 2009; GEERAERD et al., 2000). As curvas bifásicas (Figura 3 e) expõem um comportamento log-linear de duas subpopulações com diferentes resistências microbianas (CERF, 1977). E as curvas

de sobrevivência (Fig. 3 f) exibem o comportamento com concavidade para cima e para baixo (PELEG, 2006; MAFART et al., 2002).

Figura 3 - Curvas de sobrevivência: (a) log-linear; (b) log-linear com ombro; (c) log-linear com cauda; (d) log-linear com ombro e cauda; (e) bifásica; (f) côncava para cima e para baixo



Fonte: SOUZA; KOUTCHMA, 2020

Tendo os principais comportamentos de sobrevivência microbianos sido abordados, a seguir serão apresentados dois modelos primários que descrevem a cinética de inativação que serão aplicados para estudar o comportamento de inativação por radiação UV-C de fungos termorresistentes em suco de maçã.

### 2.4.1.1 Modelos Primários

#### 2.4.1.1.1 Modelo de Weibull

O modelo de Weibull (Equação 1) apresenta simplicidade matemática e possui uma ótima versatilidade para descrever curvas de cinética microbiana. Devido a sua simplicidade e versatilidade, o modelo de Weibull descreve muito bem o comportamento de sobrevivência, servindo tanto para modelagem de curvas log-lineares quanto para curvas não log-lineares (PELEG, 2006).

$$\log \left( \frac{N(t)}{N_0} \right) = - \left( \frac{t}{\delta} \right)^p \quad (1)$$

Em que:

$N(t)$  – População de micro-organismos no instante  $t$  (UFC/mL);

$N_0$  – População inicial de micro-organismos (UFC/mL);

$t$  – Tempo (min);

$\delta$  – Fator de escala (min);

$p$  – Fator de forma.

A concavidade da curva de sobrevivência no modelo de Weibull é uma manifestação de diferentes formas de inativação dos micro-organismos. A curva com concavidade voltada para cima ( $p < 1$ ) indica que a mortalidade da população de micro-organismos é maior no início e diminui após um certo tempo; a concavidade voltada para baixo ( $p > 1$ ) representa que a população diminui progressivamente, isto é, o tempo necessário para destruir a mesma fração de micro-organismos diminui com passar do tempo; e  $p = 1$  segue a cinética de primeira ordem, apresentando comportamento log-linear. O fator de escala ( $\delta$ ) pode ser definido como o tempo para que ocorra uma redução decimal na população microbiana (PELEG, 2006).

Vários pesquisadores usaram o modelo de Weibull para descrever curvas de inativação não lineares, como no estudo de inativação por luz pulsada em vegetais, em que o modelo de Weibull mostrou um bom desempenho no ajuste aos dados experimentais (IZQUIER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2011). O modelo de Weibull também foi adequado para descrever a inativação de *Salmonella* Enteritidis por luz UV-C em leite de soja (POSSAS et al., 2018). Ainda, no tratamento térmico com alta pressão, o

modelo de Weibull foi usado para descrever a inativação de *Bacillus cereus* em leite (EVEYN; SILVA, 2015).

Este modelo foi usado com sucesso para modelar o comportamento de inativação com novas tecnologias em outros trabalhos: Menezes et al. (2019) estudaram o efeito da concentração de sólidos solúveis na inativação de *Neosartorya fischeri* em suco de maçã usando diferentes doses de luz UV-C: a curva de inativação apresentou cauda e o modelo de Weibull se ajustou bem. Orłowska et al. (2015) descreveram as curvas de sobrevivência usando o modelo de Weibull para a inativação de cepas de *E. coli* patogênicas e não patogênicas em suco de maçã tratadas com radiação UV-C. Ainda, o modelo de Weibull teve um bom desempenho na predição da inativação de *Escherichia coli* 0157: H7 e *Salmonella* usando ozônio ou luz UV pulsada em morangos e framboesas (BIALKA et al., 2008). Assim, o modelo de Weibull mostrou-se útil e com capacidade de predição no comportamento não linear de inativação.

#### 2.4.1.1.2 Modelo Log-Linear com Cauda

Curvas de sobrevivência podem apresentar comportamento log-linear com cauda. Não existe um consenso acerca do motivo do aparecimento da cauda na curva de inativação. Alguns autores atribuem esse fenômeno à existência de alguns microorganismos mais resistentes que outros, aglomeração microbiana, efeito protetor por vários fatores (como células mortas, sólidos solúveis, produtos de sua destruição, atividade de água), sistema de tratamento não homogêneo, ou pelas propriedades do meio que impedem a atuação da luz UV-C, entres outros (CERF, 1977; CASOLARI, 1988; HIJNEN; MEDEMA, 2006, GEERAERD et al., 2000).

A presença de cauda é observada no fim do estágio de inativação, após o comportamento linear de sobrevivência onde ocorreu a máxima inativação, e a cauda é a fase em que a taxa de inativação diminui (BAYSAL et al., 2013). O modelo log-linear mais cauda é muito utilizado para descrever esse tipo de curva de inativação (Equação 2) (GEERAERD et al., 2000):

$$\log N(t) = \log ((10^{\log N_0} - 10^{\log N_{res}})) e^{(-k_{max}t)} + 10^{\log N_{res}} \quad (2)$$

Em que:

$N(t)$  – População de micro-organismos no instante  $t$  (UFC/mL);

$N_0$  – População inicial de micro-organismos (UFC/mL);

$t$  – Tempo (min);

$N_{res}$  – Densidade populacional residual (log UFC/mL);

$k_{max}$  – Taxa de inativação da parte log-linear da curva ( $\text{min}^{-1}$ ).

Algumas pesquisas relataram o comportamento log-linear com cauda na inativação de micro-organismos. No estudo de inativação de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* em suco de frutas, o modelo log-linear mais cauda teve melhor ajuste aos dados experimentais do que o modelo de Weibull (BAYSAL et al., 2013). O modelo log-linear mais cauda também exibiu um bom desempenho para prever a inativação de mesófilos aeróbios na alface por luz pulsada (IZQUIER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2011). Ainda, algumas curvas de sobrevivência de *Bacillus cereus* exibiram um efeito de cauda durante o tratamento térmico (GEERAERD et al., 2000).

Outras pesquisas foram realizadas, como na inativação de *Salmonella* Typhimurium com luz pulsada: o estudo apresentou curvas de sobrevivência log-linear com cauda (LUKSIENE et al., 2007). No tratamento combinado de UV-C com óleo de cravos em superfície de caqui seco, o modelo log-linear mais cauda foi o melhor ajuste na inativação de *A. tenuissima* (VURMAZ; GÜNDÜZ, 2020). No estudo de cinética de inativação de esporos de *Bacillus coagulans* em polpa de tomate por tratamento combinado com alta pressão e temperatura moderada, as curvas de inativação mostraram um comportamento log-linear com cauda (ZIMMERMANN et al., 2013). No estudo realizado por Hereu et al. (2011), mostrou-se que o modelo log-linear mais cauda foi o mais apropriado para descrever a cinética de inativação com alta pressão de *Listeria monocytogenes* no presunto cozido.

#### 2.4.1.2. Modelos Secundários

Os modelos secundários descrevem o comportamento de parâmetros dos modelos primários em relação a fatores intrínsecos ou extrínsecos, como temperatura, atividade de água, irradiância de UV-C, concentração de sólidos solúveis, pH, entre outros (CORRADINI; PELEG, 2005; BARANYI et al., 1995). As equações lineares,

exponenciais, potenciais, polinomiais podem ser usadas como modelos secundários de modo que descrevam de forma satisfatória essa relação dos parâmetros primários com os fatores ambientais (DANNERHAUER, 2010). O modelo secundário mais frequentemente usado na literatura é o modelo da raiz quadrada, também chamado de Bélerádek (CORRADINI; PELEG, 2005). Além do modelo da raiz quadrada, outros modelos empíricos podem ser usados, como o modelo linear.

Esses modelos vêm sendo utilizados para modelar parâmetros de crescimento e inativação microbianos em função da temperatura ou de outras variáveis. Por exemplo, o modelo raiz quadrada foi usado para descrever o efeito da temperatura no crescimento de *Rhizopus microporus* (HAN; NOUT, 2000). No estudo de inativação de *Salmonella* em fórmulas infantis durante o processamento de aquecimento por micro-ondas, o modelo secundário da raiz quadrada foi utilizado para descrever a influência entre a taxa de inativação ( $k_{max}$ ) em função da potência (W) (PORTELA et al., 2019). Além disso, o modelo da raiz quadrada foi utilizado para modelar a variação dos parâmetros primários em relação ao efeito da concentração de sólidos solúveis na inativação de *A. fischeri* por luz UV-C (MENEZES et al., 2019).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MICRO-ORGANISMO E PREPARAÇÃO DA SUSPENSÃO DE ESPOROS

Neste estudo, foi utilizada a cepa *P. niveus* (IOC 4518), obtida do Instituto Oswaldo Cruz. O preparo da suspensão de esporos iniciou-se pela pré-esporulação em placas de Petri contendo meio ágar dextrose e extrato de batata (PDA, Kasvi®) (pH 3,5) por 7 dias a 30 °C (Figura 4). Os esporos coletados foram adicionados às placas de esporulação com auxílio de um swab, contendo meio ágar extrato de malte (MEA, Kasvi®) e incubados por 30 dias a 30 °C (Figura 5). A raspagem das placas foi feita com ajuda de um bastão de borracha estéril e com adição de 10 mL de água estéril em cada placa. O conteúdo obtido foi filtrado em quatro camadas de gaze estéril e depois centrifugado a 3500 rpm, 2000 vezes a força da gravidade (g), por 15 minutos, eliminando o sobrenadante. O procedimento foi repetido até que nenhuma hifa fosse vista ao microscópio. Ao final, foi realizada a suspensão dos esporos em água estéril, armazenada em frasco âmbar com pérolas de vidros, que foram mantidos sob refrigeração a 4 °C até posterior utilização (SALOMÃO et al., 2007).

Figura 4 – *P. niveus* em meio PDA



Fonte: Elaborado pela autora (2020)

Figura 5 – *P. niveus* em meio MEA

Fonte: Elaborado pela autora (2020)

### 3.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA DE SUCO

O suco de maçã clarificado utilizado foi elaborado a partir do suco de maçã concentrado (pH 3,6,  $70,5 \pm 0,1$  °Brix), fornecido pela empresa de sucos FISCHER S/A de Videira (Santa Catarina, Brasil). Ele foi ajustado para 12 °Brix por diluição com água destilada com auxílio de um refratômetro digital (AR200 Reichert, USA) (Figura 6). Para o experimento, alíquotas (0,1 mL) de suspensão de ascósporos foram inoculadas em 30 mL de suco de maçã para obter a concentração inicial de aproximadamente  $10^5$  UFC/mL de esporos de *Paecilomyces niveus*.

Figura 6 - Refratômetro digital para ajuste do °Brix



Fonte: <https://www.directindustry.com/pt/prod/reichert/product-56405-583922.html>

### 3.3 TRATAMENTO POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C)

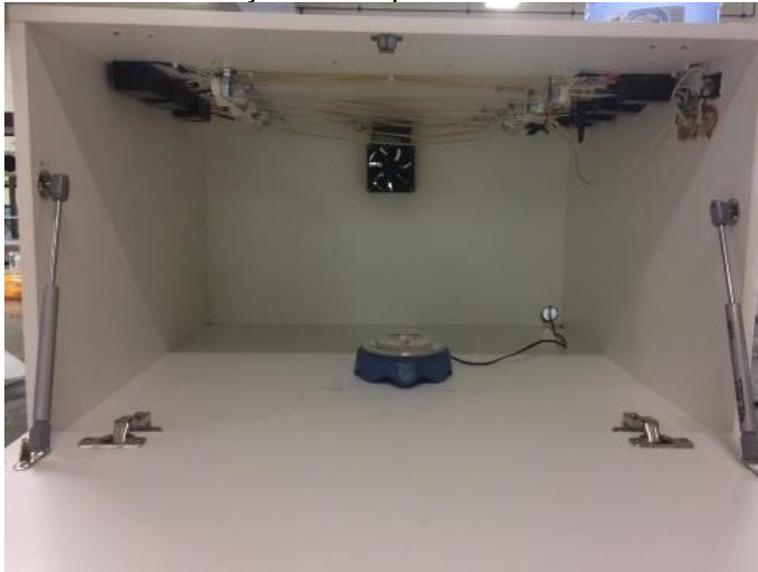
O tratamento com UV-C foi realizado em uma câmara fabricada em MDF (75x70x45 cm) equipada com sete lâmpadas germicidas: quatro de 15 W (TUV 15 W/G15 T8, Philips, Holanda) e três de 32 W (DULUX HNS L24W, OSRAM, Alemanha), com emissão em 254 nm. As amostras de suco de maçã inoculadas foram colocadas em placas de Petri (profundidade de 4 mm). Durante o tratamento por radiação ultravioleta UV-C, as amostras foram expostas a fontes de radiação UV-C com diferentes intensidades: 6,5, 13, 21, 36 W/m<sup>2</sup>. Para o tratamento com irradiância UV-C de 36 e 21 W/m<sup>2</sup>, a distância entre a amostra e as lâmpadas foi de 19,4 cm (Figura 7), e para 13 e 6,5 W/m<sup>2</sup>, a amostra ficou a 33,3 cm de distância da lâmpada (Figura 8). As amostras foram agitadas continuamente durante a irradiação de UV-C com agitador magnético (IKA, BIG SQUID White). As irradiâncias testadas foram medidas por um radiômetro UV-VIS (DELTA OHM HD 2302,0, Itália) (Figura 9) colocado à mesma distância da lâmpada UV que as placa. Para concentração de sólido solúveis (12 °Brix), alíquotas de 1 mL foram coletadas após 0, 1, 2, 4, 7, 10, 15, 20 e 30 minutos de exposição. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

Figura 7 - Equipamento de radiação UV-C para as irradiâncias de 36 e 21 W/m<sup>2</sup>



Fonte: Elaborado pela autora (2020)

Figura 8 - Equipamento de radiação UV-C para as irradiâncias de 13 e 6,5 W/m<sup>2</sup>.



Fonte: Elaborado pela autora (2020)

Figura 9 - Radiômetro

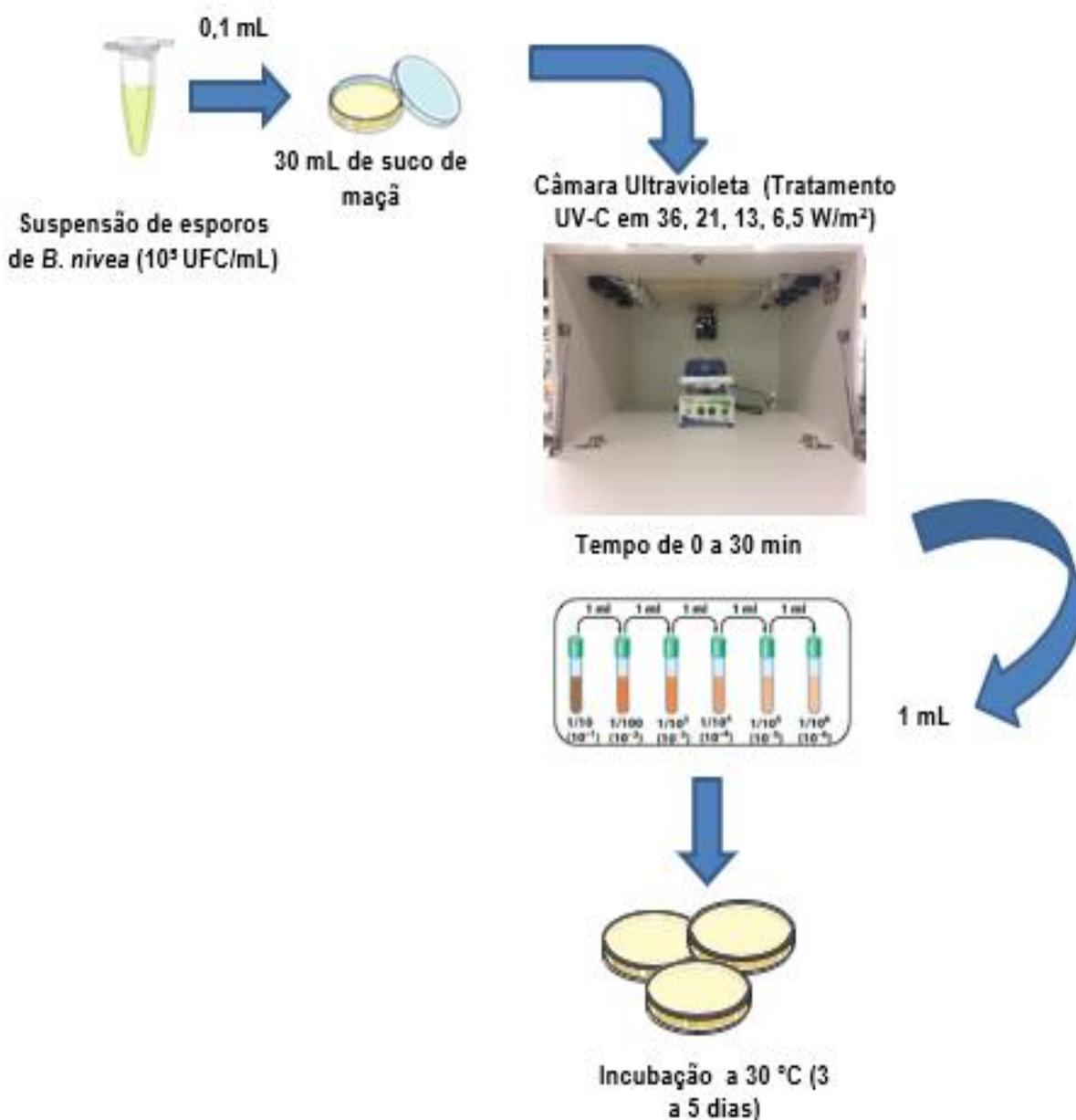


Fonte: Elaborado pela autora (2020)

### 3.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Durante o tratamento por radiação UV-C, alíquotas de 1 mL de suco foram coletadas ao longo do tempo e depositadas em tubos de ensaio contendo 9,0 mL de água peptonada, para realização posterior de diluição seriada. Após as diluições adequadas, foi realizado o plaqueamento em profundidade PDA (ágar extrato de batata, Kasvi®, Brasil) acidificado com solução de ácido tartárico 10% (pH 3,5) e rosa de bengala (50 mg/L) para a contagem de esporos. As placas foram incubadas em BOD a 30°C durante 3 a 5 dias. A contagem microbiana foi realizada em duplicata e expressa em UFC/mL. A Figura 10 mostra o esquema do procedimento experimental por radiação UV-C.

Figura 10 - Esquema do procedimento experimental de inativação por luz UV-C



Fonte: Elaborado pela autora (2020)

### 3.5 MODELAGEM MATEMÁTICA

Os parâmetros de inativação dos modelos primários foram determinados através do Matlab R2013a (MathWorks®, Natick, EUA). As curvas de inativação foram feitas no Office Excel 2010 (Microsoft®, Redmond, EUA). Os modelos utilizados foram o modelo de Weibull e de log-linear mais cauda (equações 1 e 2, respectivamente), que foram ajustados aos dados experimentais.

$$\log \left( \frac{N(t)}{N_0} \right) = - \left( \frac{t}{\beta} \right)^\alpha \quad (1)$$

$$\log N(t) = \log \left( (10^{\log N_0} - 10^{\log N_{\text{res}}}) e^{(-k_{\text{max}} t)} + 10^{\log N_{\text{res}}} \right) \quad (2)$$

Em que:

$N(t)$  – População de micro-organismos no instante  $t$  (UFC/mL);

$N_0$  – População inicial de micro-organismos (UFC/mL);

$t$  – Tempo (min);

$\delta$  – Fator de escala (min);

$p$  – Fator de forma;

$N_{\text{res}}$  – Densidade populacional residual (log UFC/mL);

$k_{\text{max}}$  – Taxa de inativação da parte log-linear da curva ( $\text{min}^{-1}$ ).

Os dados experimentais, expressos como média  $\pm$  desvio padrão, foram transformados para a razão de sobrevivência microbiana logarítmica ( $\log N(t)/N_0$ ), em que  $N(t)$  é a contagem de esporos (UFC/mL) no suco após tratamento com UV-C em função do tempo (min), e  $N_0$  (UFC/mL) é o número inicial de ascósporos antes do tratamento.

Após a obtenção dos parâmetros de inativação, dois modelos secundários foram comparados para determinar qual modelo melhor descreveu o efeito da irradiância UV-C sobre os parâmetros de inativação. Os modelos secundários utilizados foram modelo da raiz quadrada (Equação 3) e modelo linear (Equação 4). Foi utilizado o *software* Excel (Microsoft) e Matlab R2013a para o ajuste destes modelos aos dados experimentais.

$$\sqrt{y} = b (I - I_{\text{min}}) \quad (3)$$

$$y = b + aI \quad (4)$$

Em que:

$y$  – Parâmetro de inativação do modelo primário

$I$  – Irradiância de luz UV-C ( $\text{W}/\text{m}^2$ )

$I_{\text{min}}$  – Irradiância mínima de luz UV-C ( $\text{W}/\text{m}^2$ )

$a$  e  $b$  – Coeficientes do modelo

Após os ajustes dos modelos, a habilidade preditiva de cada um deles foi analisada por meio dos índices estatísticos com o intuito de escolher o modelo que apresentou melhor desempenho.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O desempenho dos modelos foi avaliado pelos índices estatísticos de coeficiente de determinação ( $R^2$ , Equação 5) e da raiz do erro médio quadrático (RMSE, Equação 6). Eles foram calculados através da função de ajuste da caixa de ferramentas de ajuste de curvas do Matlab R2013a (Math Works®, Natick, EUA) para validação do modelo primário de inativação escolhido, avaliando sua capacidade preditiva.

O coeficiente de determinação mostrado na Equação 5 indica uma medida da proporção da variação, que é uma regressão em relação a todas as variações de respostas. Quanto mais próximo o valor de  $R^2$  estiver de 1, melhor é a capacidade preditiva do modelo (JIN et al., 2009). A raiz do erro médio quadrático (RMSE) encontrada na Equação 6 nos indica o modelo de erro para os dados, e quanto menor o seu valor, maior a capacidade de descrever os dados.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (\text{valor predito} - \text{valor observado})^2}{\sum_{i=1}^n (\text{valor observado} - \text{média do valor predito})^2} \quad (5)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\text{valor predito} - \text{valor observado})^2}{n - \beta}} \quad (6)$$

Em que:

$n$  = número de observações experimentais

$\beta$  = número de parâmetros do modelo

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MODELAGEM PRIMÁRIA

As figuras 11 e 12 mostram o modelo de Weibull e o modelo log-linear mais cauda, respectivamente, ajustados aos dados experimentais obtidos da inativação dos esporos de *P. niveus* em suco de maçã clarificado tratados com luz UV-C nas irradiâncias de 6,5, 13, 21 e 36 W/m<sup>2</sup>. Os dados foram expressos em termos de log (N/N<sub>0</sub>) para evitar a influência das concentrações microbianas iniciais. Como pode ser observado, as curvas de inativação mostraram comportamento não linear com concavidade para cima e presença de cauda.

Figura 11 – Modelo de Weibull ajustado aos dados experimentais de inativação de esporos de *P. niveus* em suco de maçã 12 °Brix em diferentes irradiâncias de UV-C. As linhas tracejadas representam o ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais. As barras de erro (I) correspondem à triplicata de cada ponto.

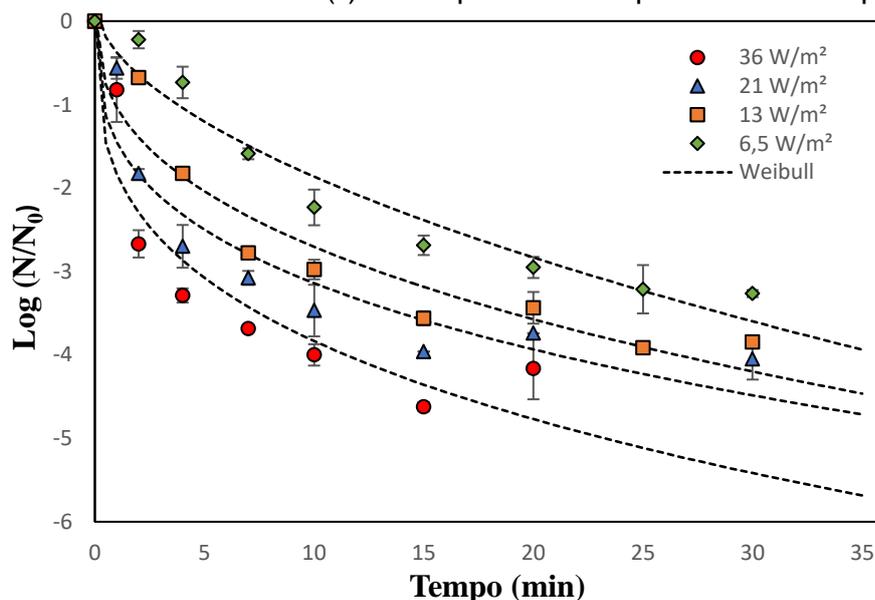
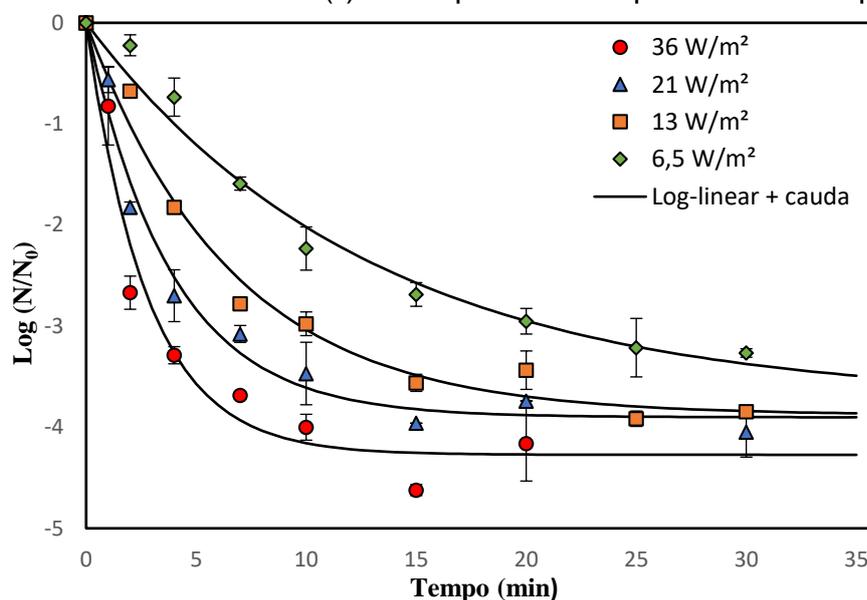


Figura 12 – Modelo log-linear mais cauda ajustado aos dados de inativação de esporos de *P. niveus* em suco de maçã 12 °Brix em diferentes irradiâncias de UV-C. A linha sólida representa o modelo de log-linear mais cauda ajustado aos dados experimentais. As barras de erro (I) correspondem à triplicata de cada ponto.



Os parâmetros obtidos do ajuste do modelo de Weibull para cada irradiância de UV-C testada estão apresentados na Tabela 1:

Tabela 1 - Parâmetros do modelo de Weibull para diferentes irradiâncias de UV-C

Irradiância (W/m <sup>2</sup> )	$\rho$	$\delta$ (min)
6,5	0,60	3,60
13	0,40	0,84
21	0,33	0,30
36	0,32	0,14

Analisado os parâmetros do modelo de Weibull, os valores do fator de forma ( $\rho$ ) ficaram entre 0,32 e 0,60. Eles foram menores que 1 ( $\rho < 1$ ), indicando que a concavidade das curvas de sobrevivência é ascendente. O parâmetro de escala ( $\delta$ ), que representa o tempo para a primeira redução decimal, aumentou de 0,14 min a 36 W/m<sup>2</sup> para 3,6 min a 6,5 W/m<sup>2</sup>, ou seja, o valor de  $\delta$  diminuiu à medida que o valor da irradiância de UV-C aumentou.

Os valores estimados dos parâmetros do modelo log-linear mais cauda, taxa de inativação máxima ( $k_{\max}$ ) e a densidade populacional residual ( $N_{\text{res}}$ ) estão apresentados na Tabela 2:

Tabela 2 - Parâmetros do modelo log-linear + cauda em diferentes irradiâncias de UV-C

<b>Irradiância (W/m<sup>2</sup>)</b>	<b>N<sub>res</sub> (log UFC/mL)</b>	<b>k<sub>max</sub> (min<sup>-1</sup>)</b>
<b>6,5</b>	-3,74	0,08
<b>13</b>	-3,88	0,15
<b>21</b>	-3,90	0,26
<b>36</b>	-4,27	0,36

Estudando a cinética de inativação de *P. niveus* a partir do parâmetro  $k_{max}$ , os valores estimados para a taxa de inativação máxima  $k_{max}$ , cuja unidade é  $\text{min}^{-1}$ , foram de 0,08, a 0,36 para as diferentes irradiâncias. O que se observou foi que quanto mais alta a irradiância, maior o valor da taxa de inativação. Logo, maiores valores de irradiância implicam mais rápida inativação dos esporos de *P. niveus*. A densidade populacional residual representada por  $N_{res}$  corresponde ao rejeito, que se observa no final das curvas de inativação pelo aparecimento de uma cauda.

Os modelos de Weibull e log-linear mais cauda foram comparados a partir dos índices estatísticos “coeficiente de determinação” ( $R^2$ ) e “raiz do erro quadrático médio” (RMSE) para determinar qual dos modelos primários teve o melhor desempenho na predição da inativação de *P. niveus* tratados com luz UV-C.

Como pode ser observado na Tabela 3, o modelo Log-linear mais cauda apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, com valores de  $R^2$  maiores e mais próximos de 1 e RMSE mais baixos:

Tabela 3 - Índices estáticos para o modelo log-linear mais cauda e de Weibull em diferentes irradiâncias de UV-C

<b>Irradiância (W/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Modelo</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMSE</b>
6,5	Log-linear + cauda	0,98	0,19
	Weibull	0,94	0,32
13	Log-linear + cauda	0,98	0,19
	Weibull	0,93	0,40
21	Log-linear + cauda	0,98	0,22
	Weibull	0,91	0,47
36	Log-linear + cauda	0,96	0,34
	Weibull	0,90	0,56

O modelo log-linear mais cauda foi escolhido por apresentar melhor ajuste aos dados experimentais, e pela sua habilidade preditiva em estimar  $N_{res}$ , ou seja, o logaritmo da população residual, que representa a cauda no final da curva de inativação. Ao atingir esses valores da população residual, não é mais necessário prolongar a duração do tratamento por UV-C, pois nenhuma inativação adicional pode ser alcançada, devido à subpopulação de micro-organismos resistentes. Isto porque prologar o tratamento pode ocasionar perdas na qualidade do produto, gastos com energia e tempo de processo. A ocorrência de cauda na curva de sobreviventes em que o modelo log-linear mais cauda foi ajustado aos dados experimentais foi relatada em outros trabalhos (BAYSAL et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2013; IZQUIER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2011).

Como pode ser observado na Figura 10, as curvas de sobrevivência mostraram uma concavidade ascendente. Os padrões de inativação em todas as intensidades de radiação mostraram uma rápida diminuição inicial no número de esporos sobreviventes, que diminuíram após um certo tempo. No nível de irradiância mais alto testado ( $36 \text{ W/m}^2$ ), o tratamento com UV-C permitiu reduzir 4,0 log de contaminação inicial de *P. niveus*, após 10 minutos de exposição. No menor nível de irradiância testado ( $6,5 \text{ W/m}^2$ ), essas reduções de *P. niveus* não foram obtidas após 30 minutos de exposição, reduzindo somente 3,3 log nesse tempo. Isso indica que os níveis mais altos de irradiância reduziram o número de esporos significativamente em menos tempo. Redução significativa do número de esporos em menor tempo no mais alto nível irradiância de UV-C também foi relatada por outros autores (BAYSAL et al., 2013; TREMARIN et al., 2017; MENEZES et al., 2020).

## 4.2 MODELAGEM SECUNDÁRIA

Os modelos secundários da raiz quadrada e linear foram utilizados para descrever a influência das diferentes irradiâncias de UV-C no parâmetro primário de inativação de *P. niveus* ( $k_{max}$ ) obtido do ajuste do modelo log-linear mais cauda. A Figura 13 e a Figura 14 mostram as curvas obtidas deste ajuste:

Figura 13 - Ajuste do modelo secundário da raiz quadrada para descrever a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro primário  $k_{max}$

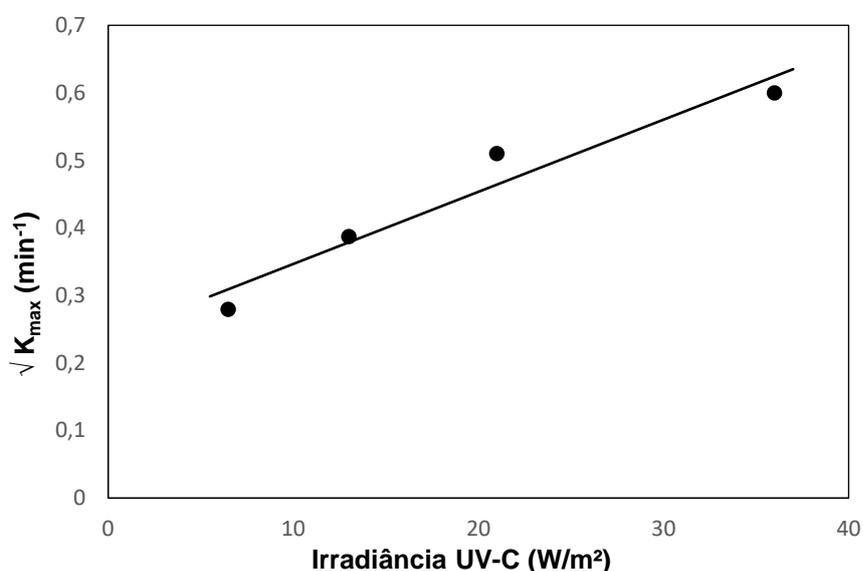
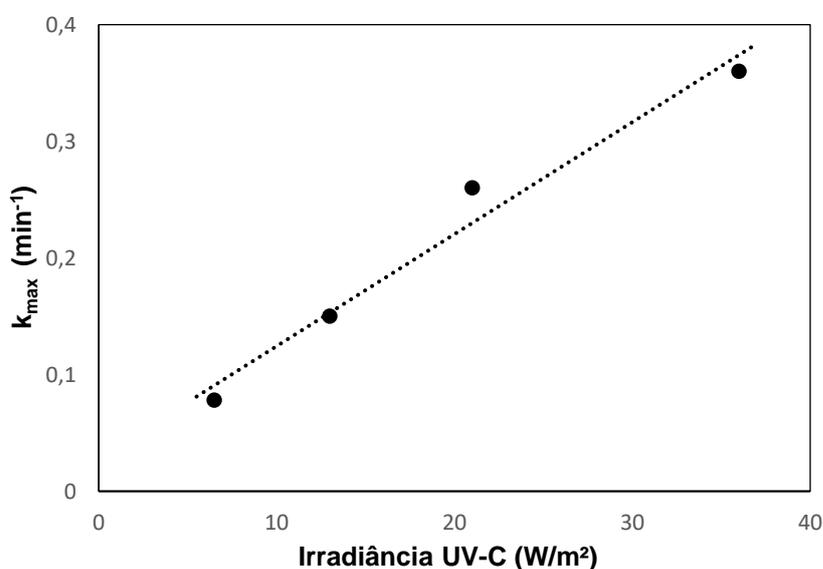


Figura 14 - Ajuste do modelo secundário linear para descrever a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro primário  $k_{max}$



Os índices estáticos do ajuste dos modelos secundários aos dados experimentais foram comparados para definir, entre os modelos secundários, qual melhor descreveu o comportamento do parâmetro  $k_{max}$  sobre a influência das irradiâncias de UV-C. Como pode ser observado na Tabela 4, o modelo secundário linear apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, com valores de  $R^2$  mais próximos de 1 e RMSE mais baixos:

Tabela 4 - Índices estáticos dos modelos secundários que descrevem a influência da irradiância de UV-C sobre o parâmetro de inativação  $k_{\max}$  de *P. niveus*

<b>Modelos</b>	<b>Equação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMSE</b>
<b>Raiz quadrada</b>	$\sqrt{k_{\max}} = 0,0076*(I + 22,45)$	0,94	0,043
<b>Linear</b>	$k_{\max} = 0,0096*I + 0,028$	0,97	0,025

O que se pôde observar a respeito do comportamento do parâmetro de velocidade específica máxima em diferentes níveis de irradiância de UV-C, foi que quanto maior o nível de irradiância de UV-C, maior é a velocidade de inativação.

Foi utilizado como modelo secundário a média aritmética dos valores obtidos do parâmetro  $N_{\text{res}}$  nas irradiâncias de 6,5, 13, 21 e 36 W/m<sup>2</sup> da Tabela 2 para avaliar a influência da luz UV-C sobre o parâmetro  $N_{\text{res}}$ . O resultado obtido neste trabalho para a população residual ( $N_{\text{res}}$ ) foi de -3,95 log UFC/mL.

## 5. CONCLUSÃO

A tecnologia não térmica de radiação UV-C foi eficaz na inativação de esporos de *P. niveus* em suco de maçã clarificado, sendo, deste modo, promissora na preservação de alimentos, visto que *P. niveus* é um dos fungos mais resistentes ao tratamento térmico e produtor de patulina. A cinética mostrou que a inativação de *P. niveus* foi eficiente em todas as irradiâncias estudadas: mesmo na menor irradiância houve inativação, ainda que nos maiores níveis de irradiância a inativação tenha ocorrido mais rápido.

O modelo log-linear mais cauda apresentou um bom ajuste aos dados experimentais e, através dos seus parâmetros, foi possível concluir que quanto mais alta a irradiância, maior a taxa de inativação. Ainda, o modelo estimou os valores para a população residual ( $N_{res}$ ), que é fundamental no processamento de alimentos, uma vez que mostra quando não é mais desejável continuar o tratamento por luz UV-C e que, após atingir o valor da população residual, prolongar o tratamento por radiação UV-C pode gerar perdas na qualidade do produto e gastos energéticos. O modelo secundário linear teve um bom desempenho para descrever a influência das irradiâncias sobre o parâmetro primário de inativação  $k_{max}$ .

A relevância desta pesquisa está no fato de as informações aqui apresentadas serem importantes para projetar processos de inativação por luz UV-C em fungos termorresistentes, dessa forma impactando o processamento de alimentos líquidos, como suco de maçã, e enaltecendo a tecnologia de UV-C como grande potencial na descontaminação não térmica de alimentos.

## **SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Pesquisas futuras poderiam buscar a otimização nos parâmetros de processo com UV-C, como dose, tempo de processamento ou velocidade de inativação. Também poderiam realizar-se estudos de aplicação de UV-C em alimentos sólidos, pois a maioria dos estudos estão concentrados no uso em alimentos líquidos. Ainda, há a possibilidade de estudo de novas fontes para luz UV-C que sejam ambientalmente corretas, a fim de substituir as lâmpadas de mercúrio.

## REFERÊNCIAS

- ABIR. **Bebidas não alcoólicas: a cadeia de produção e distribuição que movimenta a economia dos pais.** 2019/2020 ed., p. 92, 2020. Disponível em: <https://abir.org.br/abir/wp-content/uploads/2020/03/revista-abir-2020.pdf> . Acesso em: 27 jul. 2020.
- ARAGÃO, G.M.F. **Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes isolados de polpa de morango.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.
- ANTONIO-GUTIÉRREZ, O. T.; LÓPEZ-DÍAZ, A. S.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; RAMÍREZ-CORONA, N. **UV-C light for processing beverages: principles, applications, and future trends.** Processing and Sustainability of Beverages, p. 205-234, 2019.
- BAERT, K.; DE MEULENAER, B.; KAMALA, A.; KASASE, C.; DEVLIEGHIERE, F. **Occurrence of patulin in organic, conventional, and handicraft apple juices marketed in Belgium.** Journal of Food Protection, v. 69, n. 6, p. 1371-1378, 2006.
- BAHÇEÇI, K.; 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, Turkey, v. 120, n. 3, p. 266-273, dec. 2007.
- BARANYI, J.; GIBSON, A. M; PITT, J. I; EYLES, M. J.; ROBERTS, T. A. **Predictive models as means of measuring the relatedness of some *Aspergillus* species.** Food Microbiology, v.14, p.347-351, 1996.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. **A dynamic approach to predicting bacterial growth in food.** International Journal of Food Microbiology, v. 23, n. 3-4, p. 277-294, 1994.
- BARANYI, J.; ROBINSON, T. P.; KALOTI, A.; MACKEY, B. M. **Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature.** International Journal of Food Microbiology, v. 27, n. 1, p. 61-75, 1995.
- BAYSAL, A. H.; MOLVA, C.; UNLUTURK, S. **UV-C light inactivation and modeling kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in white grape and apple juices.** International Journal of Food microbiology, Urla, v. 166, n. 3, p. 494-498, 2013.
- BEUCHAT, L.R. & RICE, S.L. **Byssochlamys spp. and their importance in processed fruits.** Advances in Food Research, v.25, p.237-289, 1979.
- BEUCHAT, L. R.; ROLAND, J. O. **Influence of Temperature and Water Activity on Growth and Patulin Production by *Byssochlamys nivea* in Apple Juice.** Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 47, p. 205 – 207, 1984.

BEUCHAT, L.R. **Extraordinary heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* ascospores in fruit products.** Journal of Food Science, v.51, n.6, p.1506-1510, 1986.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A.; PURI, V. M. **Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* entérica on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV- light.** Journal of Food Engineering, Unites States, v. 85, n. 3, p. 444-449, 2008

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANEATAKI, 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, v. 80, n. 6, 2000.

BOLTON, J. R.; LINDEN, K. G. **Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments.** Journal of Environmental Engineering, Canada, v. 129, n. 3, 2003.

BRUCKNER, S.; ALBRECHT, A.; PETERSEN, B.; KREYENSCHMIDT, J. A **predictive shelf-life model as a tool for the improvement of quality management in pork and poultry chains.** Food Control, v. 29, n. 2, p. 451-460, 2013.

CAMINITI, I. M. *et al.* **The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice.** Food and Bioprocess Technology, Dublin, v. 5, p. 680-686, 2012.

CARRILLO, M. G.; FERRARIO, M.; GUERRERO, S. **Study of the inactivation of some microorganisms in turbid carrot-orange juice blend processed by ultraviolet light assisted by mild heat treatment.** Journal of Food Engineering, Argentina, v. 212, p. 213-225, 2017.

CASOLARI, A. **Microbial death.** Physiological Models in Microbiology v.2, p. 144, 1988.

CERF, O. **A Review Tailing of survival curves of bacterial spores.** Journal of Applied Bacteriology, França, v. 42, n. 1, p. 1-19, 1977.

CHAPMAN, B.; WINLEY, E.; FONG, A. S. W.; HOCKING, A. D.; STEWART, C. M.; BUCKLE, K. A. **Ascospore inactivation and germination by high pressure processing is affected by ascospores age.** Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 8, p. 531-534, 2007.

CHAR, C. D.; MITILINAKI, E.; GUERRERO, S. N.; ALZAMORA, S. M. **Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices.** Food and Bioprocess Technology, Argentina, v. 2, p. 797-803, 2010.

CHOI, L. H.; NIELSEN, S. S. **The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability.** Journal of Food Quality, v. 28, n. 1, p. 13, 29, 2005.

COROLLER, L.; LEGUERINEL, I.; METTLER, E.; SAVY, N.; MAFART, P. **General model, based on two mixed Weibull distributions of bacterial resistance, for describing various shapes of inactivation curves.** Applied and Environmental Microbiology, v. 72, n. 10, p. 6493-6502, 2006.

CORRADINI, M. G.; PELEG, M. **Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experimental data.** Journal of Applied Microbiology, v. 99, n. 1, p. 187–200, 2005.

DANNENHAUER, C. E. **Desenvolvimento de um aplicativo computacional pra microbiologia preditiva.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Pós graduação em engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

EVELYN, E.; KIM, H. J.; SILVA, F. V. M. **Modeling the inactivation of *Neosartorya fischeri* ascospores in apple juice by high pressure, power ultrasound and thermal processing.** Food Control, New Zealand, v. 59, p. 530-537, 2016.

EVELYN, E.; SILVA, F. V. M. **High pressure processing of milk: Modeling the inactivation of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores at 38-70 °C.** Journal of Food Engineering, New Zealand, v. 165, p. 141-148, 2015.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Center for Food Safety and Applied Nutrition. Patulin in apple juice, apple juice concentrates and apple juice products.** U.S. Food and Drug Administration - December, 2004. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/patubck2.html>. Acesso em: 10 ago. 2019.

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Juice HACCP regulator training.** Jan. 2018. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/hazard-analysis-critical-control-point-haccp/juice-haccp-regulator-training>. Acesso em: 21 jul. 2020.

FERREIRA, E. H. R. *et al.* **Thermoresistance of filamentous fungi isolated from aseptically packaged fruit nectars.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 14, n. 3, 2011.

FLORES-CERVANTES, D. X.; PALOU, E.; LÓPEZ- MALO, A. **Efficacy of individual and combined UV-C light and food antimicrobial treatments to inactivate *Aspergillus flavus* or *A. niger* spores in peach nectar.** Innovative Food Science & Emerging Technologies. México, v. 20, p. 244-252, 2013.

LANZA, J. **Desinfecção de embalagem utilizando radiação ultravioleta** – parte 1. Food Safety Brazil: Conteúdo para segurança de alimento, 13 nov. 2016. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/desinfeccao-de-embalagem-utilizando-radiacao-ultravioleta-parte-1/>. Acesso em: 30 out. 2019.

FRANZ, C. M. A. P.; SPECHT, I.; CHO, G. S.; GRAEF, V.; STAHL, M. R. **UV-C inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on dean vortex technology.** Food Control, Germany, v. 20, n. 12, p. 1103 – 1107, 2009.

GEERAERD, A. H. HERREMANS, J. F.; VAN IMPE, J. F. **Structural model requirements to describe microbial inaction during a mild heat treatment.** International Journal of Food Microbiology, Belgium, v. 59, n. 3, p. 185-209, 2000.

GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; DEVLIEGHERE, F.; **Development of a novel approach for secondary modelling in predictive microbiology: Incorporation of microbiological knowledge in black box polynomial modelling.** International Journal of Food Microbiology, v. 91, n. 3, p. 229–244, 2004.

GEERAERD, A. H.; **GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curve.** International Journal of Microbiology, Belgium, v. 102, n. 1, p. 95-105, 2005.

GIESE, N.; DARBY, J. **Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems,** USA, v. 34, n. 16, p. 4007-4013, 2000.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; KOUTCHMA, T.; LINDEN, K. CHAPTER 8 – **Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods.** Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for fluid Foods, p. 185-223, 2012.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, P.; DEVLIEGHERE, F. **Pulsed light for food decontamination: a review.** Trends in Food Science & Technology, v. 18, n. 9, p. 464-473, 2007.

GOUVÊA, M. M. *et al.* **Aplicação da radiação ultravioleta como forma de contribuição para a química verde e construção de um reator fotoquímico alternativo e de baixo custo, para pré-tratamento de amostras.** Química Nova, Niterói – RJ, v. 37, n. 2, p. 337-343, set. 2014.

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Advantages and limitations on processing foods by UV light.** Food science and technology international, v. 10, n. 3, p. 137-148, 2004.

GUERRERO-BELTRAN, J.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. **Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and Polyphenoloxidase in manga nectar treated with UV light.** Journal of Food protection, 2006.

GUERRERO-BELTRÁN, J.; WELTI-CHANES, J.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Ultraviolet-C-light processing of grape, cranberry and grapefruit juices to inactivate *Saccharomyces cerevisiae*.** Journal of Food Process Engineering, v. 32, n. 6, p. 916-932, dec. 2009.

HAN, B. Z.; NOUT, M. J. Effects of temperature, water activity and gas atmosphere on mycelial growth of temperate fungi *Rhizopus microspores* and *R. microspores var oligosporus*. Word Journal Microbiology and Biotechnology, v. 16, p. 853 – 858, 2000.

HARM, W. **Biological effects of ultraviolet radiation.** International Atomic Energy Agency, United Kingdom, v. 12, n. 8, p. 229, 1980.

HEREU, A.; DALGAARD, P.; GARRIGA, M.; AYMERICH, T.; BOVER-CID, S. **Modelling the high-pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* on cooked ham**, 7<sup>th</sup> International conference on predictive modelling of food quality and safety-7ICPMF, Dublin, Ireland, p. 182-185, 2011.

HF BRASIL. **Anuário 2018-2019**. Hortifruti Brasil, p. 50, dez. 2018. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/anuario-2018-2019.aspx>. Acesso em: 14 set. 2020.

HIJNEN, W. A. M.; MEDEMA, G. J. **Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review**. Water Research, The Netherlands, v. 40, n. 1, p. 3-22, 2006.

HOUBRAKEN, J. *et al.* **Sexual reproduction as the cause of heat resistance in the food spoilage fungus *Byssochlamys spectabilis* (Anamorph *Paecilomyces variotii*)**. American Society for Microbiology, The Netherlands, v. 74, n. 5, p. 1613-1619, 2008.

HOCKING, A.D. & PITT, J.I. **Food spoilage fungi. II. Heat Resistant Fungi**. CSIRO Division of Food Research, v.44, n.4, p.73-82, 1984.

HUANG, L. **IPMP 2013 - A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology**. International Journal of Food Microbiology, v. 171, p. 100–107, 2014.

IZQUIER, A.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. **Modeling the pulsed light inactivation of microorganisms naturally occurring on vegetable substrates**. Food Microbiology, Caracas, v. 28, n. 6, p. 1170-1174, 2011.

JIN, Y.; CHEN, R.; SUN, L.; WANG, W.; ZHOU, L.; LIU, W.; FU, Z. **Enantioselective induction of estrogen-responsive gene expression by permethrin enantiomers in embryo-larval zebrafish**. Chemosphere, v. 74, n. 9, p. 1238-1244, 2009.

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 & Emerging Technologies, South Africa, v. 9, n. 3, p. 348-254, 2008.

KIM, T.; SILVA, J. L.; CHEN, T. C. **Effects of UV irradiation on selected pathogens in peptone water and on stainless steel and chicken meat**. Journal of Food Protection, v. 65, n. 7, p. 1142-1145, 2002.

KOUTCHMA, T. N. **Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods**. Food and Bioprocess Technology, Canada, v. 2, p. 138–155, 2009.

KOUTCHMA, T. N.; FORNEY, L. J.; MARARU, C. I. **Ultraviolet light in food technology: principles and applications**. CRC Press Taylor & Francis Group, London/New York, 2009.

KOTZEKIDOU, P. **Heat resistance of *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva* and *Neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste.** Journal of Food Science, Malden, v. 62, n. 2, p. 410-437, 1997.

LABUZA, T. P & FU, B. **Growth Kinetics for shelf-life prediction: theory and practice.** Journal of Industrial Microbiology, v.12, p. 309-323, 1993.

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

LIU, B. H. *et al.* **Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin.** Toxicology and Applied Pharmacology, Taiwan, v. 191, n. 3, p. 255-263, 2003.

LOBACZ, A.; BARANYI, I. **A predictive model for *Listeria monocytogenes* in dairy products.** 5<sup>th</sup> International Conference Predictive Modelling in Foods, p. 111, 2007.

LUKSIENE, Z.; GUDELIS, V.; RAUDELIONIENE, J. **Advanced high-power pulsed light device to decontaminate food from pathogens: effects on *Salmonella typhimurium* viability *in vitro*.** Journal of Applied Microbiology, Lithuania, v. 103, n. 5, p. 1545 – 1552, 2007.

MANSOR, A.; SHAMSUDIN, R.; ADZAHAN, M.; NIZAR, M. **Efficacy of ultraviolet radiation as non-thermal treatment for the inactivation of *Salmonella typhimurium* TISTR 292 in pineapple fruit juice.** Agriculture and Agricultural Science Procedia, p. 173-180, 2014

MARFAT, P.; COUVERT, O.; GAILLARD, S.; LEGUERINEL, I. **On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model.** International Journal of Food Microbiology, France, v. 72, n. 1-2, p. 107-113, 2002.

MASSCHELEIN, W. J. **Ultraviolet light in water and wastewater sanitation.** Boca Raton: CRC, London, New York, Washington, 2002.

McMEEKIN, T.A.; ROSS, T. **Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework or change management.** International Journal of Food Microbiology, v.78, p. 133-153, 2002.

MENEZES, N. M. C.; LONGHI, D. A.; ORTIZ, B. O.; FURIGO, A. J.; ARAGÃO, G. M. F. **Modeling the inactivation of *Aspergillus fischeri* and *Paecilomyces niveus* ascospores in apple juice by different ultraviolet light irradiances.** International Journal of Food Microbiology, Florianopolis, Brazil, v. 333, 2020.

MENEZES, N. M. C., TREMARIN, A., FURIGO, A. J., ARAGRÃO, G. M. F. **Effect of soluble solids concentration on *Neosartorya fischeri* inactivation using UV-C**

**light.** International Journal of Food Microbiology. Florianópolis, v. 296, p. 43-47, 2019.

MITCHELL, D. L.; JEN, J.; CLEAVER, J. E. **Sequence specificity of cyclobutene pyrimidine dimers in DNA treated with solar (ultraviolet B) radiation.** Nucleic Acids Research, California, v. 20, n. 2, p. 225-229, 1992.

MOAKE, M. M.; PADILA-ZAKOUR, O. I.; WOROBO, R. W. **Comprehensive review of patulin control methods in foods.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, USA, v. 4, n. 1, p. 8-21, nov. 2006.

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 Process Engineering, v. 29, n. 1, p. 53-71, 2006.

NAKASHIMA, S. M. K.; ANDRÉ, C. D. S.; FRSNCO, B. D. G. M. **Revisão: aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva.** Brazilian Journal of Food Technology, v.3, p.41-51, 2000.

ORLOWSKA, M.; KOUTCMA, 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. Canada, v. 47, p. 647-655, 2015.

PANAGO, E. Z.; CHELONAS, S.; CHATZIPAVLIDIS, I.; NYCHAS, G. J. **Modelling the effect of temperature and water activity on the growth rate and growth/no growth interface of *Byssochlamys fulva* and *Byssochlamys nivea*.** Food Microbiol. v. 27, n. 5, p. 618-627, 2010.

PELEG, M. **Advanced quantitative microbiology for foods and biosystems: and inactivation.** Boca Raton: Taylor & Francis, p. 417, 2006.

PEREZ-RODRIGUES, F.; VALERO, A. **Predictive microbiology in foods.** Springer-Verlag, New York, v. 128, n. 5, 2013.

PIECKOVÁ, E.; LEHOTSKÁ, R.; GLOBANOVA, M. **Heat resistant fungi, toxicity and their management by nanotechnologies.** Nanomycotoxicology – Treating, p. 217-237, 2020.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage.** Springer, Australia, p. 515, 2009

POTELA, J. B. *et al.* **Predictive model for inactivation of salmonella in infant formula during microwave heating processing.** Food control, v. 104, p. 308-312, 2019.

POSSAS, A.; VALERO, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; SOUZA, P. M. **Influence of temperature on the inactivation kinetics of *Salmonella* Enteritidis by the application of UV-C technology in soymilk.** Food Control. Espanha, v. 94, p. 132-139, 2018.

RATKOWSKY, D.A.; OLLEY, J.; MCMEEKIN, T.A.; BALL, A. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J. Bacteriol.* 149, p.1–5, 1982.

ROLAND, J. O.; BEUCHAT, L. R. **Biomass and patulin production by *Byssochlamys nivea* in apple juice as affected by sorbate, benzoate, SO<sub>2</sub> and Temperature.** *Journal of Food Science*, v. 49, n. 2, p. 402-406, 1984.

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. 676–680, 2007.

SANT'ANA, A. S. **Avaliação quantitativa do risco da patulina em suco de maçã.** Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SANT'ANA, A. S.; ROSENTHAL, A.; MASSAGUER, P. R. **Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssochlamys fulva* ascospores in clarified apple juice.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 107, n. 1, p. 197–209, 2009.

SANTOS, J. L. P.; SAMAPUNDO, S.; GÜLAY, S. M.; VAM IMPE, J.; SANT'ANA, A. S.; DEVLIEGHERE, F. **Inter-and intra-species variability in heat resistance and the effect of heat treatment intensity on subsequent growth of *Byssochlamys fulva* and *Byssochlamys nivea*.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 279, p. 80-87, 2018.

SCHAFFNER, D. W.; LABUZA, T. P. **Predictive Microbiology: where are we and where are we going?** In: Overview-Outstanding symposia in food science & technology). *Food Technology*, v.51, n.4, p.95-99, 1997.

SCRIBAN, R. **Biotecnologia.** Manole, São Paulo, p. 489, 1985.

SEBRAE. **Produção de maçã.** Alimentos e bebidas – Relatórios de inteligência, p. 10, maio 2019. Disponível em: <https://atendimento.sebrae-sc.com.br/inteligencia/relatorio-de-inteligencia/producao-de-maca>. Acesso em 25 nov. 2019.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da Maçã** – Mercado e Vendas, 2018. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-maca,ea7a9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 27 jul. 2020.

SHAMA, G. **Ultraviolet light.** *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2003.

SILIHA, H.; ASKAR, A. **Patulin in apple juice and children's apple food.** *Fruit processing*, Strabenhaus, v. 5, n. 3, p. 164-167, 1999.

- SILVA, F. V. M.; GIBBS, P. **Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Portugal, v. 44, n. 5, p. 353-360, 2004.
- SILVA, F. V. M.; GIBBS, P. **Principles of thermal processing: pasteurization**, Chapter 2. *Contemporary Food Engineering Series*, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, USA, p. 13-48, 2009.
- SLONGO, A. P.; ARAGÃO, G. M. F. **Factors affecting the thermal activation of *Neosartorya fischeri* in pineapple and papaya nectars**. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312-316, 2006.
- SOUZA, V.; KOUTCHMA, T. **Ultraviolet light microbial inactivation in liquid foods**. *Innovative Food Processing Technologies*, Canada, p. 146-170, 2020.
- SPLITTSTOESSER, D.F.; WILKISON, M. & HARRISON, V. **Heat activation of *Byssochlamys fulva* ascospores**. *Milk Food Technology*, v.35, n.7, p.399-401, 1972.
- TOURNAS, V.; TRAXLER, R. W. **Heat resistance of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate**. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 57, n. 9, p. 814-816, 1994.
- TOURNAS, V. **Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry**. *Critical Reviews in Microbiology*, 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*, v. 73, p. 18–23, 2017.
- UNLUTURK, S.; ATILGAN, M. R. **UV-C irradiation of freshly squeezed grape juice and modeling inactivation kinetics**. *Journal of Food Process Engineering*, Turkey, v. 37, n. 4, 2014.
- VALIK, L.; PIECKOVA, E. **Growth modeling of heat resistant fungi: the effect of water activity**. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 11-17, 2001.
- VAN IMPE, J. F. *et al.* **Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing**. *Applied and Environmental Microbiology*. 58, p. 2901-2909, 1992.
- VURMAZ, A. K.; GÜNDÜZ, G. T. **Inhibition of mold growth on the surface of dried persimmons using combined treatments of UV-C light and clove oil**. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Turquia, v. 61, 2020.
- WALLNER-PENDLETON, E.; SUMNER, S.; FRONING, G. W.; STETSON, L. E. **The use of ultraviolet radiation to reduce *Salmonella* and psychrotrophic bacterial**

**contamination on poultry carcasses.** Poultry Science, v. 73, n. 8, p. 1327-1333, 1994.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; DOTTONI, H. A.; NOLL, I. B. **Ocorrência de fungos termorresistentes em suco de maçã.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, II SSA, p. 78-83, 2009.

WHITING, R.; BUCHANAN, R. **A classification of models in predictive microbiology - reply.** Food Microbiology, v. 10, n. 2, p. 175-177, 1993.

WHITING, R. Microbial modeling in foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 35, n. 6, p. 467-494, 1995.

WONG, E.; LINTON, R. H.; GERRARD, D. E.; **Reduction of *E. coli* and *Salmonella senftenberg* on pork sink and pork muscle using ultraviolet light.** Food Microbiol., v. 15, p. 415-423, 1998.

YANG, J.; LI, J.; JIANG, Y.; DUAN, X.; QU, H.; CHEN, F.; SIVAKUMAR, D. **Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products,** Crit. Rev. Food Sci. Nutr., v.54, n. 1, p. 64-83,2017.

ZIMMERMANN, M., SCHAFFNER, D. W., ARAGÃO, G. M. F. **Modeling the inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores in tomato pulp from the combined effect of high pressure and moderate temperature.** LWT – Food Science and Technology, Florianopolis, v. 53, n. 1, p. 107-112, 2013.