



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
RONDÔNIA - *CAMPUS* COLORADO DO OESTE  
ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**KELLY CRISTINA NUNES DE MESQUITA**

**USO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA COMO TRATAMENTO ALTERNATIVO  
NÃO TÉRMICO PARA DESINFECÇÃO E CONSERVAÇÃO DO LEITE  
COMPARADO AO TRATAMENTO TÉRMICO DE PASTEURIZAÇÃO**

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
RONDÔNIA - *CAMPUS* COLORADO DO OESTE  
ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**KELLY CRISTINA NUNES DE MESQUITA**

**USO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA COMO TRATAMENTO ALTERNATIVO  
NÃO TÉRMICO PARA DESINFECÇÃO E CONSERVAÇÃO DO LEITE  
COMPARADO AO TRATAMENTO TÉRMICO DE PASTEURIZAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - Câmpus Colorado do Oeste.

**Orientador: Prof. Dr. Nélio Ranieli Ferreira de Paula**

Colorado do Oeste  
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Gerador de Ficha Catalográfica do IFRO,  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Mesquita, Kelly Cristina Nunes de.

Uso da radiação ultravioleta como tratamento alternativo não térmico para desinfecção e conservação do leite comparado ao tratamento térmico de pasteurização / Kelly Cristina Nunes de Mesquita, Colorado do Oeste-RO, 2023.

31 f. : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Nélio Ranieli Ferreira de Paula.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO, Colorado do Oeste-RO, 2023.

1. Ultravioleta. 2. Leite. 3. Qualidade microbiológica. 4. Sistema Petrifilm™. I. Paula, Nélio Ranieli Ferreira de (orient.). II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO. III. Título.

**Bibliotecário(a) Responsável:** Juliana Machado da Silva Sasset, CRB-11/1140 (Campus Colorado do Oeste)

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
RONDÔNIA - *CAMPUS* COLORADO DO OESTE  
ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**Autor: Kelly Cristina Nunes de Mesquita**

**Orientador: Prof. Dr. Nélio Ranieli Ferreira de Paula**

**Situação: (X) Aprovado ( ) Reprovado**

**Aprovado em: 01 / 12 / 2023**

---

**Nélio Ranieli Ferreira de Paula**

---

**Marcos Aurélio Anequine de Macedo**

---

**Valdique Gilberto de Lima**

*Dedico esta monografia a minha avó Arceli  
pelo apoio e confiança, ao meu esposo e aos  
meus amigos pelo companheirismo.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que tem estado ao meu lado em todos os momentos, que me deu clareza e me iluminou e ilumina sempre!

Ao Instituto Federal de Rondônia – IFRO – *Campus* Colorado do Oeste, pela oportunidade de me aprimorar profissionalmente e pessoalmente.

Ao Prof. Dr. Nélio Ranieli Ferreira de Paula, pela orientação, compreensão, amizade e ensinamentos, por acreditar no meu potencial e me ofertar a grande honra de realizar este trabalho.

A minha avó, Arceli Nunes de Melo por todo apoio recebido durante esses cinco anos e por nunca deixar de acreditar na minha capacidade.

Ao meu esposo, Matheus Kiyoshi Sato Moreira, que entrou em minha vida na parte final da graduação, e teve seu papel importante, estando comigo nos momentos difíceis, e nunca deixou de acreditar em mim, por mais que eu mesmo em alguns momentos não o fizesse.

A minha amiga e colaboradora Ana Paula Müller Féliz, que acabou se tornando uma grande irmã, me apoiando e dando forças em todas as dificuldades.

As minhas melhores amigas Eduarda Goulart da Silva e Thalita Goulart da Silva, que se tornaram minha segunda família, ao nosso companheirismo que nos une e nos fortalece a cada dia.

Um agradecimento especial a todos aqueles que fizeram parte da minha graduação, professores, orientadores, colegas, técnicos, dentre outros. Que me ajudaram na construção do conhecimento e da sabedoria.

Agradeço a todos que estão e que tiveram comigo!

“Nunca ande pelo caminho traçado, pois  
ele conduz somente até onde os outros já foram”.

Alexander Graham Bell

# **Uso da radiação ultravioleta como tratamento alternativo não térmico para desinfecção e conservação do leite comparado ao tratamento térmico de pasteurização**

## **Use of ultravioleta radiation as an alternative non termal treatment for disinfection and conservation of milk compared to pasteurization heat treatment**

Kelly Cristina Nunes de Mesquita<sup>1</sup>

Nélio Ranieli Ferreira de Paula<sup>2</sup>

### **RESUMO**

No Brasil, são produzidos cerca de 33 bilhões de litros de leite anualmente. Nas indústrias de produção de alimentos, principalmente os laticínios, a contaminação microbiológica pode acarretar grandes perdas e prejuízos econômicos, podendo, ainda, causar sérios riscos à saúde do consumidor final devido à possibilidade da veiculação de bactérias patogênicas. O perfil microbiológico do leite é o principal indicativo de sua qualidade. O método mais utilizado para avaliar a qualidade do leite é a Contagem Padrão em Placas, porém, nos últimos anos, tem sido desenvolvida uma série de métodos rápidos para análises microbiológicas. Entre as diversas tecnologias alternativas estão os sistemas Petrifilm. Dessa forma, o presente estudo trata-se de uma pesquisa exploratória, realizada por análises laboratoriais objetivando a determinação da qualidade higiênico-sanitária de amostras de leite cru e pasteurizado comercializadas no município de Colorado do Oeste-RO. Aplicou-se análises estatísticas nos resultados para verificação de diferenças significativas nos tratamentos comparados. Não foi observada diferença estatística entre os tratamentos analisados comparado às amostras in natura e pasteurizadas. Pode-se concluir que há necessidade de estudos sobre a utilização da radiação ultravioleta no tratamento do leite para controle de microrganismos patogênicos e investimentos em programas de boas práticas agrícolas e de fabricação para assegurar a qualidade do leite cru e pasteurizado.

**Palavras-chaves:** Leite, qualidade microbiológica, ultravioleta, sistema Petrifilm™.

<sup>1</sup> Currículo sucinto do autor, incluindo sua vinculação institucional e endereço de e-mail.

<sup>2</sup> Currículo sucinto do orientador, incluindo sua vinculação institucional e endereço de e-mail.

## **ABSTRACT**

In Brazil, are produced about 33 billion liters of milk annually. In the industries of production food, specially dairies products, the contamination microbiological can lead to large losses and economic damages, and can, still, cause serious health risks for the consumer final due to the possibility of the transmission of pathogenic bacteria. The profile microbiological of milk is the main indicator of its quality. The method most used for evaluate the quality of milk is the standar count in plates, but, in the last years, has been developed a series of methods fast for analyses microbiological. Between the diverse technologies alternative are the systems Petrifilm. In this way, the present study if is about a search exploratory, performed by laboratory analyses aiming at the determination of the quality hygienic-sanitary of samples of milk raw and pasteurized commercialized in the municipality of Colorado do Oeste -RO. Was applied analyses statistical to the results to verification of differences significant in the compared treatments. No was observed difference statistic between the treatments analyzed compared to samples in natura and pasteurized. One can conclude that there is need for studies on the use of radiation ultraviolet in the treatment of milk for control of microorganisms pathogens and investments in programs of good practices agricultural and of manufacturing to secure the quantity of milk raw and pasteurized.

**Key words:** Milk, quality microbiological, ultraviolet, system Petrifilm™.

## Sumário

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>OBJETIVOS</b> .....	12
Objetivo geral .....	12
Objetivo específico .....	12
<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	13
Leite .....	13
Pasteurização.....	14
Radiação Ultravioleta .....	15
<b>METODOLOGIA</b> .....	16
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>CONCLUSÃO</b> .....	24
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
<b>ANEXOS</b> .....	

## INTRODUÇÃO

O leite é considerado um dos alimentos mais completos pelo seu elevado valor nutritivo, como riqueza de proteínas, vitaminas, gorduras, sais minerais e compostos com alta digestibilidade (MARQUES et al., 2005). Sendo um produto amplamente consumido por pessoas de todas as faixas etárias e um alimento rico em nutrientes, o leite proporciona também o crescimento de microrganismos, incluindo os causadores de doenças (TIMM et al., 2003).

A higiene e o controle do leite e produtos lácteos têm como objetivo básico assegurar a sua inocuidade ao consumidor. A contaminação com certos microrganismos e/ou suas toxinas, constituem as causas mais frequentes de problemas sanitários, além das perdas econômicas.

Atualmente, na indústria alimentícia o tratamento para conservação e desinfecção mais utilizado, inclusive para o EHS, é a pasteurização, que consiste em um aquecimento do alimento até no máximo 100 graus Celsius, seguido de resfriamento rápido. Por ser um tratamento térmico existe a possibilidade do alimento, principalmente os termossensíveis, adquirirem alterações no sabor, aroma, cor e perda nutricional devido a desnaturação térmica de nutrientes como as proteínas (ALBERINI et al., 2015).

O tratamento térmico por sua vez é responsável por destruição de enzimas, redução ou eliminação da microbiota e morte de insetos, fazendo com que se estenda sua vida de armazenamento (KWOK et al. 1995). Este tipo de tratamento é efetivo em diversos produtos como, por exemplo, em leite, bebidas vegetais tal como leite de soja, leite de amêndoas entre outras. Estes são meios ideais para o crescimento microbiano e, portanto, a sua qualidade pode facilmente deteriorar-se devido ao rápido crescimento de microrganismos deteriorantes (KWOK et al. 1995).

Para abordar os desafios e problemas enfrentados pela indústria de alimentos, tecnologias alternativas para o processamento de alimentos, estão sendo pesquisadas e estudadas (KOUTCHMA, 2009). Para atender a estas demandas dos consumidores, o processamento não térmico dos alimentos surge como uma alternativa viável. Neste sentido os tratamentos por radiação, como a radiação ultravioleta (UV-C) denominada UV germicida, vêm sendo estudada apresentando

resultados promissores na qualidade dos produtos e na sua aplicação industrial. Estes resultados indicam que o tratamento com UV-C causa mínimas alterações em um produto fresco e é capaz de reduzir a carga microbiana (AMIT, 2017).

O UV pode ser empregado nos mais variados tipos de alimentos.

A eficiência do tratamento com UV-C é diferente para cada alimento, pois, além das variáveis relacionadas ao processo (tempo, distância), cada alimento possui um coeficiente de absorção diferente influenciado pelo estado em que ele se apresenta, e densidade óptica. Alimentos que possuem uma alta concentração de substâncias absorventes, grande turbidez ou cores fortes, possuem um alto coeficiente de absorção, resultando em uma baixa eficiência no tratamento UV-C (KOUTCHMA, 2009). Por isso é necessário realizar testes para cada tipo de alimento para determinar a melhor dose e condições de tratamento por radiação UV-C.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo geral

Esse trabalho teve como objetivo geral estudar a efetividade da radiação ultravioleta de onda curta (UV-C) aplicada em leite cru e pasteurizado e determinar suas vantagens e desvantagens em comparação com tratamento térmico.

### Objetivo específico

Aplicar radiação ultravioleta UV-C no leite, avaliando o seu efeito no crescimento de microrganismos após o tratamento com a radiação;

Comparar os efeitos desse tratamento com os efeitos do tratamento térmico;

Determinar eficiência na capacidade de redução da contagem microbiana;

Avaliar a qualidade microbiológica do leite cru através da contagem de *Enterobacteriaceae*, Coliformes Totais e *Staphylococcus aureus*;

Avaliar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado através da contagem de *Enterobacteriaceae*, Coliformes Totais e *Staphylococcus aureus*.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Leite

O agronegócio do leite é considerado um dos setores mais importantes para a economia brasileira. Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentos, 2022), o Brasil é o 4º maior produtor mundial de leite, com uma produção de aproximadamente 35,17 milhões de toneladas produzidas por ano. Entretanto, o volume exportado não chega nem a 1% da produção nacional, pois o mercado interno consome quase toda produção do País.

Embora ainda seja caracterizada como de pequenos produtores com baixa produtividade, a atividade leiteira vem se destacando cada vez mais para a economia brasileira. Devido a este perfil, tem-se pouco investimento na atividade resultando em uma produção leiteira de baixa qualidade, com altas contagens microbianas (NERO; VIÇOSA; PEREIRA, 2009)

Sendo um produto amplamente consumido por pessoas de todas as faixas etárias, o leite é um alimento de grande importância na alimentação devido ao seu elevado valor nutritivo, como fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, sendo por isso considerado um excelente meio de cultura para o crescimento de vários grupos de microrganismos, desejáveis e indesejáveis (SOUZA et al. 2009).

Devido a sua relevância na alimentação humana, deve-se seguir alguns parâmetros para que seja um produto de qualidade. No Brasil, esses parâmetros são definidos na Instrução Normativa 76, que define características físico-químicas e microbiológicas que o leite deve apresentar, desde sua produção, transporte, até sua chegada na indústria, além de outras informações sobre os estabelecimentos onde o leite é produzido (BRASIL, 2018).

Além dos problemas em relação ao leite cru, muitas vezes, observa-se um beneficiamento ineficiente, sem a redução satisfatória dos microrganismos patogênicos ou ainda a contaminação após o processo de pasteurização, resultando em baixa qualidade do produto final (COSTA; FERREIRA; ALVES, 2002; TAMANINI et al., 2007).

As alterações microbianas que ocorrem no leite devem-se, principalmente, pela sua composição química variada. A contaminação microbiológica na indústria de

alimentos representa um perigo para a saúde do consumidor, uma vez que o leite e os produtos lácteos podem veicular microrganismos associados a surtos de origem alimentar, além de ocasionar prejuízos econômicos (REZER, 2010).

A microbiota contaminante do leite normalmente é composta por bactérias, em especial pelas psicrotróficas, que se multiplicam no leite refrigerado, enquanto que leveduras e fungos são raramente encontrados (JAY, 2005).

Quando o leite é oriundo de animais sadios a quantidade de microrganismos é baixa, sendo predominante bactérias gram-positivas como o *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Se o animal estiver com mastite, há o aumento da contagem de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, associados à mastite contagiosa, enquanto Coliformes e *Pseudomonas* estão relacionados à mastite ambiental (APHA, 2001).

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 1952).

## Pasteurização

O processo térmico de inativação de microrganismos conhecido como pasteurização recebeu este nome devido ao seu criador, o cientista francês, Louis Pasteur. A pasteurização utiliza o calor associado ao tempo de aplicação para inativar microrganismos termo sensíveis, como leveduras, bactérias vegetativas e bolores, responsáveis por intoxicação alimentar e deterioração de alimentos (AĞÇAM; AKYILDIZ; DÜNDAR, 2018).

Além de inativar microrganismos, a pasteurização é capaz de inativar enzimas, como a polifenoloxidase, lipoxigenase, peroxidase e pectinmetilesterase que são responsáveis pela perda de qualidade de alimentos como sucos e compotas de frutas (AĞÇAM; AKYILDIZ; DÜNDAR, 2018).

A pasteurização é suficiente para destruir, inclusive, os microrganismos de maior resistência térmica, além de todas as leveduras, bolores, bactérias gram-negativas e muitas gram-positivas, os microrganismos sobreviventes são os

termófilos (*Bacillus* e *Clostridium*) e os termodúricos (*Streptococcus* e *Lactobacillus*) (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A temperatura e o tempo utilizados em cada processo de pasteurização irão depender dos efeitos causados pelo calor em cada tipo de alimento, pois cada alimento possui exigências de processamento diferentes e a utilização de outros métodos complementares de conservação. Não é especificamente necessário que a pasteurização elimine todos os microrganismos presentes no alimento, mas é fundamental que elimine os mais prejudiciais à saúde e retarde ou previna o crescimento dos sobreviventes (GAVA, 1998).

O leite de vaca pode ser pasteurizado a 63°C por 30 minutos, conhecido como LTLT, pasteurização lenta (SMIT, 2003) ou utilizando o método mais comum na indústria, o HTST, conhecido como pasteurização rápida, 72°C por 15 segundos (NECIDOVA et al., 2016; WEINGART et al., 2010). O uso preferencial do HTST para o tratamento do leite ocorre devido ao fato de ser possível nessa configuração eliminar cerca de 99,99% das células existentes de *Coxiella burnetti*, causadora da febre Q e do *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo de Koch (GAVA; DA SILVA; FRIAS, 2009).

### Radiação Ultravioleta

Em 1801, o físico alemão Johan Wilhelm Ritter, descobriu a radiação ultravioleta (UV), sendo uma pequena parte da radiação total emitida pelo sol que chegava a Terra. Uma vez que a radiação UV atua em estruturas atômicas, rompendo cadeias de carbono, algumas essenciais a vida, ela afeta gravemente os seres vivos que são expostos por longo período de tempo. A principal barreira da Terra contra a radiação UV emitida pelo Sol é a camada de ozônio, que age como filtro e absorve grande parte da luz UV e aumenta a temperatura da estratosfera (OKUNO; VILELA, 2005).

A radiação ultravioleta (UV) é uma radiação não ionizante a qual vivemos diariamente expostos, sendo a sua principal fonte natural o Sol. A radiação UV possui comprimentos de onda entre 100 e 400 nm, sendo comumente classificada em três intervalos distintos: UV-A (320-400 nm), responsável pelo envelhecimento cutâneo precoce; UV-B (280- 320 nm), responsável por lesões à pele como manchas e queimaduras; e UV-C (100-280 nm), de maior relevância para este trabalho, conhecida como região bactericida ou germicida (OKUNO; VILELA, 2005). O efeito

germicida mais significativo é observado entre 250 e 270 nm, por este motivo o comprimento de onda mais utilizado é o de 254 nm, gerado por lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004).

Os primeiros pesquisadores que identificaram os efeitos germicidas da luz ultravioleta emitida pelo sol, em 1887 na Sociedade Real de Londres, foram Downes e Blunt (1887). Nos anos seguintes, foram desenvolvidas as lâmpadas artificiais de luz ultravioleta e o quartzo foi identificado como material transmissor de ultravioleta, tornando possível em 1910, na cidade de Marselha, França, a primeira desinfecção de água potável por radiação ultravioleta (PIRNIE; LINDEN; MALLEY, 2006).

O comprimento de onda da radiação UV, considerado com a melhor ação germicida, está entre 240 e 280 nm. As lâmpadas usadas para gerar artificialmente a luz UV são de vapor de mercúrio com baixa pressão e emitem 90% de radiações com 254 nm, comprimento de onda considerado como o mais eficiente para inativar microrganismos (GAVA; DA SILVA; FRIAS, 2009).

## **METODOLOGIA**

Foram feitas análises microbiológicas de amostras de leite cru e pasteurizado produzido e comercializado no município de Colorado do Oeste - RO. As amostras foram coletadas diretamente da embalagem de comercialização e imediatamente preparadas para análise no laboratório da agroindústria do Instituto Federal campus Colorado do Oeste, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

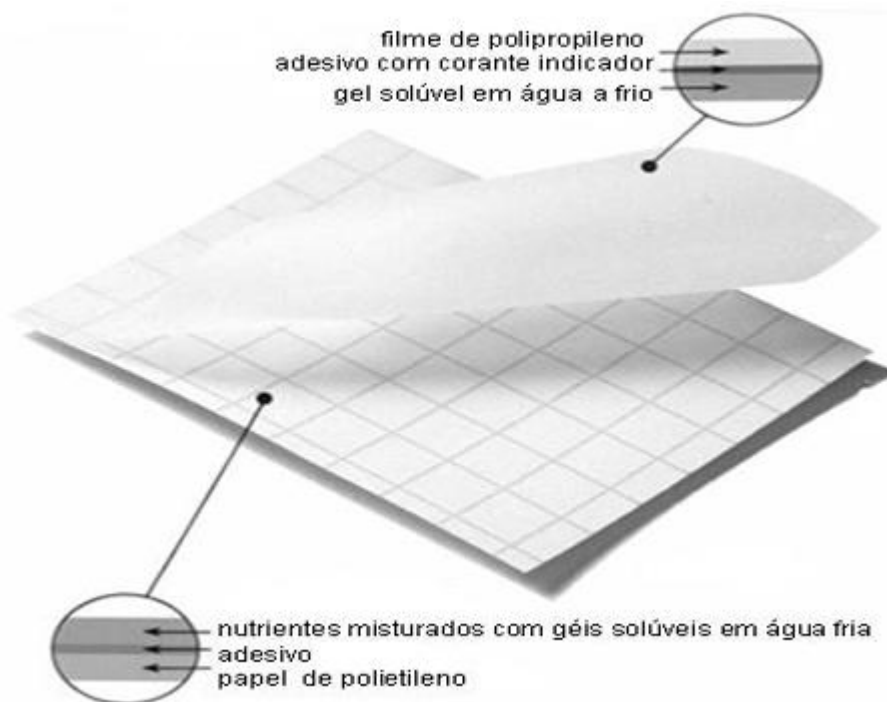
A irradiação das amostras com luz ultravioleta foi realizada com equipamento desenhado e construído para tratamento de alimentos, contendo uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão de 9 W de potência. A distância entre a lâmpada e as amostras era de 5 cm, 8 cm e 10 cm. As amostras possuíam volume de 10 ml, acondicionadas em tubos de vidro para o tratamento. Doses diferentes de irradiação foram usadas através da alteração do tempo de exposição (5 e 10 minutos) do alimento a radiação UV-C.

Para a preparação das amostras foram utilizados 1 ml de leite misturado junto a 9 ml de água peptonada, passando em seguida pela homogeneização. Após isso, realizaram-se as diluições de  $10^{-1}$ . Como controle foram utilizadas amostras sem tratamento. O leite foi avaliado quanto a parâmetros microbiológicos. Todas as

análises foram realizadas em triplicata e os resultados submetidos a análises estatísticas.

Para os testes microbiológicos foram utilizados o Sistema placas de Petrifilm™ de identificação de Coliformes Totais (Petrifilm™ CC), *Enterobacteriaceae* (Petrifilm™ EB) e *Staphylococcus aureus* (Petrifilm™ STX). O sistema Petrifilm™ é apresentado na forma de cartões de papel, chamados de placas Petrifilm, constituído por um sistema de filme duplo (Figura 1), revestido pelo meio de cultivo desidratado e géis hidrossolúveis a frio, já a película protetora transparente (parte superior da placa) contém corante indicador e agentes geleificantes solúveis em água.

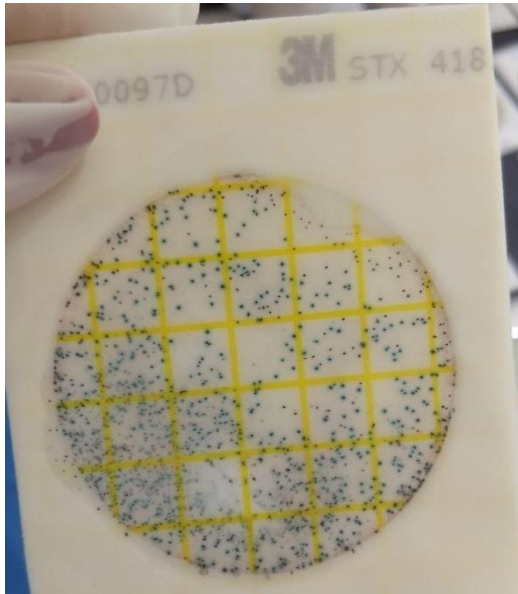
Figura 1. Placa de Petrifilm™



Fonte: FRANCO (1994).

Para a contagem dos microrganismos, o meio de cultivo do Petrifilm™ contém nutrientes do Ágar Padrão para contagem (PCA). A película protetora é marcada por quadros de 1 cm<sup>2</sup> (Figura 2).

Figura 2. Placa de Petrifilm™ STX após o período de incubação.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

O filme inferior foi inoculado com 1 mL das soluções das amostras e coberto com o filme superior. A água do inóculo reconstitui o meio de cultivo desidratado e solubiliza os agentes geleificantes presentes na placa e na película plástica (Figura 3). Após cerca de 1 minuto o meio de cultivo adquire consistência e, após todas as amostras inoculadas as placas foram incubadas a 35°C, em posição horizontal, com a superfície transparente para cima pelo período de 24h até a primeira contagem, depois foram reincubadas por mais 24h para segunda contagem. O tempo/temperatura de incubação seguem o sistema tradicional de análise, a vantagem sobre o método tradicional é que dispensa preparo de meios de cultivo, podendo ser utilizado em trabalhos de campo, pela facilidade de uso (Silva et al., 1997).

Figura 3. Exemplo de inoculação em Placa de Petrifilm™



Fonte: 3M DO BRASIL LTDA (2001)

Decorrido o tempo de incubação, as colônias visíveis foram enumeradas e o resultado expresso em UFC/ml. Utilizamos a recomendação de estimativa, que consiste em enumerar as colônias em um ou mais quadrados representativos, determinando o número médio por quadrado e multiplicando esse número por 20, para a determinação da contagem total da placa. A Contagem das colônias foram feitas em maior parte a olho nu, quando apresentaram-se mais dificultadas para contagem utilizamos um contador de colônias tipo Quebec.

Nas placas Petrifilm™ CC, o princípio de contagem foi o mesmo, porém, o meio de cultivo utilizado contém os nutrientes do ágar vermelho violeta bile (VRBA) com um indicador de atividade para *E. coli*. No Petrifilm™ CC, as colônias de coliformes apresentam-se vermelhas, pela redução do indicador, e associadas a bolhas de gás, devido a fermentação da lactose. A *E. coli* produz a enzima glucuronidase, que reage com o corante indicador formando um precipitado azul em volta da colônia, além de formação de gás, o que permite a identificação visual (Hajdenwurcel, 1998).

Na Tabela 1 está apresentado os tratamentos que foram realizados e suas respectivas siglas de identificação.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos.

Tratamentos	
LC	Leite Cru (LC).
LP	Leite Pasteurizado (LP).
UV-C +LC + LD1T1	Tratamento da amostra sob a distância de 5 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 5 minutos (LD1T1).
UV-C +LC + LD1T2	Tratamento da amostra sob a distância de 5 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 10 minutos (LD1T2).
UV-C +LC + LD2T1	Tratamento da amostra sob a distância de 8 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 5 minutos (LD2T1).
UV-C +LC + LD2T2	Tratamento da amostra sob a distância de 8 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 10 minutos (LD2T2).
UV-C +LC + LD3T1	Tratamento da amostra sob a distância de 10 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 5 minutos (LD3T1).
UV-C +LC + LD3T2	Tratamento da amostra sob a distância de 10 cm entre a amostra e a luz ultravioleta com tempo de 10 minutos (LD3T2).

Fonte: Autor, 2021.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 e Figura 4 são apresentadas contagens de *Estafilococos aureus* em (UFC/mL), respectivamente e estes resultados mostraram variações para as médias determinadas nos diferentes tratamentos avaliados em amostras de leite cru refrigerado. Neste contexto houve efeito significativo após a aplicação de ultravioleta de ondas curtas (9W) UV-C em diferentes distancias (cm) e tempos (minutos) conforme o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Estatística descritiva dos Tratamentos para *Estafilococos*:

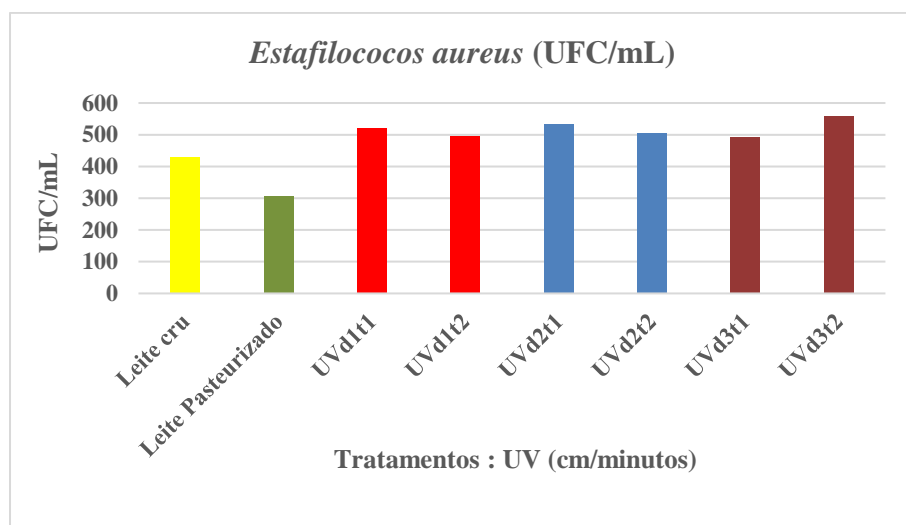
Tratamento	Média (UFC/mL)	Variância	Desv. Pad.	EPM
LC	431,00 ab	17983,0000	134,100708	77,4230801
LPC	306,67 b	933,333333	30,5505046	17,6383421
LD1T1	521,07 ab	15951,4133	126,298905	72,9187066
LD1T2	496,67 ab	11033,3333	105,039675	60,6446847
LD2T1	533,3 ab	233,333333	15,2752523	8,81917104
LD2T2	505,00 ab	25,0000000	5,00000000	2,88675135
LD3T1	493,33 ab	2533,33333	50,3322296	29,0593263
LD3T2	560,00 ab	400,000000	20,0000000	11,5470054

Fonte: Autor, 2021.

Em relação a contagem de *Estafilococos aureus* a UV-C observou se um efeito bacteriostático promovendo a estabilização da contagem bacteriana em todas distancias e tempo de avaliação em média de  $5 \times 10^2$  UFC/mL pois na matéria prima inicial a contagem foi de  $4,2 \times 10^2$  UFC/mL, porém no leite pasteurizado foi observado uma redução para  $3 \times 10^2$  UFC/mL e neste contexto este tratamento foi o que melhor apresentou os limites de segurança estabelecidos pela legislação para este microrganismo. Como apresentado na Tabela 2, na análise de contagem de placas para *Estafilococos* observou-se que houve diferença significativa entre o leite pasteurizado em relação ao leite cru e demais tratamentos com UV-C na confiança de 5%. Observa-se que os respectivos tratamentos não proporcionaram efeito bactericida, sendo que no tratamento LD3T2 o resultado obtido foi maior em comparação ao resultado obtido com as testemunhas. A Figura 4 apresenta a

contagem bacteriana das amostras de leite após o tratamento com UV para o controle de *Estafilococos aureus*.

Figura 4. Contagem bacteriana das amostras de *Estafilococos aureus*.



Fonte: Autor, 2021.

De acordo com a Tabela 3 e Figura 5 respectivamente, para a variável Coliformes Totais não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos avaliados, LC+UV-C em relação ao leite cru refrigerado e leite pasteurizado ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Estatística descritiva dos Tratamentos para Coliformes totais:

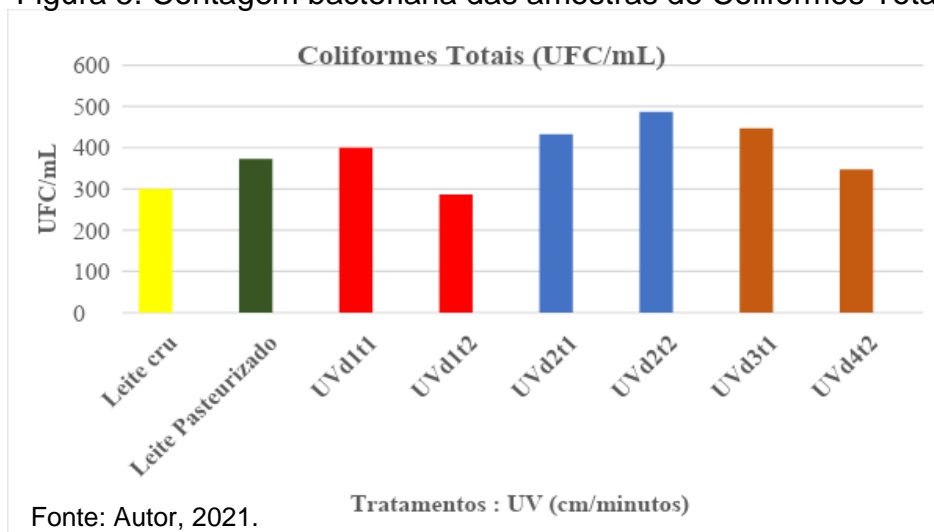
Tratamento	Média (UFC/mL)	Variância	Desv. Pad.	EPM
LC	300,00 a	1200,00000	34,6410162	20,0000000
LP	373,33 a	2533,33333	50,3322296	29,0593263
LD1T1	400,00 a	3600,00000	60,0000000	34,6410162
LD1T2	286,67 a	133,333333	11,5470054	6,66666667
LD2T1	433,33 a	8133,33333	90,1849951	52,0683312
LD2T2	486,67 a	28133,3333	167,729942	96,8389270
LD3T1	446,67 a	8133,33333	90,1849951	52,0683312
LD3T2	346,67 a	533,333333	23,0940108	13,3333333

Fonte: Autor, 2021.

Desta forma os resultados mostraram que a ultravioleta promoveu um interação bacteriostática pois foi observado para o tratamento (LD1T1) uma redução, embora numericamente da contagem bacteriana quanto ao número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) quando comparado com o tratamento de leite cru refrigerado ( LC) e semelhantemente em relação ao Leite Pasteurizado (LP), em todos tratamentos não houve diferenças estatística o que apontou o efeito bacteriostático quanto á contagem bacteriana para Coliformes Totais.

As análises para Coliformes Totais não obtiveram diferenças significativas entre si, porém todas as amostras analisadas apresentaram contaminação por Coliformes Totais. Segundo os padrões bacteriológicos para Coliformes Termotolerantes estabelecidos na Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011), os tratamentos avaliados apontaram riscos para o consumo. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através das Instruções Normativas Nº 76 e 77 de 26/11/2018, para o leite pasteurizado o número de microrganismos, aceitável é de no máximo  $3,0 \times 10^5$  UFC/mL, coliformes totais até 4 UFC/ml; coliformes fecais 2 UFC/ml e ausência para Salmonella spp. A Figura 5 apresenta a Contagem Bacteriana de Coliformes Totais determinadas em leite cru refrigerado após a aplicação e efeito da UV- C em diferentes tempos e distancia de avaliação.

Figura 5. Contagem bacteriana das amostras de Coliformes Totais.



De acordo com a Tabela 4, para Enterobactérias houve efeito significativo entre os tratamentos avaliados no leite cru refrigerado com aplicação de UV-C ao nível de 5% de probabilidade. Vale destacar que o tratamento UV-C - LD1T1 obteve resposta

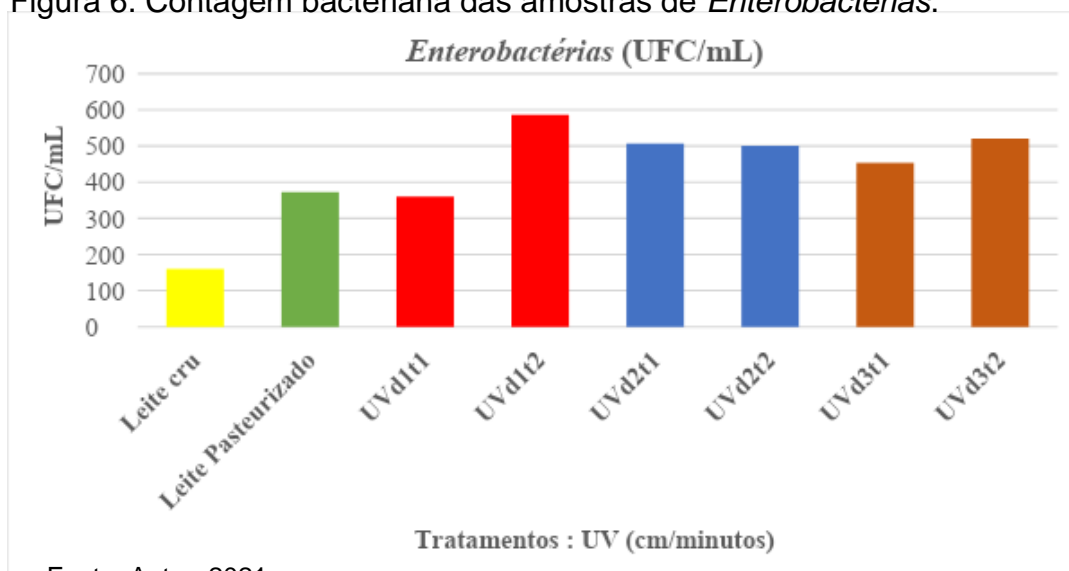
bacteriostática e bactericida de  $3,6 \times 10^2$  UFC/mL semelhante ao tratamento térmico, pasteurização do leite (LP) de  $3,73 \times 10^2$  UFC/mL. Os demais tratamentos avaliados de UV-C para estudar o efeito do tempo e da distância apresentaram resultados semelhantes a nível de 5% de probabilidade, conforme apresentados abaixo sendo observado uma estabilização média para as contagens de enterobactérias de  $5,13 \times 10^2$  UFC/mL, Figura 6.

Tabela 4. Estatística descritiva dos Tratamentos para Enterobactérias:

Tratamento	Média UFC/mL	Variância	Desv. Pad.	EPM
LC	160,00 b	1200,00000	34,6410162	20,0000000
LPC	373,33 ab	14533,3333	120,554275	69,6020434
LD1T1	360,00 ab	2800,00000	52,9150262	30,5505046
LD1T2	586,67 a	10133,3333	100,664459	58,1186526
LD2T1	506,67 a	5733,33333	75,7187779	43,7162568
LD2T2	500,00 a	7600,00000	87,1779789	50,3322296
LD3T1	453,33 a	4933,33333	70,2376917	40,5517502
LD3T2	520,00 a	6400,00000	80,0000000	46,1880215

Fonte: Autor, 2021.

Figura 6. Contagem bacteriana das amostras de *Enterobactérias*.



Fonte: Autor, 2021.

Não há uma legislação no Brasil que determine valores limites para avaliar o grau de contaminação do leite por enterobactérias. Segundo Barancelli et al (2004), entre os métodos para avaliação da carga microbiana do leite cru, o mais empregado é o de contagem bacteriana total (CTB). De acordo com as Instruções Normativas N° 76, de 26/11/2018 do MAPA, os valores máximos permitidos para parâmetros de CTB era de 300.000 UFC/ml de leite, devido a uma alteração pela Instrução Normativa N° 58, de 06/11/2019, a Instrução Normativa N° 76, passa a vigorar com a alteração de CTB de 900.000 UFC/ml

A quantidade de microrganismos encontrados após o processo de pasteurização é influenciada pela quantidade de microrganismos presentes no leite cru, antes do tratamento. O alto índice de amostras contaminadas indica processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento. A presença no leite pasteurizado é uma indicação das condições sanitárias ou práticas durante a produção, processamento e armazenamento do produto. Destacando a necessidade de uma ação mais efetiva no controle da seleção de fornecedores de leite cru e na sanitização de equipamentos que entram em contato com o leite após pasteurização (SILVA et al., 2008). Ficar atento às novas regras é essencial para a produção leiteira segura e de alta qualidade, o que pode ser alcançado através da profissionalização da atividade leiteira. Os produtores devem buscar auxílio técnico para atender às normas, garantir qualidade e lucratividade.

## **CONCLUSÃO**

O desenvolvimento deste trabalho possibilitou uma alternativa ao estudo dos efeitos da radiação ultravioleta em leite cru refrigerado. O tratamento leite cru refrigerado com UV-C nesta pesquisa proporcionou resultados semelhantes ao tratamento de leite pasteurizado (LP) e na maioria das análises o tratamento causou efeito significativos na redução e ou estabilização da carga microbiana quando comparados com as amostras de leite pasteurizado e ou leite cru refrigerado. A radiação aplicada UV-C se mostrou ineficaz para eliminação total de microrganismos em todos tratamentos avaliados.

A tecnologia UV-C poderia ser uma técnica alternativa ao tratamento térmico, porém, mais pesquisas devem ser realizadas a respeito do uso e seus efeitos, no crescimento microbiano, nas propriedades físico-químicas e sensoriais. Para otimizar

o tratamento UV-C uma alternativa é a utilização de métodos combinados para se obter uma maior eficiência.

Portanto, trabalhos que enfoquem a análise de microrganismo, principalmente enterobactérias em leite poderão colaborar para a consolidação de novos métodos oficiais de indicadores de contaminação, apresentando como vantagem a maior facilidade e rapidez na obtenção dos resultados com a aplicação destes métodos. Outra recomendação é o estudo da dose de UV-C necessária para atingir a queda exponencial da população de *Staphylococcus aureus* e demais microrganismos indicadores.

## REFERÊNCIAS

ALBERINI, F. et al. Validation of hydrodynamic and microbial inactivation models for UV-C treatment of milk in a swirl-tube “SurePure Turbulator™”. **Journal of Food Engineering**, v. 162, p. 63–69, out. 2015.

AMIT, Jaiswal K. Food Processing Technologies Impact on Product Attributes. Boca Raton: CRC press, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 18 de setembro de 2004. Oficializa o Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 18 set. Seção 1, p. 14, 2003.

BRASIL, 1952. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 20 de março de 1952. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite pasteurizado. DOU, 29/12/2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 76 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União, Seção 1, 30 de novembro de 2018b, Seção 1, p.9.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 77 de novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Diário Oficial da União, Seção 1, 30 de novembro de 2018c, Seção 1, p.10.

BRASIL. Instrução Normativa no 58, de 06 de novembro de 2019. Altera a Instrução Normativa MAPA no 76, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, Brasília. 07 nov. de 2019a. 23

BRASIL. Instrução Normativa no 59, de 06 de novembro de 2019. Altera a Instrução Normativa MAPA no 77, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, Brasília. 07 nov. de 2019b.

BRASIL. Instrução Normativa no 55, de 30 de setembro de 2020. Altera a Instrução Normativa MAPA no 76, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, Brasília. 30 set. de 2020.

COSTA, F. N.; FERREIRA, J. C. A.; ALVES, L. M. C. Características microbiológicas do leite pasteurizado tipo “C” produzido e comercializado na cidade de Imperatriz/MA. Ars. Veterinária, Jaboticabal, SP, v.18, n.2, p.137-141, 2007.

FRANCO, B.D.G.M. Métodos rápidos de análise microbiológica de alimentos: estudo crítico e avaliação de novas metodologias. São Paulo, 1994. 128p. Tese (Livro-Docência) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

GAVA, A. J.; DA SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GINN, R.E.; PACKARD, V.S.; FOX, T.L. Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm™ SM) method for determining numbers of bacteria in raw milk. **Journal of Food Protection**, v.47, n.10, p.753-755, 1984.

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. **Food Science and Technology International**, v. 10, n. 3, p. 137–147, 2004

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. 66p.

JAY, J.M. *Microbiologia de Alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2005, 6 ed., 712p.

KOUTCHMA, T. Advances in Ultraviolet Light Technology for Non-thermal Processing of Liquid Foods. **Food and Bioprocess Technology**, v. 2, n. 2, p. 138–155, 20 jun. 2009.

KWOK, K.; et al. Review: Effect of thermal processing on soymilk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 263-295, mar. 1995.

MARQUES, MS; COELHO JUNIOR, LB; SOARES, PC. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo “C” processado no estado de Goiás. in: Congresso Latino-Americano 7.; Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 2. Anais. Búzios. v.19, n.130, 2005

OKUNO, E.; VILELA, M. A. C. **Radiação ultravioleta: características e efeitos**. 1. ed. São Paulo: Livraria da Física, 2005.

OLIVEIRA, R. P. DE S. Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba-SP.97f.2005. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, 2005.

PIRNIE, M.; LINDEN, K. G.; MALLEY, J. P. J. Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule. **Environmental Protection**, v. 2, n. 11, p. 1–436, 2006.

REZER, A. P. S. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Físico-Química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul. 2010, 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SOUZA, G.N. et al. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.

TIMM, CD; GONZALES, HL; Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral produzido em micro usinas da região sul do Rio Grande do Sul. Rev Hig Alimentar, v.17, p.100-104, 2003.

## ANEXOS

Leite utilizado na preparação das amostras.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Preparo das amostras.



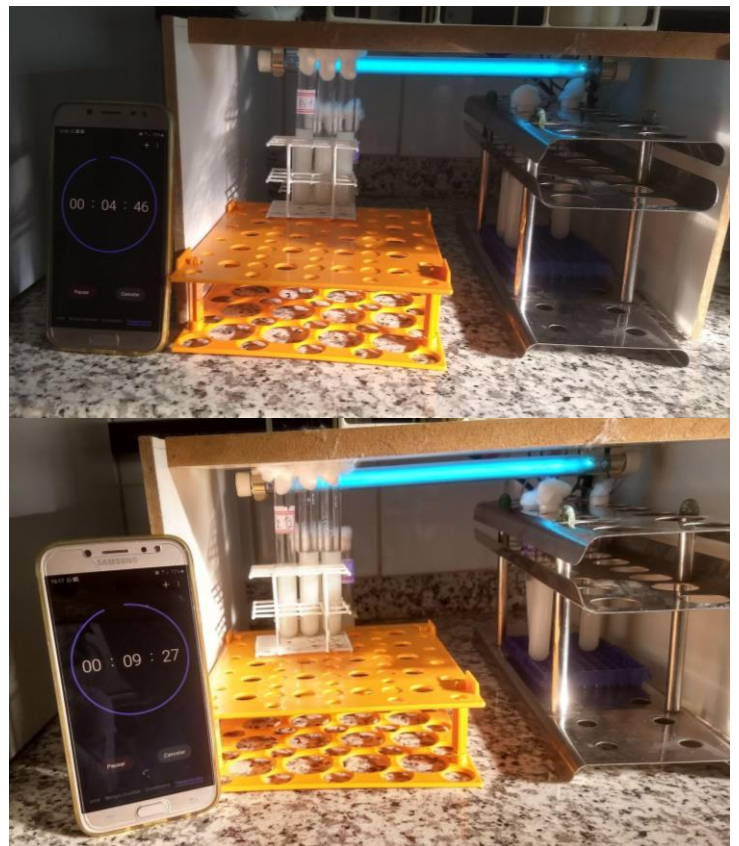
Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Homogeneização das amostras prontas.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Amostras recebendo o tratamento de irradiação por luz ultravioleta.



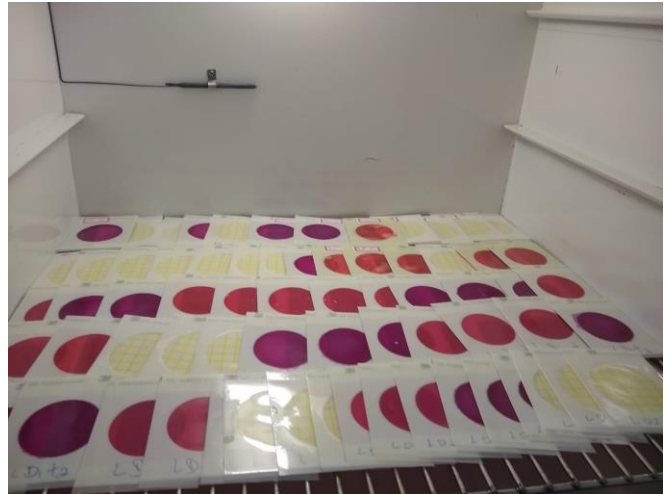
Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Inoculação das Placas de Petrifilm™ .



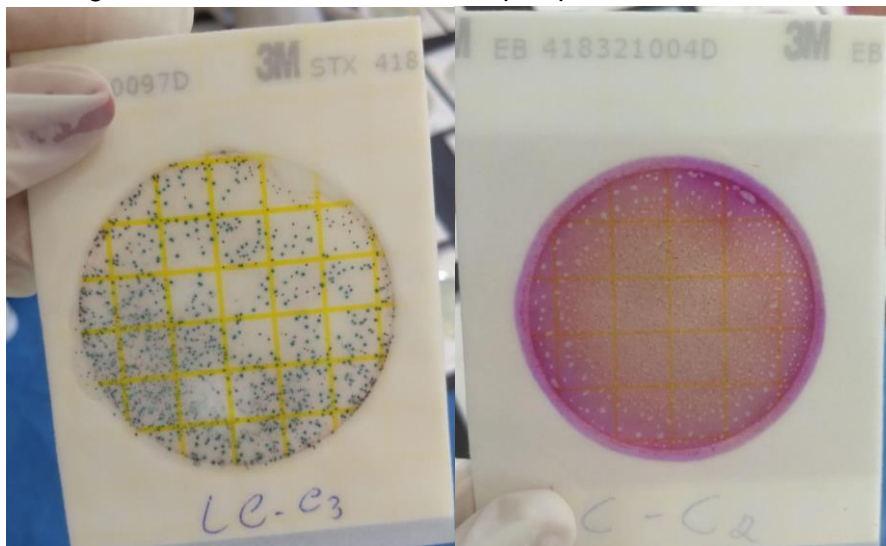
Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Placas de Petrifilm™ já inoculadas na estufa.



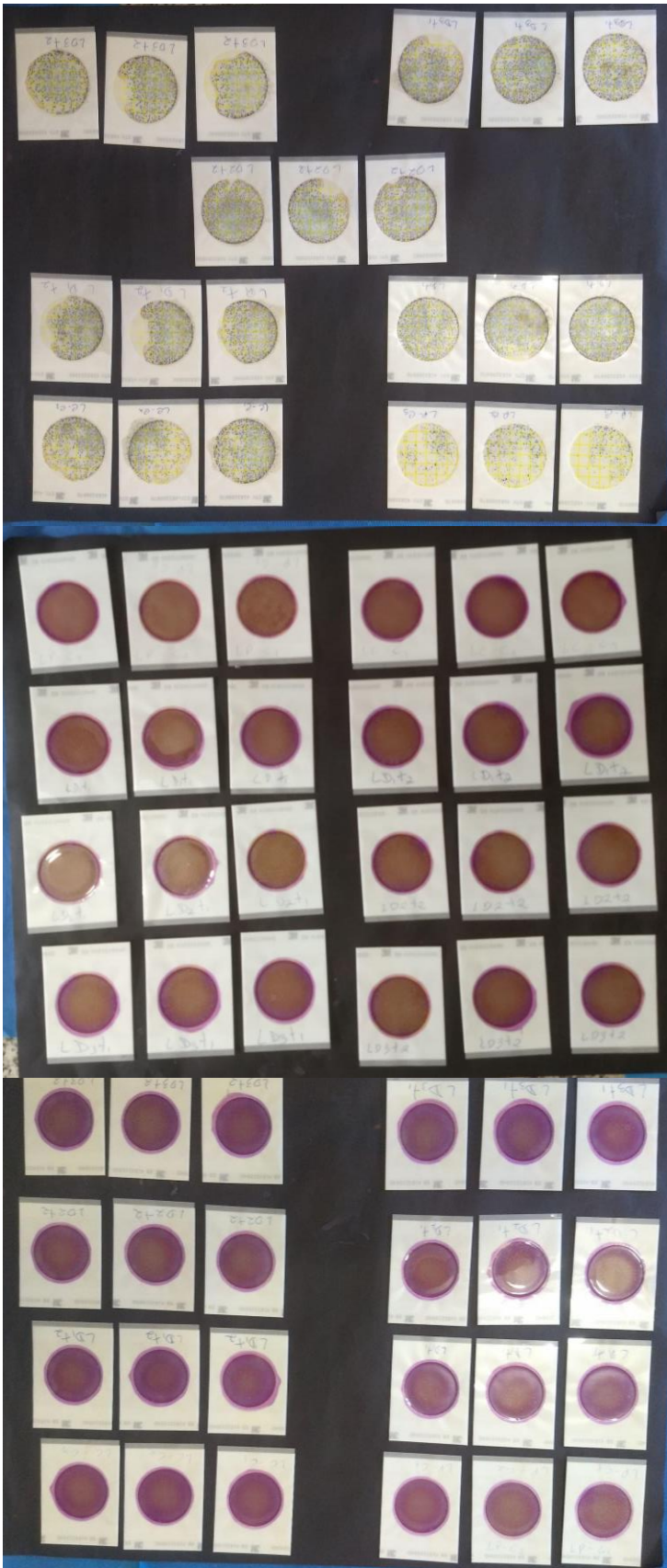
Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Contagem das Placas de Petrifilm™ após período na estufa.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Placas de Petrifilm™ após período na estufa.



*Staphylococcus aureus* (Petrifilm™ STX).

*Enterobacteriaceae* (Petrifilm™ EB).

Coliformes Totais (Petrifilm™ CC).

Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

## CRITÉRIO MICROBIOLÓGICO

Leite Pasteurizado				
Parâmetro	n	c	M	M
Enterobacteriaceae (UFC/ml)	5	2	<1	5

Fonte: Tabela adaptada da Instrução Normativa Nº76 de 26/11/2018.

Alteração da Instrução Normativa Nº 76 pela Instrução Normativa Nº 58.



## DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO

Publicado em: 07/11/2019 | Edição: 216 | Seção: 1 | Página: 18

Órgão: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Gabinete da Ministra

### INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 58, DE 6 DE NOVEMBRO DE 2019

A MINISTRA DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto na Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, e o que consta do Processo nº 21000.013698/2018-31, resolve:

Art. 1º A Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, passa a vigorar com as seguintes alterações:

\*Art. 7º .....

§ 1º .....

§ 1º-A Em caso de ausência de resultado mensal para composição da média geométrica trimestral, o resultado de cada mês subsequente substituirá a média geométrica até o restabelecimento da média geométrica trimestral calculada.

§ 2º .....\* (NR)

\*Art. 8º O leite cru refrigerado deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900.000 UFC/mL (novecentas mil unidades formadoras de colônia por mililitro) antes do seu processamento no estabelecimento industrial.\* (NR)

ANEXO ÚNICO

CRITÉRIO MICROBIOLÓGICO

LEITE PASTEURIZADO E LEITE PASTEURIZADO TIPO A				
PARÂMETRO	N	c	m	M
Enterobacteriaceae (UFC/mL)	5	0	10	-

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Fonte: Tereza Cristina Correa da Costa Dias, 2018. (IN 58, MAPA)