

RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C) NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO POR *E. COLI* E NA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE EM CAQUI ‘RAMA FORTE’

Palavras-Chave: [[Doenças Transmitidas por Alimentos]], [[Sanitização]], [[Controle alternativo]]

Autoras:

Daniela Albuquerque Lima, Universidade Estadual de Campinas

Dr.^a Franciane Colares Souza Usberti, Universidade Estadual de Campinas

Ms. Yasmim Cristina Rodrigues da Silva, Universidade Estadual de Campinas

INTRODUÇÃO:

O caqui é uma fruta oriental, que se adaptou ao clima tropical brasileiro, sendo a variedade ‘Rama Forte’ a mais comum e a mais consumida no país. O Brasil é o quarto maior produtor mundial do fruto. Segundo dados do IBGE, em 2019, foram produzidas mais de 168 mil toneladas do produto. A fruta possui uma coloração vermelha alaranjada quando madura, e forma redonda achatada, possuindo textura lisa. O caqui ‘Rama Forte’ possui polpa doce e taninosa, sendo necessário para o consumo, a passagem pelo processo de destanização.

Frutos consumidos frescos, como o caqui, podem ser precursores de doenças que causam infecções e podem gerar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Um surto de DTA é definido como um incidente onde duas ou mais pessoas apresentam uma enfermidade semelhante após a ingestão de um mesmo alimento ou água e são um problema de âmbito público, sendo que estas doenças derivam-se, além da ingestão de alimentos e água contaminados, a fatores como falta de saneamento básico e utilização de água contaminada para irrigação de culturas. A bactéria da espécie *Escherichia coli* está presente no trato gastrointestinal e quando as condições do meio em que se encontram permitem sua multiplicação, esta se torna um dos patógenos de maior potencial de infecções alimentares (SILVA, 2019). Esses patógenos podem ser transmitidos por alimentos como carnes, leite, água não tratada, hortaliças e frutas.

A radiação UV-C é considerada eficiente na eliminação de bactérias como *E. coli*, protozoários, algas, vírus e fungos, apresentando, portanto, alto interesse pela área agroindustrial. A importância deste estudo visa o controle de

contaminações microbiológicas, tencionando a diminuição das perdas de produtos agrícolas, garantindo um alimento seguro aos consumidores e um tratamento não poluente ao meio ambiente. De acordo com Rocha (2014), o principal mecanismo de ação da radiação UV-C na desinfecção é através da interferência na biossíntese e na reprodução celular, os microrganismos são inativados pela radiação UV-C como resultado dos danos fotoquímicos causados ao DNA.

O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese de que a radiação UV-C reduz a população de *Escherichia coli* e mantém a qualidade pós-colheita de frutos de caqui ‘Rama Forte’ durante o armazenamento.

METODOLOGIA:

Caquis frescos da variedade ‘Rama Forte’ foram adquiridos na cidade de Taquarivai, no sudoeste do estado de São Paulo e levados até ao Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita da Universidade Estadual de Campinas. Com menos de 24 horas de colhidos, ainda taninosos e não lavados, os caquis foram selecionados aleatoriamente quanto ao seu bom estado, estando livres de enfermidades visíveis e defeitos fisiológicos.

Experimentos In Vivo

A produção do inóculo com *E. coli* teve início através de uma colônia solitária da bactéria em meio caldo, cérebro e coração (BHI), que foi homogeneizado e incubado a 37°C por um período mínimo de 20 horas.

Com o auxílio de um espectrofotômetro, a concentração de inóculo foi ajustada para 10⁶ células da bactéria por mililitro (UFC/ml), utilizando-se água peptonada 0,1% para promover a diluição. Vinte e cinco frutos foram alocados em

uma capela de fluxo laminar e inoculados pelo método de spray até que ficassem completamente encharcados, depois esperou-se 1 hora até que ficassem secos. Em seguida, foram submetidos ao tratamento com a UV-C sendo avaliados pelo método da diluição seriada em que 25g da casca foram colocadas num frasco com 225 ml de água peptonada 0,1% e então foi feita a diluição seriada onde uma alíquota de 1 ml dessa solução foi colocada em frascos de 9 ml contendo água peptonada 0,1% e diluídas de 10^{-1} a 10^{-6} . Foram retiradas 1 ml dessas diluições e inoculados em profundidade em ágar padrão de contagem (PCA). Após este procedimento, as placas foram incubadas a 37 °C e feita a contagem das UFC após 24 horas, procedendo-se ao cálculo da redução logarítmica bacteriana.

Experimentos In Vitro

As bactérias foram reproduzidas em meio BHI e sua concentração foi ajustada para 10^6 células/ml com a utilização do espectrofotômetro e diluição com água peptonada 0,1%. Após a diluição, 30 microlitros da solução foram espalhados na placa de petri contendo ágar cérebro e coração (BHI ágar). Em seguida, as placas foram submetidas aos diferentes tratamentos com a radiação UV-C e incubadas por 24 horas a 37°C, após esse período realizou-se a contagem das UFC, procedendo-se ao cálculo da redução logarítmica bacteriana.

Aplicação da radiação UV-C

A aplicação da radiação UV-C nos frutos foi realizada em uma câmara revestida em papel alumínio e com lâmpadas germicidas UV-C a uma distância de 22 cm dos frutos. Após a aplicação, os frutos foram armazenados em uma câmara BOD a 25°C, e as avaliações de qualidade foram realizadas 3 e 7 dias após a aplicação da UV-C.

Os caquis submetidos a radiação UV-C foram agrupados em lotes para serem submetidos a avaliações *in vivo*, em frutos inoculados com a bactéria *E. coli* e foram realizadas avaliações de qualidade em frutos não inoculados durante o armazenamento a 25°C durante 7 dias. As doses de radiação ultravioleta testadas em todos experimentos foram de 0 kJ/m² (controle), 1,5 kJ/m² (34 seg), 3,0 kJ/m² (68 seg), 4,5 kJ/m² (102 seg) e 6,0 kJ/m² (136 seg).

Avaliações de Qualidade

Os parâmetros avaliados foram:

Perda de massa: A massa dos frutos foi determinada com o auxílio de uma balança eletrônica, sendo o resultado expresso em % de massa perdida entre o momento da avaliação e a massa inicial.

Cor da casca: Os frutos foram avaliados quanto a cor da casca (colorímetro Minolta Company, no sistema L*, a*, b*), calculando-se o ângulo Hue, Croma e Luminosidade.

Atividade respiratória: A concentração de gases foi estabelecida pela leitura dos mesmos com o uso de um medidor portátil da concentração de O₂ e CO₂ (Pac Check 325, MOCON). Para isto, frutos de caqui foram colocados dentro de frascos de volume conhecido, isolados hermeticamente com a tampa contendo um septo de silicone em sua superfície, sendo a leitura realizada após 30 minutos.

Sólidos Solúveis: O teor de sólidos solúveis foi obtido segundo metodologia oficial da Association of Official Analytical Chemistry (1995), através de leitura refratométrica, em °Brix, com refratômetro manual (QUIMIS modelo Q-109B, resolução de 0,01 °Brix e precisão de 0,25%).

pH: Foi realizado por um medidor de pH de bancada Digimed PHS3Bw.

Índice de adstringência: O índice de adstringência foi avaliado através do método qualitativo proposto por Gazit e Levy (1963). O método consiste em avaliar a impressão obtida do contato, por alguns segundos, entre uma das faces cortadas do fruto e um papel-filtro, previamente tratado com solução de cloreto férrico (FeCl₃) a 5% (VITTI, 2009).

Vitamina C: Para a determinação da quantidade de ácido ascórbico presente no fruto, adicionou-se uma amostra equivalente a 5g da polpa centrifugada dos frutos em Erlenmeyer contendo 50 ml de ácido oxálico 1%. Essa mistura foi titulada com 2,6-diclorofenolindofenol-sódio (DCFI) até apresentar uma coloração rosada persistente por 15 segundos (CARVALHO, 1990). A solução padrão foi obtida com 10 ml de ácido ascórbico e 50 ml de ácido oxálico 1% e os resultados obtidos expressos em mg de ácido ascórbico por 100ml de polpa.

Firmeza: Foi utilizado um texturômetro modelo TAXT-2 com ponteira cilíndrica de 3 mm, a uma taxa de deformação de 1 mm/s e penetração máxima de 9 mm. A medição foi feita em dois pontos equatoriais opostos. A força máxima obtida foi expressa em Newton (N).

Incidência de doenças: A incidência de doenças foi observada a partir do aparecimento de podridões causadas por bactérias e fungos que derivaram o descarte.

Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey (p < 0,05), com auxílio do software Rbio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os frutos frescos avaliados na caracterização (dia 0) pesavam entre 100 a 150 gramas e possuíam valores médios de ângulo Hue de 44,45 °H, valor de Croma de 56,91 C* e luminosidade média de 45,85. A firmeza média dos

frutos foi de 8,67 N, o valor médio de sólidos solúveis foi de 23,08 °Brix, o valor médio de vitamina C presente nas polpas das frutas foi de 16,84 mg/100ml e o pH médio foi de 5,8. Quanto a adstringência, o valor médio foi de escala 4, pois os caquis não foram destanizados, já a taxa de respiração estava com a média de 44,83 mg de CO₂/kg.h e a incidência de doenças no dia 0 foi de 0%, já que os caquis foram previamente selecionados apesar de aleatoriamente escolhidos.

Experimentos In Vivo e In Vitro

Tabela 1 – Resultados da Redução Logarítmica dos Experimentos In vivo e In vitro

Trat (kJ/m ²)	In vivo		In vitro	
	UFC/mL	Log UFC/mL	UFC/mL	Log UFC/mL
0	52450		300	
1,5	1050	1,70	10,4	1,46
3,0	8726	0,78	12,6	1,38
4,5	2765	1,28	12,6	1,38
6,0	181	2,46	7,8	1,59

No experimento *in vivo* (Tabela 1) observou-se que o tratamento com a dose de 3,0 kJ/m² foi o menos eficiente na redução da população de colônias. Já as maiores reduções foram observadas nos caquis tratados com UV-C em 6,0 kJ/m². Contudo, a redução da população de UFC variou de 0,78 a 2,46 log UFC/ml, fornecendo ótimos resultados. A radiação UV-C vem sendo amplamente estudada, como sanitizante, devido sua ação germicida. Os resultados encontrados neste estudo evidenciam que mesmo em doses baixas houve uma redução da população da bactéria.

A inativação da *E. coli*, após a exposição ao UV-C, pode ser explicada pela superfície mais lisa do caqui. Frutas com diferentes tipos de superfície (superfície macia e rugosa) foram tratadas com UV-C e a mortalidade de microrganismos foi maior em frutas com superfície macia do que rugosa (Adhikari et al., 2015).

No experimento *in vitro* (Tabela 1) é possível observar o efeito direto da UV-C sobre as colônias de *E. coli* dispostas em placas de petri. O tratamento controle (0 kJ/m²) diferiu drasticamente das placas tratadas, sendo as colônias numerosas demais para serem contadas (mais de 300 colônias). Já os resultados das médias de colônias nas placas tratadas independente da dose de tratamento indicaram alta tendência de redução, sendo que a média não foi superior a 13 UFC/ml em nenhum dos tratamentos, sendo o tratamento mais eficaz com UV-C em 6,0 kJ/m².

Portando, o presente estudo demonstrou que os tratamentos *in vivo* e *in vitro* com a aplicação da radiação UV-C é eficaz na redução significativa da carga bacteriana tanto na

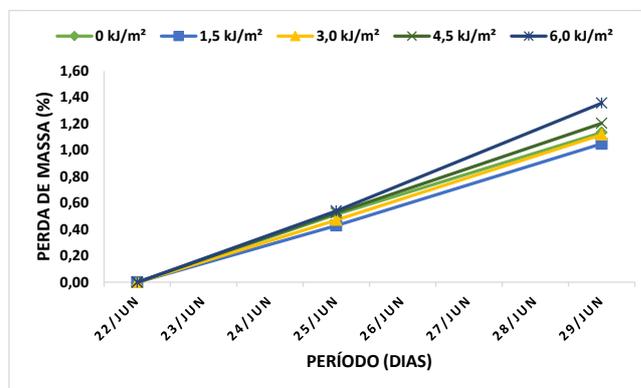
superfície dos frutos de caqui 'Rama Forte', que receberam a aplicação superficial da radiação UV-C, quanto diretamente nas bactérias *Escherichia coli* dispostas em placas de petri.

Avaliações de Qualidade

A perda de massa fresca dos frutos (Figura 1) foi crescente para todos os tratamentos durante todo o período experimental. A perda de massa mais evidenciada aconteceu com os frutos submetidos a radiação UV-C com dose de 6,0 kJ/m², apresentando no último dia de avaliação 1,36% de perda de massa com referência a massa inicial. Já o tratamento com dose de 1,5 kJ/m² apresentou a menor porcentagem de perda de massa no último dia de avaliação, igual a 1,05%.

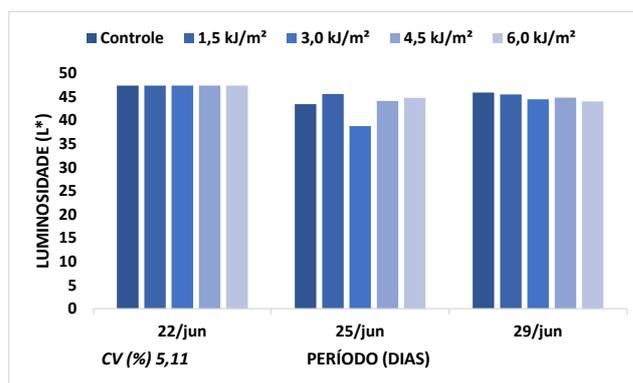
Para a maioria dos produtos hortícolas frescos, a máxima perda de massa fresca tolerada para o não aparecimento de murcha e/ou enrugamento da superfície oscila entre 5 e 10% (FINGER e VIEIRA, 2002). Portanto, no presente estudo, observamos que a perda de massa não foi superior a 2%.

Figura 1 - Perda de massa (%) de caquis 'Rama Forte' submetidos a diferentes tratamentos com radiação UV-C e armazenados durante 7 dias em temperatura de 25°C.



A luminosidade (L*) após três dias do tratamento com a UV-C diminuiu quando comparada com o controle.

Figura 2 – Luminosidade (L*) de caquis 'Rama Forte' submetidos a diferentes tratamentos com radiação UV-C e armazenados durante 7 dias em temperatura de 25°C.



Segundo Khademi (2013), essa diminuição pode ser justificada por um ligeiro início de escurecimento na superfície dos frutos logo após tratados, mas que parou durante o armazenamento e voltou a subir (Figura 2). A dose de 3,0 kJ/m² causou ligeiro escurecimento da superfície do fruto, porém nenhuma diferença significativa foi observada entre os frutos dos demais tratamentos.

Os valores do ângulo de cor (°Hue) nos frutos também sofreram ligeira queda em seus valores após 3 dias do tratamento, porém nenhuma diferença significativa foi notada. Essa diminuição é característica do estágio avançado de amadurecimento e mudança de cor de amarelo-laranja para vermelho-laranja (Khademi, 2013).

O croma (C*) também sofreu leve diminuição em seus valores nos três primeiros dias após a aplicação da UV-C (Figura 2), mas após sete dias do tratamento, os valores voltaram a subir e se mantiveram praticamente os mesmos independentemente do tipo de tratamento.

A taxa respiratória, avaliada pela produção de CO₂, aumentou nos frutos tratados durante os três primeiros dias de armazenamento independentemente dos tratamentos, atingindo o pico climático. Porém, após o terceiro dia, as taxas se tornaram menores, chegando a ser inferior do que o controle (0 kJ/m²) no último dia de avaliação. De acordo com Vicenzi (2014), estes resultados sugerem que a radiação UV-C reduz o dano celular que ocorre durante o processamento e o armazenamento, mantendo assim uma melhor integridade do tecido nas amostras tratadas em comparação com os controles.

A firmeza é um dos atributos de qualidade mais importantes a serem considerados na comercialização de caquis, sendo que, frutas com valor de firmeza abaixo de 10N perdem seu poder de comercialização (SALVADOR, 2004). A dose de 1,5 kJ/m² obteve firmeza superior ao controle em 11,19 N após três dias de experimento e, ao final do período experimental, chegou praticamente igualar a firmeza com o controle (0 kJ/m²). As doses de radiação de 3,0 kJ/m² e de 4,5 kJ/m² mantiveram a firmeza praticamente constante nos primeiros dias e, ao sétimo dia, proporcionou aos frutos um considerável aumento desse atributo.

Os teores de SST dos caquis mantiveram-se ao longo do período experimental em queda para todos os tratamentos até o terceiro dia após a aplicação da UV-C, quando para o tratamento controle o valor teve aumento, assim como um modesto aumento também foi observado para o tratamento com dose de 1,5 kJ/m². Esta diminuição está associada ao fato dos SST serem substrato energético para a transformação e sobrevivência pós-colheita, portanto, este resultado mostra um processo de senescência adiantado do tratamento controle em relação aos demais tratamentos (DAIUTO, 2013). Já o alto valor de SST no dia da caracterização, pode ter sido causado pela escolha de frutos mais amadurecidos quando comparados com os outros utilizados no restante de todo experimento.

O teor de vitamina C dos caquis até o dia três após tratamento, possuía o controle como exemplo de maior quantidade de vitamina C, porém no último dia de avaliação, 75% dos tratamentos irradiados, obtiveram teores de vitamina C maiores que o controle, com média de 15,28 mg de vitamina C por 100 ml de polpa.

O pH dos frutos tratados, diminuiu com relação aos frutos no dia 0, porém após 3 dias do tratamento com a UV-C, obtiveram o aumento do pH. O oposto aconteceu com o controle. Porém no último dia da avaliação, todos os tratamentos possuíam pH próximos, não sendo encontradas diferenças significativas.

Observando o índice de adstringência, têm-se que o controle, apesar de apresentar uma leve queda, continuou na classificação entre 3 e 4, permanecendo adstringente durante todo o período analisado, assim como os tratamentos com doses de UV-C de 1,5, 3,0 e 4,5 kJ/m². Somente o tratamento com a dose de 6,0 kJ/m² apresentou moderação quanto a adstringência. Portanto, não há diferenças significativas quanto a remoção da adstringência em caquis ainda taninosos.

Quanto a incidência de doenças, no dia 0 foram considerados 0% de podridões, já no dia 3 chegou-se a 20% de podridões causadas por bactérias e fungos nos tratamentos controle e 3,0 kJ/m². Já no dia 7 e última avaliação, observou-se a presença de podridões em 60% dos frutos do controle, de 40% nos frutos tratados com dose 3,0 kJ/m² e de 20% com os frutos tratados com as

Tabela 2 – Resultados das avaliações de qualidade realizadas em caquis 'Rama Forte' submetidos a diferentes tratamentos com radiação UV-C e armazenados durante 7 dias em temperatura de 25°C.

Trat (kJ/m ²)	Firmeza (N)	SS (°Brix)	pH	Vit C (mg/100mL)	Índice adstring.	CO ₂ (mg/kg.h)	Croma (C*)	°Hue
0	8,9 a	21,87 a	5,79 a	15,87 a	3,7 a	46,34 a	57,08 a	45,69 a
1,5	9,1 a	22,23 a	5,76 a	15,57 a	4,2 a	49,07 a	54,24 ab	43,43 a
3,0	9,1 a	22,22 a	5,74 a	14,49 a	3,7 a	48,43 a	52,26 b	41,90 a
4,5	9,1 a	21,99 a	5,72 a	15,07 a	3,8 a	48,06 a	52,42 ab	43,38 a
6,0	8,1 a	21,49 a	5,75 a	15,51 a	3,4 a	42,28 a	56,34 a	43,94 a
CV (%)	31,27	5,79	1,81	32,20	31,20	16,85	6,95	8,57

doses de 1,5 kJ/m² e 6,0 kJ/m². Os frutos tratados com a dose de 4,5 kJ/m² tiveram incidência 0% de danos e podridões durante todo período experimental.

CONCLUSÕES:

A aplicação da radiação ultravioleta mostrou-se eficaz no controle da *E. coli* bem como manteve a qualidade em frutos tratados, sendo assim, um método potencial para ser usado como sanitizante alternativo em frutas frescas.

BIBLIOGRAFIA

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M. **Análises Químicas de Alimentos**. Campinas: ITAL, 1990, 121p. (Manual Técnico).

DAIUTO, Érica Regina et al. **Pós colheita do abacate 'Hass' submetido a radiação UV-C**. Revista colombiana de ciências hortícolas, v. 7, n. 2, p. 149-160, 2013.

DA SILVA, Yasmim Cristina Rodrigues et al. **Chitosan and hot water treatments reduce postharvest green mould in 'Murcott'tangor**. Journal of Phytopathology, v. 168, n. 9, p. 542-550, 2020.

DE CAMPOS, André José et al. **Radiação ultravioleta (UV-C) na caracterização pós-colheita do tomate 'pitenza'**. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, v. 12, n. 2, p. 192-198, 2011.

Finger, F.L. e G. Vieira. 2002. **Controle da perda pós-colheita de água em produtos hortícolas**. UFV, Viçosa, Brasil.

GRAÇA, Ana et al. **Low dose UV-C illumination as an eco-innovative disinfection system on minimally processed apples**. Postharvest biology and technology, v. 85, p. 1-7, 2013.

KHADEMI, O. et al. **Effect of UV-C radiation on postharvest physiology of persimmon fruit (Diospyros kaki Thunb.) cv.'Karaj'during storage at cold temperature**. International Food Research Journal, v. 20, n. 1, 2013.

ALVES, Raysa Maduro. **Qualidade pós-colheita de tomate italiano adubado com potássio em ambiente protegido**.

ROCHA, Artur Batista de Oliveira. **Principais métodos físicos de controle de doenças pós-colheita em frutas e hortaliças**. Nucleus, v. 11, n. 1, 2014.

SALVADOR, Alejandra et al. **Reduction of chilling injury symptoms in persimmon fruit cv.'Rojo Brillante'by 1-MCP**. Postharvest Biology and Technology, v. 33, n. 3, p. 285-291, 2004.

SILVA, Maria Fabíola Soares da; CORREIA, Alicely Araújo. **Microbiologia dos alimentos: agentes bacterianos contaminadores**. 2019.

SOUZA, Franciane Colares et al. **Utilização combinada de radiação UV-C e atmosfera modificada para conservação do figo após a colheita**. 2012.

VICENZI, R. **Processamento mínimo de morangos (Fragaria x ananassa, Duch) tratados com radiação UV-C durante o cultivo**. 2014. 104f. 2014. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

VITTI, Daniela Cristina Clemente. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Fortel' em função da época de colheita**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.