

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

SIDNEI MACEDO PEREIRA FILHO

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E  
NUTRICIONAIS DE FOLHAS DE COUVE TRATADAS COM LUZ  
ULTRAVIOLETA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2019

SIDNEI MACEDO PEREIRA FILHO

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E  
NUTRICIONAIS DE FOLHAS DE COUVE TRATADAS COM LUZ  
ULTRAVIOLETA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do curso superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Engenharia de Alimentos – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique Polisel  
Scopel

CAMPO MOURÃO

2019



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Campo Mourão  
Departamento Acadêmico de Alimentos



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS DE FOLHAS DE COUVE TRATADAS COM LUZ ULTRAVIOLETA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO**

por

**Sidnei Macedo Pereira Filho**

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 25 de novembro de 2019 como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Fábio Henrique Polisel  
Scopel

---

Prof. Dr. Angela Maria Gozzo

---

Prof. Dr. Eliane Sloboda Rigobello

---

**Nota:** O documento original e assinado pela banca examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que estiveram presentes durante estes cinco anos de graduação, e de alguma forma fizeram parte desta trajetória. Em especial, à minha família que possibilitou a minha permanência na universidade e na cidade de Campo Mourão.

Agradeço grandiosamente e sou infinitamente grato a minha mulher Catarina e ao meu filho Lucas, que me fizeram a pessoa mais feliz do mundo durante estes anos e tiveram a paciência necessária para que chegássemos neste dia.

Agradeço às colegas de turma Flávia, Patrícia e Giovana por todo o companheirismo e parceria a cada semestre, tornando cada dia desta trajetória extremamente especial.

## RESUMO

PEREIRA-FILHO, Sidnei Macedo. Avaliação de parâmetros físico-químicos, microbiológicos e nutricionais de folhas de couve tratadas com luz ultravioleta em função do tempo de armazenamento. 43 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2019.

O consumo de vegetais frescos e nutritivos vem se tornando prática cada vez mais comum na vida da população, sobretudo com o crescimento da tendência a hábitos de vida saudáveis. Nesta área, as hortaliças se destacam por suas diversas propriedades nutricionais. Tratando-se de uma matriz alimentar que não passa por grandes processamentos e é muitas vezes consumida *in natura*, a qualidade microbiológica de folhas de couve é de extrema importância e está relacionada à segurança e vida útil do produto. A irradiação com luz UV-C, conhecida por seu poder de danificar o DNA de microrganismos, é uma das alternativas que visam reduzir a carga microbiana e levar segurança ao consumidor, se apresentando como alternativa às tecnologias convencionais que utilizam de agentes químicos para promover a sanitização. O presente estudo comparou o efeito da aplicação de tratamento com LEDs UV-C e o tratamento convencional (imersão da folha em solução de hipoclorito de sódio) utilizado em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Contagens de microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios, o conteúdo de compostos fenólicos totais, clorofilas a e b e dos minerais ferro, potássio e cálcio foram avaliados utilizando o teste de Tukey a 5% de significância. O resultado alcançado para a inativação microbiana foi positivo, sendo observada a efetividade da tecnologia LED UV-C na redução da contagem de microrganismos indicadores da qualidade e higienização do alimento. Os resultados obtidos para as análises físico-químicas e de minerais estão de acordo com o observado em estudos que visam viabilizar esta tecnologia, embora outros levantamentos (incluindo testes com microrganismos específicos) devam ainda ser conduzidos para solidificar a viabilidade do uso da tecnologia.

**Palavras-chave:** Ultravioleta; LED; Sanitização; Couve; Hortaliças; Novas tecnologias.

## ABSTRACT

PEREIRA-FILHO, Sidnei Macedo. Storage time evaluation of physical chemical, microbiological and nutritional parameters in kale leaves treated by ultraviolet LEDs .43 p. Course Completion Work (Bachelor in Food Engineering) – Federal Technological University of Paraná. Campo Mourão, 2019.

The consumption of fresh and nutritious food has become a common practice in people's lives, especially with the overall growth of the healthy lifestyle tendency. In this field, leafy vegetables stand out due to their many nutritious properties. As a food that does not undergo heavy processing and is many times consumed raw, microbiological quality of kale leaves is extremely important and can be related to the product's safety and also its shelf life. Ultraviolet irradiation, known for its DNA-damaging potential, is one of the many alternatives that aim to reduce microbial load while maintaining food safety. It can be seen as an alternative to commonly-used technologies that rely on chemical agents to sanitize vegetables in general. The present study compared the effect of UVC LED treatment and a conventional sanitizing method (soaking vegetables in sodium hypochlorite solution) applied to kale leaves (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Mesophile and psychrotrophs counts, as well as total phenolic, chlorophylls and mineral (iron, potassium and calcium) content were evaluated using Tukey's test to a 5% significance level. The microbiological results were positive, with LED UV-C treatment being effective in reducing microbiological counts of quality indicators. The physical chemical and mineral results are in accordance with the results observed in studies that seek to make the technology viable, even though many other evaluations (including tests with specific microorganisms) must be conducted to solidify the usage of UV-C technology.

**Key-words:** Ultraviolet; LED; Sanitization; Kale; Vegetables; Novel technology

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>10</b>
2.1 Objetivo Geral .....	10
2.1.1. Objetivos Específicos.....	10
2.2. Justificativa .....	10
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>12</b>
3.1. Hábitos saudáveis de alimentação .....	12
3.2. Couve de folha ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> ) .....	13
3.3. Minerais .....	14
3.4. Compostos fenólicos.....	15
3.5. Clorofilas .....	16
3.6. Contaminação por microrganismos .....	16
3.7. Microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios .....	17
3.8. Higienização de vegetais .....	18
3.9. Novas tecnologias de tratamento de alimentos.....	19
3.10. Tecnologia ultravioleta (UV) .....	19
3.11. Tecnologia ultravioleta LED.....	20
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>21</b>
4.1. Amostragem.....	21
4.2. Tratamento das amostras e condições de estocagem.....	21
4.3. Análises microbiológicas .....	22
4.4. Análise de minerais.....	22
4.5. Análise de clorofilas .....	24
4.6. Análise de fenólicos totais .....	26
4.7. Análise estatística .....	27
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>28</b>

5.1. Análises microbiológicas .....	28
5.2. Análise de minerais.....	31
5.3. Análise de clorofilas .....	34
5.4. Análise de fenólicos totais .....	35
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>



## 1. INTRODUÇÃO

No atual cenário de tendências à alimentação saudável, os produtos frescos vêm ganhando cada vez mais importância, com destaque para o mercado de hortaliças. Este tipo de produto tem a função de garantir o bom funcionamento do organismo, fornecendo componentes importantes como vitaminas, minerais, fibras, antioxidantes e água (ROCHA et al., 2014).

Consideram-se alimentos *in natura* aqueles obtidos diretamente de plantas ou animais, sem sofrer qualquer tipo de alteração após deixar a natureza. Estes alimentos, porém, antes de serem comercializados, passam por etapas como limpeza, remoção de partes não comestíveis e refrigeração (BRASIL, 2014).

A couve-de-folha, também conhecida como couve-comum ou couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) se origina no continente europeu e vem ganhando destaque na alimentação do consumidor devido, principalmente, às recentes descobertas em relação às suas propriedades nutricionais e medicinais. Quando comparada a outras hortaliças folhosas, apresenta maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, iodo, niacina e vitaminas A e C (TRANI, 2015).

O alimento seguro é, entre outras características, aquele livre de microrganismos causadores de doenças, como infecções alimentares, toxinfecções e intoxicações (SANTOS et al., 2015). Em hortaliças, as alterações microbiológicas estão relacionadas a fatores como ambiente, manipulação, umidade, temperatura, atmosfera e acidez. Entretanto, a manipulação inadequada é o principal vetor de contaminação por patógenos (PARK et al., 2018).

Comumente, a sanitização ou higienização, procedimento realizado com o objetivo de reduzir a contaminação superficial das folhas de hortaliças, é feita através de detergentes químicos específicos. Questiona-se, porém, a utilização destes produtos químicos, uma vez que possivelmente deixam resíduos nos alimentos, o que também impactaria negativamente na saúde do consumidor (KIM et al., 2013).

Em busca de unir a eficiência da redução microbiana com a qualidade dos alimentos, sugere-se o uso de tecnologias alternativas de processamento de alimentos (KIM et al., 2013). Entre estas tecnologias, está a radiação ultravioleta (UV), que comprovadamente reduz o crescimento microbiano, sendo amplamente utilizada para reduzir contaminações em hospitais, tratamentos de água e alimentos frescos. A luz UV divide-se em três regiões: UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 320 nm) e UV-A (320-400 nm). Nas regiões de comprimentos de onda mais curtos, a luz UV tem ação germicida pois afeta as ligações que formam o DNA dos

microrganismos, provocando a inativação deste grupo (BEGUM et al., 2009). Entre as vantagens da luz UV-C, estão a capacidade de manutenção das características sensoriais do produto, ausência de resíduos no tratamento e baixo custo operacional. Adicionalmente, o tratamento UV, ao ser combinado com a estocagem a baixas temperaturas, permite aumento da vida de prateleira de produtos frescos (KIM et al., 2013).

Desta forma, neste trabalho será estudado o efeito da aplicação de luz ultravioleta, a partir de lâmpadas de LED, em folhas de couve, comparando o impacto desta tecnologia em parâmetros microbiológicos e no conteúdo de componentes de interesse, como fenólicos totais, clorofilas a e b e minerais (ferro, cálcio, potássio).

## **2. Objetivos**

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da luz ultravioleta como método de conservação de amostras de folhas de couve por meio de análises microbiológicas e físico-químicas.

#### 2.1.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a estabilidade microbiológica de folha de couve submetida a tratamento de luz ultravioleta em função do tempo de estocagem sob baixas temperaturas.
- Avaliar a estabilidade de compostos fenólicos nas folhas de couve tratadas, por meio de análise físico-química para determinar a concentração dos mesmos nas folhas, possibilitando a comparação e estudo do efeito dos tratamentos aplicados
- Levantar dados nutricionais através da quantificação de compostos minerais (potássio, ferro e cálcio) em função dos tratamentos aplicados

### 2.2. Justificativa

O consumo de alimentos saudáveis está em ascensão juntamente com a tendência da população de buscar um estilo de vida mais saudável. Diante do exposto, o mercado de vegetais e hortaliças é de suma importância pois alimentos frescos, especialmente os que

comprovadamente promovem benefícios à saúde, são extremamente visados pela população e consumidores.

Uma das preocupações de quem comercializa ou consome este tipo de alimento é a estabilidade destes sob condições de estocagem. Diversos problemas podem estar atrelados a más práticas que vão desde a colheita até a armazenagem destes produtos. A estabilidade microbiológica é um dos fatores de maior importância e é o motivo pelo qual existem tratamentos de sanitização em vegetais. Estes tratamentos visam estender a vida de prateleira dos produtos, agindo de forma a diminuir sua carga microbiana e assim retardar sua deterioração. Entretanto, o uso de sanitizantes químicos não se apresenta como a melhor alternativa de tratamento, visto que os resíduos deixados pelos sanitizantes podem causar efeitos indesejáveis à saúde do consumidor.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1. Hábitos saudáveis de alimentação

O consumo de frutas e vegetais está diretamente relacionado a um estilo de vida saudável e princípios de boa saúde e bem-estar. Os benefícios para a saúde são obtidos através de nutrientes, bem como da ingestão de alimentos específicos que os fornecem, além das possíveis combinações entre eles, suas formas de preparo e características do modo de comê-los (BRASIL, 2014; CALLEJÓN, 2015).

Todavia, a relação entre alimentação e saúde não está ligada diretamente ao consumo de nutrientes, mas sim ao tipo de alimento a ser consumido. Estudos mostram que os benefícios fornecidos pelos nutrientes presentes em frutas e verduras não se mantêm com intervenções baseadas em medicamentos ou suplementos (BRASIL, 2014).

Atualmente, a busca por hábitos saudáveis e qualidade de vida tem aumentado consideravelmente, com destaque para a alimentação saudável e equilibrada, que são fundamentais para tal objetivo. No Brasil, a vendas de frutas, legumes e verduras representa até 13% do faturamento total de supermercados, levando ao aumento do espaço dedicado a este tipo de produto nos pontos de comercialização (MACHADO, 2017; SATO, 2009).

Estudos a respeito das tendências alimentares no Brasil apontam que saudabilidade e bem-estar, bem como sustentabilidade e ética, representam forte potencial de crescimento, visto que os consumidores se encontram em busca de alimentos que tragam benefícios à saúde. A busca por um estilo de vida mais saudável acompanha as descobertas científicas que ligam diversas dietas às doenças (BARBOSA et. al, 2010).

Entre os segmentos de consumo emergentes neste cenário, destaca-se o aumento da procura por alimentos funcionais e produtos para dietas e controle de peso. O consumo de alimentos funcionais está ligado ao nicho de mercado referente a produtos benéficos ao desempenho físico e mental, à saúde cardiovascular, saúde intestinal, estado de ânimo, entre outros (BARBOSA et. al, 2010)

### 3.2. Couve de folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*)

A couve de folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) se origina do continente europeu. Esta hortaliça é identificada, botanicamente, como uma planta arbustiva que varia entre 40 a 120 cm de altura, atingindo a maturidade ótima entre 30 e 40 cm de comprimento. Suas folhas se apresentam pecioladas, pouco carnosas, espessas, tendo sua distribuição em volta do caule em forma de roseta (Figura 1) (MACHADO, 2017; TRANI et. al, 2015).

Também conhecida como couve-comum ou couve-manteiga, esta hortaliça é uma cultura típica das estações outono e inverno, dado que apresenta certa tolerância ao calor, e apresenta incidência anual ou bienal, com o início de sua colheita ocorrendo de 80 a 90 dias após o plantio (CATÁLOGO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2016; TRANI et. al, 2015).

De acordo com dados do último censo agropecuário, aproximadamente 93.551 toneladas de couve foram produzidas no Brasil no ano de 2006, sendo o foco dos produtores a comercialização por meio de horticultura e floricultura (IBGE, 2009). A presença desta hortaliça na agricultura familiar brasileira se dá pela sua facilidade de propagação, além de ser valorizada pela população pela diversidade de aparência, cor e textura apresentadas pelas folhas (TRANI et. al, 2015).

O consumo de couve tem aumentado gradativamente, devido às novas maneiras de utilização deste vegetal na culinária, bem como descobertas recentes quanto às suas propriedades nutricionais e medicinais (TRANI et. al, 2015). Considerado rico em nutrientes, este alimento fornece cálcio, ferro e vitaminas A, C, K e B5 em quantidades adequadas para promover benefícios à saúde (CATÁLOGO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2016).



Figura 1: Couve de folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*)  
Fonte: Google imagens

### 3.3. Minerais

Os elementos minerais são substâncias inorgânicas indispensáveis para a saúde humana e o funcionamento adequado do organismo. Representando cerca de 4% do peso do corpo humano, estes elementos são armazenados de maneira complexa, na forma de quelatos, combinados com outros constituintes orgânicos (enzimas, hormônios, vitaminas, proteínas, lipídios). Na natureza, se encontram combinados com outros agrupamentos químicos, como óxidos, carbonatos, sulfatos, fósforos, entre outros (FIORINI, 2008)

Diversas são as funções dos minerais relacionadas à regulação e funcionamento em nosso organismo, além de servir de estrutura para ossos e dentes. Mesmo diante de todos os benefícios que estes elementos nos trazem, o consumo de minerais vem decaindo proporcionalmente à diminuição da qualidade da alimentação humana, o que está relacionado ao processamento excessivo de alimentos, bem como à filtração de água (RECINE; RADAELLI, 2014; FIORINI, 2008).

Dentre as principais funções dos minerais, destacam-se: constituição de ossos e dentes (cálcio e flúor); atuação em processos orgânicos e ativação de reações essenciais (magnésio); regulação de líquidos corporais (sódio e potássio); metabolismo de carboidratos e proteínas (potássio); transferência de oxigênio no sangue, respiração celular, proteção do organismo

contra infecções e auxílio da performance cognitiva (ferro); auxílio nos processos da glândula tireóide (iodo), entre outros (RECINE; RADAELLI, 2014).

A couve, por suas características botânicas e vegetais se encaixa no grupo de alimentos verdes ricos em diversos minerais, sendo eles magnésio, cálcio, ferro, zinco, potássio (LUENGO, 2017).

O efeito da aplicação de luz ultravioleta no conteúdo de minerais de vegetais é trazido pela literatura com resultados variados. Espera-se, após a aplicação da irradiação, que o mecanismo de resposta ao stress induza um decréscimo do conteúdo de minerais a um primeiro momento. Porém, após certo tempo de armazenamento a baixas temperaturas, a concentração de minerais pode ser aumentada na tentativa da planta de reestabelecer sua homeostase, bem como proteger o tecido vegetal da irradiação. (GOGO et. al, 2017).

#### 3.4. Compostos fenólicos

O consumo de alimentos saudáveis como frutas e hortaliças tem sido relacionado à prevenção de algumas doenças degenerativas, especialmente causadas pela ação dos radicais livres no organismo humano. Os radicais livres são moléculas geradas pela atividade metabólica regular do organismo e reagem com DNA, RNA, proteínas e outras substâncias oxidáveis, podendo afetar negativamente a saúde, contribuindo para o envelhecimento e doenças como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

As propriedades benéficas à saúde relacionadas a estes tipos de alimentos são atribuídas à presença dos compostos antioxidantes, grupo de substâncias que engloba os compostos fenólicos (especialmente os flavonoides), betacaroteno, vitamina C e vitamina E. Estas substâncias agem como agentes redutores devido à presença de um anel aromático com uma ou mais hidroxilas em sua estrutura, servindo como proteção contra as diversas reações oxidativas (MELO, 2006; CAMPOS et. al., 2008).

Compostos fenólicos podem ser degradados durante diversas etapas do preparo e comercialização de vegetais. O fatiamento de vegetais provoca desarranjo de estruturas do tecido vegetal, desta forma os expõem à ação de enzimas naturais ali presentes, causando a degradação de antioxidantes. Condições de estocagem como luz, calor e oxigênio também contribuem para a degradação destes compostos. Estudos indicam que a cocção (preparo mais comumente utilizado) de diversos vegetais causa diminuição na concentração de compostos fenólicos (CAMPOS et. al., 2008).

O conteúdo de compostos fenólicos e antioxidantes de alimentos vegetais, como por exemplo hortaliças verdes folhosas, é algo de extrema importância para os consumidores e torna a couve um alimento de grande interesse (RIGUEIRA et. al., 2016).

### 3.5. Clorofilas

As clorofilas são consideradas umas das substâncias bioativas que quando presentes em alimentos fornecem diversos benefícios relacionados à nutrição e saúde. Estas substâncias são responsáveis pelos pigmentos verdes mais abundantes em plantas e se dividem em um grupo de substâncias semelhantes entre si, conhecidas como clorofilas a, b, c e d (LANFER-MARQUEZ, 2003; VOLP et. al, 2009).

De maior importância na nutrição humana, a clorofila a compõe cerca de 75% dos pigmentos verdes encontrados em vegetais. Com grande semelhança à clorofila a, a clorofila b se difere desta por uma pequena variação em sua estrutura química. Ademais, as clorofilas c e d estão presentes em algas e não são de grande importância para a nutrição humana (LANFER-MARQUEZ, 2003).

A presença da clorofila dos alimentos, por si só, não é comprovadamente atribuída aos processos de inibição ou retardo de doenças degenerativas, sendo estes efeitos fortemente atrelados ao consumo de vegetais, por conta de suas atividades antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica (LANFER-MARQUEZ, 2003).

A degradação deste componente em vegetais frescos se dá por reações enzimáticas, que formam feofitinas e feoforbídeos, conferindo coloração amarronzada ao vegetal, característica indesejável por parte dos consumidores. Este fenômeno pode acontecer devido a etapas do processamento, desidratação de vegetais, mau armazenamento, más condições de colheita e estágio de maturação inadequado. O processamento térmico, através do processo chamado de feofitinação (substituição do átomo de Mg por dois átomos de H), também confere a degradação da clorofila, embora ocorra por uma via não-enzimática (LANFER-MARQUEZ, 2003; STREIT et. al, 2005).

### 3.6. Contaminação por microrganismos

Um dos principais aspectos relacionados às hortaliças, a segurança microbiológica é fundamental para garantir a qualidade do produto. Os produtos são expostos a contaminações



em qualquer etapa da cadeia produtiva, desde as etapas preliminares do cultivo até o momento do processamento, transporte, comercialização, armazenagem e consumo final (SANTOS; JUNQUEIRA, 2012). As alterações microbiológicas em hortaliças variam de acordo com a composição da microflora de cada alimento, que, por sua vez, sofre alteração direta de outros fatores como ambiente, manipulação, água disponível, temperatura, atmosfera e acidez (ROCHA et. al, 2014).

A qualidade microbiológica de vegetais está relacionada à presença de microrganismos deteriorantes, que conferem características indesejáveis aos alimentos, tais como alterações sensoriais em sua cor, sabor e aroma, além de resultar em danos à saúde no consumidor quando houver concentrações de microrganismos patogênicos. A segurança microbiológica de vegetais pode ser entendida como a ausência de toxinas microbianas e microrganismos causadores de infecções alimentares, toxinfecções e intoxicações (SANTOS et. al, 2015).

A contaminação destes alimentos pode também estar associada ao solo, no caso deste ter sido utilizado anteriormente para atividades como a criação de gado, abate de animais ou a aplicação indevida de fertilizantes orgânicos. Ademais, outra possibilidade de contaminação se encontra na água de irrigação, que pode estar poluída (MACHADO, 2017).

### 3.7. Microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios

A contagem de microrganismos mesófilos aeróbios detecta, em um alimento, o número de bactérias aeróbias ou facultativas e mesófilas que se desenvolvem na faixa de temperatura de 35 a 37 °C. A presença, bem como a quantidade destes microrganismos encontrados em alimentos são indicadores microbiológicos da qualidade destes, indicando se a linha de processamento industrial (limpeza, desinfecção e controle de temperatura) foi feita de forma adequada (SILVA, 2002)

Embora não estejam associados diretamente a patógenos, os microrganismos mesófilos aeróbios são importantes por fornecer uma ideia do tempo útil de conservação de alimentos. Altas populações destes microrganismos impactam negativamente a vida de prateleira de hortaliças, indicando, entre outros, condições inadequadas de temperatura na etapa de conservação. (SILVA, 2013).

Alimentos com alta carga de microrganismos psicrotróficos aeróbios (microrganismos que se desenvolvem entre 0 e 7 °C) podem ser considerados impróprios para o consumo, devido a perda de valor nutricional, alterações organolépticas e ao grande risco de contaminação. A

presença de patógenos como *Lysterya monocitogenes* está relacionada a esta contagem e representa um grande risco para a saúde (BRUNO et al 2005).

Ademais, de maneira similar aos mesófilos aeróbios, estes microrganismos também estão relacionados a deterioração do produto, de forma a reduzir a vida de prateleira de vegetais, além de servir de indicativo para operações de limpeza e sanitização malconduzidas (BRUNO et al 2005).

### 3.8. Higienização de vegetais

Alimentos que são consumidos in natura, ou seja, que não sofrem alterações ou processamento após deixarem a natureza, necessitam de um maior cuidado e atenção pelo consumidor pelo fato de serem consumidos crus. Saladas e hortaliças se enquadram neste grupo de alimentos, e por isso são considerados como veículo de transmissão de patógenos causadores de DTA (MACHADO 2017). Diante disto, a eficiência dos processos de limpeza, lavagem e sanitização têm um papel fundamental na qualidade microbiológica do produto final.

Uma alternativa para a higienização é a lavagem simples com água potável. Este processo permite a remoção de componentes físicos do solo e uma pequena parte dos microrganismos presentes, porém não é suficiente ao ponto de reduzir significativamente a carga microbiana presente no alimento. A partir do exposto, conclui-se que os métodos de sanitização são fundamentais para o controle microbiológico destes alimentos. (MACHADO, 2017).

Para atingir este objetivo, diversos compostos químicos são empregados na higienização de hortaliças, sendo os compostos clorados os mais comumente utilizados, em especial o hipoclorito de sódio. A ação destes compostos se baseia na formação do ácido hipocloroso, quando em solução aquosa, provocando ação oxidativa com liberação de gás oxigênio, que interage com componentes do protoplasma celular, inviabilizando as células microbianas (MACHADO, 2017).

Como pontos positivos na utilização de compostos clorados, destacam-se o baixo custo, facilidade de uso, boa atividade antimicrobiana, dissolução adequada em água, entre outros. Na

indústria de hortaliças, emprega-se o uso de compostos clorados inorgânicos (hipoclorito de sódio) e orgânicos (dicloroisocianurato de sódio) (MACHADO, 2017).

### 3.9. Novas tecnologias de tratamento de alimentos

Apesar da alta eficiência na sanitização de alimentos, os compostos clorados apresentam-se controversos pelo risco que trazem à saúde dos consumidores e dos manipuladores. Alguns possíveis problemas a serem citados são: irritação na pele; irritação do trato respiratório e hipercloração da água. Este último está relacionado ao processo de formação de trihalometanos e outros subprodutos extremamente perigosos por serem cancerígenos. A formação de trihalometanos se dá através da reação do cloro com matéria orgânica, que pode estar presente na forma de tecido vegetal (MACHADO, 2017).

Diante do exposto e com o conhecimento da importância da etapa de sanitização, métodos alternativos independentes de temperatura ou de compostos químicos, como processamento por alta pressão, campo elétrico pulsado, radiações ionizantes, entre outros têm emergido com o objetivo de garantir aumento na vida de prateleira, bem como preservar a qualidade sensorial e características desejáveis dos produtos, e que sejam pouco danosas ao meio ambiente (MACHADO, 2017).

### 3.10. Tecnologia ultravioleta (UV)

Além do interesse em não utilizar compostos químicos no tratamento de alimentos, as novas tecnologias buscam substituir também a utilização de temperatura no tratamento de alimentos, visto que diferentes matrizes alimentares sofrem influência negativa ao receber a aplicação de calor (FENG et al., 2013).

A tecnologia de radiação ultravioleta se apresenta como uma alternativa não-térmica para o tratamento de superfícies (como matrizes folhosas) e pode ser subdividida em três regiões de comprimento de onda: ondas curtas (UVC), ondas médias (UVB) e ondas longas (UVA). A radiação UVC tem efeito germicida e se dá no comprimento de onda entre 200 e 280 nm, agindo sobre bactérias, leveduras, bolores e vírus. Sua ação se baseia na absorção da radiação pelo DNA, que é afetado negativamente tendo seu mecanismo de replicação prejudicado, de forma a causar inativação nos microrganismos (FENG,2013; KIM, 2013).

O mecanismo de inativação microbiana com a aplicação de luz ultravioleta se dá com a formação de fotoprodutos no DNA, com destaque para o dímero de pirimidina, que é capaz de interromper a transcrição e tradução gênica. Por este motivo, microrganismos podem se proteger em pontos escondidos da aplicação da luz, e desta forma o efeito de esterilização não é alcançado. A letalidade dos microrganismos se dá, portanto, através alteração do DNA dos microrganismos presentes na superfície alimentar com a formação de dímeros, que é desencadeada com a absorção da luz UV (BIRMPA, 2013).

A utilização da radiação UV em combinação com o armazenamento em baixas temperaturas é desejável para obter como resultado o aumento da vida de prateleira de produtos frescos, sendo seu efeito mais eficaz em superfícies lisas e limpas, pois rachaduras e fissuras podem proteger as células de serem irradiadas (BEGUM, 2009; KIM, 2013).

### 3.11. Tecnologia ultravioleta LED

Embora sua aplicação seja largamente aceita e utilizada em diferentes ramos, as lâmpadas UV fluorescentes, que são comumente utilizadas nas cabines de tratamento, apresentam algumas desvantagens como liberação de mercúrio, necessidade de tempo de aquecimento, dependência da temperatura da lâmpada, além de emitir em todos os comprimentos de onda do espectro luminoso (KIM, 2017).

Diante do exposto, a tecnologia LED foi desenvolvida para driblar estes problemas. Esta tecnologia apresenta valores de irradiância que independem da temperatura, contrariando o observado com lâmpadas fluorescente. Ademais, lâmpadas LED apresentam menor tamanho quando comparadas às lâmpadas fluorescentes de mercúrio e podem ser aplicadas em diferentes formatos de cabine e dispositivos UVC (KIM, 2017).

Outra vantagem a ser destacada a respeito desta tecnologia é a capacidade de manipulação do comprimento de onda a ser emitido, de forma a permitir o ajuste para o valor ideal que garantirá maior absorção da radiação pelo DNA (KIM, 2017).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Amostragem

As amostras de couve foram adquiridas em mercado na área comercial da cidade de Campo Mourão – PR e seguiram para as análises em laboratório.

### 4.2. Tratamento das amostras e condições de estocagem

Para o tratamento com LED UV-C, a amostra foi exposta à iluminação de quatro LEDs no comprimento de onda de 265 nm e 280 nm (potência de 200 mW), sendo 10 minutos para cada intensidade, totalizando 20 minutos de tratamento. O material tratado foi posicionado a 8,5 cm dos LEDs superior e inferior e a 5 cm dos LEDs laterais e da parede de fundo (Figura 2).

O tratamento de sanitização convencional foi conduzido de acordo com o descrito por Silva et. al (2015). O vegetal foi submerso, durante 15 minutos, em solução de cloro a 200 ppm, antes de ser enxaguado para a remoção de resíduos. Para preparar a solução sanitizante, utilizou-se hipoclorito de sódio a 2%.



Figura 2: Equipamento a ser utilizado para o tratamento das amostras  
Fonte: Autoria própria

As amostras tratadas, bem como as utilizadas como controle foram estocadas a 5 °C em sacos plásticos estéreis para a realização das análises microbiológicas e em béqueres de vidro devidamente cobertos para as realizações das análises físico-químicas nos tempos de 0, 3 e 7 dias de armazenamento.

#### 4.3. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas seguiram a metodologia descrita por Silva et al. (2017) para contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. Cerca de 10 g da amostra foram submetidos aos tratamentos com LED e solução sanitizante. Após o tratamento, as amostras tratadas e controle foram homogeneizadas com 90 mL de água peptona a 0,1% dando origem à primeira diluição seriada ( $10^{-1}$ ). Partindo-se da diluição  $10^{-1}$ , foram preparados tubos até a diluição  $10^{-4}$ . O método *Pour plate* foi utilizado para o plaqueamento com meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA). Para a contagem de aeróbios mesófilos, as placas foram incubadas por 48 horas em estufa a 35 °C, enquanto a incubação das placas para contagem de aeróbios psicrotróficos foi realizada por 7 dias em geladeira a 5 °C. Após o período de incubação, foram feitas as contagens dos microrganismos nas placas, optando-se, sempre, pelas diluições que tiverem número de microrganismos entre 20 e 200. O procedimento foi realizado em duplicata.

#### 4.4. Análise de minerais

A análise de minerais foi conduzida baseada na metodologia descrita por Gogo et al. (2017), com adaptações. Para a digestão, 0,2 g de cada amostra (tratadas e controle) recebeu a adição de 5 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) a 65% e 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30%. O conteúdo foi levado a bloco digestor para que a digestão fosse completada. No bloco digestor, os tubos foram aquecidos a 215 °C por 15 min, antes de serem deixados por 30 min a temperatura ambiente para resfriamento e posteriormente filtrados com o auxílio de filtro de papel. O conteúdo digerido foi diluído em 10 ou mais vezes para que as leituras fossem realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica (AnalytikJena, modelo novAA® 300). Para a construção das curvas de calibração (Figuras 3, 4 e 5), soluções de Fe, Ca e K foram elaboradas, a partir de solução de ferro padrão,  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{KCl}$ , respectivamente.

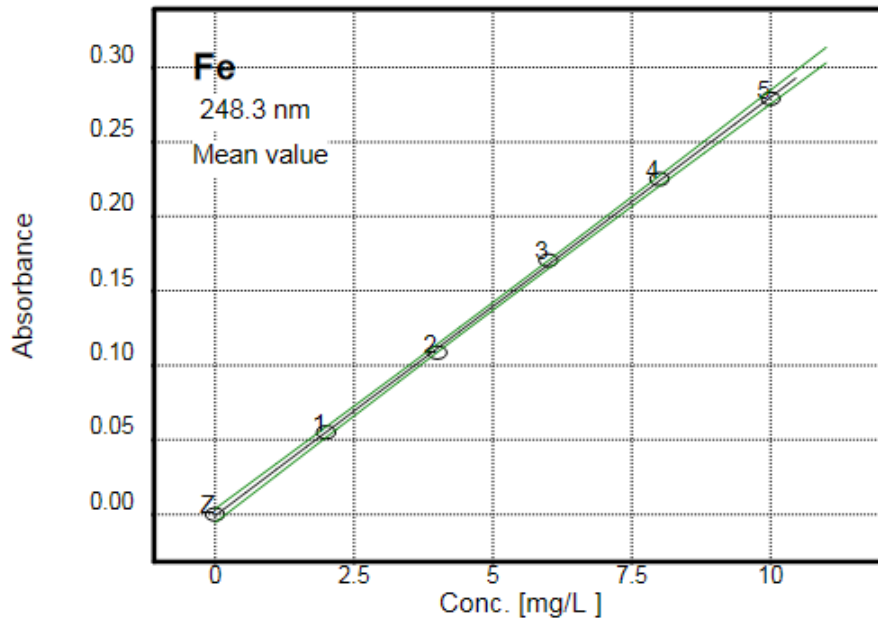


Figura 3: Curva de calibração do componente Ferro ( $R^2: 0,9994$ )  
Fonte: Autoria própria (2019)

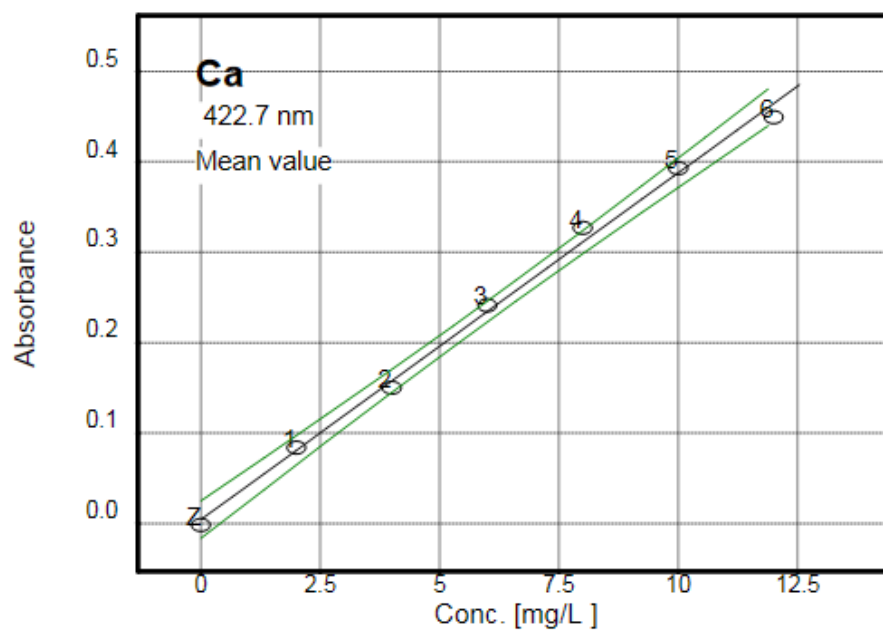


Figura 4: Curva de calibração do componente Cálcio ( $R^2: 0,9940$ )

Fonte: Autoria própria (2019)

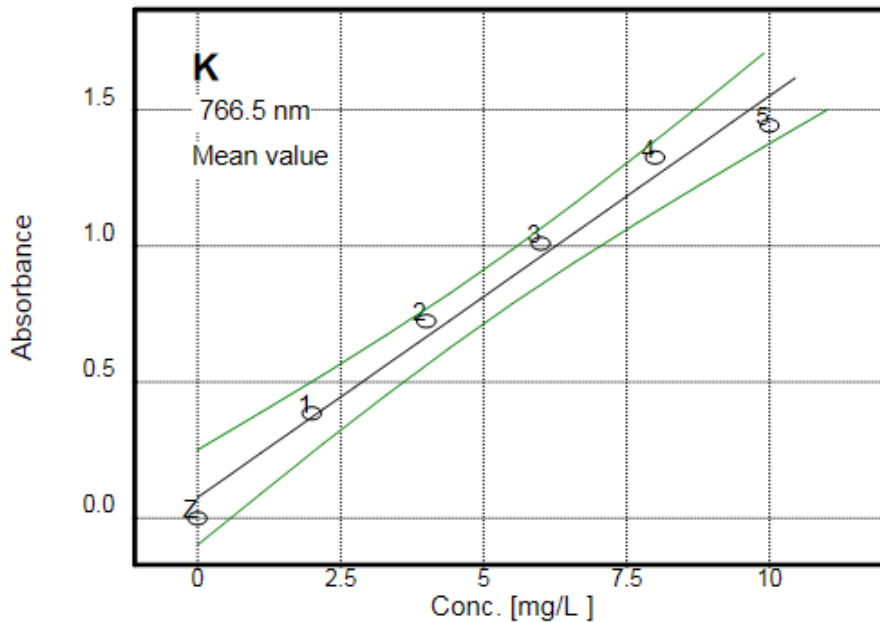


Figura 5: Curva de calibração do componente Potássio ( $R^2: 0,9695$ )

Fonte: Autoria própria (2019)

#### 4.5. Análise de clorofilas

A determinação de clorofila nas amostras foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Dere et al. (1998), com adaptações. Para a extração da clorofila, foram pesados 2 g de amostra (tratadas e controle), que receberam 100 mL de acetona a 100%. O conteúdo foi homogeneizado em agitador mecânico a 1000 rpm por 1 minuto, antes de ser filtrado com o auxílio de filtro de papel. O filtrado foi centrifugado utilizando centrífuga refrigerada Nova Técnica NT825 a 2500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (*ThermoScientific™ GENESYS™ 30 Visible Spectrophotometer*) nos comprimentos de onda de 662 nm e 645 nm. O cálculo das concentrações de clorofila a e b foi realizado de acordo com as Equações (1) e (2):



$$C_a: 11,75A_{662} - 2,350A_{645}$$

(Equação 1)

$$C_b: 18,61A_{645} - 3,960A_{662}$$

(Equação 2)

#### 4.6. Análise de fenólicos totais

A conteúdo de fenólicos totais foi avaliado de acordo com a metodologia descrita por Rigueira et. al (2016). O procedimento consistiu em triturar a amostra com o auxílio de almofariz de porcelana e adicionar 20 mL de solução metanol/água a 60% v/v a 2 g de amostra triturada, antes de agitar o conteúdo por 1h com o auxílio de agitador magnético e realizar a filtração com filtro de papel. Após a etapa de filtração, adicionou-se 0,5 mL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 7,5% e 0,5 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* a 20%. Em seguida, os tubos passaram por agitação em vórtex por 1 min antes de permanecerem em repouso por 30 min em local escuro. A absorvância em 765 nm foi tomada para a utilização da equação de calibração, de forma a expressar os resultados em mg de fenólicos totais de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra.

A curva de calibração (Figura 6) foi construída a partir das soluções padrões de concentração conhecidas: 50, 100, 150, 200, 300 e 400  $\mu\text{g/mL}$ . A curva apresenta bom ajuste  $R^2$  (0,9472) e tem como equação de calibração  $\text{Abs} = 0,0062 * C + 0,7676$ , em que Abs = absorvância e C = concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ).

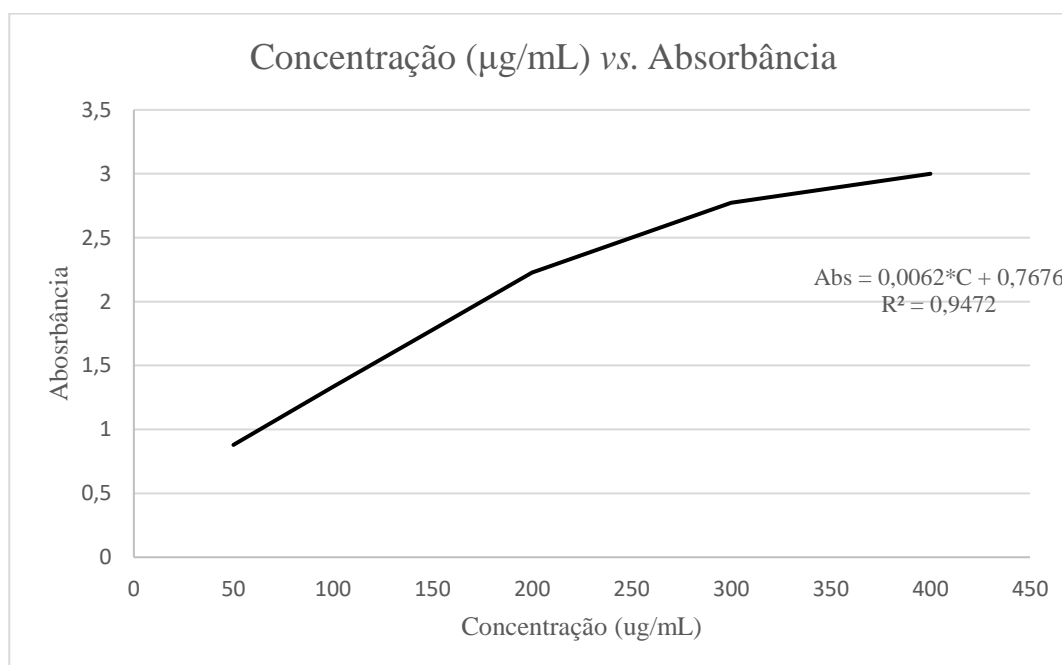


Figura 6: Curva de calibração para a concentração de compostos fenólicos  
Fonte: Autoria própria (2019)

#### 4.7. Análise estatística

Com o auxílio dos softwares Microsoft Excel e PAST, os resultados obtidos no experimento foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas através do Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O processo de análise estatística foi baseado em duas repetições de resultados em laboratório (dados analisados em duplicata).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Análises microbiológicas

As contagens logarítmicas de microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) para os diferentes tratamentos e dias são apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Observando a Tabela 1, percebe-se que todos os tratamentos foram capazes de promover redução da carga microbiana de microrganismos mesófilos em todos os dias de armazenamento, em especial a sanitização com hipoclorito de sódio. Entretanto, o tratamento com luz ultravioleta (UV) também se apresentou efetivo, mas não diferiu significativamente nos dias 3 e 7 do tratamento de sanitização com hipoclorito, cujas contagens foram as menores durante todos os dias de armazenamento.

Para melhor efeito de comparação, o gráfico presente na Figura 7 apresenta as reduções microbianas logarítmicas em função dos dias, para os microrganismos mesófilos. Destaca-se, avaliando a imagem, o comportamento similar da amostra tratada com luz ultravioleta em relação à amostra submetida ao tratamento convencional, em que ambas apresentaram reduções logarítmicas semelhantes, em especial nos dias 3 e 7, de forma com que as contagens para as duas amostras tratadas nos dias 3 e 7 não apresentaram diferenças significativas entre si, corroborando a semelhança entre elas no gráfico e o que pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1:**Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento (log UFC/g)

		<b>Dias de armazenamento</b>		
<b>Tratamentos</b>		0	3	7
Controle		6,19+- 0,01 <sup>Ba</sup>	5,92+- 0,06 <sup>Bb</sup>	6,43 +- 0,01 <sup>Bc</sup>
LED UV		5,35+- 0,03 <sup>Aa</sup>	4,76+- 0,08 <sup>Ab</sup>	6,00+- 0,01 <sup>Ac</sup>
Sanitização com cloro		5,02+- 0,05 <sup>Ca</sup>	4,67+- 0,11 <sup>Ab</sup>	5,89 +- 0,01 <sup>Ac</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula (comparação entre dias) na mesma linha não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

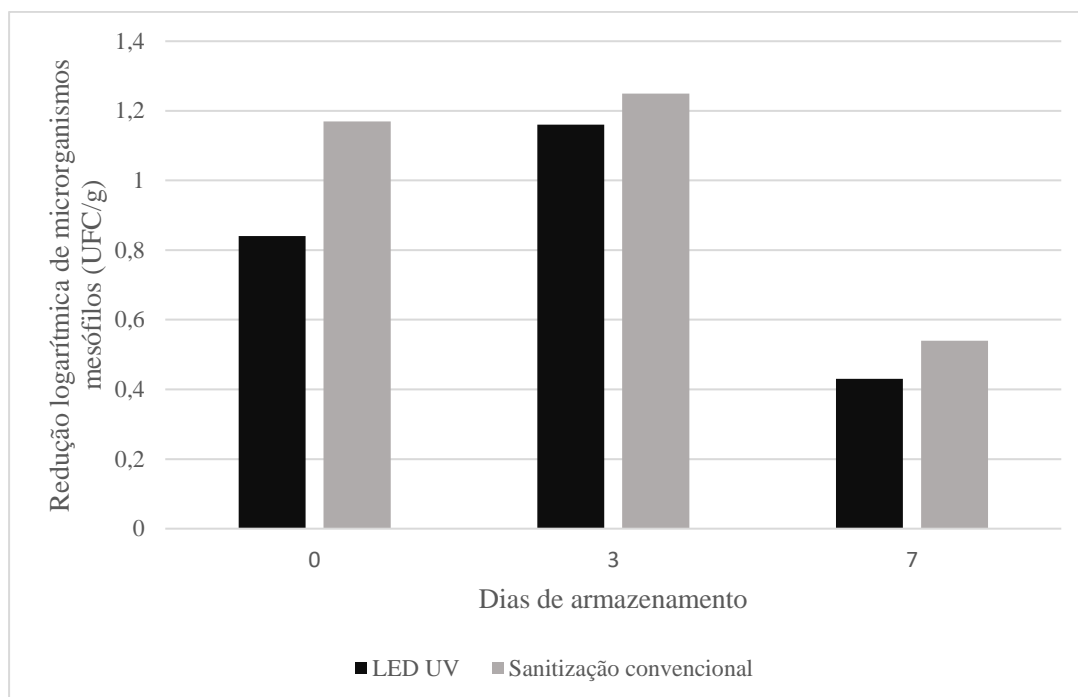


Figura 7: Redução logarítmica de microrganismos mesófilos aeróbios (log UFC/g) em função dos dias de armazenamento.

Fonte: Autoria própria.

De maneira similar à contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, a contagem de psicrotróficos (Tabela 2) indica efetividade de ambos os tratamentos aplicados. Neste caso, a partir do terceiro dia de estocagem, o tratamento LED UV apresentou menores contagens, com destaque para o terceiro e sétimo dia de armazenamento, em que houve diferença significativa entre a menor contagem (tratamento UV) e as demais. A evolução do crescimento microbiano foi menor na amostra tratada com LED UV em comparação às outras amostras, tendo ocorrido uma leve alteração entre os dias 0 e 7 (de 4,18 log UFC/g no dia 0 para 4,88 log UFC/g no dia 7).

Analisando o gráfico da Figura 8, percebe-se mais uma vez o comportamento semelhante das amostras tratadas em relação à não tratada, assim como foi observado para os microrganismos mesófilos aeróbios. Neste caso, a redução logarítmica no último dia de armazenamento apresentou números similares para os dois tratamentos, porém nota-se que para este tipo de microrganismo, o tratamento LED se mostrou mais efetivo ao longo dos dias de armazenamento, de forma a ter resultado em maior redução logarítmica nos dias 3 e 7, com destaque para a redução de 0,92 log UFC/g alcançado pelo tratamento LED UV no terceiro dia de tratamento, contra 0,47 log UFC/g do tratamento de sanitização convencional. Este resultado

é interessante, pois o tipo de alimento estudado é, normalmente, armazenado em baixas temperaturas nos pontos de comercialização.

**Tabela 2:** Contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento

<b>Dias de armazenamento</b>			
<b>Tratamentos</b>	0	3	7
Controle	4,93+- 0,12 <sup>Ba</sup>	5,35 +- 0,07 <sup>Bb</sup>	5,70 +- 0,01 <sup>Bc</sup>
LED UV	4,18+- 0,2 <sup>Aa</sup>	4,43 +- 0,02 <sup>Aab</sup>	4,88 +- 0,05 <sup>Ab</sup>
Sanitização	3,59+- 0,02 <sup>Ca</sup>	4,88 +- 0,01 <sup>Cb</sup>	4,98 +- 0,02 <sup>Ac</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre dias) não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

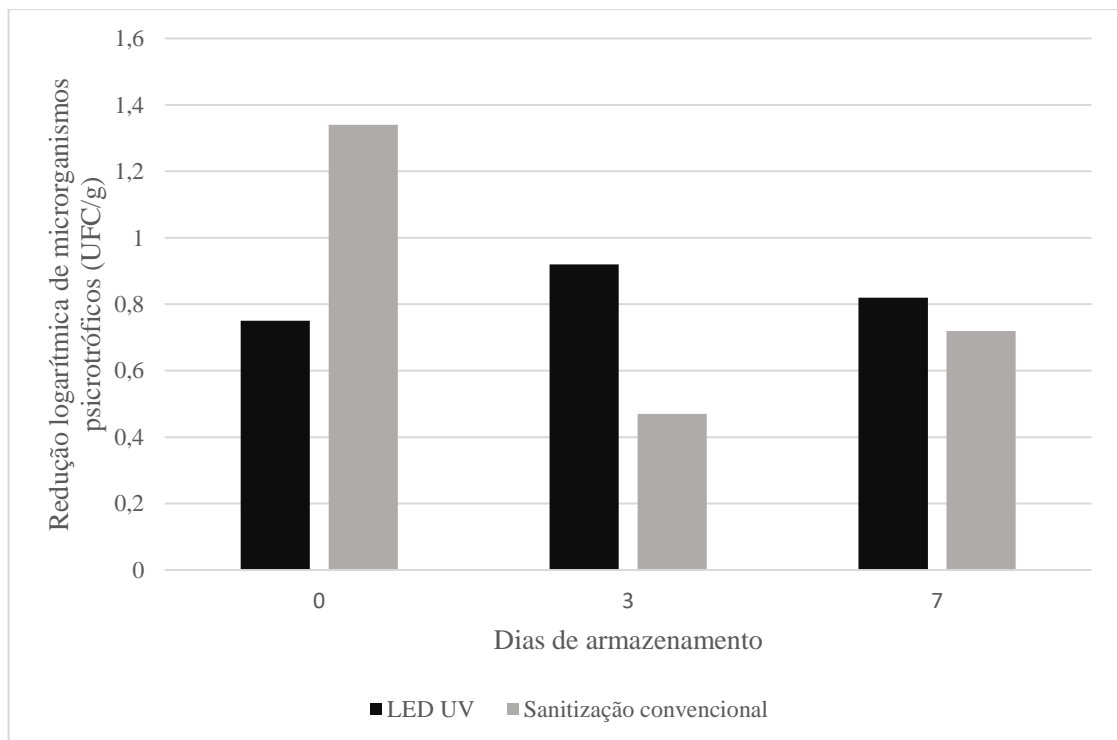


Figura 8: Redução logarítmica de microrganismos psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) em função dos dias de armazenamento.

Fonte: Autoria própria.

A utilização de tecnologias alternativas em folhas de couve foi estudada por Machado (2017), com a aplicação de ultrassom em combinação com soluções sanitizantes e avaliação do conteúdo de microrganismos mesófilos em função de dias de armazenamento. De maneira

similar ao presente estudo, a autora verificou a diminuição de pelo menos 1,0 log UFC/g nas amostras submetidas a tratamentos para o tipo de microrganismo em questão. Kim et. al. (2013) alcançou a redução de 1,45 log UFC/g para *E. coli*, 1,35 log UFC/g para *S. Typhimurium* e 2,12 UFC/g para *L. monocytogenes* (microrganismo psicrotrófico patógeno) com a aplicação de luz ultravioleta em amostras de alface. Gogo et. al (2017) também obtiveram reduções de aproximadamente 1,0 log UFC/g de microrganismos mesófilos aeróbios ao avaliar o efeito da aplicação de luz ultravioleta em vegetais folhosos africanos. Ao quantificar bactérias psicrotróficas aeróbias em couve minimamente processada, Barbosa et. al (2017) observou contagens superiores a 6,8 log UFC/g para microrganismos mesófilos e superiores a 6,2 log UFC/g para microrganismos psicrotróficos, percebendo entre estes a presença de bactérias potencialmente patogênicas como *L. monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *E. coli* O157:H7.

A tecnologia LED UV-C foi utilizada por Kim et. al (2017) para inativar bactérias *Gram* positivas e *Gram* negativas, atingindo altos valores de redução microbiana (5 log para *E. coli* e 3 log para *Salmonella spp.*). Os autores atingiram reduções inferiores a 1,0 log para *L. monocytogenes* e superiores a 2,0 log para *S. aureus*. Utilizando a mesma tecnologia, Akgun e Unluturk (2017) alcançaram reduções de até 4 log UFC/mL de *E. coli* K12 em amostras de suco de maçã.

A legislação vigente, RDC 12 de 2001 (BRASIL, 2001), não limita os valores de contagens de mesófilos e psicrotróficos aeróbios em frutas e hortaliças, porém diferentes recomendações sugerem que contagens superiores a 6,0 log UFC/g destes grupos microbianos representam altos riscos à saúde do consumidor, além de possivelmente causar alterações organolépticas indesejáveis nos alimentos (MACHADO, 2017; BARBOSA et al, 2017). Considerando estas recomendações, os resultados obtidos no presente trabalho podem ser considerados adequados.

## 5.2. Análise de minerais

As concentrações dos minerais ferro, cálcio e potássio nos diferentes dias de armazenamento são apresentadas numericamente nas Tabelas 3, 4 e 5, respectivamente.

Analisando a concentração de ferro no dia inicial, percebe-se que a aplicação dos tratamentos foi responsável por elevar a concentração deste componente, sem apresentar diferença significativa entre as amostras tratadas ( $p > 0,05$ ). Ao fim dos sete dias de armazenamento, a amostra controle, bem como a tratada pela sanitização convencional,

apresentaram aumento do conteúdo deste componente, de forma a todas as amostras se diferenciarem significativamente ( $p < 0,05$ ). Diferentemente das outras amostras, a tratada com LED ultravioleta sofreu decréscimo na concentração de Ferro durante o período de armazenamento.

**Tabela 3:** Concentração de Ferro (mg/kg) para os diferentes tratamentos durante o tempo de armazenamento

<b>Dias de armazenamento</b>		
<b>Tratamento</b>	0	7
Controle	78,2 +- 1,2 <sup>Ba</sup>	93,8 +- 1,2 <sup>Bb</sup>
LED UV	105,6 +- 1,0 <sup>Aa</sup>	87,6 +- 1,0 <sup>Ab</sup>
Sanitização	103,4 +- 2,2 <sup>Aa</sup>	125,1 +- 0,24 <sup>Cb</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre dias) não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

A concentração de cálcio após a aplicação dos tratamentos foi maior para a amostra tratada com LED ultravioleta, seguida da amostra controle e sanitização convencional, como pode ser observado na Tabela 4. Ao longo do tempo de estocagem, entretanto, houve o acréscimo da concentração deste componente na amostra tratada com solução de hipoclorito de sódio, não apresentando diferença significativa em relação à tratada com LED UV no sétimo dia. Adicionalmente, estes dois tratamentos foram os que apresentaram as duas maiores médias no último dia de armazenamento. Na amostra controle, o conteúdo de cálcio se manteve estatisticamente inalterado, de forma a não existir diferenças significativas entre o primeiro e último dia de estocagem, embora esta tenha sido a menor entre as três médias.

**Tabela 4:** Concentração de Cálcio (g/kg) para os diferentes tratamentos durante o tempo de armazenamento

<b>Dias de armazenamento</b>		
<b>Tratamento</b>	0	7
Controle	15,5 +- 0,3 <sup>Ba</sup>	15,3 +- 0,1 <sup>Ba</sup>
LED UV	17,8 +- 0,1 <sup>Aa</sup>	16,7 +- 0,4 <sup>Aa</sup>
Sanitização	14,2 +- 0,2 <sup>Ca</sup>	16,4 +- 0,2 <sup>Ab</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre dias) não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).



A concentração de potássio é apresentada numericamente na Tabela 5. Nota-se que a aplicação dos tratamentos foi responsável por diminuir a concentração deste componente antes das amostras serem estocadas, porém ao final do período de estocagem, todas tiveram seus conteúdos de Potássio elevados, apresentando diferenças significativas entre os dias de estocagem nos três casos. Mesmo apresentando a menor entre as médias no dia 0, o tratamento ultravioleta foi capaz de promover um grande aumento na concentração de potássio, registrando a maior média ao final do período de estocagem.

**Tabela 5:** Concentração de Potássio (g/kg) para os diferentes tratamentos durante o tempo de armazenamento

Tratamento	Dias de armazenamento	
	0	7
Controle	8,5 +- 2,9 <sup>Ba</sup>	9,26 +- 0,1 <sup>Bb</sup>
LED UV	7,1 +- 2,7 <sup>Aa</sup>	12,0 +- 0,1 <sup>Ab</sup>
Sanitização	7,8 +- 2,8 <sup>Ca</sup>	8,71 +- 0,2 <sup>Cb</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre dias) não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

O conteúdo de diversos minerais em função do tempo de armazenamento e da intensidade da aplicação de luz ultravioleta em vegetais folhosos foi avaliado por Gogo et. al 2017. Na ocasião, a concentração de Fe na amostra tratada, ao final do armazenamento, se mostrou superior à concentração da amostra controle, indicando que após o tratamento e sob condições de baixa temperatura, o tratamento com luz UV resulta no aumento do teor deste componente. Ademais, ao avaliar o conteúdo de Potássio, os autores observaram certa diminuição da concentração deste elemento na amostra controle ao longo da estocagem sob baixas temperaturas, além do aumento da concentração nas amostras tratadas com luz UV. No presente trabalho, o resultado foi similar para este elemento, dado que a concentração da amostra tratada com LED UV resultou nas maiores médias ao fim do período de estocagem. O efeito observado para o Cálcio foi similar ao do potássio.

A aplicação de luz ultravioleta pode impulsionar um mecanismo de resposta devido ao stress causado ao vegetal, resultando na diminuição do conteúdo de alguns elementos minerais (FORMICKI e STAWARZ, 2006; GOGO et. al, 2017). Este efeito foi observado nas concentrações de potássio, e para a amostra submetida a sanitização convencional no mineral

cálcio. O aumento da concentração de minerais ao longo do armazenamento foi observado por Barka et. al (2000), que relacionou a aplicação de luz UV em tomate à degradação de enzimas da parede celular, de forma a provocar a liberação de certos elementos minerais, consequentemente aumentando suas concentrações.

### 5.3. Análise de clorofilas

As concentrações de clorofilas a e b ( $\mu\text{g}$  de clorofila/g de couve) são apresentadas na Tabela 6. Para estes compostos, destaca-se a diminuição de suas concentrações nas amostras submetidas aos tratamentos, de forma com que a amostra submetida ao LED UV apresentou maior conteúdo de clorofila a e b em relação à tratada com hipoclorito de sódio durante todo o armazenamento, com exceção da concentração de clorofila b ao final do armazenamento (Dia 7). A amostra controle manteve as maiores médias para as concentrações de clorofilas, indicando que os tratamentos são potencialmente responsáveis por degradar tais pigmentos.

**Tabela 6:** Concentração de clorofila a e b para os diferentes tratamentos durante os dias de armazenamento ( $\mu\text{g}$  clorofila/g de couve)

<b>Dias de armazenamento</b>				
	0		7	
<b>Tratamento</b>	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila A	Clorofila B
Controle	488,9 +- 21,6 <sup>Aa</sup>	117,2 +- 2,17 <sup>Aa</sup>	231,5 +- 37,6 <sup>Ab</sup>	66,3 +- 20,1 <sup>Ab</sup>
LED UV	338,2 +- 19,7 <sup>Ba</sup>	90,0 +- 17,3 <sup>Ba</sup>	148,9 +- 2,3 <sup>Bb</sup>	3,7 +- 2,7 <sup>Bb</sup>
Sanitização	260,4 +- 3,5 <sup>Ca</sup>	56,1 +- 7,0 <sup>Ca</sup>	113,3 +- 0,8 <sup>Cb</sup>	20,6 +- 6,0 <sup>Cb</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ )

O conteúdo de clorofila a e b foi avaliado por Gogo et al. (2017) em função da dose aplicada e tempo de armazenamento de vegetais folhosos. Os autores observaram a degradação de clorofilas a e b ao longo da estocagem para amostras não tratadas, enquanto o conteúdo destes pigmentos nas amostras submetidas a luz UV foram variados, apresentando aumento em até 10 dias de armazenamento e decréscimo após este período, o que indica o efeito positivo da radiação UV-C sobre vegetais folhosos. Ademais, Simões (2004) observou degradação de clorofila ao longo do tempo em folhas de couve armazenadas a baixas temperaturas, em especial

naquelas submetidas a processamento mínimo. Entretanto, Streit et. al (2015) indicam que as clorofilas são foto-oxidadas, ou seja, sensíveis à presença de luz, sendo a concentração de clorofilas um indicativo da sensibilidade do tecido vegetal a fortes irradiações.

A degradação de clorofila em plantas submetidas a irradiação de luz ultravioleta fluorescentes foi observada por Salama et al. (2011). Os autores relacionaram este resultado à desnaturação de compostos fotossintéticos sensíveis à radiação UV. Boeger et al. (2006) também verificaram a degradação de clorofila em ervas tratadas com luz UV, e associaram este resultado à ruptura de tilacoides (membranas localizadas no interior dos cloroplastos). O decréscimo de clorofila b em algas foi estudado por Nassour et al. (2017). Os autores relacionaram a degradação deste componente com o tempo de exposição das algas à luz UV-C, observando uma relação diretamente proporcional entre o tempo de irradiação e a degradação de clorofila.

#### 5.4. Análise de fenólicos totais

As concentrações de fenólicos totais (mg EAG/100g de couve) para os tratamentos durante o decorrer do período de estocagem são mostradas na Tabela 7. Nota-se que nenhuma das três amostras diferiram-se significativamente entre si ao longo dos três dias de estocagem, embora a amostra controle tenha registrado maior média no dia 0, seguida da amostra submetida à sanitização convencional e da tratada por LED UV. Entretanto, este panorama variou durante o tempo de armazenamento, sendo que a amostra LED UV registrou médias maiores do que a tratada convencionalmente no dia 3, e ambas amostras tratadas registraram médias maiores do que a amostra controle ao fim do período de armazenamento (dia 7). Para as amostras que receberam aplicação de tratamento nota-se, também, que suas médias não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) ao longo dos dias de estocagem, sendo apenas as médias da amostra controle durante os dias significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 7:** Concentração de compostos fenólicos (mg EAG/100g de couve) para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento

<b>Dias de armazenamento</b>			
<b>Tratamentos</b>	0	3	7
Controle	286,6 +- 5,8 <sup>Aa</sup>	352,7 +- 10,6 <sup>Ab</sup>	191,3 +- 19,0 <sup>Ac</sup>

LED UV	226,1 +- 100,0 <sup>Aa</sup>	341,5 +- 13,2 <sup>Aa</sup>	209,5 +- 23,8 <sup>Aa</sup>
Sanitização	236,2 +- 24,6 <sup>Aa</sup>	312,2 +- 7,3 <sup>Aa</sup>	257,2 +- 25,7 <sup>Aa</sup>

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre linhas) não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

Maghoumi et al. (2013) quantificaram o conteúdo de compostos fenólicos em romã, e os autores puderam verificar a manutenção destes componentes ao longo do armazenamento em amostras tratadas com luz ultravioleta. Khandpur e Gogate (2015) avaliaram a quantidade de compostos fenólicos em diversos sucos, com destaque ao suco de espinafre (pela proximidade com a matriz aqui estudada), onde a amostra controle apresentou grande degradação ao longo do tempo, enquanto as amostras submetidas aos tratamentos mantiveram a concentração de fenólicos até o fim do armazenamento.

O conteúdo de fenólicos totais em plantas submetidas a irradiação luz ultravioleta foi avaliado por Bo et al (2019), onde o conteúdo de fenólicos para amostras tratadas se manteve superior àquela que não recebeu tratamento. A aplicação de luz ultravioleta em suco de melancia resultou na manutenção do conteúdo de fenólicos em longos períodos de armazenamento (37 dias), havendo aumento no terceiro dia de estocagem, com destaque para as amostras que receberam maior intensidade de irradiação que resultaram em maiores médias em relação à controle.

O aumento da concentração de fenólicos em função do tempo de estocagem em amostras irradiadas foi observado por Guan et al. (2013), que notaram o aumento de cerca de 30% no conteúdo de fenólicos em cogumelos armazenados a baixas temperaturas. No presente estudo, este efeito foi observado apenas no último dia de armazenamento (dia 7), em que a amostra submetida ao LED UV apresentou média superior à controle ao mesmo tempo de armazenamento, corroborando o efeito a longo prazo da aplicação de luz ultravioleta no que diz respeito à concentração destes componentes. O efeito da luz ultravioleta no conteúdo de compostos fenólicos de vegetais não é totalmente conhecido, mas diversos estudos apontam para, ao menos, a manutenção deste conteúdo. Em base aos resultados desta pesquisa, a aplicação da tecnologia UV LED não prejudica o conteúdo destes importantes componentes do vegetal.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados alcançados neste trabalho, bem como aqueles apresentados nos estudos utilizados como referência, indicam certa viabilidade no uso da tecnologia, com destaque para o seu efeito sobre a carga microbiológica da matriz estudada, obtendo níveis de sanitização similares aos do método convencionalmente aplicado. Entretanto, mais testes precisam ser realizados para garantir a potencialização da inativação microbiana, analisando separadamente microrganismos patogênicos e verificando a viabilidade da utilização desta tecnologia com a finalidade de garantir segurança alimentar para os consumidores.

Ademais, as análises de parâmetros físico-químicos se mostraram promissoras, promovendo, ao menos, efeitos similares aos do tratamento convencional ou comportamento da amostra controle. Diversas outras análises físico-químicas devem ser realizadas no processo de viabilização do uso da tecnologia, avaliando o efeito da aplicação sobre grande parte dos constituintes da matriz alimentar.

Os resultados obtidos são condizentes com estudos de novas tecnologias para o processamento de alimentos, pois se apresentam como alternativa às tecnologias convencionais com a vantagem de eliminar o uso de produtos químicos e não gerar resíduo tóxicos, o que a torna ambientalmente correta. Diante disto, o presente estudo serve como base para uma exploração muito maior do uso da tecnologia UV, inclusive abrangendo diversas outras matrizes alimentares, como pôde ser observado durante a discussão dos resultados aqui apresentados.

## REFERÊNCIAS

- AKGUN, M. P.; UNLUTURK, S. Effects of ultraviolet light emitting diodes (LEDs) on microbial and enzyme inactivation of apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 260, p. 65-74
- BARBOSA, L.; MADI, L.; TOLEDO, M. A.; REGO, R.A. As tendências da alimentação. **Brasil Food Trends**, v. 1, n. 1, p. 38-42, 2010.
- BARBOSA, T. A.; SOUZA, Y. J. B.; SILVA, I. C. R.; ORSI, D. C.; FREIRE, D. O. Avaliação microbiológica de couve minimamente processada comercializada em supermercados de Brasília, DF. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 272/272, p. 97-101. 2017
- BARKA, E. A.; KALANTARI, S.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Impact of UV-C Irradiation on the Cell Wall-Degrading Enzymes during Ripening of Tomato (*Lycopersicon esculentum L.*) Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p 667-671, 2000.
- BEGUM, M.; HOCKING, A. D.; MISKELLY, D. Inactivation of food spoilage fungi by ultraviolet (UVC) irradiation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 129, n. 1, p. 74-77, 2009.
- BIRMIPA, A.; SFIKA, V.; VANTARAKIS, A. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 1, p. 96-102, 2013.
- BO, W.; CHENG, Z.; HU, Y.; BOON-EK, Y.; WONGS-AREE, C.; SUPAPANICH, S. Ultraviolet-C treatment maintains physicochemical quality of water bamboo (*Zizania latifolia*) shoots during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 152, p. 65-72, 2019.
- BOEGER, M. R. T.; POULSON, M.; Efeitos da radiação ultravioleta-B sobre a morfologia foliar de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 329-338, 2006.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 12 de 02 de janeiro de 2001, **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF, 2001.

BRUNO, L. M.; QUEIROZ, A. A. M.; ANDRADE, A. P. C.; VASCONCELOS, N. M.; BORGES, M. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 1, p 75-84, 2005.

CALLEJÓN, R. M.; RODRÍGUEZ-NARANJO, M. I.; UBEDA, C.; HORNEDO-ORTEGA, R.; GARCIA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. **Foodborne Pathog Dis.**, v. 12, n. 1, p. 32-8, 2015.

CAMPOS, F. M.; MARTINO, H. S. D.; SABARENSE, C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alim. Nutr.**, v. 19, n. 4, p. 418-490, 2008.

CATÁLOGO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS. Couve. 2019. Disponível em <<http://www.esalq.usp.br/cprural/flipbook/pb/pb48/assets/basic-html/page29.html>> Acesso em 20 de fevereiro de 2016.

DERE, S.; GUNES, T.; SIVACI, R.; Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. **Turkish Journal of Botany**, v. 22, p. 13-17, 1998.

FENG, M.; GHAFOOR, K.; SEO, B.; YANG, K.; PARK, J. Effects of ultraviolet-C treatment in Teflon-coil on microbial populations and physico-chemical characteristics of watermelon juice. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 133-139, 2013.

FIORINI, L. S. A importância dos minerais para a saúde humana. **Food Ingredients Brasil**, v. 1, n. 4. p 48-59

FORMICKY, G.; STAWARZ, R. Ultraviolet influence on catalase activity and mineral content in eyeballs of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). **Science of the Total Environment**, v. 369, p. 447-450, 2006.

GOGO, E. O.; OPIYO, A. M.; HASSENBERG, K.; ULRICHS, C.; HUYSKENS-KEIL, S. Postharvest UV-C treatment for extending shelf life and improving nutritional quality of African indigenous leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 129, n. 2, p. 107-117, 2017.

GUAM, W.; FAN, X.; YAN, R. Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. **Food Control**, v, 34 p. 554-559

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário**. 1. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2009.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 125-136, 2015.

KIM, Y-H.; JEONG S-G.; BACK, K-H.; PARK, K-H.; CHUNG, M-S.; KANG, D-H. Effect of various conditions on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in fresh-cut lettuce using ultraviolet radiation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, n. 3, p. 349-355, 2013.

KIM, D-K.; KIM, S-J.; KANG, D-H. Bactericidal effect of 266 to 279 nm wavelength UVC-LEDs for inactivation of Gram positive and Gram negative foodborne pathogenic bacteria and yeasts. **Food Research International**, v. 97, p. 280-287, 2017.

LANFER-MARQUEZ, U. M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, 2003.

LUENGO, R. F. A.; BUTRUILLE, N-M. S.; MELO, R. A. C.; SILVA, J.; MALDONADE, I. R.; JÚNIOR, A. D. C. Determinação de minerais no solo e análise de folhas de couve produzida em Brasília. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2008.

MACHADO, M. C. M. M. **Aplicação do ultrassom e compostos químicos na sanitização de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, 2017.



MAGHOUMI, M.; GOMEZ, P. A.; MOSTOFI, Y.; ZAMANI, Z.; ARTES-HERNÁNDEZ, F.; ARTES, F. Combined effect of heat treatment, UV-C and super atmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cut pomegranate arils. **Food Science and Technology**. v. 54, p. 389-396, 2013.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologias de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

NASSOUR, R.; AYASH, A.; MOHAMAD, I. The effect of ultraviolet radiation on chlorophyll in *Chlamydomonas Reinhardtii*. **International Journal of Agriculture & Environmental Science**, v. 4, n. 6, p. 22-26, 2017.

PARK, S-H.; KANG, J-W.; KANG, D-H. Inactivation of foodborne pathogens on fresh produce by combined treatment with UV-C radiation and chlorine dioxide gas, and mechanisms of synergistic inactivation. **Food Control**, v. 92, p 331-340, 2018.

RECINE, E.; RADAELLI, P. **Alimentação saudável**. 1 ed. Brasília: UnB, 2014.

RIGUEIRA, G. D. J. R.; BANDEIRA, A. V. M.; CHAGAS, C. G. O.; MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 2, p 3-12, 2016.

ROCHA, G. G.; MIYAGI, A. M. C; GUIMARÃES, L. I.; CARDOSO, V. L.; MATIAS, A. C. G.; ABREU, E. S. Qualidade microbiológica de couve manteiga (*Brassica oleracea*) minimamente processada comercializada em São Paulo, Brasil. **RevistaUnivap**, v. 20, n. 36, 2014.

SALAMA, H. M. H.; WATBAN, A. A.; AL-FUGHOM, A. T. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 1, p. 79-86, 2011.

SANTOS, K. R. S. B., TEIXEIRA, C. N. S., JÚNIOR, N. M. V., SANTANA, R. F., MIRANDA, A. S., COUTINHO, R. G. Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. **Demetra: Alimentação, Nutrição e Saúde**. v. 10, n. 2, p. 279-287, 2015.

SANTOS, A. P. R.; JUNQUEIRA, A. M. R. Gestão da qualidade na couve minimamente processada no Distrito Federal: o caso da agroindústria Machadinho. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 4, p. 337-352, 2012.

SCALBERT, A.; WILLIAMSOM, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition**, p. 2073-2095, 2000.

SATO, G. S. Hortaliças minimamente processadas: uma atividade agroindustrial no interior de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 39, n. 2, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2017.

SILVA, W. L.; MEDEIROS, R. A. B.; PIRES, E. F. Eficiência do cloro para sanitização de hortaliças. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 256, p. 132-136. 2015

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema *simplat***. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2002.

SILVA, A. C. **Caracterização microbiológica e importância de pesquisa de estafilococos coagulase positiva em couves minimamente processadas, comercializadas no município de Campo Mourão**. 2013. Trabalho de conclusão de curso - Graduação em Tecnologia de Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

SIMÕES, A. N. **Alterações químicas e atividades de enzimas em folhas de couve inteiras e minimamente processadas**. 2004. Tese (Pós-graduação em Fisiologia Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal - Universidade Federal de Viçosa. 2004.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755. 2005

TRANI, P. E. et al. **Couve de folha: do plantio à pós-colheita**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2015.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alim. Nutr**, v. 20, n. 1, p. 157-166. 2009