

## **Curso de Tecnologia em Biocombustíveis**

### **APLICAÇÃO DE LUZ UV PARA CONTROLE DE CONTAMINANTES NO CALDO CLARIFICADO E NO MOSTO DE CANA**

**MARTA APARECIDA JUNQUEIRA**

**Orientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno  
Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Garbin**

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia  
de Jaboticabal - Fatec, para obtenção do título de  
Tecnólogo em Biocombustíveis.**

**Jaboticabal – SP  
2º Semestre/2010**

J95a Junqueira, Marta Aparecida  
Aplicação de luz UV para controle de contaminantes no caldo clarificado e no mosto de cana / Marta Aparecida Junqueira.— Jaboticabal : Fatec, 2010. 58f.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno  
Co-Orientador: Prof. Dr. José Roberto Garbin

Trabalho (Graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, 2010.

1. Cana-de-açúcar. 2. Contaminação. 3. Microorganismos. 4. Luz ultravioleta. I. Madaleno, Leonardo Lucas. II. Garbin, José Roberto. III. Título.

633.61

CDU

## **Curso de Tecnologia em Biocombustíveis**

### **CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** APLICAÇÃO DE LUZ UV PARA CONTROLE DE CONTAMINANTES NO CALDO CLARIFICADO E NO MOSTO DE CANA.

**AUTORA:** MARTA APARECIDA JUNQUEIRA

**ORIENTADOR:** PROF. DR. LEONARDO LUCAS MADALENO

**COORIENTADOR:** PROF. DR. JOSÉ ROBERTO GARBIN

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis, apresentado à FATEC-JB para a obtenção do título de Tecnólogo.

**LEONARDO LUCAS MADALENO**

**MARIA BENINCASA VIDOTTI**

**MARIANA CARINA FRIGIERI**

Data da apresentação: 16 de dezembro de 2010.

---

**Leonardo Lucas Madaleno**  
Presidente da Comissão Examinadora

E nossa história não estará pelo avesso  
Assim, sem final feliz.  
Teremos coisas bonitas pra contar.

E até lá, vamos viver  
Temos muito ainda por fazer  
Não olhe pra trás  
Apenas começamos.

Trecho da Música  
Metal contra as nuvens  
Legião Urbana

Para as pessoas que fazem parte da minha vida

...para aquelas que continuam vivas em mim...

Só perdemos aquilo que não é

realmente nosso.

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal.

Aos funcionários pelo auxílio sempre que necessário.

À Simone Roberta Scatollin pelo profissionalismo e constante atenção.

À Janaína Castilho pelas sugestões e generosidade.

À Márcia Belloti, não somente pelas correções bibliográficas.

Aos professores.....porque algo foi aprendido pelo caminho.

Aos colegas de curso por tornarem as dificuldades mais divertidas.

Ao Prof. Dr. Elias de Souza Monteiro Filho pela inestimável colaboração.

À Andréia, Bernadete e Fabiana pela oportunidade.

À Profa. Dra. Gisele Cristina Ravanelli pela amizade e contribuições.

À Profa. Dra. Maria Benincasa Vidotti pela ajuda em vários momentos.

À Profa. Dra. Mariana Carina Frigieri pela disponibilidade.

À Profa. Dra. Nádia Figueiredo de Paula pela simpatia e compreensão.

Ao Prof. Dr. Celso Antônio Jardim pelo apoio.

Às amigas Mariana, Rafaela, Luciene, Thatiany e Laís por compartilharem comigo mais do que livros...

Ao Lucas e ao Gustavo pela convivência sempre agradável...

### **Aos que me orientaram:**

Meu co-orientador Prof. Dr. José Roberto Garbin, pelos muitos ensinamentos.

Meu orientador Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno...eu não teria conseguido sem você.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>X</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
3.1 A RADIAÇÃO .....	15
3.2 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO EM ALIMENTOS E BEBIDAS .....	17
3.2.1 Utilizações da Radiação Gama .....	21
3.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA .....	22
3.4 MICROBIOLOGIA DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	29
3.4.1 Microrganismos contaminantes.....	29
3.4.2 Dextrana .....	31
3.4.3 Contaminação .....	31
3.5 RADIAÇÃO UV E A REDUÇÃO DA CARGA MICROBIANA NO CALDO DE CANA.....	34
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
4.1 Delineamento experimental.....	37
4.2 Irradiação .....	38
4.3 Plaqueamento .....	39
4.4 Determinações tecnológicas .....	40
4.5 Análise estatística .....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
5.1 Caldo clarificado.....	42
5.1.1 Contaminação.....	43

5.1.2	Determinação de acidez sulfúrica.....	44
5.1.3	Determinação de pH.....	45
5.1.4	Açúcares redutores (AR).....	45
5.1.5	Brix.....	45
5.2	Mosto de melão.....	47
5.2.1	Contaminação.....	47
5.2.2	Determinação de acidez sulfúrica.....	44
5.2.3	Determinação de pH.....	45
5.2.4	Açúcares redutores totais (ART).....	45
5.2.5	Brix.....	45
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>51</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Local de coleta no decantador de caldo clarificado para a produção de etanol, Araraquara-SP, safra 2010/2011. ....	37
FIGURA 2 - Protótipo utilizado para aplicação de luz ultravioleta em placas de Petri contendo 50mL e 1cm de altura de caldo, Araraquara-SP, safra 2010/2011. ....	38
FIGURA 3 - Inoculação utilizada para os dois experimentos pelo método Petrifilm™, Araraquara-SP, safra 2010/2011. ....	39
FIGURA 4 – Interação entre a concentração de luz UV e o tempo de aplicação para a acidez (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L) do caldo clarificado. ....	44

## RESUMO

Nesta pesquisa foi proposto um processo de tratamento físico do caldo clarificado e mosto de cana a fim de promover a inativação dos contaminantes e por extensão, os da fermentação alcoólica. A presença de microrganismos indesejáveis assume importância considerando os múltiplos prejuízos que a contaminação acarreta no processo industrial. Levando-se em conta que a radiação UV possui poderosa ação sobre microrganismos, neste estudo procurou-se avaliar a ação desses raios sobre os microrganismos contaminantes do caldo clarificado, do mosto e sobre o teor de açúcares. Os benefícios do uso da radiação UV comparados a outros métodos de desinfecção consistem no fato de não serem usados produtos químicos, e de não haver mudança na cor, no sabor, no odor ou no pH, além de ser um processo que não deixa resíduos. A radiação UV-C tem sido utilizada há muito tempo para superfícies e líquidos transparentes, mas há pouca informação sobre desinfecção de líquidos turvos e coloridos como caldo de cana. Para tratamento do caldo clarificado e do mosto foram utilizadas lâmpadas de baixa pressão e foram feitas análises físico-químicas para dosar açúcar redutor, pH, acidez, bem como quantificação microbiológica. Para a irradiação das amostras foi utilizado um protótipo de madeira, contendo lâmpadas germicidas dispostas na parte interna. O delineamento experimental utilizado foi o fatorial 2x2, com três repetições. O primeiro fator correspondeu à energia empregada nas lâmpadas, 30 e 90W. O segundo fator foi 1 e 9s e 5 e 14s, respectivamente para tratamento com caldo clarificado e mosto retirados do processo de produção da usina. Para a análise estatística foi realizado o teste F, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Não foi observada redução na contagem de microrganismos, provavelmente devido à contaminação externa após a etapa de irradiação UV. Embora os resultados deste trabalho tenham mostrado significância para os teores de acidez e açúcares redutores nas amostras de caldo clarificado, foram inconclusivos quanto à viabilidade do processo de tratamento físico com o uso de radiação UV e da efetiva interferência desta radiação no teor de açúcares no caldo clarificado e do mosto.

**Palavras chave:** Cana-de-açúcar, Contaminação, Microrganismos, Luz Ultravioleta.

## ABSTRACT

In this research it is proposed a physical treatment process for sugarcane clarified juice and must to promote a physical inactivation of its contaminants and therefore, those of alcoholic fermentation. Undesirable microorganisms assume significance considering the many losses that contamination causes in the industrial process. As UV has a powerful action on microorganisms, this study evaluated the effect of these rays on microorganisms that contaminate cane juice, the must and the sugar content. The benefits of UV in comparison to other methods of disinfection are that no chemicals are used; there is no change in color, flavour, odor, or pH; and no residuals are left in the fluid stream. The ultraviolet radiation has been used for a long time to clear liquids and surfaces, but there is little information on disinfection of turbid or colored liquids as sugarcane juice. For treatment of cane juice and the must were used lamps of low pressure and for the physical and chemical analysis were performed on the reducing sugars, pH, acidity and microbiological quantification as well. For samples' irradiation there was used a wooden prototype with the germicidal lamps within it. The experiment design was in a factorial arrangement 2x2, with three replications. The first factor corresponded to the lamps energy, 30 and 90W. The second factor was 1 and 9s and 5 and 14s, respectively for clarified juice and must treatment obtained from the production process in the cane mill. Statistical analysis were performed by F test and means were compared by Tukey test ( $P \leq 0,05$ ). It was not observed reductions in the countig of microorganisms, probably due to external contamination after the UV radiation was applied. Although the data were significant for acidity and reducing sugar contents in the samples of clarified juice, they were inconclusive for the use of UV radiation as a physical treatment process and for the effective interference of this radiation on sugar contents in the clarified juice and must.

**Key-words:** Sugarcane, Contamination, Microorganisms, Ultraviolet Light.

# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sendo o principal país do mundo a implantar, em larga escala, um combustível renovável alternativo à utilização da gasolina derivada do petróleo. O estado de São Paulo é o maior expoente de produção do país e retira da cana, através de moendas e difusores, o caldo para a fabricação de açúcar, etanol e subprodutos. A qualidade do caldo é dependente da matéria-prima de origem, que possui, em função dos métodos de colheita, elevadas quantidades de microrganismos que podem interferir no rendimento de produção dos principais produtos.

Além disso, o caldo de cana consiste em ótimo substrato para o desenvolvimento de uma série de microrganismos, pois tem concentração de açúcares, pH, temperatura, macro e micro-nutrientes favoráveis para a sustentação de microbiota diversa (NOLASCO JUNIOR, 2005). Os produtos de metabolismo destes contaminantes são incorporados ao caldo, encontrando-se substâncias como álcoois, ácidos orgânicos e polissacarídeos que alteram a composição química, podendo causar sérios transtornos nos processos de fabricação. Tanto a reprodução dos microrganismos como a formação dos metabólitos ocorrem a partir do açúcar inicialmente presente na cana, o que representa perdas não desprezíveis, na forma de degradação de açúcar e de etanol não produzido (CECCATO-ANTONINI, 2004).

Entre os contaminantes que mais aparecem nos processos de industrialização da cana, predominam as bactérias gram-positivas dos gêneros *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Leuconostoc*. A sacarose consumida por esses microrganismos deixará de ser transformada em etanol ou cristais de sacarose, provocando assim perdas do açúcar recuperável, o qual será transformado em ácidos orgânicos e dextrana, por exemplo. Estudos já realizados revelaram que concentrações bacterianas da ordem de  $10^9$  UFC/mL levam a queda significativa no rendimento alcoólico, chegando a atingir 100% com *Lactobacillus* e 60% com *Leuconostoc*, e

redução na viabilidade das células de leveduras em cerca de 10% (CECATTO-ANTONINI, 2004).

As estratégias adotadas para o combate à infecção se concentram basicamente no uso de antibióticos. É crescente a preocupação com relação ao uso em larga escala desses antibacterianos. Os riscos associados ao desenvolvimento de resistência a antibióticos são crescentes e não podem ser desprezados, pois as potenciais consequências tanto para a saúde animal como humana são sérias. As usinas secam as leveduras que não são mais utilizadas no processo para exportação. São muito usadas no exterior para compor ração animal, como fonte de proteína bruta.

Normas internacionais exigem que a levedura seca deve estar isenta de residual antibiótico. Na Europa, principalmente nos países nórdicos, o uso desses produtos tem sido severamente restrito. Vários autores têm avaliado o desempenho de desinfetantes químicos como forma de controlar e minimizar as perdas decorrentes da contaminação microbiológica (NOLASCO JUNIOR, 2005). Outro método de controle pode ser realizado através de agentes físicos como as radiações. Em Física, radiação é a propagação da energia por meio de partículas ou ondas.

Todos os corpos emitem radiação, basta estarem a uma determinada temperatura. A luz visível cobre apenas pequena parte do espectro de radiação eletromagnética possível. Essa é um conjunto de ondas que se auto-propagam pelo espaço, algumas das quais são percebidas pelo olho humano na forma de cores quando a luz é parcialmente absorvida por um corpo. A radiação eletromagnética, compõe-se de um campo elétrico e um magnético, que oscilam perpendicularmente um ao outro e à direção da propagação de energia (WIJK, 1996). Denomina-se irradiação ao processo de aplicação de energia radiante a um alvo qualquer, como por exemplo, um alimento ou uma embalagem (INGRAM; ROBERTS, 1980 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008).

A irradiação UV tem efeito microbicida se for utilizada com intensidade e tempo de exposição suficientes, encontrando aplicações diversas como na esterilização do ar, superfícies de equipamentos e em embalagens de alimentos. As fontes com comprimentos de ondas inferiores a 200nm são ineficientes, visto que as ondas são rapidamente absorvidas pelo oxigênio e pela água. As irradiações UV na faixa de 210 e 330nm são mais eficientes como germicidas por serem absorvidas pelas proteínas e ácidos nucleicos, provocando o rompimento de cromossomo, mutações genéticas e inativação de enzimas e,

consequentemente, a morte da célula (CARDOSO, 2007 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008).

A desinfecção com radiação UV é um mecanismo físico, no qual a energia UV é absorvida pelos diferentes componentes orgânico-moleculares essenciais ao funcionamento normal das células. A ação germicida da radiação UV está associada às alterações estruturais que esta provoca no DNA das células, consequência de reações fotoquímicas desencadeadas pela absorção da radiação pelas moléculas que constituem o DNA. Ao ocorrer o processo natural de divisão celular com duplicação do DNA, a estrutura formada pela absorção de radiação UV não é reconhecida, o que interrompe o processo de duplicação.

Assim, a célula pode manter temporariamente as atividades metabólicas, mas não consegue se reproduzir. Por isso diz-se que ocorre a inativação e não a morte do microrganismo. A absorção de radiação UV pelas células é máxima na faixa de 255 a 260nm. As lâmpadas de baixa pressão de vapor de mercúrio, as quais emitem aproximadamente 85% de sua energia no comprimento de onda de 253,7nm, são a fonte de radiação UV mais eficiente e efetiva para os sistemas de desinfecção (SILVA et al., 2002). Embora seja uma alternativa viável de ser utilizada para o tratamento do caldo de cana, poucos são os trabalhos relacionados ao uso da radiação UV para controle de microrganismos.

Não existe tecnologia, viável economicamente, de uso dessa potencial forma de controle, que não causaria danos ao ambiente, visto que é um processo físico. A maioria dos trabalhos com uso de diferentes tipos de controle de contaminantes não apresentam resultados indicando que os tratamentos realizados alteram a proporção dos principais carboidratos da indústria sucroalcooleira, como a degradação da sacarose. Ainda não se sabe se a utilização da luz UV causaria redução nos teores de sacarose, o que poderia ser limitante para o uso em usinas de açúcar, pois a produção de açúcar é realizada somente pela deposição de moléculas de sacarose nos cristais introduzidos. Para a fabricação de etanol, que utiliza o processo de fermentação com leveduras, o principal componente a ser preservado é a glicose.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de adoção da estratégia preventiva no controle dos contaminantes, baseada num processo físico (radiação UV) de inativação dos microrganismos em dois tipos de substratos: caldo clarificado e mosto.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analisar se a irradiação com UV pode alterar a população microbiana do caldo clarificado e no mosto de mel diluído;
- Avaliar se a utilização de luz UV afeta o teor de açúcares no caldo clarificado e no mosto.

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 A radiação

A radiação ionizante é a que ioniza átomos de materiais submetidos à mesma (BRASIL, 2001), cuja energia é superior à de ligação dos elétrons de um átomo com o núcleo, suficiente para arrancar elétrons dos orbitais. Esta cede a energia ao meio ao qual se difunde, mediante múltiplos processos de interação. A energia cedida é gasta na excitação e na ionização de moléculas gerando reações químicas que podem provocar modificações permanentes na estrutura físico-química do material irradiado (SANTIN, 1993 apud SOUZA, 2006).

O efeito da radiação em um meio pode ser descrito da seguinte maneira (SOUZA, 2006):

Fóton incidente → Elétron acelerado ( $e^-$ ) → Radical-íon → Radical livre → Mudanças químicas decorrentes da quebra de ligações → Efeitos biológicos.

O íon é um átomo ou molécula que é eletricamente carregada por ter perdido um elétron. Um radical livre contém um elétron desemparelhado na sua órbita externa, tornando-se altamente reativo. A radiação eletromagnética compõe-se de campos elétrico e magnético, que oscilam perpendicularmente um ao outro na direção da propagação de energia. Os campos elétrico e magnético obedecem aos princípios da superposição, sendo assim, seus vetores se cruzam e criam os fenômenos da refração e da difração. Uma onda eletromagnética pode interagir com a matéria e, em particular, perturbar átomos e moléculas que as absorvem, podendo os mesmos emitirem ondas em outra parte do espectro.

Como qualquer fenômeno ondulatório, as ondas eletromagnéticas podem interferir entre si. Sendo a luz uma oscilação, ela não é afetada pela estática elétrica ou campos

magnéticos de uma outra onda eletromagnética no vácuo. Na refração, uma onda transitando de um meio para outro de densidade diferente, tem alterada sua velocidade e direção (caso essa não seja perpendicular à superfície) ao entrar no novo meio. A luz se dispersa em um espectro visível porque a luz é refletida por um prisma por causa da refração. As características das ondas eletromagnéticas demonstram as propriedades de partículas e da onda ao mesmo tempo, e se destacam mais quando a onda é mais prolongada (WIJK, 1996).

A radiação eletromagnética é classificada de acordo com a frequência da onda. A frequência da onda pode ser obtida pela taxa de oscilação que é medida em Hertz, a unidade SI (Sistema Internacional) de frequência, onde um Hertz é igual a uma oscilação por segundo. A luz normalmente tem espectro de frequências que somados formam a onda resultante. As diferentes frequências formam diversos ângulos de refração. Uma onda consiste nos sucessivos baixos e altos e a distância entre os dois pontos é chamada de comprimento de onda.

Na passagem de um meio material para o outro, a velocidade da onda muda mas a frequência permanece constante. A interferência acontece quando duas ou mais ondas resultam em um novo padrão de ondas. Se os campos tiverem os componentes nas mesmas direções, uma onda "coopera" com a outra, porém se estiverem em posições opostas há uma grande interferência. Um feixe luminoso é composto por pacotes discretos de energia, caracterizados por serem consistidos em partículas denominadas fótons. A frequência da onda é proporcional à magnitude da energia da partícula (WIJK, 1996).

Como os fótons são emitidos e absorvidos por partículas, os mesmos atuam como transportadores de energia. Se um fóton for absorvido por um átomo, ele excita o elétron, elevando-o a um alto nível de energia. Se o nível de energia é suficientemente elevado, o elétron pula para um nível maior de energia e pode escapar da atração do núcleo e ser liberado num processo conhecido como fotoionização. Um elétron que descer ao nível de energia menor emite um fóton de luz igual à diferença de energia. Como os níveis de energia em um átomo são discretos, cada elemento tem suas próprias características de emissão e absorção (WIJK, 1996).

O espectro eletromagnético é classificado normalmente pelo comprimento da onda, como as ondas de rádio, as micro-ondas, a radiação infravermelha, a luz visível, os raios ultravioleta, os raios X, até a radiação gama. O comportamento da onda eletromagnética depende do seu comprimento de onda. As frequências altas são curtas, e frequências baixas são longas. Quando uma onda interage com uma única partícula ou molécula, o

comportamento da mesma depende da quantidade de fótons carregada. Através da técnica denominada espectroscopia óptica, é possível obter informações sobre a faixa visível mais larga do que a visão normal.

Num laboratório comum que possua um espectroscópio pode se detectar comprimentos de onda de 2nm a 2500nm. Essas informações detalhadas podem informar propriedades físicas dos objetos, gases e até mesmo das estrelas. Por exemplo, um átomo de hidrogênio emite ondas em comprimentos de 21,12cm. A luz propriamente dita corresponde à faixa que é detectada pelo olho humano, entre 400nm a 700nm (um nanômetro vale  $1,0 \times 10^{-9}$  metros). As ondas de rádio são formadas de combinação de amplitude, frequência e fase da onda com a banda da frequência (WIJK, 1996). O efeito biológico mais óbvio das ondas eletromagnéticas se dá em nossos olhos: a luz visível impressiona as células do fundo de nossa retina, causando a sensação visual. Porém, existem outros efeitos mais sutis. Sabe-se que em determinadas frequências, as ondas eletromagnéticas podem interagir com moléculas presentes em organismos vivos, por ressonância. O efeito sobre a molécula depende da intensidade (amplitude) da onda, podendo ir do simples aquecimento à modificação da estrutura molecular.

### **3.2 Processo de irradiação em alimentos e bebidas**

Consideráveis pesquisas sobre o uso de radiação ionizante para preservação de alimentos vêm sendo feitas, especialmente para aplicações militares. É possível esterilizar alimentos por radiação completamente, mas esse procedimento provavelmente não irá substituir a esterilização por aquecimento convencional na maioria dos casos. Embora esse tratamento não deixe os alimentos perigosos ou radioativos, ele muda o sabor de alguns. O uso de irradiação em alimentos assemelha-se mais provavelmente à pasteurização do que a um tratamento por aquecimento (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

O consumo de alimentos seguros e nutritivos torna-se cada vez mais uma exigência geral. A preservação de alimentos mediante o emprego das radiações ionizantes é um método rápido, econômico e eficaz. A radiação ionizante – os raios gama, raios X, ou feixes de elétrons de alta energia – possui um comprimento de onda mais curto do que o da radiação não-ionizante. Assim, transporta muito mais energia. Os raios gama penetram profundamente, mas podem requerer horas para esterilizar grandes massas; os feixes de elétrons de alta

energia possuem uma potência de penetração muito inferior, mas normalmente requerem apenas alguns segundos de exposição (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

A irradiação causa a formação de radicais livres, que também podem ser formados por outros tratamentos como o aquecimento ou por processos normais de oxidação dos alimentos. A segurança e os benefícios de alimentos processados pela radiação estão bem documentados, sendo os mais importantes os benefícios sanitários e fitossanitários, bem como, a extensão da vida de prateleira dos mais diversos produtos alimentícios. Esta tecnologia pode ser utilizada tanto em matérias-primas quanto em produtos industrializados, embalados e prontos para o consumo.

A irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que consiste em submeter os alimentos, já embalados ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitárias, fitossanitárias e/ou tecnológicas. O processo de irradiação é rápido e seguro, pois o alimento não entra em contato direto com a fonte radioativa, passando por campo de radiação a uma determinada velocidade que controla a quantidade de energia ou a dose absorvida (LOAHARANU, 1992 apud SOUZA, 2006). A dose absorvida é a quantidade de energia absorvida pelo alimento por unidade de massa (BRASIL, 2001).

A unidade utilizada é o gray (Gy). Em termos de energia, 1Gy equivale a 1J (um) joule de energia absorvida por quilo do alimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1977 apud SOUZA, 2006). As fontes de radiação utilizadas no tratamento de alimentos se limitam àquelas autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), a saber: isótopos emissores de radiação gama ( $^{60}\text{Co}$  ou  $^{137}\text{Cs}$ ); raios-X gerados por máquinas que trabalham com energia de até 5MeV e elétrons gerados por máquinas que trabalham com energia de até 10MeV.

Estes valores de energia encontram-se muito abaixo do limiar das reações nucleares que poderiam induzir radioatividade no alimento irradiado (BRASIL, 2001). As radiações gama e X de grande penetrabilidade são usadas na irradiação de produtos de espessura elevada. Os elétrons provenientes de aceleradores que possuem pequena penetração são usados para a irradiação superficial de alimentos ou para produtos a granel, em camadas de espessura fina. Os irradiadores com fonte de  $^{60}\text{Co}$ , com meia-vida de 5,263 anos, são muito utilizados, atualmente, bem como, os aceleradores de elétrons para o processamento de alimentos (INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION, 1992 apud SOUZA, 2006).

Para cada tipo de alimento e tratamento são definidas as doses máxima e mínima absorvidas; onde a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento. Nas situações de controle fitossanitário e zoossanitário podem ser estabelecidos pela autoridade federal competente, doses mínimas de radiação ionizante considerando o tipo de produto, a finalidade e objetivo pretendido (BRASIL, 2001).

No Brasil, as normas gerais que regulamentam a irradiação de alimentos foram aprovadas através do Decreto Lei nº72.718 de 29 de agosto de 1973 (BRASIL, 1973), pela Portaria nº09-DINAL do Ministério da Saúde de 08 de março de 1985 (BRASIL, 1985), pela Portaria nº30-DINAL do Ministério da Saúde de 25 de setembro de 1989 (BRASIL, 1989 apud SOUZA, 2006) e, posteriormente pela Resolução-RDC nº21 de 26 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) que revogou as portarias de 1985 e 1989. A legislação brasileira estabelece: "Alimento irradiado é todo alimento que tenha sido intencionalmente submetido ao processo de irradiação com radiação ionizante" (BRASIL, 2001).

Em outros países, a dose média global absorvida por alimento submetido ao processo de irradiação tem como valor máximo 10kGy, com a finalidade de assegurar a inocuidade do alimento, sob os pontos de vista toxicológico, nutricional e microbiológico. Entretanto, nos últimos anos, vem sendo sugerida a aplicação desta tecnologia em doses bem mais elevadas. Vários pesquisadores vem destacando os dados da literatura sobre alimentos irradiados com doses entre 10 e 70kGy, para obtenção de produtos alimentícios livres de germes, onde inicialmente a contaminação por patógenos é comum e praticamente inevitável (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999 apud SOUZA, 2006).

Assim, a legislação brasileira hoje em vigor não estabelece limite de dose que possa ser aplicada (BRASIL, 2001). A irradiação, como qualquer outro processo de tratamento de alimentos, não deve ser utilizada em substituição às boas práticas de fabricação e/ou agrícolas. As boas práticas de irradiação devem também ser estabelecidas e implementadas de acordo com o que determina a legislação (BRASIL, 2001). A fiscalização e o licenciamento das instalações e o controle de processos estão a cargo dos órgãos federal, estadual, municipal, mediante expedição de alvará sanitário, após autorização da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e cadastramento junto ao órgão competente do Ministério da Saúde.

Os custos da irradiação são influenciados por um grande número de fatores. Há uma imensa variedade de produtos alimentícios, doses aplicadas, efeitos desejados, tipos e

densidades de embalagens, condições de manuseio, requerimentos de logística e condições do local para serem considerados na seleção do equipamento de irradiação e no estabelecimento dos custos de processos unitários (URBAIN, 1993 apud SOUZA, 2006). Outra tecnologia de utilização de radiação é a não-ionizante, que possui um comprimento de onda maior que o da radiação ionizante.

O melhor exemplo de radiação não-ionizante é a luz ultravioleta (UV). É uma tecnologia não-térmica, ou seja, é um método de processamento para a realização de inativação microbiana, sem expor os alimentos aos efeitos adversos do calor ao mesmo tempo prolongando a vida útil do produto e suas qualidades físicas, nutricionais e sensoriais. Radiações não-ionizantes também são usadas para alimentos. A exposição à luz UV pode ser aplicada em diferentes doses para a pasteurização de alimentos líquidos ou desinfecção de alimentos sólidos (GUERRERO-BELTRAN; BARBOSA-CANOVAS, 2004 apud ADZAHAN; BENCHAMAPORN, 2007).

Frutas e produtos hortícolas podem ser processados usando luz UV para reduzir a carga microbiana. Entretanto, doses muito altas devem ser evitadas para que não haja perda do valor nutricional e da aparência desejável. Além disso, pasteurizadores UV não ocupam muito espaço e as perdas de ácido ascórbico, tiamina, riboflavina, piridoxina e ácido nicotínico, devido à exposição aos raios UV em  $14 \text{ mJ/cm}^2$  são comparáveis aos observados em sucos tratados com calor. Soares et al. (2010) verificaram a eficiência da aplicação da radiação UV-C no controle microbiológico da contaminação natural de tomates, avaliando esse método como uma forma de minimização da contaminação microbiológica inicial de frutos.

Os frutos foram submetidos ao tratamento com radiação UV-C (254nm) em uma câmara com superfícies espelhadas contendo quatro lâmpadas de 30W (Yaming Lighting, modelo High – Bórax Ultraviolet Germicidal Lamp), com intensidade de  $1,74 \text{ mW/cm}^2$ . As doses estudadas variaram de 0 a  $13,2 \text{ kJ/m}^2$ , sendo necessárias, para sua obtenção, a exposição dos tomates à radiação por tempos de até 10 minutos. Os experimentos foram conduzidos em duplicata, com três frutos por condição testada. Os resultados obtidos apontam o potencial da utilização de radiação UV-C na redução da carga microbiana em tomates.

Bartnicki et al. (2010) avaliaram a colonização de *C. perennans* na epiderme de maçãs e a eficiência de água aquecida e radiação UV-C no controle do patógeno e observaram que a radiação reduziu a sobrevivência dos conídios in vitro, em todas as doses aplicadas. Há descrições na literatura que sugerem a aplicação da radiação gama em bebidas alcoólicas com

o propósito de incrementar certos índices de qualidade, melhorar as características sensoriais ou esterilizar os mostos. Segundo Urbain (1986 apud SOUZA, 2006) várias razões podem ser apontadas para o uso da radiação em vinhos:

- esterilização do mosto;
- mudanças das características sensoriais do vinho;
- aceleração do envelhecimento.

Um fator importante que influencia a eficácia do tratamento UV é a forma como o líquido entra em contato com a radiação. Líquidos que contém sólidos como açúcares, sal, amido, e outros sólidos requerem tratamentos com fluxo turbulento. É deste fator que depende a eliminação de contaminantes dos sucos de frutas, por exemplo (ANONYMOUS, 1999; BINTSIS; LITOPOULOU-TZANETAKI; ROBINSON, 2000 apud SÄRKKÄ-TIRKKONEN et al., 2010). É evidente que a indústria de alimento está vendo a tecnologia UV-C com especial interesse desde que há a necessidade de produzir alimentos microbiologicamente seguros enquanto são preservados os sabores, cores e aparência naturais (BINTSIS; LITOPOULOU-TZANETAKI; ROBINSON, 2000 apud SÄRKKÄ-TIRKKONEN et al., 2010). Outra inovação tecnológica em ascensão é o uso de luz UV para pasteurização de sucos (HOLLINGSWORTH, 2001 apud SÄRKKÄ-TIRKKONEN et al., 2010); várias empresas estão desenvolvendo e testando tratamentos UV como uma alternativa para pasteurizar sucos de frutas e vegetais, como também outros produtos líquidos.

### 3.2.1 Utilizações da radiação gama

As aplicações com doses baixas (menores do que 1kGy) têm como objetivo:

- inibir o brotamento de batatas, cebolas e permitir um armazenamento longo sem uso de inibidores de germinação químicos.
- causar a morte de insetos e outras pragas, prevenindo as perdas causadas durante o armazenamento e como tratamento quarentenário.
- destruir parasitas em alimentos (*Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*).

Aplicações de doses médias (1 a 10kGy) reduzem populações de bactérias e leveduras presentes na superfície e interior dos alimentos, mantendo suas propriedades e protegendo contra a intoxicação alimentar provocada por *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Campylobacter sp*, *Vibrio sp*, *Yersinia sp* e outros patógenos não formadores de esporos. Nesta faixa de dose é obtido o incremento de propriedades tecnológicas. As aplicações com doses elevadas, acima de 10kGy destroem populações de patógenos formadores de esporos e conduzem à obtenção de alimentos ou ingredientes esterilizados (SOUZA, 2006).

Esta faixa de dose pode ser aplicada também na melhoria de propriedades tecnológicas. A tecnologia de irradiação de alimentos é usada em diversos tipos de produtos, dentre estes, em especiarias, grãos, carne de frango, frutas e legumes. Aproximadamente, quinhentas mil toneladas de produtos e ingredientes alimentícios são irradiadas anualmente no mundo, volume insignificante em relação à produção mundial de alimentos. Atualmente, no entanto, é crescente a tendência da utilização desta técnica, sendo esta praticada em vários países. Na Bélgica se irradiam mariscos congelados e ingredientes de alimentos desidratados para destruir bactérias patogênicas, causadoras de surtos. Na França irradiam-se produtos avícolas congelados e desossados e especiarias. Atualmente existem seis irradiadores comerciais de grande porte em operação no Brasil (SOUZA, 2006). As pesquisas de mercado e de comercialização mostraram que os consumidores estão mais preocupados com a qualidade do produto alimentício do que com o tratamento usado para preservação deste.

### **3.3 Radiação ultravioleta**

A radiação ultravioleta foi descoberta em 1801 pelo físico alemão Johann Wilhelm Ritter (1776-1810). Com comprimento de onda mais curta que as das cores azul e violeta recebeu o nome de “ultravioleta” e tem comprimentos de onda menores que a radiação visível (luz). Mesmo que seja imprescindível para a vida, a exposição excessiva prolongada de radiação ultravioleta é prejudicial para os seres vivos. Essa radiação atua em estruturas atômicas, dissociando moléculas (rompendo algumas cadeias de carbono, essenciais à vida), assim afetando muito os seres vivos e alguns materiais (plásticos e polímeros).

A radiação solar que atinge a superfície do planeta é formada principalmente de UV, luz visível e infravermelho. Essas várias formas de energia eletromagnética são constituídas de pequenos componentes chamados fótons. Para classificar os diferentes tipos de energia do

espectro eletromagnético, utiliza-se o comprimento de onda, medido em nanômetros (nm). Um nanômetro equivale a um bilionésimo de milímetro. O comprimento de onda é inversamente proporcional à quantidade de energia, ou seja, quanto maior o seu comprimento, menor a quantidade de energia.

Portanto, um fóton de ultravioleta possui mais energia que um fóton de luz visível ou infravermelho (OLIVEIRA; CAMPOS; TEMPORAL, 2005). A porção UV é menor do que 10% do total da energia solar. A maior parte é absorvida ou espalhada pela atmosfera, principalmente pelo ozônio. Essa molécula absorve os menores comprimentos da radiação UV, reação responsável pelo aumento da temperatura na estratosfera (15-50km acima do solo), onde está localizada sua máxima concentração, chamada camada de ozônio (25-35km). Nem toda a luz ultravioleta chega ao solo.

O espectro do UV abrange o comprimento de onda de 100 a 400nm e divide-se em três faixas:

- UV-A (315-400nm) – tem o menor efeito agressor do ponto de vista biológico (maior comprimento de onda) e alcança a superfície do planeta em grandes quantidades, independentemente da espessura da camada de ozônio localizada na estratosfera. Estima-se que a quantidade de raios UV-A seja de 10 a 100 vezes maior do que os do tipo UV-B.
- UV-B (280–315nm) – é mais lesivo do que o UV-A e tem a maior parte dos seus raios, aproximadamente 90% absorvida pela camada de ozônio, vapor de água, oxigênio e dióxido de carbono da atmosfera.
- UV-C (100-280nm) – é potencialmente o mais danoso aos tecidos biológicos por ter a maior quantidade de energia. Felizmente, essa radiação é totalmente absorvida pela camada de ozônio e nunca alcança a superfície terrestre (OLIVEIRA; CAMPOS; TEMPORAL, 2005).

Portanto, a radiação ultravioleta que incide em nosso planeta caracteriza-se por grandes quantidades de UV-A e pequena porção de UV-B. Ironicamente, a radiação UV é o catalisador da formação do ozônio. Os raios quebram as ligações que mantêm unida a molécula de oxigênio, dividindo-a em dois átomos de O. Quando um átomo livre de O se liga à molécula O<sub>2</sub>, forma-se a molécula de ozônio, O<sub>3</sub>. A quantidade de radiação UV que atinge a superfície pode ser medida por instrumentos terrestres, como os piranômetros, ou estimada por instrumentos de satélite (o Nimbus 7, lançado pela NASA-National Aeronautics and Space Administration- em 1978, estava equipado com o Total Ozone Mapping Spectrometer,

TOMS, aparelho que coletou os dados que levaram à descoberta do buraco na camada de ozônio sobre a Antártica, o que provocou o desenvolvimento de melhores instrumentos de medição, capazes de funcionar debaixo d'água).

A radiação UV é não ionizante, mas consegue passar os elétrons para um nível energético superior, deixando-os em estado ativado (excitação). Interage com a molécula de DNA (ácido desoxirribonucléico), portadora da informação genética na célula. O DNA absorve principalmente os menores comprimentos de UV (C e parte da B), absorção que pode provocar quebra de suas cadeias, implicando em alterações. Algumas soldas e lâmpadas também emitem radiação UV, que é amplamente empregada na indústria de alimentos para descontaminação de embalagens e de algumas superfícies de equipamentos e ambientes (SILVA et al., 2002).

As lâmpadas ultravioleta possuem um baixo custo e podem ser facilmente substituídas quando necessário (FALKENSTEIN; COOGAN, 1997 apud BIANCHI et al., 2008). Essas lâmpadas são versáteis e podem ser projetadas com materiais mais resistentes e assim instaladas em ambientes inclusive com reatividade química. Sua utilização em bacteriologia é bastante difundida porém existem sistemas emissores exclusivos patenteados. No que diz respeito à ação dos raios ultravioleta sobre microrganismos as informações apontam uma amplitude de usos e aplicações.

Por décadas as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas, utilizam-na para desinfetar a água utilizada nos seus processos (OLSON, 1967). Dentre os métodos físicos, que podem ser empregados para o controle de podridões pós-colheita de uva e aumento do período de conservação dos frutos, destaca-se a radiação UV-C (CIA et al., 2009). Foi, inicialmente, relatada com capacidade para reduzir a incidência de podridões durante o armazenamento de cebolas e batatas e, posteriormente, foi eficaz na indução de resistência em alguns frutos, como uvas, citros, maçãs, pêssegos e pimentões (CAMILI; CIA; BENATO, 2005 apud CIA et al., 2009).

Quando os frutos são expostos à baixas doses de UV-C, várias mudanças são induzidas, incluindo a produção de compostos antifúngicos e o atraso no amadurecimento. A inativação direta de fungos também pode ocorrer pela exposição à radiação UV-C. Assim, a redução de podridões pela UV-C pode ser devido ao efeito germicida e/ou à indução de resistência a patógenos (STEVENS et al., 1998 apud CIA et al., 2009). A radiação ultravioleta-C (UV-C) tem mostrado bons resultados no controle de podridões pós-colheita em diferentes espécies vegetais (CAPDEVILLE et al., 2002 apud SOARES et al., 2010).

Além de exercer efeito na indução de resistência para podridões de pós-colheita, a UV-C pode prolongar o período de armazenamento dos frutos através do atraso do amadurecimento. Durante o processamento e armazenamento de alimentos líquidos, a contaminação pode ocorrer em muitos diferentes pontos de contato. A radiação UV pode e tem sido usada nestes pontos de contato para reduzir a carga microbiana e minimizar a contaminação (NGADI et al., 2004 apud ADZAHAN; BENCHAMAPORN, 2007). Tratamento com radiação ultravioleta tem sido utilizado em processos assépticos, tanto para a esterilização do ar quanto para a esterilização do material da embalagem (WILLHOFT, 1993 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008).

Em condições práticas, o tempo de exposição é diferente para cada situação. Por exemplo, o tempo usado para redução da microbiota em PEBD (polietileno de baixa densidade), para embalagem de leite tipo C, é de aproximadamente dois segundos (SILVA et al., 2002). Em aplicações como tratamento de bebidas e superfícies ele tem se destacado, embora para superfícies de alimentos o seu uso vise a extensão da vida útil do produto (KONINKLIJKE PHILIPS ELETRONICS, 2007 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008). Em geral, a radiação ultravioleta tem se mostrado como a forma mais rápida, confiável, efetiva, econômica e ambientalmente segura no tratamento de superfícies e líquidos.

Além disso, o uso combinado da radiação ultravioleta e dos desinfetantes químicos têm apresentado um efeito sinérgico no controle de microrganismos, especialmente em casos onde o residual do agente químico deve ser controlado em taxas mínimas ou estar ausente (ABREU; FARIA, 2004; SIEMENS WATER TECHNOLOGIES, 2007 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008). Uma lâmpada UV ou “germicida” é comumente encontrada em salas de hospitais, enfermarias, salas de cirurgia e refeitórios. A luz UV também é usada para desinfetar vacinas e outros produtos médicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

O método mais prático de gerar radiação UV é pela passagem de descargas elétricas através de vapor de mercúrio a baixa pressão dentro de tubos de vidro especiais, conhecidos comercialmente como lâmpadas germicidas. Segundo ICMSF (1980, apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008), uma lâmpada germicida de 50W, posicionada a 1m de distância de um alvo, tem uma intensidade de  $100\text{mW}/\text{cm}^2$ . As doses de irradiação absorvidas são medidas em energia, expressas em ergs ou  $\text{mW.s}/\text{cm}^2$ . O sucesso da esterilização de embalagens pela radiação UV depende de uma série de fatores, sendo que a superfície a ser esterilizada deve estar extremamente limpa.

Como os raios UV têm poder pequeno de penetração, podem ser facilmente absorvidos por partículas sólidas na superfície da embalagem. Sendo assim, os microrganismos podem ser protegidos por poeira, provocando o chamado efeito sombra (REUTER, 1993 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008). Além disso, tanto a distância como o ângulo de incidência da fonte à superfície a ser tratada devem ser cuidadosamente considerados (CHAMBERS; NELSON, 1993; WAITES et al., 1988 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008).

Este tipo de radiação também pode promover efetiva descontaminação em outros sistemas de água (LIN; STOUT; VIDIE, 1998 apud BIANCHI et al., 2008). A eficiência de um sistema de desinfecção por UV depende das características da água a ser tratada, da intensidade da radiação UV, o tempo de contato dos microrganismos à radiação UV, etc. A eficiência de desinfecção está em torno de 99,99%. Como a radiação UV é a energia sob a forma de ondas eletromagnéticas, sua eficácia não é limitada por parâmetros da qualidade química da água.

Por exemplo, pH, temperatura, alcalinidade e carbono inorgânico total não impactam a eficácia global da desinfecção UV. No entanto, a dureza da água pode causar problemas com a manutenção e funcionalidade da lâmpada (ULTRAVIOLET, 1999). A presença, ou adição, de oxidantes (por exemplo, ozônio e/ou peróxido de hidrogênio) aumentam a efetividade da radiação UV. Ao passo que a presença de algumas substâncias dissolvidas ou suspensas podem proteger os microrganismos como o ferro, sulfitos, nitritos, e fenóis, que absorvem a luz UV.

A dose normalmente aplicada na esterilização está em torno de  $10^5 \text{mW.s/cm}^2$ , valor esse tão baixo, que não chega a provocar aumento de temperatura da amostra irradiada. Sabe-se que o efeito potencialmente de maior letalidade ocorre no ácido desoxirribonucléico da célula, principalmente em consequência da formação de ligações entre pirimidinas sucessivas na fita de DNA, formando dímeros de nucleotídeos que são os mais abundantes e estáveis produtos resultantes da irradiação. As irradiações inibem a síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA) e, em menor extensão, a de ácido ribonucléico (RNA) e a síntese de proteínas (INGRAM; ROBERTS, 1980 apud ALEXANDRE; FARIA; CARDOSO, 2008).

O DNA e o RNA carregam a informação genética necessária para a reprodução e, portanto, qualquer dano a uma destas substâncias pode matar o organismo. A citosina (encontrada no DNA e RNA), timina (encontrado apenas no DNA) e uracila (encontrado apenas no RNA) são os três principais tipos de moléculas de pirimidina. A replicação do

ácido nucléico se torna muito difícil uma vez que as moléculas de pirimidina são unidas devido à distorção da estrutura helicoidal do DNA pela radiação UV. Além disso, se a replicação ocorre, as células mutantes produzidas são incapazes de replicar.

No entanto, sob certas condições, alguns organismos são capazes de reparar o DNA danificado e voltar para um estado ativo em que a reprodução é novamente possível (ULTRAVIOLET, 1999). A fotorreativação ocorre quando o microrganismo irradiado é exposto à radiação com comprimento de onda de 300nm a 500nm sendo submetido ao processo conhecido como desdimerização. A formação e o acúmulo de dímeros dependem do comprimento de onda e da dose de radiação absorvida. A 254nm a formação de dímeros é cerca de oito vezes mais frequente que a desdimerização (HARRIS et al., 1987 apud SILVA, 2007).

O mecanismo de recuperação no escuro ocorre na ausência de luz e envolve o reconhecimento enzimático de um dímero numa cadeia de DNA. O dímero é retirado da molécula de DNA e a sequência original é recuperada (WEF, 1996 apud SILVA, 2007). Acredita-se que o mecanismo de recuperação no escuro é um mecanismo de reparação-exclusão no qual os dímeros de timina são cortados por um mecanismo multienzimático. A síntese de informação subsequente de um componente novo do DNA acontece então sobre banda complementar (HARRIS et al., 1987 apud SILVA, 2007).

O grau de reativação varia entre os microrganismos. Microrganismos indicadores e algumas bactérias patogênicas como as do gênero *Shigella sp* possuem mecanismos de fotorreativação; no entanto, vírus (exceto quando eles infectaram uma célula hospedeira que seja fotorreativa) e outros tipos de bactérias não podem fotorreativar (USEPA, 1980; USEPA, 1986; HAZEN; SAWYER, 1992 apud ULTRAVIOLET, 1999). Como os danos no DNA tendem a tornar-se irreversíveis com o tempo, há um período crítico durante o qual a fotorreativação pode ocorrer.

No caso de desinfecção de água com UV, por exemplo, para minimizar o efeito da fotorreativação, é necessário proteger ou limitar a exposição à luz do sol imediatamente à desinfecção (ULTRAVIOLET, 1999). Recentemente, os estudos estão concentrados para utilização deste processo em águas residuárias, mostrando-se apropriado para esse fim porque pode ser um eficiente germicida sem formar compostos tóxicos. Este tipo de radiação tem se tornado uma eficiente alternativa de desinfecção ao cloro, com comparável e frequentemente melhor eficiência na remoção de vírus e bactéria (LAZAROVA et al., 1998 apud OLIVEIRA et al., 2002).

Na desinfecção de efluentes tem-se a vantagem de não deixar residual além de não ter a potencialidade de gerar subprodutos prejudiciais à saúde. Silva (2007) relata que uma unidade UV utilizada para tratamento de efluente sanitário apresentou bom desempenho apesar da grande concentração de SST (sólidos solúveis totais), alta turbidez e absorvância. Bianchi et al. (2008) analisaram a influência da radiação ultravioleta na contaminação microbiana nos sistemas de fluidos de corte nos processos de retificação utilizando um sistema emissor de raios UV. Constataram a ação inativadora da radiação UV, num meio altamente viscoso e opaco, sobre os microrganismos presentes no fluido de corte através da determinação das unidades formadoras de colônias (UFC) desenvolvidas em meios de cultura bacteriológicos.

Foi acoplada à uma máquina retificadora um reservatório em cujo tampo foram instaladas 12 lâmpadas ultravioleta germicidas (UV-C) de 20W. As lâmpadas germicidas emitiam raios diretamente sobre a superfície do depósito de fluido de corte tendo sido essa exposição suficiente para obtenção de grande redução da carga microbiana (BIANCHI et al., 2008). Em água e fluidos de corte as lâmpadas ultravioleta possuem eficiência no controle de *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* (JOHNSON; PHILLIPS, 2002). Esses autores testaram culturas das duas espécies de bactérias acima mencionadas e obtiveram declínio de 90% após exposição à radiação.

O tempo necessário foi de 30 segundos em água e 30 minutos em fluido de corte em varias concentrações. O princípio de toda lâmpada germicida é o mesmo das lâmpadas fluorescentes: um fluxo de elétrons entre os eletrodos que ionizam os vapores de mercúrio. A diferença entre os dois tipos de lâmpadas é que o bulbo de lâmpadas fluorescentes é revestido com compostos fosforados, que convertem a RUV (radiação ultravioleta) em luz visível. O vidro empregado na confecção do bulbo das lâmpadas fluorescentes filtra a saída de toda a RUV. Entretanto para as lâmpadas germicidas não se tem a presença de compostos fosforados no bulbo, e este é constituído de um vidro especial que permite a transmissão da RUV gerada pelo mercúrio mais a energia visível (SILVA et al., 2002).

### 3.4 Microbiologia da cana-de-açúcar

Devido à elevada atividade de água, à porcentagem elevada de açúcares e à presença de aminoácidos e proteínas em quantidade apreciável, a cana se torna um material facilmente perecível quando submetido à exposição a microrganismos. A contaminação é mais acentuada na fase de extração, pois o caldo apresenta concentração de açúcares, pH e temperatura favoráveis (ROSSELL, 2006). Os produtos do metabolismo destes microrganismos, tais como álcoois, ácidos orgânicos e polissacarídeos, são incorporados ao caldo, alterando sua composição química, podendo causar sérios transtornos nos processos de fabricação.

Existem também bactérias que induzem a floculação de *Saccharomyces cerevisiae*, a levedura mais utilizada para produção de etanol. Tem sido observados aumento no tempo de fermentação e redução de aproximadamente 15% no rendimento fermentativo como consequência desta floculação. Essa acontece provavelmente devido à presença de uma capa protéica de natureza gelatinosa sobre as bactérias, acarretando assim a fixação mecânica nas células de leveduras ou através de uma ponte entre íons de cálcio e polímeros aniônicos da superfície da levedura. Dentre as bactérias indutoras de floculação do fermento destacam-se as linhagens de *Lactobacillus*, mais particularmente *L. fermentum* (CECCATO-ANTONINI, 2004). Uma vez que o solo é o grande reservatório biológico de microrganismos, a contaminação que atinge a indústria em sua maioria tem no mesmo sua origem. Esta contaminação chega até à indústria mediante a terra aderida às raízes, caule, folhas, água, etc., que permanecem junto à cana após a colheita e são transportadas para a usina.

#### 3.4.1 Microrganismos contaminantes

As espécies de bactérias encontradas na indústria são as mesmas daquelas presentes no solo da lavoura de cana-de-açúcar, destacando-se os gêneros:

- *Leuconostoc ssp*;
- *Bacillus ssp*;
- *Pseudomonas ssp*;
- *Lactobacillus ssp*.

As bactérias são organismos unicelulares, isto é, constituídos por uma única célula e podem ser encontrados na forma isolada ou em colônias. Cada bactéria tem características que se encaixam em cada tipo de processo. A bactéria *Leuconostoc* é característica do caldo de cana; já a bactéria *Lactobacillus* é característica do vinho bruto na fermentação, sendo os gêneros apontados como os maiores responsáveis pela biodeterioração. As bactérias do gênero *Leuconostoc* predominam no processo e são produtoras de dextrana. As outras espécies de bactérias produzem vários ácidos (CECCATO-ANTONINI, 2004).

Essas bactérias contaminantes apresentam elevada taxa de reprodução e se dividem por bipartição. Em condições adequadas, uma única célula pode se dividir em 20 minutos, dando origem a 5 milhões de descendentes numa média de 11 horas. Além de bactérias contaminantes, pode haver também leveduras contaminantes. Essas leveduras estão presentes no processo fermentativo, e são diferentes da levedura selecionada para a condução da produção de etanol. Também denominadas selvagens essas leveduras contaminantes podem se multiplicar sobre o fermento em poucos dias, já no início da safra.

Isso ocorre devido a alguns fatores como agressividade na competição por nutrientes, maior velocidade de multiplicação, pressão de seleção favorável e proporção inicial significativa. Resistentes às condições do processo, as leveduras selvagens contaminantes podem dominar todo o processo fermentativo substituindo as leveduras selecionadas inoculadas (ALCARDE; WALDER, 1997, CABRINI; GALLO, 1999). As leveduras são células eucarióticas altamente tolerantes às variações do pH do meio, sendo por isso denominadas acidófilas.

Contudo, o pH ideal para um eficiente desempenho fermentativo é ao redor de 4,0 a 4,5. Basso et al. (2008) relata que estirpes de leveduras dominantes e persistentes no processo fermentativo devem receber atenção especial pois podem ser competitivas e tolerantes aos estresses impostos pelas fermentações industriais. Esses autores ainda ressaltam que, apesar de apresentarem dominância e persistência no processo, infelizmente a maioria dessas estirpes apresenta características indesejáveis, tais como formação excessiva de espumas, alta taxa de sedimentação durante o processo fermentativo, elevado tempo de fermentação, alta produção de componentes secundários e baixa capacidade de degradar todo o açúcar presente no mosto, de modo que os vinhos apresentam altos teores de açúcares residuais.

### 3.4.2 Dextrana

A dextrana é um polímero de glicose produzido a partir da sacarose que algumas bactérias consomem. A penetração de microrganismos no colmo, através de rachaduras, contamina a cana formando dextranas, cuja presença afeta a qualidade da matéria-prima e a eficiência industrial. Os prejuízos causados na fermentação pela dextrana são:

- aumento da viscosidade do vinho;
- prejuízo no desempenho das centrífugas separadoras de fermento;
- elevação do consumo de anti-espumante;
- aumento da floculação.

A dextrana é citada como um dos maiores problemas na indústria, pois provém de uma bactéria predominante no processo, a *Leuconostoc mesenteroides*. Além disso, há outros fatores que dão entrada para microrganismos maléficos influenciando na qualidade da matéria-prima e no processo industrial que serão descritos a seguir.

### 3.4.3 Contaminação

Na avaliação da flora contaminante nas principais etapas do processo de produção do açúcar e do etanol, constatou-se que os microrganismos de importância no setor de extração do caldo são essencialmente aqueles oriundos do solo e vegetais. Dentre esses, os fungos, as leveduras, as bactérias lácticas e esporogêneas desempenham papel de importância em um ou mais pontos da usina (NOLASCO JUNIOR, 2005). Dentre os vários fatores que aumentam a contaminação da cana destacam-se:

- solo aderido à matéria-prima: a população bacteriana usa as partículas do solo como meio de proteção contra os fatores externos;
- ataque de pragas que estragam a cana aumentando a contaminação por fungos e bactérias. Por exemplo: o complexo broca-podridão, o ataque de cigarrinha-das-raízes que causa um aumento do número de contaminantes do caldo e no mosto para fermentação, provocando queda no teor alcoólico dos vinhos obtidos (RAVANELI et al., 2006);

- aplicação de maturadores, em que se houver atraso na colheita pode levar a cana a apodrecer na ponta, permitindo a entrada de microrganismos contaminantes na matéria-prima;
- tempo pós queima/corte: no tempo de armazenamento da cana antes da moagem, as bactérias ali presentes começam a fermentar e ocorre um aumento na contaminação, pois a matéria-prima ficará em contato livre com fatores ambientais. Assim, o tempo de corte influi na velocidade de deterioração da cana: a cana cortada se deteriora mais rápido do que a cana em pé. A cana queimada se deteriora mais rápido do que a cana verde. O tempo de deterioração da cana depende da sua variedade.

Assim, nota-se que o período de deterioração da cana-de-açúcar abrange um tempo maior do que aquele compreendido entre a queima/corte e o processamento industrial. A despalha a fogo acelera este processo porque remove o filme protetor de cera, excreta caldo e provoca rachaduras no caule expondo-o rapidamente à contaminação. Na cana colhida mecanicamente o problema é ainda maior devido ao aumento de exposição dos tecidos decorrente do retalhamento em segmentos menores. Esta deterioração se agrava ainda mais quando a cana é submetida à despalha a fogo antes da colheita mecanizada.

Os fatores como o contato com o solo, temperatura e umidade elevadas, chuva no período de corte pioram a situação. Atualmente, o índice empregado pelas usinas para avaliar a qualidade de cana é o tempo médio entre queima e entrega na Usina, índice este que dá adequada representação do grau de infecção da mesma por microrganismos. O controle microbiológico das matérias-primas, que é mais complexo, requer maior grau de capacitação e os resultados são demorados. Contudo, oferece resultados diretos do impacto da presença dos contaminantes e da deterioração que estes provocam nas matérias-primas (ROSSELL, 2006).

Os métodos de abordagem rápida, como determinações do pH, a  $\Delta$ pH que mede a presença de contaminantes formadores de ácidos pela queda de pH em um determinado intervalo de tempo, a acidez do meio, o poder tampão e teor de dextrana fornecem resultados indiretos, porém são adequados indicadores da qualidade do processo. A determinação de matéria em suspensão é um auxiliar eficiente para controlar o grau de tratamentos físico-químicos que deverão receber as matéria-primas. Na última década, as destilarias foram, em geral, abandonando estas metodologias de controle por motivos de redução de custo, sem que tenham sido estabelecidas alternativas.

As usinas e destilarias realizam um tratamento físico-químico para o caldo destinado à fermentação, adaptado do processo de fabricação de açúcar e envolvendo peneiramento, dosagem de cal, aquecimento, desgaseificação *flash*, adição de polímero e decantação. Em geral, este tratamento não remove a matéria coloidal e em suspensão na medida em que o processo de fermentação exige. Ademais, as condições operacionais e as características das instalações do processo, moendas, esteiras de transporte, peneiras, depósitos e tubulações e outros favorecem a multiplicação bacteriana e a formação de ácidos e gomas (ROSSELL, 2006).

As usinas podem enviar caldo filtrado que provém da fabricação de açúcar à fermentação. Este procedimento é prejudicial para o desempenho da fermentação. Este caldo contém elevado teor de microrganismos indesejáveis, de matéria orgânica coloidal e em suspensão e de matéria mineral, que interferem negativamente na fermentação. Não se tem dado a devida importância à qualidade da água empregada na diluição de mel ou xarope e na preparação do pé de cuba. Normalmente as destilarias captam águas de superfície para emprego nas operações acima descritas.

As águas de superfície apresentam teores muito variáveis de matéria em suspensão e coloidal e uma flora microbiana diversa associada a estas. A quantidade é muito variável dependendo da época do ano: estiagem ou chuva. Em casos geralmente excepcionais a fonte de água empregada pode ter elevado nível de contaminação de resíduos de produtos químicos, provocando inibição na fermentação (ROSSELL, 2006). A utilização de agentes antimicrobianos reduzem os danos causados pelos contaminantes, além de medidas como limpeza das moendas, tubulações, instalações da fermentação e vários outros procedimentos, tais como descarte de fundo de dorna, returbinação do fermento e tratamento ácido contribuem para o controle dos microrganismos contaminantes no processo de produção.

Porém, o eficiente controle só é conseguido com o uso de antimicrobianos adequados e na dosagem correta, pois a aplicação racional desses produtos deve visar apenas a população de bactérias e não a de leveduras (CECCATO-ANTONINI, 2004). O uso contínuo de antibióticos pode levar ao desenvolvimento de linhagens resistentes, as quais se tornam cada vez menos sensíveis à sua ação, além do elevado custo de aplicação. Se para o controle da contaminação bacteriana é possível a utilização de agentes microbianos, o mesmo não pode ser dito em relação às leveduras selvagens ou “invasoras”.

Algumas unidades industriais têm se deparado com problemas atribuídos à presença de leveduras contaminantes que, altamente competitivas dentro das condições existentes,

passam a predominar na população de células presentes. Essas podem vir de fontes como meloço, caldo, água de lavagem de cana e o próprio solo (CECCATO-ANTONINI, 2004). A ocorrência dessas leveduras tem sido frequentemente associada às ocasiões em que se verificam reduções significativas da eficiência industrial, com queda no rendimento fermentativo, maior tempo de fermentação e maior formação de espumas pelo aumento da viscosidade.

A instalação dessas leveduras na fermentação pode acarretar também sérios problemas operacionais. Nos processos de batelada e batelada alimentada, os inconvenientes eram mais facilmente contornados, ao passo que para os processos contínuos, passaram a constituir um sério problema (CECCATO-ANTONINI, 2004). A eliminação dessas linhagens invasoras, quando se detecta prejuízo considerável ao processo, consiste na substituição do fermento por fermento adaptado, aliado à uma melhoria na assepsia das tubulações, na qualidade da água utilizada na diluição do mosto, na eficiência do tratamento térmico/químico do caldo e controle da temperatura de fermentação.

O permanente monitoramento microbiológico e o aperfeiçoamento de seus métodos permite o acompanhamento da qualidade do fermento e a detecção das leveduras selvagens, ou seja, a diferenciação entre a levedura do processo e a levedura contaminante (selvagem), que nem sempre é muito fácil (CECCATO-ANTONINI, 2004). O trajeto percorrido pelo caldo bruto da cana-de-açúcar desde a moenda até à tubulação de alimentação do reator de fermentação comporta-se como um único e gigantesco ponto de proliferação de microrganismos contaminantes (ALQUATI, 1990).

### **3.5 Radiação UV e a redução da carga microbiana no caldo de cana**

O solo, a própria cana, diversos fatores ambientais, as práticas agrícolas, são favoráveis à manifestação de microrganismos contaminantes, resultando em má qualidade da matéria-prima que chega às usinas, ocasionando muitas perdas até à obtenção do produto final. Estes contaminantes são carregados com o caldo bruto no momento de sua obtenção através da moagem das canas. O número total desses microrganismos pode aumentar significativamente durante o período decorrente entre o corte e a moagem como também pelo contato do caldo na moenda, filtros, bombas, tubulações, etc.

A estratégia principal adotada para reduzir a carga microbiana concentra-se no uso de antibióticos. Embora os efeitos germicidas da radiação UV sejam conhecidos e utilizados há décadas, com várias aplicações, não há informações disponíveis sobre estudos que tenham abordado o uso da radiação UV como alternativa no controle de contaminantes do caldo de cana. É possível que um processo deste tipo seja encarado como inadequado devido à composição do caldo, com alto teor de material orgânico, e ao fato da luz UV ter pouca penetração neste meio.

Contudo, como já foi abordado, é importante enfatizar que pesquisadores em alguns países, inclusive no Brasil, estão envolvidos com projetos que pretendem desenvolver condições para melhor aproveitamento das propriedades da radiação UV. Vários produtos líquidos têm sido testados, mesmo os bastante opacos, com importante redução da concentração microbiana. Os resultados destas pesquisas fundamentam a investigação da viabilidade do uso da radiação UV como tratamento físico no controle microbiológico do caldo de cana. É preciso salientar ainda que este tipo de processo não é residual e não afeta as características tecnológicas, podendo constituir-se em considerável auxílio nos processos industriais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Industrial de Usina localizada na região de Araraquara-SP, onde foram realizados, em dias diferentes, dois experimentos relacionados com o uso da radiação UV. Para isso foi utilizado um protótipo de madeira, contendo lâmpadas germicidas dispostas na parte interna.

- **Experimento com caldo clarificado.**

Foram utilizadas para este estudo amostras de caldo clarificado, para a produção de etanol, retiradas do decantador (Figura 1), durante o processo de purificação do caldo de cana, com temperatura de 88°C depois de ter passado por aquecedores a 110°C. A decantação é realizada para separar o lodo do caldo clarificado. Foi retirado o sobrenadante, caldo clarificado que seria encaminhado para o preparo de mosto para a fermentação alcoólica.

- **Experimento com mosto de melaço.**

As amostras de mosto foram retiradas após diluição do melaço, na tubulação de adição de água antes de entrar no processo de fermentação. Esse material foi escolhido por conter maior quantidade de microrganismos do que o caldo clarificado, pois era o local com maior índice de contaminação na usina.



**FIGURA 1** - Local de coleta no decantador de caldo clarificado para a produção de etanol, Araraquara-SP, safra 2010/2011.

#### **4.1 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o fatorial 2x2, com três repetições. Para o primeiro fator foram utilizadas a intensidade da luz (30 e 90W) e no segundo fator foi estudado o tempo de aplicação da radiação UV em segundos 1 e 9s para o experimento com caldo clarificado e 4 e 15s para o experimento com mosto de melaço. Para os parâmetros plaqueamento, determinações de acidez sulfúrica e pH analisados foi adotada a metodologia usada pela Fermentec de acordo com o Manual de Métodos Analíticos, Sistema de Gestão Integrada USC (MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS, 2009).

## 4.2 Irradiação

As amostras, para os dois experimentos, foram colocadas em 4 placas de petri, em quantidade suficiente para formar 1cm de altura, o que correspondeu a um volume de 50mL em cada uma. A irradiação do caldo foi realizada por lâmpadas germicidas do tipo tubular (Figura 2), com aproximadamente 40cm de comprimento, de vapor de mercúrio (253,7nm) com potência de 30W e 90W. As lâmpadas ficaram situadas a 1,5cm acima das placas de petri que continham as amostras.



**FIGURA 2** - Protótipo utilizado para aplicação de luz ultravioleta em placas de Petri contendo 50mL e 1cm de altura de caldo, Araraquara-SP, safra 2010/2011.

Para o experimento com caldo clarificado foram adotados os intervalos de radiação, de 1s e 9s, e para o experimento com mosto os intervalos de 4s e 15s. As amostras ficaram alinhadas abaixo das lâmpadas, sendo as condições de irradiação escolhidas aquelas possíveis de serem aplicadas para coleta de dados num sistema estático. Imediatamente após a aplicação de radiação foram realizadas análises tecnológicas e o plaqueamento.

### 4.3 Plaqueamento

A coleta das amostras foi feita em frascos esterilizados. As amostras foram mantidas sob refrigeração em bolsa térmica até o momento de serem utilizadas para aplicação da luz. O plaqueamento, no experimento com caldo clarificado, para contagem total de bactérias foi feito na sala microbiológica com as inoculações de 1mL da amostra concentrada e 1mL das diluições  $10^1$  e  $10^2$  e para contagem total de leveduras 1mL da amostra concentrada e 1mL da diluição  $10^1$ . Foram feitas triplicatas para cada um dos tratamentos.

No experimento com mosto, foram utilizadas as seguintes diluições para contagem amostra concentrada e a diluição  $10^1$ . A inoculação foi realizada pelo método Petrifilm™ (Figura 3), que é um sistema pronto de meio de cultura que contém os nutrientes do ágar padrão de contagem (2,8%), um agente gelificante solúvel em água fria (20,6%), um indicador tetrazólico para facilitar a enumeração das colônias, dorso de polietileno (48,8%), filme de polipropileno (14,4%), adesivo acrílico (10,3%) e fita dupla-face (3,1%).



**FIGURA 3** - Inoculação utilizada para os dois experimentos pelo método Petrifilm™, Araraquara-SP, safra 2010/2011.

As placas Petrifilm™ AC são utilizadas para a enumeração de bactérias aeróbias nas indústrias alimentícias. A inoculação foi feita em superfície plana com pipetas apropriadas para análises microbiológicas e a amostra foi distribuída do modo mais uniforme possível, com aplicação do difusor plástico, deixando solidificar para incubação. Após solidificação, as amostras inoculadas foram incubadas em estufa de cultura a 34/37°C por 48hs, para análise do crescimento dos microrganismos. Foram utilizadas 42 placas Petrifilm™ AC para bactérias e 28 placas Petrifilm™ YM para leveduras.

#### **4.4 Determinações tecnológicas**

As determinações tecnológicas realizadas nos experimentos foram para o caldo clarificado o Brix, pH, acidez sulfúrica e açúcares redutores. Para o mosto de melão foram determinados o Brix, pH, acidez sulfúrica e os açúcares redutores totais.

a) Acidez sulfúrica: as amostras contidas num béquer de 250mL foram tituladas com NaOH 0,1N padronizado, em pH-metro até pH = 8,5. Com o volume gasto foi feito o seguinte cálculo para acidez: Volume gasto x 0,98 (MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS, 2009).

b) Determinação do pH: a leitura foi feita colocando as amostras num béquer de 250mL, introduzindo o eletrodo nas amostras até cobrir o bulbo de vidro.

c) Açúcares redutores: os açúcares redutores (glicose e frutose) do caldo clarificado foram determinados segundo Lane; Eynon (1934).

d) Brix: os valores foram obtidos por leitura realizada com refratômetro digital. Esta análise tem como objetivo determinar o teor de sólidos solúveis.

e) Açúcares redutores totais: os açúcares redutores totais foram determinados com a utilização de HCl e transformação da sacarose em açúcares redutores que foram determinados segundo Lane; Eynon (1934).

## **4.5 Análise estatística**

Para a análise estatística dos dados obtidos foi realizado o teste F, segundo Banzatto e Kronka (2006), sendo as diferenças entre as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados e discussão serão apresentados em subtópicos para facilitar a compreensão dos mesmos.

### **5.1 Caldo clarificado**

Na TAB. 1 são apresentadas a variação de Brix, Acidez, Açúcares Redutores, pH, contaminação em amostras de caldo clarificado, sob doses de radiação UV-C.

**TABELA 1** – Variação de Brix, Acidez, Açúcares Redutores, pH, contaminação em amostras de caldo clarificado ( $10^2$ ), sob doses de radiação UV-C.

<b>Causas de variação</b>	<b>Brix(%)</b>	<b>Acidez(g/L)</b>	<b>AR</b>	<b>pH</b>	<b>Contaminação</b>
<b>Luz UV (L)</b>					
(Fator A)	1,43 <sup>ns</sup>	6,83 <sup>*</sup>	10,18 <sup>*</sup>	2,57 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>
30w	12,76A	2,28B	0,93B	5,29A	1,36A
90w	13,37A	2,39A	1,02A	5,30A	0,96A
DMS	1,1724	0,1000	0,638	0,144	0,8885
<b>Tempo de Exposição (T)</b>					
(Fator B)	1,40 <sup>ns</sup>	4,97 <sup>ns</sup>	21,48 <sup>**</sup>	1,14 <sup>ns</sup>	1,13 <sup>ns</sup>
1s	12,77A	2,29A	0,91B	5,29A	1,37A
9s	13,37A	2,38A	1,04A	5,30A	0,96A
DMS	1,1724	0,1000	0,0638	0,144	0,8885
<b>Fator L x T</b>	1,37 <sup>ns</sup>	5,32 <sup>*</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	1,56 <sup>ns</sup>
<b>CV</b>	6,74	3,22	4,93	0,2	57,5

\*\*P<0,01; \*P<0,05; <sup>ns</sup>P≥0,05; Resultados repetidos de letras iguais, dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P≤0,05).

Onde:

Fator A: Luz UV;

Fator B: Tempo de Exposição;

DMS: Diferença mínima significativa;

CV: Coeficiente de variação;

ns: não significativo. Contaminação: dados transformados  $(x+0,5)^{0,5}$ .

### 5.1.1 Contaminação

Os resultados obtidos não mostraram tendência definida. Deve ser observado que partiu-se de uma contaminação relativamente baixa ( $10^2$ ).

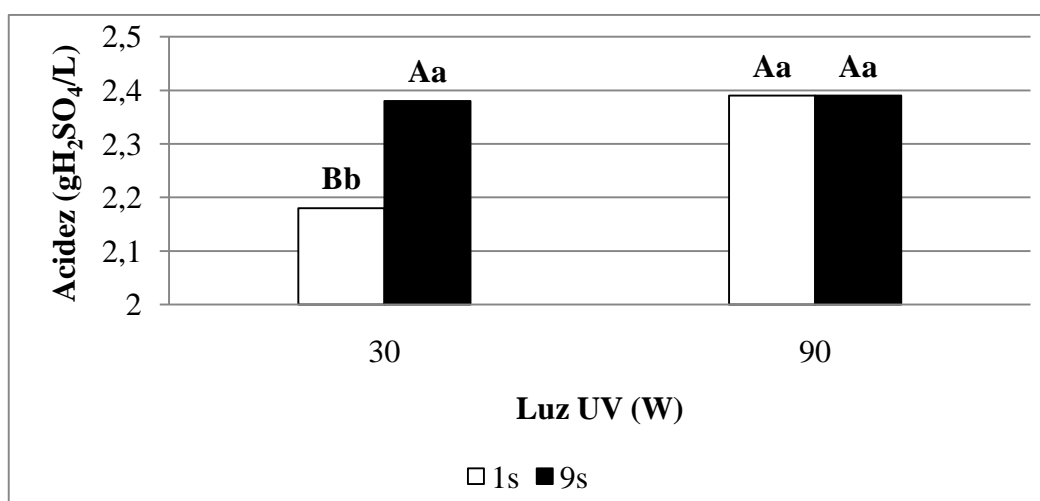
As variações pequenas foram difíceis de ser detectadas, pois já entraram na faixa do erro experimental. Infelizmente, não foi possível determinar se a radiação UV utilizada conseguiu reduzir a carga de microrganismos. O caldo clarificado apresentou carga reduzida pelo efeito do aquecimento anterior do caldo, no processo de clarificação, ter eliminado a

maioria dos microrganismos contaminantes. Para o estudo, esse caldo foi escolhido pelo fato de ter passado pelo processo de purificação e que depois somente seria diluído para formar o mosto para o processo fermentativo. Para a construção do futuro aparelho de aplicação de UV esse seria o ponto ideal de ação desse tipo de controle.

### 5.1.2 Determinação de acidez sulfúrica

Houve diferença significativa para os teores de acidez. A FIG. 4 apresenta a variação de acidez durante o procedimento apenas em função dos tratamentos com radiação UV-C.

O caldo clarificado utilizado já tinha passado por redução da carga microbiana no processo de purificação. No entanto, não estava isento de microrganismos, o que pode explicar o aumento da acidez devido à atividade metabólica. Verificou-se que as amostras do tratamento 30W em 1s apresentaram o menor teor de acidez. A aplicação dos tratamentos foi realizada em ordem, para facilitar a aplicação da luz que demorava para se estabilizar e portanto, não possibilitava a mudança para casualização das amostras.



**FIGURA 4** – Interação entre a concentração de luz UV e o tempo de aplicação para a acidez (gH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L) do caldo clarificado.

Letras maiúsculas comparam médias dentro de quantidade de luz UV e letras minúsculas comparam tempos de aplicação (Tukey  $P \leq 0,05$ ).

### **5.1.3 Determinação de pH**

Os resultados das leituras evidenciam que nas amostras irradiadas não houve alteração, o que, aliás, era esperado. Segundo Bintsis; Litopoulou-Tzanetaki; Robinson (2000 apud SÄRKKÄ-TIRKKONEN et al., 2010), a radiação UV não causa mudança no pH.

### **5.1.4 Açúcares redutores (AR)**

Os resultados obtidos mostraram diferença significativa para os teores de açúcares redutores. Os teores aumentaram com a elevação da dose de tratamento com UV-C. A variação observada aqui seguiu o mesmo perfil da acidez. O esperado é que o teor de AR aumente com o aumento da acidez, pois na ação de microrganismos há redução dos níveis de sacarose, com conseqüente aumento de glicose e frutose no caldo, além da produção de ácidos orgânicos. A ausência de casualização das amostras foi determinante, como na análise de acidez, para os resultados obtidos. Não há como concluir que a utilização da luz UV reduz o teor de sacarose, medido indiretamente pela alteração do valor de AR.

### **5.1.5 Brix**

Os dados obtidos das amostras de caldo clarificado irradiado não diferiram significativamente.

## 5.2 Mosto de melão

Na TAB. 2 são apresentadas a variação de Brix, Acidez, Açúcares Redutores Totais, pH e contaminação nas amostras de mosto de melão sob doses de UV-C.

**TABELA 2** – Variação de Brix, Acidez, Açúcares Redutores Totais, pH, contaminação em amostras de mosto ( $10^4$ ), sob doses de radiação UV-C.

<b>Causas de variação</b>	<b>Brix(%)</b>	<b>Acidez(g/L)</b>	<b>ART</b>	<b>pH</b>	<b>Contaminação</b>
<b>Luz UV (L)</b>					
(F)	11,63 <sup>**</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	4,10 <sup>ns</sup>	3,33 <sup>ns</sup>	2,00 <sup>ns</sup>
30w	13,12B	0,78A	10,72A	6,03A	1,31A
90w	13,41A	0,79A	10,22A	6,02A	1,57A
DMS	0,1983	0,0400	0,5711	0,021	0,4234
<b>Tempo de Exposição (T)</b>					
(F)	0,07 <sup>ns</sup>	1,33 <sup>ns</sup>	0,62 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>	2,50 <sup>ns</sup>
5s	13,28A	0,78A	10,37A	6,03A	1,29A
14s	13,25A	0,80A	10,56A	6,02A	1,58A
DMS	0,1983	0,0400	0,5711	0,021	0,4234
<b>Fator L x T</b>	0,15 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	4,15 <sup>ns</sup>	1,20 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
<b>CV</b>	1,12	3,80	4,1	0,2624	22,11

<sup>\*\*</sup>P<0,01; <sup>\*</sup>P<0,05; <sup>ns</sup>P≥0,05; Resultados repetidos de letras iguais, dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P≤0,05)

Onde:

Fator A: Luz UV;

Fator B: Tempo de Exposição;

DMS: Diferença mínima significativa;

CV: Coeficiente de variação;

ns: não significativo. Contaminação: dados transformados  $(x+0,5)^{0,5}$ .

### **5.2.1 Contaminação**

No que se refere à eliminação de microrganismos, duas hipóteses foram levantadas: não houve penetração suficiente da radiação UV-C nas amostras para a destruição dos microrganismos e/ou uma fonte de contaminação externa colaborou para o aumento destes após o processo de irradiação, gerando falsos resultados para o tratamento. Neste experimento foi encontrada carga de microrganismos elevada ( $10^4$ ), contudo, não foi possível determinar a ação da luz UV, pois os tempos e as dosagens utilizadas podem ter sido baixos para a elevada contaminação encontrada.

### **5.2.2 Determinação de acidez sulfúrica**

A variação da acidez não foi significativa. Para experimentos futuros será necessário garantir a casualização das amostras de modo que o tempo de realização dos tratamentos com a luz UV não interfira negativamente nos resultados obtidos.

### **5.2.3 Determinação de pH**

Os resultados das leituras evidenciam que nas amostras irradiadas não houve alteração, o que, aliás, era esperado. Segundo Bintsis; Litopoulou-Tzanetaki; Robinson (2000 apud SÄRKKÄ-TIRKKONEN et al., 2010), a radiação UV não causa mudança no pH, o que também foi observado para o caldo clarificado.

#### **5.2.4 Açúcares redutores totais (ART)**

Foram verificados os valores de ART com objetivo de avaliar se haveria a destruição desses tipos de açúcares. Entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados para esse parâmetro.

#### **5.2.5 Brix**

Os resultados observados para o mosto indicaram variação significativa. O fato de as amostras terem sido coletadas no ponto de diluição do melão com água pode explicar esses dados. Este é um processo dinâmico onde as adequações dos °Brix são efetuadas com controle das vazões dos dois produtos.

São conhecidos vários resultados positivos obtidos nas diversas aplicações da radiação UV. Os resultados destas pesquisas podem ser úteis para o desenvolvimento de sistemas assépticos, bem como para outros usos visando a redução da carga microbiana de matérias-primas e produtos. Por outro lado, há poucas informações sobre utilização em produtos líquidos como o caldo de cana, com turbidez, matéria e sólidos em suspensão. Nesse contexto, é recomendável a continuidade de trabalhos como o presente estudo. Outras abordagens e metodologias podem ser analisadas como, por exemplo, a utilização de um sistema de circuito fechado, em que a contaminação externa seria minimizada.

Inclusive, um sistema assim poderia ser usado para simular como seria feito o tratamento na indústria. Nesse aparelho o caldo entraria em contato direto com a lâmpada UV instalada dentro de um sistema tubular. Seriam necessários testes preliminares para avaliar se haveria impregnação na superfície aquecida do bulbo da lâmpada obstruindo a liberação e ação dos raios UV, testes de várias intensidades e tempos diferentes, a fim de obter o melhor planejamento. Num fotorreator poderia ser analisada a eficiência da ação concentrada da luz UV numa situação diversa, sem uso de fluxo laminar, mas com turbilhonamento, expondo todo o caldo à radiação.

Quanto às determinações tecnológicas, são necessárias informações mais substanciais baseadas em estudos mais específicos, como a investigação exaustiva de um único parâmetro de cada vez para que se possa conhecer seu real comportamento sob ação da radiação UV e

definir a viabilidade deste procedimento na desinfecção dos produtos usados na fabricação de açúcar e etanol.

## **6 CONCLUSÕES**

Os resultados deste trabalho mostraram significância para os teores de acidez e açúcares redutores nas amostras de caldo clarificado. Entretanto, os resultados foram inconclusivos quanto à viabilidade do processo de tratamento físico com o uso de radiação UV e da efetiva interferência desta radiação no teor de açúcares no caldo clarificado e do mosto.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Evaluation of a system for chemical sterilization of packages. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

ALCARDE, A. R.; WALDER, J. M. M. Efeito da radiação gama na sobrevivência da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (cepa M-300-A) em mosto de mel de cana-de-açúcar. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 54, n. 3, set. 1997. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161997000200015&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161997000200015&lng=pt&nrm=iso). Acesso em 4 nov. 2010. doi: 10.1590/S0103-90161997000200015.

ALQUATI, P. H. **Caracterização e controle de microorganismos contaminantes em microdestilaria de álcool**. Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. 1990. Disponível em: <<http://www.liberato.com.br/upload/arquivos/0131010712534512.pdf>>. Acesso em: 8 Out. 2010.

ANONYMOUS. UV light provides alternative to heat pasteurization of juices. In: SÄRKKÄ-TIRKKONEN, M. et al. **Overview on different sterilization techniques for baby food**. Helsinki: University of Helsinki-Ruralia Institute, 2010. (Reports 60). Disponível em: <<http://www.helsinki.fi/ruralia/information/pdf/Reports60.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2010.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006, 237p.

BARTNICKI, V. A. et al. Água aquecida e radiação UV-C no controle pós-colheita de *Cryptosporiopsis perennans* em maçãs. **Pesq. Agropec. Brás.**, Brasília, v. 45, n. 2, p. 124-131, fev. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v45n2/v45n2a02.pdf>>. Acesso em: 27 out. 2010.

BASSO, L. C. et al. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. **Fems Yeast Research**, v. 8, p. 1155-1623, 2008.

BIANCHI, C.E. et al. Crescimento microbiano nos fluidos de corte controlado por radiação ultravioleta. **Fórum Ambiental da Alta Paulista** [periódico eletrônico], Tupã, v. 4, 2008. Disponível em: <<http://www.amigosdanatureza.org.br/noticias/396/trabalhos/463.A-TS-01.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2010.

BINTSIS, T.; LITOPULOU-TZANETAKI, E.; ROBINSON, R. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry—a critical review. In: SÄRKKÄ-TIRKKONEN, M. et al. **Overview on different sterilization techniques for baby food**. Helsinki: University of Helsinki-Ruralia Institute, 2010. (Reports 60). Disponível em:<<http://www.helsinki.fi/ruralia/information/pdf/Reports60.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Resolução nº 21 de 26 de janeiro de 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília. DF 29 de janeiro de 2001. Disponível em: <<http://www.aceletron.com.br/pdf/Resolu%C3%A7%C3%A3o%20RDC%2021.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

BRASIL. Decreto nº 72.718, de 29 de agosto de 1973. Estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília. DF 30 de agosto de 1973. Disponível em: <<http://www.aceletron.com.br/pdf/DECRETO%20N%2072718%20DE%2029%20DE%20AGOSTO%20DE%201973.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

BRASIL. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 09 de 08 de março de 1985. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília. DF 13 de março de 1985. Seção 1. Disponível em: <<http://www.aceletron.com.br/pdf/Resolu%C3%A7%C3%A3o%20RDC%2021.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

BRASIL. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº30 de 25 de setembro de 1989. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

CABRINI, K. T.; GALLO, C. R. Yeast identification in alcoholic fermentation process in a sugar cane industry unit of São Paulo State, Brazil. **Sci. agric.**, 1999, vol. 56, n. 1, p. 207-216. ISSN 0103-9016.

CAMILI, E. C.; CIA, P.; BENATO, E. A. Indução de resistência contra doenças pós-colheita. In: CIA, P. et al. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva ‘niagara rosada’. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 1009-1015, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n4/v68n4a22.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

CAPDEVILLE, Q. et al. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'Red Delicious' apple fruit. In: SOARES, B. M. C. et al. Redução da contaminação microbiana em tomates pela radiação UV-C. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 15-17, mar. 2010. Disponível em: <[http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca\\_v4\\_n1\\_mar/tca03\\_reducao.pdf](http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v4_n1_mar/tca03_reducao.pdf)>. Acesso em: 14 out. 2010.

CARDOSO, C. F. Avaliação da esterilização de filme de polietileno com peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

CECCATO-ANTONINI, S. R. C. **Métodos de análises e monitoramento microbiológico em laboratório de destilaria**. Araras: Centro de Ciências Agrárias/UFSCAR, 2004. Apostila. Disponível em: <<http://ciencialivre.pro.br/media/6c33854d31916596ffffd523.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2010.

CHAMBERS, J. V.; NELSON, P. E. Principles of aseptic processing and packaging. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

CIA, P. et al. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'niagara rosada'. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 1009-1015, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n4/v68n4a22.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

FALKENSTEIN, Z.; COOGAN, J. J. The development of a silent discharge-driven XeBr Eximer UV light source. In: BIANCHI, C.E. et al. Crescimento microbiano nos fluidos de corte controlado por radiação ultravioleta. **Fórum Ambiental da Alta Paulista** [periódico eletrônico], Tupã, v. 4, 2008. Disponível em: <<http://www.amigosdanatureza.org.br/noticias/396/trabalhos/463.A-TS-01.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2010.

GUERRERO-BELTRAN, J. A.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. In: ADZAHAN, N.; BENCHAMAPORN, P. Potential of non-thermal processing for food preservation in southeast asian countries. **ASEAN Food Journal**, v. 14, n. 3, p. 141-152, 2007. Disponível em: <<http://psasir.upm.edu.my/775/1/141-152.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2010.

HARRIS, G. D. et al. The influence of the photoreactivation and water quality on ultraviolet disinfection of secondary municipal wastewater. In: SILVA, S. S. da. **Aplicação de radiação UV para desinfecção de efluente da associação de reator UASB e biofiltro aerado submerso**. 2007. 149 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-06012008-125103/pt-br.php>>. Acesso em: 21 set. 2010.

HAZEN; SAWYER. 1992. Disinfection Alternatives for Safe Drinking Water. In: EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants. 1999. cap. 8, p.8-24. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt\\_8.pdf](http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt_8.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2010.

HOLLINGSWORTH, P. Niche players pushing UV light applications. In: SÄRKKÄ-TIRKKONEN, M. et al. **Overview on different sterilization techniques for baby food**. Helsinki: University of Helsinki-Ruralia Institute, 2010. (Reports 60). Disponível em:<<http://www.helsinki.fi/ruralia/information/pdf/Reports60.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2010.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Microbial ecology of foods. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

INGRAM, M.; ROBERTS, T. A. Application of the “D-concept” to heat treatments involving curing salts. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. Training manual on operation of food irradiation facilities. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

JOHNSON, D.L.; PHILLIPS, M.L. UV disinfection of soluble oil metalworking fluids. **AIHA Journal** (Fairfax, Va) v. 63, p. 178-183, mar./abr. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11975654>>. Acesso em: 14 Ago. 2010.

KONINKLIJKE PHILIPS ELETRONICS. **UV disinfection**: application information. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

LANE, J. H., EYNON, L. **Determination of reducing sugars by Fehling solution with methylene blue indicator**. London: Norman Rodger, 1934, 8 p.

LAZAROVA, Z. et al. Advanced wastewater disinfection technologies: Short and long term efficiency. In: OLIVEIRA, E. M. de et al. **Desinfecção e valorização de efluentes sanitários através da radiação ultravioleta**. In: CONGRESO ITERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTA, 28, 2002, Cancun, México. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico26/ii-066.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2010.

LIN, Y-s. E.; STOUT, J. E.; VIDIE, R.D.; Disinfection of water distribution Systems for *Legionella*. In: BIANCHI, C.E. et al. Crescimento microbiano nos fluidos de corte controlado por radiação ultravioleta. **Fórum Ambiental da Alta Paulista** [periódico eletrônico], Tupã, v. 4, 2008. Disponível em: <<http://www.amigosdanatureza.org.br/noticias/396/trabalhos/463.A-TS-01.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2010.

LOAHARANU, P. Status of food irradiation worldwide. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS. **Sistema de Gestão Integrada USC**. Cód.: M 4.702, p. 27, 33 e 107/228, Outubro, 2009.

NGADI, M. et al. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in poultry chiller water using combined ultraviolet light, pulsed electric field and ozone treatments. In: ADZAHAN, N.; BENCHAMAPORN, P. Potential of non-thermal processing for food preservation in southeast asian countries. **ASEAN Food Journal**, v. 14, n. 3, p. 141-152, 2007. Disponível em: <<http://psasir.upm.edu.my/775/1/141-152.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2010.

NOLASCO JUNIOR, J. **Desenvolvimento de processo térmico otimizado para mosto de caldo de cana na fermentação alcoólica**. 2005. 181 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Alimento) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005. Disponível em: <[http://www.fea.unicamp.br/alimentarium/ver\\_documento.php?did=57](http://www.fea.unicamp.br/alimentarium/ver_documento.php?did=57)>. Acesso em: 10 ago. 2010.

OLIVEIRA, G. da F.; CAMPOS, R. L.C.de; TEMPORAL, W. F. Efeitos da radiação ultravioleta nas atividades aéreas e terrestres. **RMAB**, Rio de Janeiro, 55 n. 1/2, p. 19-26, jan./dez. 2005. Disponível em: <[http://www.dirsa.aer.mil.br/revistas/2005/03\\_05.pdf](http://www.dirsa.aer.mil.br/revistas/2005/03_05.pdf)>. Acesso em: 1 ago. 2010.

OLSON, S. W. The application of microbiology to cosmetic testing. **J. Soc. Cosmetic Chemists**, v. 18, p. 191-198, Mar. 1967. Disponível em: <<http://journal.sconline.org/pdf/cc1967/cc018n03/p00191-p00198.pdf>>. Acesso em: 14 set. 2010.

RAVANELI, G. C. et al. Spittlebug infestation in sugarcane affects ethanolic fermentation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 6, p. 543-546, 2006.

REUTER, H. Processes for packaging material sterilization and system requirements. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

ROSSELL, C. E. V. **Produção de etanol de cana-de-açúcar: qualidade da matéria-prima.** Apresentado ao 1º Workshop Tecnológico sobre Produção de Etanol. 2006. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/PPaper\\_sessao\\_1\\_Rossell\\_000fxg4uzq002wyiv80soht9h3dff8cq.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/PPaper_sessao_1_Rossell_000fxg4uzq002wyiv80soht9h3dff8cq.pdf)>. Acesso em: 7 ago 2010.

SANTIN, M. Food irradiation: A guidebook. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação.** 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

SIEMENS WATER TECHNOLOGIES. **UV technology: chemical-free water treatment and disinfection.** In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

SILVA, C. A. de S. et al. Polietileno para embalagem de leite: adesão bacteriana e controle pela radiação ultravioleta. **Caderno Fazer Melhor**, maio/jun 2002. Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas/Julio/Bibliografia%20sobre%20UV/UV%20em%20embalagens.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2010.

SILVA, J. C. de C. et al. **Desenvolvimento e avaliação de um fotorreator simplificado de radiação UV para inativação de coliformes e ovos de helmintos em esgotos tratados: pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios.** (Coletânea de Trabalhos Técnicos; v. 2, p. 229-240). 2002. Disponível em: <<http://www.finep.gov.br/prosab/livros/coletanea2/ART24.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

SILVA, S. S. da. **Aplicação de radiação UV para desinfecção de efluente da associação de reator UASB e biofiltro aerado submerso.** 2007. 149 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-06012008-125103/pt-br.php>>. Acesso em: 21 set. 2010.

SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação.** 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

STEVENS, C. et al. The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. In: CIA, P. et al. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva ‘niagara rosada’. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 1009-1015, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n4/v68n4a22.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

ULTRAVIOLET radiation. In: EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants. 1999. cap. 8, p.8-24. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt\\_8.pdf](http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt_8.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2010.

URBAIN, W. M. Economics aspects of food irradiation. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

USEPA. Design Manual: Municipal Wastewater Disinfection. In: EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants. 1999. cap. 8, p.8-24. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt\\_8.pdf](http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt_8.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2010.

USEPA. Technologies for Upgrading Existing and Designing New Drinking Water Treatment Facilities. In: EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants. 1999. cap. 8, p.8-24. Disponível em: <[http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt\\_8.pdf](http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/pdf/alter/chapt_8.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2010.

WAITES, W. M. et al. The destruction of spores of *Bacillus subtilis* by the combined effects of hydrogen peroxide and ultraviolet light. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION. Wastewater disinfection. In: SILVA, S. S. da. **Aplicação de radiação UV para desinfecção de efluente da associação de reator UASB e biofiltro aerado submerso**. 2007. 149 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-06012008-125103/pt-br.php>>. Acesso em: 21 set. 2010.

WIJK, K. van. **Answers to a selection of problems from classical electrodynamics John David Jackson**. Colorado: Samizdat, Center for Wave Phenomena, Department of Geophysics, 1996. (CO 80401). Disponível em: <[http://www.physics.it/lectures/Jackson\\_Solutions.pdf](http://www.physics.it/lectures/Jackson_Solutions.pdf)>. Acesso em: 8 jul. 2010.

WILLHOFT, E. M. A. Aseptic processing and packaging of particulate foods. In: ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. de A. F.; CARDOSO, C. F. Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, set./out., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n5/25.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10kGy: Report of a joint Food and Agriculture Organization; International Atomic Energy Agency; World Organization Study Group. Geneva: 1999. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. La comestibilidad de los alimentos irradiados: Report of a joint Food and Agriculture Organization; International Atomic Energy Agency; World Organization Expert Committee. Geneva: 1977. In: SOUZA, M. D. C. A. de. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação**. 2006. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/teses/23293.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2010.