UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E

TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS

Pedro Henrique Baptista de Oliveira

EFEITOS DO TRATAMENTO DO LEITE POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV) EM COMPARAÇÃO À PASTEURIZAÇÃO

JUIZ DE FORA

2012

Pedro Henrique Baptista de Oliveira

EFEITOS DO TRATAMENTO DO LEITE POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV) EM COMPARAÇÃO À PASTEURIZAÇÃO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Juiz de Fora como parte das exigências para a obtenção do título de *Mestre em Ciência e Tecnologia em Leite e Derivados*

Orientador: Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos – UFJF

JUIZ DE FORA

2012

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai, criador do céu e da Terra, onipotente, onisciente, onipresente, que me permitiu estar aqui escrevendo o mais lucidamente possível para você, caro leitor.

A minha mulher, companheira e fiel amiga – Coli – que esteve comigo nos bons e maus momentos dessa e de outras jornadas que virão.

Ao meu pequeno Francisco, luz da minha vida.

Ao grande amigo Márcio (Kiko) pela ajuda das análises estatísticas.

A TECNOPURE® e MONTEX® na figura do entusiasta Geremias, por ter acreditado no potencial da tecnologia UV e fornecido o equipamento para testes no ILCT.

Ao amigo e pesquisador Adauto Lemos (ILCT/EPAMIG) que permitiu que a frase do poeta cantor: “Sonho que se sonha só é só um sonho, mas um sonho que se sonha junto é realidade” realmente virasse realidade.

As pesquisadoras do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT/EPAMIG) Gisela e Jaqueline que me auxiliaram na elaboração e execução do projeto.

Ao professor Dsc. Virgílio – Física – UFJF pelo auxílio direto na dissertação como orientador.

A todos os funcionários do Laboratório de Controle de Qualidade do ILCT/EPAMIG.

Aos alunos e alunas estagiários do Laboratório de Controle de Qualidade.

Aos alunos do ILCT/EPAMIG pelo auxílio durante a obtenção das amostras por ultravioleta.

Um especial agradecimento à FAPEMIG – Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais – pelo auxílio financeiro para execução dos testes.

A todos quantos acreditaram ou ainda acreditam num mundo melhor e mais justo, onde a ciência seja única e exclusivamente usada para melhorar a vida humana.

“A observação deve ser inteligente e sagaz, de modo a permitir clara distinção entre os fatos que são relevantes, para o estudo em causa e os inúmeros outros que se apresentam concomitantemente. Por isso deve ser atenta, precisa e metódica. Deve ser persistente, completa, porém analítica.

“O pesquisador deve ser curioso, paciente, objetivo e ***imparcial***; com os ***olhos isentos de preconceitos*** e a cabeça livre das fórmulas tradicionais, de idéias fixas ou baseadas em dogmas ou em autoridades que não demonstraram cabalmente, na prática, a validade de suas bases.”

ESTATÍSTICA APLICADA

William Costa Rodrigues – 2008 – 6ª. edição Revisada e Ampliada.

RESUMO

A cadeia de laticínios no Brasil sofreu uma profunda transformação com a granelização e o aumento da produção. Para manter a qualidade do leite, processos de pasteurização do leite são utilizados, mas eles provocam alterações químicas e sensoriais no produto, o que o consumidor não quer mais, por estar cada vez mais interessado em produtos seguros e minimamente processados. Por isso, os efeitos do uso da tecnologia de radiação ultravioleta (UV) para líquidos turvos – leite – foi objeto de estudo caracterizando possíveis alterações químicas, microbiológicas e sensoriais em relação ao leite pasteurizado. A comparação das tecnologias das lâmpadas UV, lâmpadas UVH (amálgama) em diferentes doses com o leite pasteurizado e cru seguiu os parâmetros da IN 62/2011. Foi verificado que não houve diferenças entre os tratamentos UV, UVH e pasteurizado em relação aos teores de proteínas ($p = 0,294$) e de gordura ($p = 0,598$). Reduções logarítmicas microbianas médias de contagem padrão em placas de 98,7% (ou 2,4 $\log_{10}$) para pasteurização, 94% (ou 1,30 $\log_{10}$) para o tratamento final UV-1275 e de 99,5% (ou 2,58 $\log_{10}$) para o tratamento final UVH (UVH-2200) foram alcançadas. De um modo geral, percebeu-se uma redução microbiana muito maior utilizando a lâmpada amálgama (tratamento UVH) que a UV e equivalente ao tratamento de pasteurização. Simulações econômicas foram realizadas comparando os custos variáveis para pasteurizar 1000 litros de leite (água gelada, produção de vapor e eletricidade) e tratar por ultravioleta o mesmo volume de leite (energia elétrica das lâmpadas) apontando um mínimo de economia de 60% do tratamento UV frente à pasteurização. Testes sensoriais olfativos demonstraram que os tratamentos UV e UVH diferiram do tratamento leite pasteurizado (α=0,05) mostrando uma semelhança dos tratamentos UV e UVH com o leite cru. Com isso, sugere-se o uso da tecnologia UVH (amálgama) na dose UVH-2200 para tratamento de leite cru como possível tecnologia para redução microbiana sem alterações significativas na matéria-prima, permitindo sua aplicação imediata em postos de resfriamento de leite, plataformas de recepção de laticínios, para estocagem de grande volume de leite cru e/ou para redução de temperatura e economia de energia em processos de tratamento térmico como o UHT.

Palavras-chaves: ultravioleta (UV), pasteurização, qualidade do leite.

ABSTRACT

The dairy Brazilian chain changed deeply in last year's with raw milk refrigerated transportation and increasing milk production. To keep the milk quality, pasteurization processes are used, but they could change some natural flavor and chemical properties, that some consumers do not want. Because of this, the ultraviolet technology (UV and UVH mercury amalgam) at different doses for raw milk was studied comparing with milk pasteurization (LP) in chemical, microbiological and sensory in raw milk according IN 62/2011 sanitary legislation. It was verified no changes in proteins (p=0,294) and fat milk (p=0,598) in all the treatments. On the other hand, microbiological logarithmic reductions median for Bacterial Total Plate Count were 98,7% (or 2,4 log_{10}) for milk pasteurization, 94% (or 1,30 log_{10}) for UV-1275 and 99,5% (or 2,58 log_{10}) in UVH-2200. This showed that UVH technology was better UV and could be a microbicide agent alternative to pasteurization or with it. UV and UVH treatments were different of LP at sensory tests (α=0,05) and similarity with raw milk. For all, UVH-2200 treatment is suggested to raw milk microbiological reduction at raw milk receiving at dairy companies, to improve raw milk quality during transportation and/or to reduce time and save money and energy to Ultra High Temperature (UHT) treatment of milk.

Keywords: ultraviolet treatment (UV), pasteurization, dairy quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. Potencialidades de uso da tecnologia UV na cadeia do leite.....14

2. O espectro de luz.....25

3. Formação de dímero de timina (TT) após ação da radiação UV.....27

4. Formação do dímero de Timina (TT) na dupla hélice do DNA.....28

5. Disposição de lâmpada ultravioleta em reator UV.....34

6. Esquema geral de funcionamento das lâmpadas UV de mercúrio 35

7. Esquemas das lâmpadas mais utilizadas para tratamento UV em alimentos 38

8. Etapas da autooxidação lipídica 52

9. Meio e vias de alterações de oxidação lipídica.....53

10. Mecanismos da fotooxidação do oxigênio singlete por fotosenssor 54

11. Reação geral de fótons sobre partículas alimentares.....54

12. Equipamento mais simples para tratamento por luz UV 56

13. Esquemas de reatores UV de fluxo laminar CiderSure® e Taylor-Couette®.....57

14. Esquema de reator de fluxo turbulento Aquionics (Hanovia)® 58

15. Equipamento UV TECNOPURE®/ MONTEX® 59

16. Esquema do equipamento UV da TECNOPURE®/MONTEX® 60

17. Um dos pontos de coleta do equipamento UV da TECNOPURE®/MONTEX®.....61

18. Descrição geral dos experimentos 62

19. Exemplo de bandeja apresentada aos provadores.....65

20. Esquema geral de um gráfico de diagrama de caixa (boxplot).....69

21. Seqüência de passos (estatística) gerais para análise dos dados.....70

22. Distribuição *boxplot* do teor de gordura das amostras 74

23. Distribuição *boxplot* do teor de proteínas das amostras 75

24. Distribuição *boxplot* da densidade das amostras 76

25. Distribuição *boxplot* extrato seco desengordurado (esd) das amostras 77

26. Distribuição *boxplot* do teor de acidez das amostras.....78

27. Curva de inativação microbiana (UFC/ml) para contagem padrão em placas (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH 80

28. Médias da redução logarítmica microbiana para contagem padrão em placas (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH 81

29. Distribuição *boxplot* da média da redução logarítmica (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH 82

30. Curva de inativação microbiana (Coliformes 30 ^{o}C) em leite pasteurizado, UV e UVH 83

31. Médias da redução logarítmica microbiana (Coliformes 30 ^{o}C) em leite pasteurizado, UV e UVH 84

32. Distribuição *boxplot* da média da redução logarítmica (Coliformes 30 ^{o}C) em leite pasteurizado, UV e UVH.....85

33. Curva de inativação microbiana (Coliformes 45 ^{o}C) em leite pasteurizado, UV e UVH 86

34. Médias da redução logarítmica microbiana (Coliformes 45 ^{o}C) em leite pasteurizado, UV e UVH 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Binômios tempo/temperatura da pasteurização do leite segundo FDA (EUA) 17

Tabela 2. Doenças e alguns microorganismos patogênicos associados ao leite.....19

Tabela 3. Requisitos físicos e químicos para leite cru refrigerado (IN 62) 22

Tabela 4. Requisitos microbiológicos para leite cru (IN 62).....23

Tabela 5. Requisitos físico-químicos e microbiológicos para leite pasteurizado (IN 62) 24

Tabela 6. Dose necessária de UV (mJ/cm^2) para valores de D 31

Tabela 7. Tipos de lâmpadas UV a base de mercúrio disponíveis no mercado 37

Tabela 8. Aplicações gerais da radiação UV.....41

Tabela 9. Potencialidades do uso do tratamento por ultravioleta na indústria de bebidas.....42

Tabela 10. Número mínimo de seleções corretas necessário para diferença significativa, a vários níveis (alfa) de significância, pelo método duo-trio 66

Tabela 11. Métodos experimentais e parâmetros utilizados para os diferentes tratamentos 68

Tabela 12. Doses experimentais UV (lâmpadas de baixa pressão) no leite 73

Tabela 13. Doses experimentais UV-amálgama (lâmpadas de baixa pressão e alto rendimento).....73

Tabela 14. Custos variáveis para pasteurizar 1000 litros de leite.....89

Tabela 15. Custos variáveis para tratar por UV 1000 litros de leite.....90

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

2. REVISÃO DE LITERATURA.....17

2.1. A pasteurização.....17

2.1.1. Fundamentos da pasteurização do leite 18

2.1.2. Mudanças induzidas pela pasteurização do leite 20

2.1.3. Fatores que afetam a pasteurização do leite.....21

2.2. Qualidade do leite e IN 62.....22

2.3. A luz ultravioleta 25

2.3.1. Fundamentos da luz ultravioleta (UV) 25

2.3.2. Funcionamento da luz ultravioleta (UV) 26

2.3.3. Mecanismos de ação da luz ultravioleta (UV).....27

2.3.4. Dose UV 29

2.3.5. Doses de luz UV e ação sobre microorganismos.....30

2.3.6. Modelagem da cinética de inativação por UV.....32

2.3.7. Fatores que afetam o efeito da luz UV em alimentos.....32

2.3.8. As lâmpadas ultravioleta.....34

2.3.9. Vantagens e desvantagens da luz ultravioleta 38

2.3.10. Usos atuais gerais da luz UV 40

2.3.11. Usos atuais e potenciais da luz UV em fluidos alimentares 42

2.3.12. Usos atuais e potenciais da luz UV em laticínios 43

2.3.13. Efeitos da luz UV sobre o leite 51

2.3.14. Equipamentos para tratamento por radiação ultravioleta 55

2.3.15. Dispositivos de controle da radiação ultravioleta.....58

3. MATERAIS E MÉTODOS 59

3.1. Equipamento experimental para tratamento por ultravioleta.....59

3.2. Preparo das amostras.....62

3.3. Metodologias analíticas.....63

3.3.1. Análises físico-químicas.....63

3.3.2. Análises microbiológicas.....64

3.3.3. Análises sensoriais 64
3.3.4. Simulação econômica 66
3.4. Estatística dos experimentos 66

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 72
4.1. Cálculo da dosagem 72
4.1.1. Dosagem para unidade UV (lâmpada de baixa pressão) 72
4.1.2. Dosagem para unidade UV-amálgama (lâmpada de baixa pressão e alto rendimento) 73
4.2. Análises físico-químicas 74
4.2.1. Análise de gordura 74
4.2.2. Análise de proteínas 75
4.2.3. Análise de densidade 76
4.2.4. Análise de extrato seco desengordurado 77
4.2.5. Análise de acidez titulável 78
4.2.6. Estabilidade ao alizarol 79
4.2.7. Testes de enzimas – fosfatase e peroxidase 79
4.3. Análises microbiológicas 79
4.3.1. Contagem padrão em placas (CPP) 79
4.3.2. Coliformes (30 ^{o}C) 82
4.3.3. Coliformes (45 ^{o}C) 85
4.3.4. *Salmonella* spp. 87
4.4. Análises sensoriais 88
4.5. Simulação econômica 88
4.5.1. Produção de vapor para produzir água quente para o pasteurizador 88
4.5.2. Consumo energético para produzir água gelada para o pasteurizador 89
4.5.3. Consumo energético de bombas no pasteurizador 89
4.5.4. Consumo energético para tratamento por ultravioleta 89

5. CONCLUSÕES 91

REFERÊNCIAS 93

ANEXOS 99

1 INTRODUÇÃO

O crescimento na produção de lácteos no Brasil é fato notório nos últimos anos, tendo a IN 51 (Instrução Normativa 51 do Ministério da Agricultura) estabelecido critérios de identidade e qualidade do leite. Profundas transformações nos últimos anos concorreram para isso, entre as quais: a mudança da logística de recebimento de leite de latões para caminhões-tanques até aumento da produção e da variedade de produtos na ponta do varejo. Para contribuir para que o leite chegue seguro do ponto de vista microbiológico ao consumidor, a pasteurização do leite tem sido usada como principal tratamento visando a manutenção da qualidade microbiológica, sensorial e aumento de vida de prateleira desse produto. O consumidor, entretanto, quer escolher produtos lácteos cada vez mais frescos e minimamente processados e com qualidade sensorial superior, o que nem sempre é possível com o emprego de altas temperaturas no leite. Nesse sentido, é preciso repensar alguns paradigmas das tecnologias para processamento de leite já consolidadas e para isso as instituições de pesquisa têm vital importância no estudo e potencial introdução gradual de novas tecnologias emergentes para o leite.

Uma destas novas tecnologias que vem sendo estudada é o uso de radiação do leite por UV (ultravioleta). Segundo os fabricantes e detentores da tecnologia, ela garante diversas vantagens ao processo frente à pasteurização, dentre as quais: não geram subprodutos tóxicos; desinfecções rápidas sem resíduos de odor, não há necessidade de estocar substâncias tóxicas (ácidos, bases e cloro para desinfecção, por exemplo), além de baixo impacto ambiental (sem necessidade de água quente e gelada). Contudo, há uma falta de dados, estudos e de literatura específica sobre o uso e custos dessa tecnologia, as possíveis alterações positivas e negativas dela no leite, o que poderia possibilitar e dar subsídios técnicos (às indústrias) e legais (aos órgãos de fiscalização) para que possa vir a ser utilizada.

Por outro lado, não se pretende substituir a pasteurização *a priori* – sendo solicitada autorização de uso pelo Ministério da Agricultura (MAPA) do Brasil (Anexo A e Anexo B) –, mas estudar a possibilidade de usa de uma tecnologia de barreira para que esta esteja presente nas plataformas de recepção dos laticínios ou nos postos de recepção e resfriamento de leite. O leite passaria por ela (tratamento UV) e entraria com redução decimal de microorganismos dentro do setor industrial, o que

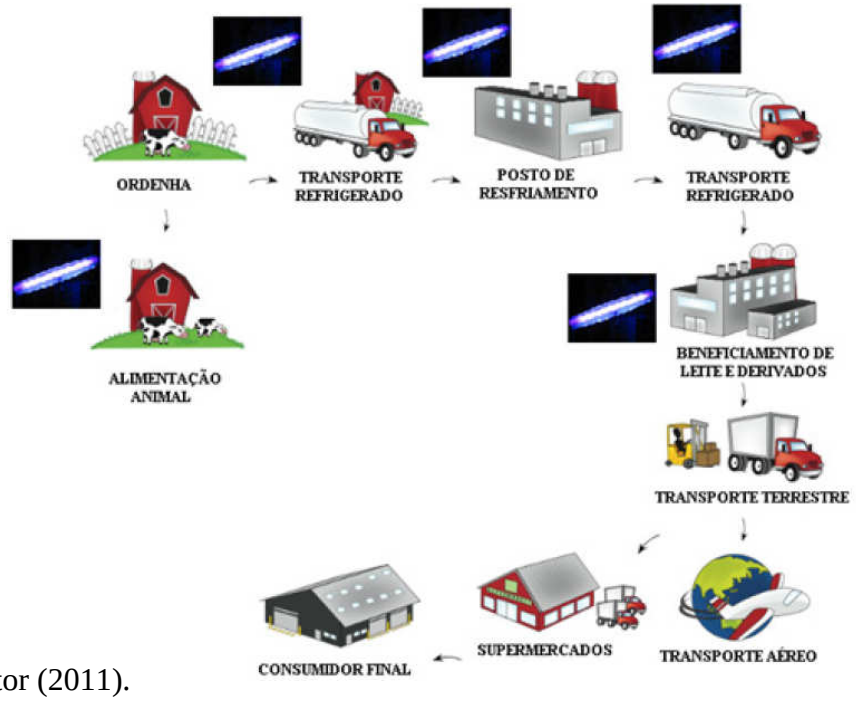
garantiria em tese a produção de excelentes produtos lácteos. Outra aplicação possível seria a substituição da pasteurização antes do tratamento por altas temperaturas por UHT ("Ultra High Temperature" – Ultra Alta Temperatura) e ainda a redução da temperatura de pasteurização para o limite crítico inferior de 72 ^{o}C. Em ambas, isso possibilitaria reduções consideráveis nos custos energéticos de produção de vapor e de consumo de água gelada num laticínio.

Faz-se mister, portanto, um estudo de composição, atributos sensoriais e microbiológicos de comparação dos dois métodos de tratamento de leite: pasteurização e radiação UV que possam servir como subsídio para a definição da identidade deste processo e ao mesmo tempo permitir futura validação.

Entre os potenciais resultados e impactos esperados está a possibilidade de introdução da tecnologia de tratamento por ultravioleta para leite, realidade que está se iniciando em alguns laticínios na Europa e Estados Unidos, passando por aprovação em diversos órgãos de saúde dos países (FDA, por exemplo). Neste sentido, é importante que o Brasil possa vir a testar também esta nova tecnologia com potencial uso na cadeia do leite.

Perspectivamente, o processamento UV tem diversas possibilidades no sistema agroindustrial do leite. Na figura 1 são mostradas (figuras de lâmpada UV) em quais etapas poder-se-ia utilizar a tecnologia com algum fim específico.

Figura 1 – Potencialidades de uso da tecnologia UV na cadeia do leite



Fonte: o autor (2011).

Atualmente, um dos usos da luz UV na produção primária de leite tem sido o tratamento do colostro antes de fornecer a bezerros, melhorando sua qualidade e reduzindo a mortandade dos animais.

Por outro lado, um potencial uso poder-se-ia dar na entrada dos postos de resfriamento, antes da entrada do leite nos silos de estocagem, diminuindo a carga de microorganismos (psicrotróficos) do leite que permaneceria estocado.

No posto de resfriamento de leite grande seria a possibilidade de aplicação da tecnologia no leite antes da entrada desta matéria-prima no caminhão-tanque, de forma que o leite pudesse percorrer grandes distâncias, o que permitiria que a matéria-prima chegasse à indústria (laticínio) com alta qualidade sensorial e microbiológica. Com uma matéria-prima mais segura, podem-se imaginar diversas vantagens subseqüentes. A primeira seria baixar a temperatura de pasteurização ao limite crítico inferior (72 ^{o}C) com conseqüente diminuição do consumo de água quente (vapor e combustível das caldeiras), diminuição do consumo de água gelada (menor consumo de eletricidade para refrigeração). A segunda e não menos importante seria a perspectiva de produção de leites, queijos, manteigas e outros derivados lácteos com maior prazo de validade (melhor matéria-prima) sem os conseqüentes problemas advindos da pasteurização. Por fim, há a possibilidade de incorporação desta tecnologia dentro das etapas de processamento do leite UHT para substituir a pasteurização antes do tratamento UHT ou ainda pra reduzir o binômio tempo/temperatura de ultrapasteurização, com vistas a minimizar os efeitos indesejáveis deste tratamento ao leite.

Outrossim, alguns países têm proposto e aplicado a substituição da pasteurização completamente pelo tratamento UV, especialmente para queijos maturados produzidos a partir de leite cru, com objetivo de contribuir com as características sensoriais de um produto cru. Por isso, esse presente trabalho teve por objetivo principal estudar o efeito do tratamento do leite pelo método ultravioleta (luz UV). Além disso, pretendeu comparar e analisar os efeitos físico-químicos e microbiológicos sobre o leite cru usando dois métodos UV (LBP) e amálgama UVH (LBPAR) – e compará-los com o método de controle: pasteurização.

Por outro lado, foi verificado também qual seria o efeito sensorial dos tratamentos UV (LBP) e amálgama UVH (LBPAR) em comparação com o método de controle: pasteurização.

Finalmente, o estudo foi concluído por uma simulação financeira dos gastos dos dois processos: pasteurização e tratamento por UV, quanto aos custos variáveis de processamento para mil litros de leite.

Em resumo, com este trabalho pretendeu-se fornecer à comunidade científica brasileira os primeiros estudos relacionados a este novo método de tratamento (UV em leite) e com isso dar um respaldo técnico à viabilidade ou não do mesmo junto a empresas do setor. Baseado na realidade brasileira pretendeu-se gerar subsídios aos órgãos competentes de legislação e fiscalização sanitária quanto à possibilidade futura de aplicação do método na cadeia do leite.

Espera-se, portanto, inaugurar uma nova fase de pensar a produção da cadeia agroindustrial do leite, melhorando sua qualidade em todos os elos. Além disso, a consolidação desta tecnologia pode fornecer ao consumidor produtos mais frescos, seguros, com menor tratamento térmico e com menos aditivos químicos, o que pode contribuir para uma melhor saúde e segurança alimentar.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A garantia de qualidade do leite passa por processos tecnológicos, entre os quais a pasteurização, a fim de garantir a estabilidade e qualidade microbiológicas.

2.1. A pasteurização

A pasteurização ou processo de pasteurização surgiu originalmente na França como método de conservação de vinhos por Louis Pasteur e se expandiu no início do século XX para preservação do leite que foi introduzido originalmente na Alemanha em 1895 e Estados Unidos em 1907 (SMIT, 2000).

De acordo com Food and Drug Administration – FDA – (EUA, 2003) o PMO – Pasteurized Milk Ordinance – órgão de FDA dos EUA – os termos pasteurização e pasteurizado são similares e significam o processo de aquecimento de toda partícula do leite ou produto lácteo em equipamento próprio para uma dada temperatura nos tempos especificados (Tabela 1).

Tabela 1 – Binômios tempo/temperatura da pasteurização do leite segundo FDA (EUA)

Temperatura	**Tempo**
63°C (145°F)	30 minutos
72°C (161°F)	15 segundos
89°C (191°F)	1.0 segundo
90°C (194°F)	0.5 segundo
94°C (201°F)	0.1 segundos
96°C (204°F)	0.05 segundos
100°C (212°F)	0.01 segundos

Fonte: EUA (2003).

Segundo a FIL – Federação Internacional de Laticínios – a pasteurização é um processo aplicado com o objetivo de evitar danos à saúde pública decorrentes dos microorganismos patogênicos associados ao leite (SMIT, 2000). Por outro lado, *Codex Alimentarius* (2004) definiu pasteurização como o tratamento térmico microbicida útil para redução do número de quaisquer microorganismos patogênicos no leite e produtos

lácteos, se presentes, para um nível no qual eles não constituam significante perigos à saúde.

De acordo com o Regulamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura – RIISPOA (1952) – em seu artigo 517 entende-se por pasteurização

> o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir totalmente a flora microbiana patogênica sem alteração sensível da constituição física e do equilíbrio do leite, sem prejuízo dos seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais.

Ainda no seu parágrafo primeiro do referido regulamento (RIISPOA, 1952),

> permitem-se os seguintes processos de pasteurização: pasteurização lenta, que consiste no aquecimento do leite de 62 ^{o}C a 65 ^{oC} por 30 minutos, mantendo-se o leite em grande volume sob agitação mecânica, lenta, em aparelhagem própria e a pasteurização de curta duração, que consiste no aquecimento do leite em camada laminar de 72 ºC a 75 ºC por 15 a 20 segundos, em aparelhagem própria.

RIISPOA (1952) no artigo 517 e parágrafo segundo esclarece também que imediatamente após o aquecimento, o leite será refrigerado entre 2ºC e 5ºC e em seguida envasado. Esses binômios tempo-temperatura supramencionados para redução de *Coxiella burnetti* e *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* estabelecidos em 1924 pelo PMO são importantes, mas o mesmo documento, segundo MATAK (2004) dá abertura a novos possíveis métodos alternativos ao tratamento térmico, desde que seja eficientemente igual à pasteurização (desde que atenda 6 $\log_{10}$ – redução logarítmica – de redução para *Coxiella burnetti*) e que seja aprovado pelo FDA. Nesse sentido, MATAK (2004) observou que recentemente descobriu-se que a pasteurização do leite seria ineficiente para a eliminação de certos patógenos como esporos de *Bacillus cereus* e *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis*, sendo, por isso, necessário pesquisar outros métodos de controle.

2.1.1. Fundamentos da pasteurização do leite

Por ser um dos alimentos naturais mais completos que existem (altas concentrações de proteínas, algumas vitaminas, água e sais minerais) o leite atua como meio de cultura excepcional para a maioria dos microorganismos, muitos deles maléficos e patogênicos ao homem, como mostrado na Tabela 2.

Em função disso, a pasteurização do leite tem atuado como o método de controle

mais eficiente para eliminação desses microorganismos a níveis aceitáveis e que não representem riscos à saúde do consumidor, desde que o leite não esteja com níveis exagerados de contagem inicial (leite cru).

Tabela 2 – Doenças e alguns microorganismos patogênicos associados ao leite

MICROORGANISMOS	**DOENÇA**
Enterobactérias	
Escherichia coli (incluindo O157:H7)	Gastrointerites
Salmonella	Gastrointerites, febre tifóide
Bactérias gram-negativas	
Yersinia enterocolitica (psicrotrófico)	Gastrointerites
Campylobacter jejuni	
Pseudomonas aeruginosa	
Gram-positivos formadores de esporos	
Bacillus cereus (psicrotrófico)	Gastrointerites
Clostridium botulinum	
Cocos Gram-positivos	
Staphylococcus aureus	Intoxicação hemética
Outras bactérias	
Listeria monocytogenes (psicrotrófico)	Listeriose
Mycobacterium bovis	Tuberculose
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculose
Mycobacterium paratuberculosis	Doença de Johne (ruminantes)
Coxiella burnetii	Febre Q
Vírus	
Enterovirus, poliviroses, rotavírus	Infecção entérica
Vírus da hepatite	Hepatite infecciosa
Protozoários	
Entamoeba histolytica	Amebíase
Giardia lamblia	Giardíase

Fonte: adaptado de HAYES e BOOR (2001).

2.1.2. Mudanças induzidas pela pasteurização do leite

O leite, considerado uma matriz biológica complexa com proteínas, lipídeos, carboidratos, sais, vitaminas e enzimas é um sistema relativamente estável ao calor, em relação a outros alimentos, conquanto numerosas alterações biológicas, químicas e físico-químicas ocorram, alterando suas propriedades nutricionais, organolépticas e tecnológicas (FOX, 1998).

Segundo Fox (1998) os lipídeos estão entre os constituintes do leite que menos sofrem alterações com o tratamento térmico. Em especial, no tratamento HTST (High Temperature Short Time – Alta temperatura e tempo curto), este tem pouco ou nenhum efeito sobre a separação do creme (desnate). Sais de fosfatos e carbonatos de cálcio são muito alterados pelo aquecimento, já que a solubilidade destes diminui (FOX, 1998), gerando em longo prazo as pedras de leite (proteínas desnaturadas).

Em relação às proteínas, Fox (1998) destacou que são os principais componentes afetados pelo calor: lipase lipoprotéica é extensamente inativada, atividade da plasmina é aumentada por eliminação dos inibidores de plasmina; a maioria das imunoglobulinas é desnaturada; as proteínas do soro são parcialmente desnaturadas a partir de 70 ^{o}C, enquanto as caseínas são bem termoestáveis.

Fox (1998) esclareceu ainda que a pasteurização (HTST) não causa a formação de sabores e aromas desagradáveis, sendo que na verdade pode até estabilizar o sabor pela redução de enzimas como lipases, conquanto não as elimine totalmente.

Grappin e Beuvier (1997) verificaram que, além de destruir as bactérias patogênicas, a pasteurização do leite provoca mudanças significativas no leite que será utilizado na fabricação de queijos. Entre estas estão: a eliminação parcial dos microorganismos naturais do leite que cresceriam durante a maturação do queijo, uma inibição total ou parcial do complexo plasmina/plasminogênio, da catepsina D, fosfatase alcalina e lipase; enzimas de bactérias psicrotróficas, fosfatase ácida e xantina oxidase. Experimentos conduzidos mostraram que queijos produzidos a partir de leite pasteurizado apresentaram em média menores escores de intensidade de sabor que os produzidos com leite cru, já que diversos componentes são destruídos no processo de pasteurização.

2.1.3. Fatores que afetam a pasteurização do leite

Segundo Smit (2000) quatro são os principais fatores que afetam a pasteurização do leite: a qualidade do leite cru, as condições do processo (binômio tempo e temperatura), a contaminação pós-processamento e a temperatura de estocagem.

A pasteurização, segundo Smit (2000), melhora a qualidade do leite cru quando reduz em torno de cinco a oito $\log_{10}$ para *Salmonella* e *Campylobacter*, inativa *Listeria*, diminui substancialmente formadores de esporos e coliformes, embora permita a sobrevivência de termodúricos, esporos (*Bacillus cereus*) e enzimas (lipases e proteases termoresistentes provindas de psicrotróficos).

A relação mais comum de binômio tempo temperatura normal para a pasteurização HTST é 72 °C por 15 segundos e, embora fosse de se esperar que um aumento de temperatura melhorasse a qualidade do processo, Smit (2000) relatou que testes com leite a 80 °C por 15 segundos mostraram o contrário, provavelmente por um choque térmico (que permite uma germinação de esporos) e uma redução da atividade do sistema lactoperoxidase (LPS), que é um conjunto de componentes naturais intrínsecos e responsáveis pela garantia da segurança microbiológica do leite cru.

Provavelmente, o principal fator que afeta negativamente o efeito desejado da pasteurização é a contaminação pós-processamento, que pode ocorrer nas seções de regeneração e resfriamento do próprio equipamento, nos tanques de estocagem ou na embalagem final do produto, tudo por práticas inadequadas de higiene (SMIT, 2000).

Almeida (2006) afirmou que a contaminação do leite está geralmente associada às falhas no processo de pasteurização, enquanto que a contaminação pós-pasteurização está relacionada à limpeza inadequada dos equipamentos para embalagem ou contaminação através do ar e que essas situações, quando ocorrem, podem reduzir a vida de prateleira do produto, geram perdas econômicas, além de representarem um risco à saúde do consumidor.

Por fim, a temperatura de estocagem a frio é vital e normalmente feita a 4 ^{o}C, iniciando a mesma a partir do próprio equipamento, o que garantirá a qualidade do leite para envase (SMIT, 2000).

2.2. Qualidade do leite e IN 62

A qualidade do leite no Brasil passou por profunda modificação principalmente a partir da IN 51 – que estabeleceu requisitos de identidade e qualidade química e microbiológica para diferentes tipos de leite e mais recentemente a Instrução Normativa 62 (IN 62) de 2011 que veio substituir a IN 51. O anexo IV (BRASIL, 2011) deste documento (IN 62) estabelece que o leite cru refrigerado deve possuir cor branca opalescente homogênea, sabor e odor característicos, além de outros requisitos mostrados na Tabela 3 e Tabela 4.

Tabela 3 – Requisitos físicos e químicos para leite cru refrigerado
(Instrução Normativa 62)

Requisitos	**Limites**
Matéria gorda (g/100 g)	Teor original, com mín de 3,0
Densidade relativa a 15 ^{o}C (g/ml)	1,028 a 1,034
Acidez titulável (g de ácido lático/100 ml)	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado (g/100 g)	mín.8,4
Índice crioscópico máx	-0,530 ^{o}H (equiv. a -0,512 ^{o}C)
Proteínas (g/100 g)	mín. 2,9

Fonte: BRASIL (2011).

Tabela 4 – Requisitos microbiológicos para leite cru (Instrução Normativa 62)

Requisitos	**A partir de 01/01/2012 até 30/06/2014 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/01/2013 até 30/06/2015 (Regiões N/NE)**	**A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/07/2015 até 30/06/2017 (Regiões N/NE)**	**A partir de 01/07/2016 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/07/2017 (Regiões N/NE)**
Contagem padrão em placas (Unidades Formadoras de colônias por ml)	Máximo de $6,0 \times 10^5$	Máximo de $3,0 \times 10^5$	Máximo de $1,0 \times 10^5$

Fonte: BRASIL (2011).

Para leite pasteurizado, a IN 62 esclarece que:

> (...) leite pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do leite cru refrigerado na propriedade rural que apresente as especificações de produção, de coleta e de qualidade dessa matéria-prima contidas em Regulamento Técnico próprio e que tenha sido transportado a granel até o estabelecimento processador; (...) deve ser classificado quanto ao teor de gordura como integral, padronizado a 3% m/m – massa por massa, semidesnatado ou desnatado, e, quando destinado ao consumo humano direto na forma fluida, submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de (72 a 75)ºC durante 15 a 20 segundos, em equipamento de pasteurização a placas, dotado de painel de controle com termo-registrador e termo-regulador automáticos, válvula automática de desvio de fluxo, termômetros e torneiras de prova, seguindo-se de resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4ºC e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações; (...) imediatamente após a pasteurização o produto assim processado deve apresentar teste negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e coliformes 30/35ºC menor que 0,3 NMP/ml da amostra (BRASIL, 2011).

O mesmo regulamento (IN 62) determina que:

> (...) em estabelecimentos de laticínios de pequeno porte pode ser adotada a pasteurização lenta ("Low Temperature, Long Time" - LTLT, equivalente à expressão em vernáculo "Baixa Temperatura/Longo Tempo") para produção de leite pasteurizado para abastecimento público ou para a produção de derivados lácteos, nos termos do presente Regulamento, desde que: (...) o equipamento de pasteurização a ser utilizado cumpra com os requisitos ditados pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos Animal - RIISPOA ou em Regulamento Técnico específico, no que for pertinente; (...) o envase seja realizado em circuito fechado, no menor tempo possível e sob condições que minimizem contaminações e (...) a matéria-prima satisfaça às especificações de qualidade estabelecidas pela legislação referente à produção de leite pasteurizado (BRASIL, 2011).

Na tabela 5 são apresentados os requisitos mínimos de qualidade físico-química e microbiológica para leite pasteurizado.

Tabela 5 – Requisitos físico-químicos e microbiológicos para leite pasteurizado integral (Instrução Normativa 62)

Requisitos	**Leite Integral**
Gordura (g/100 g)	Teor original
Acidez (g de ácido lático/100 ml)	0,14 a 0,18 para todas as variedades quanto ao teor de gordura
Estabilidade ao alizarol 72% (v/v)	Estável para todas as variedades quanto ao teor de gordura
Sólidos não gordurosos (g/100 g)	mín. de 8,4
Índice crioscópico	máx. -0,530 ^{o}H (-0,512 ^{o}C)
Contagem padrão em placas (UFC/ml)	n>5;c>2 m>4x10^{4} M>8x10^{4}
Coliformes NMP/ml (30/35 ºC)	n>5;c>2 m>2 M>4
Coliformes NMP/ml (45 ºC)	n>5;c>1 m>1 M>2
Salmonella spp./25 ml	n>5;c>0 m>ausência

Fonte: BRASIL (2011).

2.3. A luz ultravioleta

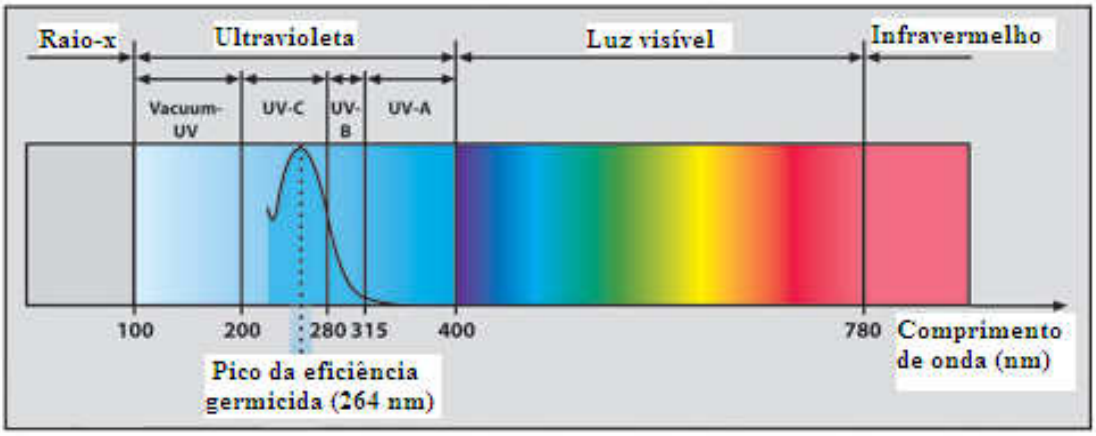
2.3.1. Fundamentos da luz ultravioleta (UV)

Em 1877 Downes e Blunt descobriram o efeito germicida da luz ultravioleta (UV) do sol e a partir de 1901 desenvolveram-se as primeiras lâmpadas UV para tratamento de água (EPA, 2006). Por outro lado, os baixos custos com cloro e problemas operacionais fizeram com que somente em 1955 surgissem os primeiros centros de tratamento de água potável municipal na Suíça e Áustria. Tipicamente, após a descoberta dos resíduos da cloração e seu potencial poluidor, a tecnologia UV, especialmente para tratamento de água, espalhou-se pelo mundo a partir da década de 80, tendo no ano de 2000 cerca de 400 centros de tratamento de água usando essa tecnologia (EPA, 2006).

Na prática, a luz UV é gerada pela aplicação de uma diferença de potencial numa lâmpada que gera uma descarga elétrica dentro de um tubo de quartzo contendo uma mistura de gás (mercúrio ou xênon), o que excita esses átomos. Estes, ao voltarem ao estado original de energia, emitem luz em um comprimento de onda de 100 nm a 400 nm (EPA, 2006).

Segundo Howarth (2007), UV é a parte do espectro eletromagnético entre a luz visível e os raios-X, conforme mostrado na figura 2 a seguir.

Figura 2 – O espectro de luz



Fonte: adaptado de http://www.uvcomparison.com/uvscience.php (2008).

MONE (1973) descreveu que o espectro de comprimento de onda das radiações ultravioleta varia de 2000 a 3900 Angstroms (Å) e pode ser dividida em três faixas: as

de ondas longas (3250 Ǻ a 3900 Ǻ) que ocorrem na luz solar e tem pouco valor germicida; ondas médias (2950 Ǻ a 3250 Ǻ) também encontrada na luz solar com algum efeito germicida, enquanto as de onda curta possuem os maiores efeitos germicidas e não existem naturalmente, tendo que ser produzidas pela conversão da energia elétrica.

A figura 2 mostra que a porção mais germicida se situa entre 200 e 280 nm constituindo a região chamada de UV-C. De acordo com Bolton (2000) a absorbância máxima do DNA se dá em 264 nm (maior efeito germicida) e é nesse comprimento de onda que a radiação UV é capaz de matar os microorganismos pela penetração nas membranas celulares, causando danos ao DNA e tornando-os incapazes de reprodução.

2.3.2. Funcionamento da luz ultravioleta (UV)

Segundo Krishnamurthy *et al*. (2007) há dois modos de aplicação da luz UV: modo contínuo ou luz pulsada. O método contínuo é o convencional sendo a luz emitida continuamente sem interrupção. No modo de luz pulsada, a luz UV é descarregada (através do uso de um capacitor) em pulsos curtos intermitentes, o que pode permitir aumento de intensidade energética por pulso, sendo este mais efetivo na inativação de microorganismos e por isso mais usado. Entretanto, embora já tenha sido provado seu efeito como inativação do *S.aureus* no leite, os mecanismos de inativação por luz UV pulsada ainda não são compreendidos.

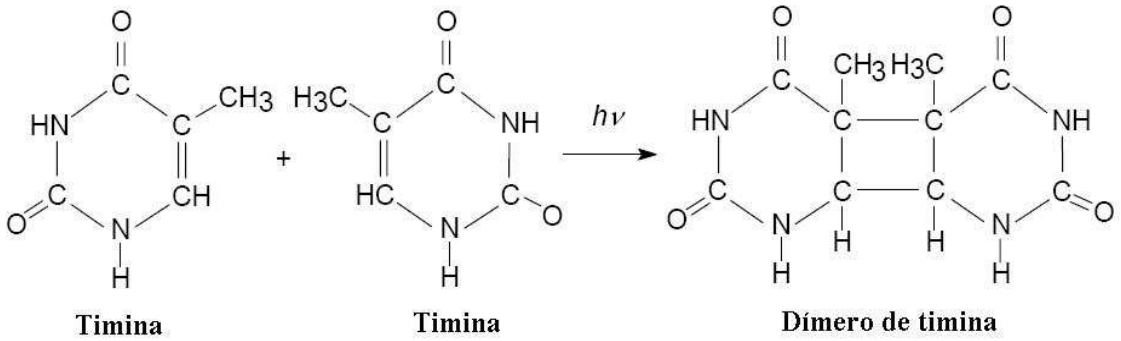
Federighi *et al.* (2007) esclareceram os passos que seguem a geração da luz UV pulsada. Segundo eles, o sistema se compõe de três componentes: o suprimento de energia, o dispositivo de configuração pulsada e a lâmpada. A energia estocada num capacitor (uma fração de segundo) é transferida para uma lâmpada num período muito curto (nanosegundos a milisegundos) e descarregada em seguida (em microsegundos). Oms-oliu *et al.* (2010) assinalaram que a tecnologia que iniciou no Japão em 1970 consiste do uso de pulsos intensos de curta duração que, aplicados a líquidos como o leite, tem menor efeito de oxidação lipídica em relação à campos contínuos de UV.

2.3.3. Mecanismos de ação da luz ultravioleta (UV)

Federighi *et al.* (2007) propuseram dois mecanismos para explicar a ação da luz UV sobre os microorganismos: o mecanismo fotoquímico e o fototérmico.

Segundo Bolton (2000) quando os microorganismos são expostos à radiação ultravioleta, eles são inativados por um mecanismo que envolve a formação de fotoprodutos no DNA celular. Esses fotoprodutos, se não reparados, alteram a replicação e expressão gênica normal do DNA e reduzem a sobrevivência do microorganismo. Esse parece ser, de acordo com Bolton (2000), o alvo sobre o qual há a inativação por radiação UV, numa faixa que varia no espectro de 10 nm a 260 nm de comprimentos de onda. Em uma célula o DNA existe como um desoxipolinucleotídeo ligado com base individuais formando ligações de hidrogênio, adenina (A) com timina (T) e guanina (G) com citosina (C). Nesse sentido, a radiação UV resulta na formação de dímeros de ciclobutano entre pirimidinas nos locais TT e TC ou CT e CC no DNA em cerca de 1 % das ligações. Um dímero mais comum de TT é mostrado na figura 3.

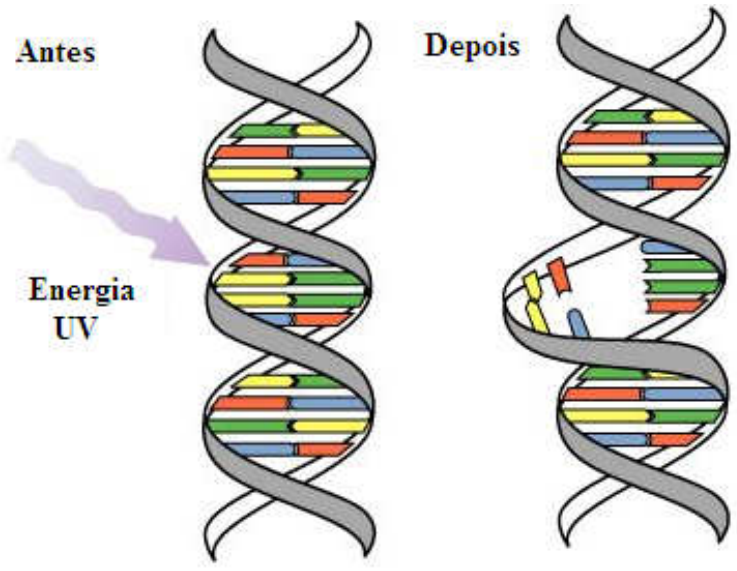
Figura 3 – Formação de dímero de timina (TT) após ação da radiação UV



Fonte: adaptado de BOLTON (2000).

A reação pode ser vista na figura 4 a seguir, que mostra a formação do dímero de timina (TT).

Figura 4 – Formação do dímero de Timina (TT) na dupla hélice do DNA



Fonte: adaptado de INFRALIGHT (2008).

De acordo com Bolton (2000), outras alterações menores incluem ligações cruzadas, rompimento das ligações DNA-proteína, bem como produtos purínicos e ainda hidratação da citosina. Sob condições em níveis baixos, todas as formas de danos ao DNA são reparadas, mas quando o dano na célula excede sua capacidade de reparação, o metabolismo cai e o processo de degradação tem início.

EPA (2006) destacou que dímeros de pirimidina evitam a replicação, sem entretanto, evitar funções microbianas como respiração, sendo necessárias doses UV muito maiores para realmente matar a célula.

Contudo, segundo Matak (2004), em alguns casos, as células injuriadas podem ser capazes de serem regeneradas por enzimas microbianas reparadoras, fenômeno conhecido como fotoreativação (“dark repair” ou “light repair”), onde enzimas ativadas pela luz UV rompem as ligações covalentes dos dímeros de pirimidina. Para evitar isso, Matak (2004) sugere que a exposição de luz deve ser no mínimo 40 mJ/cm^2 e Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) esclareceram que a fotoreativação, quando ocorre exposição acima da faixa de 300 nm pela enzima fotoliase (monomeriza bases de pirimidina), pode ser evitada se o tratamento for realizado em câmaras no escuro. Por outro lado, EUA (2000) pelo FDA citou, por exemplo, que as doses mínimas (J/m^2) para inativação de *Escherichia coli* ATCC 11229 sem fotoreativação é 100 e com fotoreativação é 280; para *Salmonella typhi* é de 140 e 190 e para *Vibrio cholerae* é de 50 e 210, respectivamente.

Federighi *et al.* (2007) sugeriram que com o uso de luz pulsada os danos ao DNA das bactérias, vírus e fungos são tão grandes que fica difícil o reparo por fotoreativação.

Por fim, alguns autores, como Federighi *et al.* (2007), atribuíram a ação da luz UV a um efeito fototérmico. Segundo eles, há um superaquecimento devido às diferenças de absorção da luz UV pela bactéria e do meio. Neste caso, o conteúdo interno de água da bactéria é vaporizado, levando a um pequeno fluxo de vapor que causaria a ruptura da membrana da célula microbiana.

Portanto, qualquer que seja o mecanismo, efetivamente a luz UV atua diretamente sobre os microorganismos, oferecendo excelente opção de agente microbicida.

2.3.4. Dose UV

Os microorganismos quando expostos ao tratamento UV recebem uma dose de luz. De acordo com EPA (2006) a dose é a energia de luz incidente por área num determinado tempo e é a forma de identificar a quantidade de energia recebida.

Segundo Bolton (2000) a dosagem de luz UV (em W/m^2) (eq. 1) é definida como a energia UV absorvida, enquanto o fluxo (em J/m^2) é um termo mais correto, já que diz respeito a energia total incidente sobre o microorganismo, segundo a equação da dosagem de luz UV (BOLTON, 2000).

$$Dosagem = Intensidade \times tempo \qquad \text{Equação 1}$$

A intensidade é relativa ao tipo de lâmpada UV (mercúrio, amálgama, de alta pressão, média ou baixa) enquanto o tempo é relativo à vazão e o tempo de contato do produto com a energia da lâmpada.

Na prática, para medir a dose (ou dosagem) de luz UV usa-se atualmente a biodosimetria. Koutchma (2009) definiu biodosimetria como a quantidade de energia radiante UV (atuante sobre o microorganismo alvo) necessária para alcançar redução logarítmica (log_{10}). Nesse caso, os microorganismos que passam através do reator UV próximo às lâmpadas, podem ser expostos à altas doses de UV ou viajarem no reator e entre as lâmpadas e receberem doses insuficientes, ou ainda passar muito rápido e/ou em zonas “mortas”. Desta forma, microorganismos que deixam o reator UV recebem diferentes doses de UV, de forma que se fala em distribuição média de descarga UV,

tornando-se muito importante o estudo da velocidade e do fluxo (turbulento ou laminar) do processo.

Para medir a dose, Koutchma (2009) destacou que são instalados nos equipamentos sensores chamados de radiômetros (térmicos ou fotônicos). EUA (2000) pelo FDA esclareceu que o sensor deve ser instalado no sistema de tal forma que permita a medição correta, independente da sua posição e ele varia conforme o fabricante, podendo monitorar uma ou duas lâmpadas ao mesmo tempo. Sensores devem responder às mudanças nas lâmpadas, tais como: configuração da energia, idade da lâmpada e do tubo de quartzo e incrustações sobre o tubo de quartzo (EPA, 2006).

2.3.5. Doses de luz UV e ação sobre microorganismos

Estudos da ação da lâmpada ultravioleta sobre os microorganismos datam do início do século vinte. Sharp (1938) estudou a ação de lâmpadas de mercúrio UV de baixa pressão dispostas 89 cm acima de placas de Petri com meios de cultura com diversas bactérias patogênicas. Foi verificado que os microorganismos tinham diferentes resistências para morte de 90 % das formas vegetativas (um $\log_{10}$ de redução); desta forma para *Shigella* foi necessária uma dose de 168 ergs/mm^2, enquanto para *Bacillus anthracis* foi de 452 ergs/mm^2.

Supplee *et al*. (1941) analisaram a eficiência da luz UV em superfícies de filmes com leite. Verificaram entre outros fatores que, além da intensidade de luz ser um fator importante, a eficiência da radiação letal foi relativamente maior por unidade de volume de leite em filmes com fluxo de leite do que aqueles com leite estacionário. Isso pode sugerir a necessidade de um fluxo mais turbulento para ação sobre o leite.

Chang *et al.* (1985) analisaram a dose necessária para inativação de 99,9% de uma série de microorganismos patogênicos em água com objetivos de substituição do uso do cloro, tais como: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella sonei*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, esporos de *Bacillus subtilis*, além de protozoário *Acanthamoeba castellanii* e vírus. Foi verificado no estudo citado que os vírus, os esporos e os cistos do protozoário requereram quatro, nove e quinze vezes mais, respectivamente mais energia que a dose necessária à célula vegetativa de *E.coli*, sendo essas diferenças muito menores pra tecnologia UV comparados ao efeito do uso do cloro (CHANG *et al.*, 1985).

De acordo com Altic *et al*. (2007), a quantidade de danos causados aos microorganismos e conseqüentemente a redução log_{10} alcançada depende de vários fatores como a resistência do microorganismo à luz UV, das propriedades absortivas no qual eles estão suspensos e a dose UV aplicada. Por isso, há uma possibilidade de que os sólidos no leite limitem a penetração da luz UV e, portanto, diminuam a eficácia do tratamento. O valor D (dose necessária pra provocar uma redução de 90% dos microorganismos) para água está mostrado na Tabela 6 que se segue, de acordo com HANOVIA (2008).

Tabela 6 – Dose necessária de UV (mJ/cm^2) para valores de D

Microorganismo	**Dose (mJ/cm^2)**
Staphylococcus aureus	2,6
Listeria monocytogenes	3,4
Pseudomonas aeruginosa	5,5
Bacillus subtillis (esporos)	12,0
Salmonella typhi	19,0
Salmonella typhimurium	25,0
Yersinia enterocolitica	32,0
Aspergillus niger	130,0

Fonte: adaptado de www.hanovia.com (2008) e EUA (2000).

Koutchma (2009) afirmou que a dose mínima para controle dos microorganismos mais resistentes de interesse de saúde pública não foi ainda estudada, conquanto a sensibilidade a luz UV de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* em líquidos fluidos alimentares parece similar à sensibilidade de *E.coli***.** Neste sentido, como ponto de referência, NASA (2003) também destacou que a eficiência da luz UV só é possível quando se alcance no mínimo 400 J/m^2 em todas as partes do produto para redução de 5 log_{10} de contagem inicial.

Portanto, cada indústria deve buscar uma dose, de acordo com o processo, produto e alvo desejado para dada redução de carga microbiana.

2.3.6. Modelagem da cinética de inativação por UV

Vários modelos matemáticos tentam explicar a cinética de inativação microbiana por UV, embora o modelo cinético de primeira-ordem pareça ser o mais simples (KOUTCHMA *et al*, 2009). Segundo essas autoras, esse modelo assume que as taxas de inativação dos microorganismos no tempo (*d*N/*d*t) variam conforme a concentração dos microorganismos N e a dose I, onde k_1 é a constante de inativação de primeira-ordem em cm^2/mJ da eq. 2:

$$\frac{\partial N}{\partial t} = -k_1 IN \qquad \text{Equação 2}$$

Fonte: KOUTCHMA *et al.* (2009).

Uma vez integrada a equação acima e considerando k_1 e I constantes, obtém-se a eq. 3, que pode ser usada como parâmetro para modelos de cinética e estudos a partir dos gráficos obtidos, mostrando um modelo exponencial.

$$\frac{N}{N_0} = \exp(-k_1 It) \qquad \text{Equação 3}$$

Fonte: KOUTCHMA *et al.* (2009).

Na prática a redução de microorganismos (N/N_0) pode ser convertida para redução logarítmica segundo a equação 4, permitindo uma linearização dos gráficos.

$$redução = \log(\frac{N_0}{N}) = \log(N_0) - \log(N) \qquad \text{Equação 4}$$

Fonte: KOUTCHMA *et al.* (2009).

2.3.7. Fatores que afetam o efeito da luz UV em alimentos

Segundo EUA (2000) através do FDA há poucos dados que esclarecem quais os fatores críticos e como eles atuam na inativação microbiana por luz ultravioleta. Da mesma forma, Koutchma *et al*. (2009) esclareceram que os alimentos variam em seus parâmetros como pH, sólidos dissolvidos, sólidos suspensos e absorbância e suas influências ainda precisam ser mais bem estudadas.

Pressão, pH e temperatura do meio parecem não exercer grande efeito, mas composição do produto, teor de sólidos, cor e composição química influenciam mais o efeito da luz UV. Por outro lado, pode-se dizer que, de modo geral, quanto mais transparente é um líquido e quanto menor a película de fluido, maior absorbância e menor transmitância, resultando numa maior absorção de luz (EUA, 2000). Koutchma

et al. (2009), por outro lado, salientaram que a temperatura afeta a configuração do ácido nucléico e o grau de reparação enzimático, bem como a absorbância da luz UV sobre os líquidos, uma vez que a variação da temperatura afeta as propriedades físicas dos mesmos.

Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) descreveram serem três os fatores chaves no processamento por ultravioleta de alimentos: a fonte de luz UV que deve ser de 254 nm, levando-se em consideração a dose e o tempo de exposição; a composição do produto – onde fatores como maior contagem de células bacterianas, cor e sólidos solúveis influenciam e finalmente a configuração geométrica de fluxo. Este tem sido objeto de muitas investigações a fim de se assegurar um filme fino para permitir penetração da luz e turbulências suficientes para que o produto como um todo receba radiação.

Particularmente, López-malo e Palou (2005) descreveram que, para o uso em líquidos, três parâmetros devem ser levados em consideração: vazão, tipo de líquido e tipo e concentração inicial de microorganismos presentes. A vazão é importante para o contato do líquido com a radiação, sendo necessário que o design da câmara de UV seja baseado no fluxo e no comprimento da(s) lâmpada(s), determinando o tempo de exposição e a dosagem necessária, além de um fluxo turbulento. Da mesma forma, os líquidos, por terem diferentes teores de sólidos e estrutura química, exibirão diferentes capacidades de absorção, em função dos coeficientes de absorção (para leite: α=300 cm^{-1}), segundo a Lei de Lambert-Beer (equação 5). Da mesma forma, cor e turbidez dos líquidos também afetarão a performance do processo. Assim, quanto mais escuro e turvo um líquido, menor a transmissão e penetração da luz, porque maior é a absorção da luz (maior α), ao mesmo tempo em que os sólidos de modo geral causam sombra e espalhamento da luz, diminuindo a eficiência.

Koutchma (2009) descreveu dois principais fatores a serem levados em estudo quanto ao uso da luz UV em fluidos líquidos alimentares: o efeito dos sólidos dissolvidos e o efeito dos sólidos suspensos. Para sólidos dissolvidos – açúcares, por exemplo – absorvem de forma diferente: frutose, sacarose e glicose absorvem entre 240 e 360 nm, embora a frutose tenha maior absorbância entre 260 e 280 nm. Os sólidos suspensos (SS) não apenas atenuam a dose de UV por espalhamento da luz, como também provém uma superfície de agregação de bactérias, gerando um grande impacto negativo no tratamento, embora não completamente estudado.

Por outro lado, o tipo e a concentração inicial dos microorganismos podem

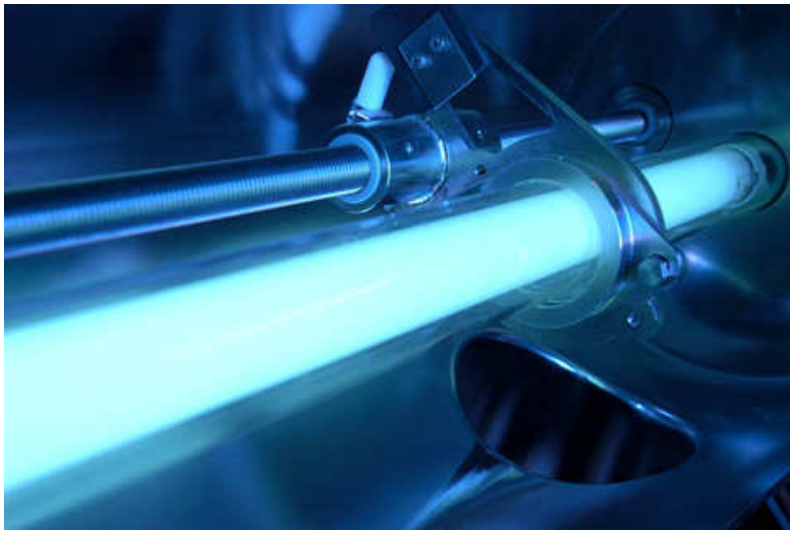
requerer uma dose específica de radiação como, por exemplo, na presença de esporos ou microorganismos termotolerantes (LÓPEZ-MALO & PALOU, 2005). Segundo Hoyer (1998) muitos microorganismos como *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* e *Yersinia enterocolitica* foram reduzidos em quatro $\log_{10}$ em água potável com uma radiação menor que 400 J/m^2.

2.3.8. As lâmpadas ultravioleta

As principais fontes artificiais de luz UV-C são lâmpadas incandescentes, halogenadas (I_2 e Br_2, por exemplo), lâmpadas fluorescentes e de alta intensidade como as de mercúrio, sódio ou xenon (FALGUERA *et al*. 2010).

HOWARTH (2007) esclareceu que um sistema típico de desinfecção por luz UV consiste de uma ou mais lâmpadas UV guardadas sob uma proteção de quartzo, montada(s) dentro de câmaras cilíndricas de aço inoxidável conforme figura 5. Então, o líquido a ser tratado entra por um lado da câmara e sai do outro. Segundo HOWARTH (2007) virtualmente qualquer líquido pode ser efetivamente tratado com UV, incluindo água, xaropes de açúcar, cervejas, efluentes e outros.

Figura 5 – Disposição de lâmpada ultravioleta em reator UV

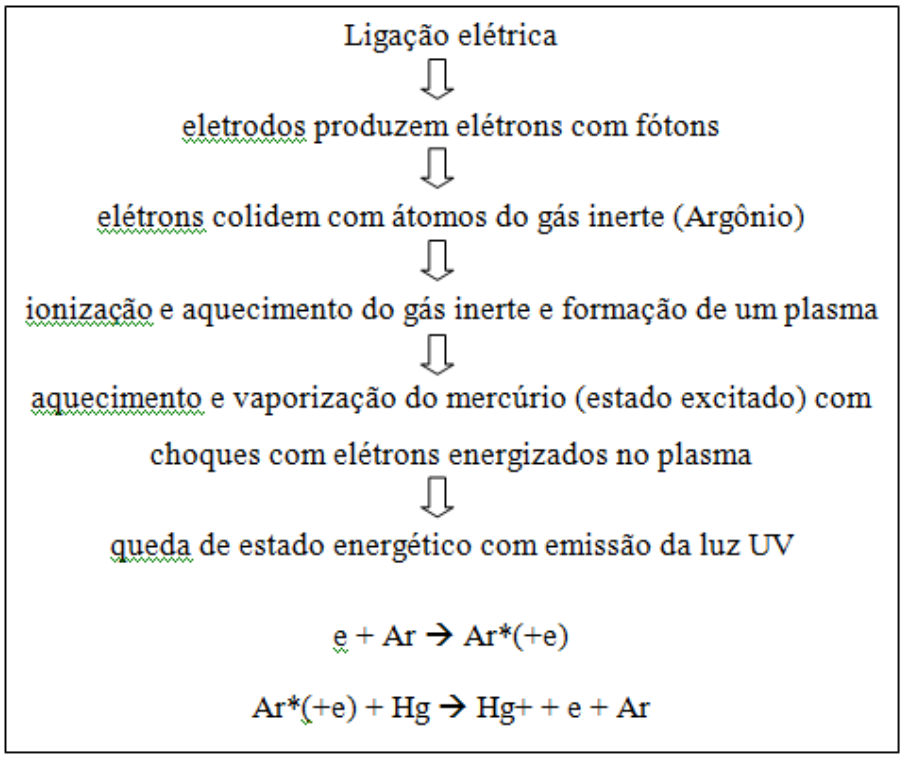


Fonte: www.hanovia.com (2008).

MONE (1973) afirmou que as lâmpadas são feitas de um vidro especial de quartzo que permitem que 70 % a 90 % dos raios ultravioleta passem. Dentro delas um arco elétrico interage com um gás inerte dentro do tubo e o calor gerado causa vaporização de pequena quantidade de mercúrio contido dentro no tubo. Este, de

acordo com MONE (1973), quando é vaporizado torna-se ionizado e libera então a radiação UV (figura 6).

Figura 6 – Esquema geral de funcionamento das lâmpadas UV de mercúrio



Fonte: EPA (2006); KOUTCHMA *et al*. (2009).

Conforme KOUTCHMA (2009) uma vez emitida a luz, esta interage com os componentes do reator, tais como a lâmpada, paredes e o líquido provocando quatro fenômenos: absorção, reflexão, refração e dispersão (espalhamento da luz).

A absorção da luz foi definida por KOUTCHMA (2009) como a transformação da energia dos fótons de luz para outras formas de energia tão logo atravesse o líquido, sendo que sua absorbância influencia a dose UV a ser utilizada e é definida pela Lei de Lambert-Beer, segundo eq. 5:

$$A = \varepsilon \; x \, c \, x \, d \qquad \text{Equação 5}$$

Fonte: KOUTCHMA (2009).

onde se tem os parâmetros:

A = absorbância

ε = coeficiente de extinção (L x cm/mol) ou absortividade molar

c = concentração (mol/l)

d = comprimento da luz (cm)

Para líquidos transparentes: A < 1; líquidos semitransparentes: 1 < A < 2 e líquidos opacos: A > 2 e se há muitas substâncias dentro do líquido (como no caso do leite), a absorbância é dada pela eq. 6:

$$A = \sum_{I}^{\infty} \varepsilon_I \, x \, c_i \, x \, d_i \qquad \text{Equação 6}$$

Fonte: KOUTCHMA *et al.* (2009).

Neste caso, a transmitância da luz UV de fluidos alimentares (sucos e leite) em geral é baixa comparada à água, devido à alta densidade ótica e alta transmitância e espalhamento da luz (KOUTCHMA, 2009).

A reflexão da luz segundo Koutchma *et al*, (2009) é a mudança da direção de propagação da luz por uma superfície, sendo especular (em superfícies polidas e lisas) ou difusa (em superfícies rugosas).

EPA (2006) definiu a refração da luz como a mudança da direção da sua propagação tão logo ela passe através de um espaço entre um meio e outro. Nos reatores UV, a refração ocorre quando a luz passa do ar para o quartzo e do quartzo ao líquido (KOUTCHMA *et al*., 2009).

Finalmente, a dispersão ou espalhamento da luz foi definida como qualquer processo que deflete a energia na partícula sólida – microorganismo ou o próprio – sendo que a luz espalhada é parte importante do processo de desinfecção (KOUTCHMA *et al*., 2009).

Portanto, o uso adequado do tipo de lâmpada UV adequada para o tratamento de líquidos pode melhorar a eficiência do processo, por garantir maior penetração no líquido, bem como a intensidade (KOUTCHMA, 2009).

Tipicamente, as lâmpadas UV mais comuns para uso em alimentos líquidos são as de mercúrio e classificadas de acordo com a pressão de vapor interna: lâmpadas de baixa pressão (LBP), que operam a uma baixa pressão interna entre 0,13 Pa a 1,3 Pa ($2x\ 10^{-5}$ psi a $2x10^{-4}$ psi) e carga de 0,5 W/cm, descarregando uma luz monocromática a 254 nm e lâmpadas de baixa pressão e alto rendimento (LBPAR), que operam a carga maior (1,5 W/cm a 10 W/cm), descarregando uma luz monocromática a 254 nm.

As LPB possuem mercúrio líquido em seu interior e são preenchidas com um gás inerte – argônio – que auxilia na descarga elétrica (EPA, 2006). São amplamente usadas em tratamento de água e foram aprovadas para processamento de sucos em fluxo

turbulento com mínimo de número de Reynolds igual a 2200 (EUA, 2000).

Por outro lado, as lâmpadas de baixa pressão e alto rendimento (LBPAR) ou de amálgama de mercúrio (sólido) alcançam até dez vezes mais potência UV que as comuns (LBP), requerendo menor número delas, além de contar com baixa manutenção, pois a vida útil delas é de cerca de 16000 horas, quase o dobro das de LBP trabalhando a baixas temperaturas e com alta eficiência monocromática (UV-XTENDER, 2011). Por outro lado, UV-XTENDER (2011) ainda esclarece que as LBPAR por conterem amálgama (HgI – Iodeto de Mercúrio) um sólido e não mercúrio líquido (como em LBP) oferecem uma reciclagem mais fácil e menos riscos à saúde se romperem por não espalharem, se bem que tenham maior conteúdo médio maior (26 mg a 150 mg por lâmpada) que as de baixa pressão (5 mg a 50 mg por lâmpada).

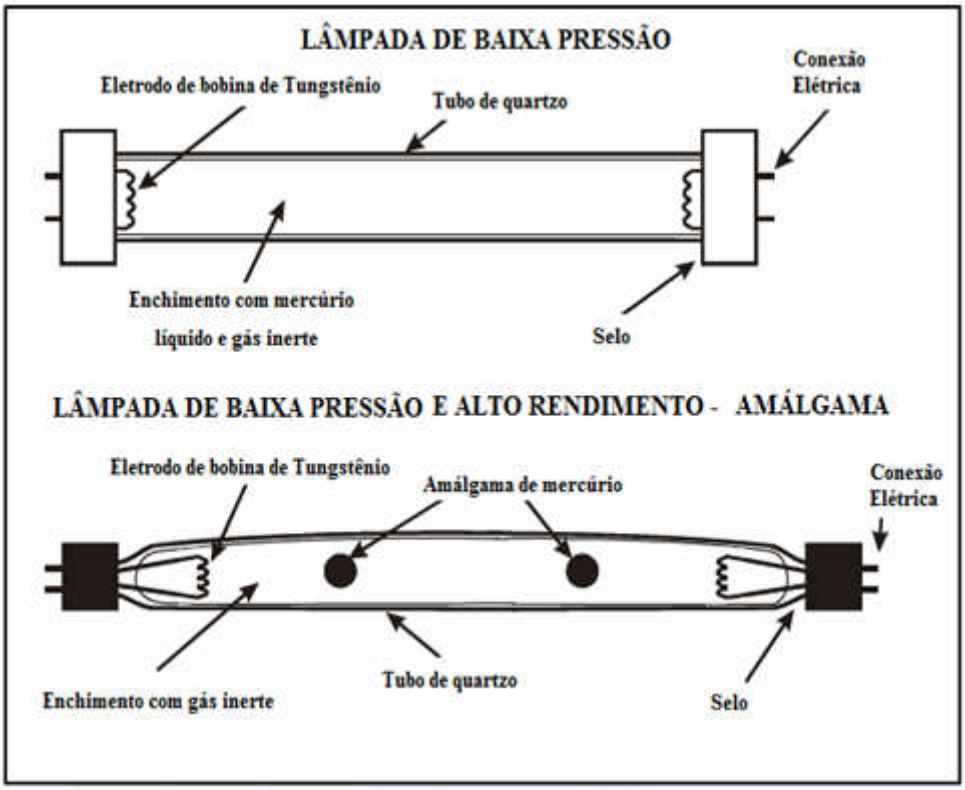
Tabela 7 – Tipos de lâmpadas UV a base de mercúrio disponíveis no mercado

Tipos de lâmpadas	**LBP (UV)**	**LBPAR (amálgama)**
Eficiência elétrica (%)	50	35
Intensidade UV (W/cm^2)	0,01	42 a 1000 W
Temperatura da lâmpada (^oC)	40	4 a 40
Tempo de vida (meses)	18 a 24	22
Conteúdo de mercúrio (mg)	5 a 50	26 a 150

Fonte: adaptado de KOUTCHMA (2009); LIGHTSOURCES (2011).

Na figura 7 são mostrados os esquemas dos dois tipos de lâmpadas (LBP e LBPAR).

Figura 7 – Esquemas das lâmpadas mais utilizadas para tratamento UV em alimentos



Fonte: adaptado de EPA (2006).

2.3.9. Vantagens e desvantagens da luz ultravioleta

Além de ter que atender o mercado, os produtos lácteos devem suprir condições de boas características químicas, físico-químicas e nutricionais, sem deixar de levar em consideração os aspectos de inocuidade alimentar. Por outro lado, os consumidores almejam produtos que contenham menos aditivos químicos e menor tratamento térmico e, nesse sentido, a indústria de alimentos vem buscando alternativas que viabilizem a produção, transporte, comercialização e aumento da vida de prateleira através de novos métodos de conservação.

Um método de desinfecção não químico que vem ganhando cada vez maior aceitação é o do uso da luz ultravioleta ou UV pelo seu amplo poder germicida (HOWARTH, 2007). De acordo ainda com Howarth (2007) o equipamento para tratamento por ultravioleta é de baixo custo de manutenção e uma tecnologia “amigável” que elimina a necessidade de uso de muitos tratamentos químicos, enquanto assegura altos níveis de segurança.

INFRALIGHT (2008) afirmou que se uma dada indústria usa de alguma forma algum produto químico como o cloro para desinfecção e esterilização, os custos do uso dessas substâncias podem ser alarmantes, como por exemplo: compra, estocagem, segurança ambiental, saúde e segurança, treinamento do uso, além dos associados ao ciclo ambiental da produção da substância, como energia, transporte e de obtenção da matéria-prima. Por isso, de acordo com INFRALIGHT (2008) os processos por UV apresentam muitos benefícios, entre os quais: não geram subprodutos tóxicos; permitem desinfecções rápidas (segundos); sem resíduos de odor; não precisa estocar substâncias tóxicas; necessita de mínimo espaço para o equipamento; remove alguns contaminantes orgânicos e causa pequeno ou mínimo impacto ambiental. Além disso, INFRALIGHT (2008) ainda salientou que a desinfecção por UV inativa bactérias patogênicas comuns como *Cryptosporidium* ou *Giardia*.

Ainda em relação ao uso do cloro, MONE (1973) esclareceu que o tratamento UV tem uma série de vantagens frente a esse para tratamentos de cloração da água, entre os quais: o tratamento com cloro requer cuidados maiores na operação; em pequenas instalações as fumaças do gás cloro se liberadas podem ser letais; o cloro por si mesmo é altamente corrosivo e tóxico; o cloro é um aditivo material que pode gerar um gosto indesejável na água e uma diminuição do seu pH; é quimicamente ativo e pode reagir com ingredientes ativos de efluentes, gerando compostos tóxicos, como por exemplo: com a amônia formando cloraminas (altamente tóxicas para peixes mesmo em baixas concentrações) e com fenóis formando clorofenóis (tóxico também).

Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) esclareceram que, por a luz UV se tratar de um processo físico no qual a energia é o meio germicida, tem diversas vantagens: não gera subprodutos que poderiam alterar o sabor, odor e cor no alimento, não gera resíduos químicos, é um processo frio, a seco, simples, efetivo e de baixo custo em relação a outros processos de esterilização, além de não gerar qualquer tipo de radiotividade ionizante (radiação gama).

De modo geral, sistemas de desinfecção por UV são fáceis de instalar, com mínimas paradas na planta de processamento; com pequena manutenção (apenas substituição das lâmpadas a cada 9 a 12 meses dependendo do uso) e de fácil uso pela equipe treinada (BERSON, 2005). Recomendou ainda que aqueles produtores de derivados lácteos que quiserem aumentar a qualidade final de seus produtos deveriam ter na tecnologia UV uma opção realística e econômica (BERSON, 2005).

Entretanto, uma grande desvantagem da luz UV de acordo com López-malo e

Palou (2005) é que a radiação UV não é tão penetrante, de forma que, em geral, os microorganismos podem estar protegidos por sólidos, pós e partículas. Assim, esclareceram que as superfícies devem estar previamente livres de contaminação (exemplo: enchimento asséptico de produtos UAT) e em líquidos há a necessidade de maiores dosagens (mínimo de 400 J/m^2) uma vez que, por exemplo, na água destilada a 40 cm de profundidade há redução de 30 % de eficiência; na água do mar o mesmo já ocorre a 10 cm e em água com 10 % de sacarose a 5 cm. Koutchma *et al*. (2009) citaram que, embora o uso em superfícies e embalagens em laticínios, há poucas aplicações pela pouca quantidade de equipamentos disponíveis no mercado e poucos estudos da ação UV sobre os diferentes materiais.

Igualmente, de acordo com Keyser *et al*. (2008), embora o tratamento por UV seja interessante porque não modifica os nutrientes e propriedades organolépticas dos alimentos, há duas desvantagens. A primeira é que, devido à turbidez e conteúdo dos sólidos, a penetração da luz (e, portanto, a eficiência) é diminuída. Por outro lado, Keyser *et al*. (2008) esclareceram que doses excessivas de luz podem provocar a (foto)oxidação com mudanças indesejáveis das características sensoriais do produto.

Portanto, estudar os efeitos positivos e negativos dessa nova tecnologia sobre fluidos alimentares torna-se vital para sua melhor compreensão.

2.3.10. Usos atuais gerais da luz UV

Mone (1973) descreveu diversas aplicações para UV, simplificadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Aplicações gerais da radiação UV

Aplicação	**Exemplos**
1 – Purificação de água	Água para residências, instituições públicas ou privadas Do lado de fora de cisternas Uso em piscinas para controle microbiológico e redução do uso do cloro
2 – Indústrias de alimentos	Água livre de bactérias, evitando uso de cloro que afeta o sabor Pureza de água em indústrias de sucos, vinhos, cervejas e refrigerantes Pureza de água de lavagem e pré-envase em indústrias vegetais, frutas, carnes e peixes.
3 – Uso de água sem cloro, deionizada e/ou carvão ativado	Indústria eletrônica para água ultrapura Indústrias farmacêuticas e cosméticas – altos padrões de qualidade Laboratórios biológicos – água estéril para testes e pesquisas Hospitais – maternidades, laboratórios, etc.
4 – Controle de poluição industrial	Tratamento final (terciário) de efluentes antes de descarga nos corpos receptores (córregos e rios)

Fonte: adaptado de MONE (1973).

Por outro lado, Howarth (2007) descreveu outras aplicações do tratamento UV, especificamente na indústria de bebidas, como mostrado na Tabela 9 abaixo.

Tabela 9 – Potencialidades do uso do tratamento por ultravioleta na indústria de bebidas

Indústria	**Aplicação**
Suprimento de água potável municipal	Sem uso de substâncias químicas ou pasteurização. Permite reuso da água de processo, economia de dinheiro e aumento da produtividade
Xarope de açúcar	Qualquer esporo microbiano em estado de latência pode crescer se o xarope for diluído em preparações. O tratamento com UV do xarope e da água de diluição garantirá a ausência e/ou inativação desses esporos
Água de enxágüe de CIP (Clean-in-place)	Para que a água de limpeza final seja microbiologicamente segura podem ser usados sistemas de UV integrados ao sistema CIP para que não haja reintrodução de microorganismos
Desinfecção de filtros	Filtros de carvão ativado e osmose reversa para purificação de água podem ser devidamente desinfetados
Desinfecção de superfícies de embalagens	Redução da contagem microbiana em garrafas plásticas, de vidro e latas, anteriormente ao enchimento do produto, aumentando a vida de prateleira e reduzindo os riscos de contaminação associadas às embalagens
Tanques de estocagem	Para prevenir o desenvolvimento de esporos no líquido estocado durante mais tempo

Fonte: adaptado de HOWARTH (2007).

2.3.11. Usos atuais e potenciais da luz ultravioleta em fluidos alimentares

Diversos produtos alimentícios frescos têm sido processados usando a luz UV como agente germicida. Produtos como sucos de frutas que hoje em dia são submetidos a tratamentos de pasteurização podem ser tratados por UV, já que a pasteurização pode mudar o gosto e o “flavor” destes produtos pelo tempo e temperatura usados no processo (Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas, 2004).

Howarth (2007) assinalou que a desinfecção por UV tem muitas vantagens sobre métodos alternativos. Ao contrário dos biocidas químicos, a UV não introduz toxinas ou resíduos na água e não altera a composição química, sabor, odor ou pH do fluido a

ser desinfetado. Isso, segundo Howarth (2007), é especialmente importante em água e bebidas industriais engarrafadas onde a dosagem de substâncias químicas adicionadas ou processos industriais podem causar gostos estranhos e mudar as propriedades químicas do produto final.

Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) foram além, quando afirmaram que a tecnologia por UV seria uma forma de tecnologia alternativa para pasteurização de líquidos, ao invés do tratamento térmico ao qual são submetidos atualmente.

2.3.12. Usos atuais e potenciais da luz ultravioleta em laticínios

Ao contrário da disseminada tecnologia de purificação por UV em outras indústrias, particularmente a água, a indústria de laticínios ainda usa muito pouco essa tecnologia, restringindo-se à desinfecção de ambientes (salas de preparação e câmaras de salga, secagem, maturação e estocagem de produtos lácteos) e de embalagens (plásticos ou vidros) em processos de pré-envase, como em indústrias de leite condensado, leite fluido ensacado e requeijão cremoso.

Kang e Frank (1989) observaram que em laticínios, a maioria das partículas de aerossol no ar era de bactérias. Hedrick e Heldman (1969) estabeleceram que uma planta de laticínio que contém mais de 2,15 $\log_{10}$ a cada 100 litros de ar tem má qualidade do ar, enquanto RADMORE *et al.* (1988) propuseram que uma boa qualidade de ar seria de até 2,15 $\log_{10}$. UFC a cada 100 litros de ar.

Wirtanen *et al.* (2002) foram além quando afirmaram que a qualidade do ar pode comprometer muitos processos em laticínios. Para manteigas especialmente as com pouco ou sem sal, por exemplo, a qualidade do creme indica que este não deve possuir mais que 1000 UFC/mL, representando tanto o ar quanto a água um problema, especialmente na sala de fabricação e embalagem e, conforme MURPHY (1990), o ar nessas salas carreia muitos esporos de fungos do ar exterior. Por outro lado, na linha de produção de queijos frescos, especialmente nas câmaras de salmoura, é sugerido o uso de salas limpas (WIRTANEN *et al*., 2002).

Por tudo isso, tem sido disseminado o uso de lâmpadas UV em salas específicas, especialmente aquelas onde haja muita umidade a fim de controlar os fungos dissolvidos em aerossóis no ar e aumentar o prazo de validade dos produtos.

De acordo com Berson (2005) as aplicações em laticínios usando a tecnologia UV são diversas, tais como: contato direto com a água ou ingrediente (sem uso de

substâncias químicas ou pasteurização, além da água poder ser reutilizada, economizando dinheiro e aumentando a produtividade sem riscos à qualidade do produto); desinfecção ou pré-tratamento (de filtros de osmose reversa e carbono usados no tratamento da água pra evitar a formação de biofilmes); como CIP (na água de lavagem para evitar que seja um meio de contaminação); como meio de resfriamento e desinfecção em resfriadores; em desinfecção de embalagens e superfícies (para redução da carga microbiana em todo tipo de embalagens, incluindo tubos, garrafas, latas e tampas para iogurtes, leite, manteiga e outros, aumentando a vida de prateleira e reduzindo o risco de contaminação) e tratamento de efluentes (para evitar o uso de substâncias químicas perigosas, atende à legislação ambiental e reduzir a quantidade de efluente gerado).

Particularmente em tratamento de efluentes, Kamani *et al*.(2006) verificaram a eficácia do uso de lâmpadas UV de média intensidade (de 300 W e 400 W) para redução em mais de 95 % das amostras para menos de 240 NMP (Número mais provável de coliformes 45 ^{o}C) a cada 100 ml de efluente gerado.

Quanto ao potencial do uso desta tecnologia, merece destaque que, hoje, a indústria de alimentos, particularmente a de laticínios, vem buscando alternativas para o abastecimento, transporte, produção (industrialização) e conservação de seus produtos, de forma a obter produtos com características sensoriais desejáveis e seguras.

Por outro lado, processos como pasteurização, ultrapasteurização, concentração e evaporação que vêm sendo usados há muito tempo nessa indústria em particular necessitam usar vapor, obtido pelo aquecimento da água pela queima de combustíveis fósseis. Além disso, há um gasto excessivo de energia elétrica para produção de água gelada, já que esse mesmo leite que deve ser aquecido rapidamente, também deve ser resfriado prontamente e armazenado dessa ou de outra forma a baixas temperaturas para conservação de suas características. Pesa ainda o fato de altos gastos de operação e o uso de combustíveis (cada vez mais escassos) e também a modificação da estrutura química original do produto, gerando muitas controvérsias, como a produção de gostos e odores diferenciados no produto (especialmente aquele tratado por UHT).

Por tudo isso, Koutchma (2009) destacou que, como método físico, a radiação por luz UV tem uma imagem positiva do consumidor e é de interesse da indústria de alimentos por ser um método não térmico de conservação de baixo custo e que recentes avanços na engenharia e ciência do método demonstraram ser esta uma tecnologia promissora e alternativa à pasteurização de alimentos líquidos.

Nesse sentido, o tratamento por UV poderia ser usado na indústria de laticínios na desinfecção inicial da água utilizada ou em outros métodos usados como filtração por carbono, osmose reversa e pasteurização. Como a radiação UV não tem efeito residual, o melhor local para o sistema é imediatamente antes do ponto de uso, já que isso garante que contaminantes microbiológicos são desativados e há uma mínima chance de contaminação pós-tratamento, como por exemplo, nas válvulas de saída de tanques de estocagem. (HOWARTH, 2007).

GERMETEC (2010) citou diversos usos para a luz UV na indústria de laticínios: desinfecção de água potável e de lavagem de queijos frescal e mussarela, desinfecção do açúcar líquido, desinfecção de água de aquecimento ou resfriamento utilizadas normalmente em pasteurizadores que sob corrosão poderiam provocar contaminações no leite, desinfecção da água CIP reduzindo ou eliminando resíduos de desinfetantes ácidos e desinfecção de ar em câmaras de cultura de queijos e áreas de embalagem.

Matak (2004) apontou que o primeiro equipamento comercial para irradiação do leite por UV foi descrito por Burton somente em 1951. O objetivo não alcançado por falta de conhecimento tecnológico à época seria construir uma máquina que criasse uma fina película de leite e turbulência próximo às fontes de UV. Sem o efeito alcançado de redução germicida e com o sucesso da pasteurização, houve uma desmotivação para avanço dos estudos.

Munkacsi e Elhami (1976) trataram o leite por irradiação UV por 5, 10, 15 e 20 segundos. Após isso, verificaram que 93 % da contagem bacteriana total inicial do leite e 99,5 % da contagem de coliformes foram destruídas sob ação UV durante 20 segundos.

Diversos estudos preliminares sobre a eficiência da luz UV foram realizados em bancada inicialmente. Em 1986, Yousef e Marth (1986) inocularam 1 ppb de aflatoxina M1 no leite cru e irradiaram uma camada de 0,1 cm de leite por trinta minutos, observando diminuição de mais de 50%, tanto para leite aquecido ou não e ao adicionar água oxigenada (H_2O_2) verificaram aumento da redução da toxina fúngica.

A eficácia do tratamento por radiação ultravioleta em leite achocolatado em filmes finos foi avaliada por Lee *et al.* (1989). O tempo de redução decimal (D) a 71 °C para *S. eastbourne*, *S. senftenberg 775 W* e *S. typhimurium* no produto foi de 6,6 horas. A inativação da *Salmonella* foi inversamente proporcional a espessura do filme achocolatado irradiado, sendo que uma dose total 17×10^5 erg x cm^{-2} eliminou *S. eastbourne* em um filme de 0,1 mm.

Um dos primeiros trabalhos práticos realizados sobre a eficiência direta da luz

UV sobre o leite foi conduzido por Smith *et al.* (2002) que verificaram o uso da luz de laser pulsada ultravioleta (UVP) para pasteurização a frio de leite bovino a 248 nm. Para tanto, as amostras foram analisadas para bactérias sobreviventes por contagem em placas, enquanto outras amostras de um tanque de leite foram inoculadas com bactérias lácteas antes da exposição. A partir disso, Smith *et al*. (2002) observaram que não houve crescimento após exposição a 25 J/cm^2 , indicando que, a princípio, o conteúdo bacteriano do leite pode ser adequadamente controlado quando exposto a luz de laser pulsada ultravioleta (UVP).

Krishnamurthy *et al.* (2005) avaliaram a eficiência do sistema de luz UV na inativação do patógeno *Staphylococcus aureus* (sempre associado ao leite) investigando a distância da amostra à fonte de luz UV, o número de passes e o fluxo. Para isso, o leite foi tratado a 5 cm, 8 cm ou 11 cm de distância da fonte de luz a vazões de 20 ml/min, 30 ml/min e 40 ml/min por recirculação. Os pesquisadores verificaram reduções log_{10} que variaram de 0,55 UFC/ml a 7,26 UFC/ml, sem crescimento posterior a partir do leite tratado em meio de cultura padrão, demonstrando que o tratamento por luz UV tem um potencial para ser usado para inativação do *S. aureus* no leite.

Matak *et al.* (2005) descreveram que muitos queijos produzidos a partir de leite de cabra cru (não pasteurizado) nos Estados Unidos têm recebido cada vez maior aceitação do mercado consumidor, principalmente pelo seu sabor característico. Nesse sentido, destacaram que dois órgãos: o U.S. Code of Federal Regulations e o Pasteurized Milk Ordinance (ligados ao FDA) estão analisando a possibilidade para alternativas aos tratamentos térmicos do leite (pasteurização ou ultrapasteurização). Nesse sentido, destacaram que o uso do tratamento por UV poderia ser uma alternativa viável que garantiria a inocuidade do produto. Para estudar isso, Matak *et al*. (2005) inocularam *Listeria monocytogenes* a 10^7 UFC/ml em leite de cabra cru e expuseram o mesmo a uma dose de luz UV entre 0 e 20 mJ/cm^2 usando um equipamento CiderSure® 3500 UV. Houve redução da contagem de *L. monocytogenes* maior que 5 log_{10} para uma dose ideal encontrada de 15,8 ± 1,6 MJ/cm^2, indicando ser esse um método viável de tratamento do leite.

Reinemann *et al.* (2006) verificaram que, com um tratamento do leite por UV com 15 kJ por litro de leite obteve-se uma redução 3 log_{10} no número total de bactérias presentes no leite cru, com os coliformes mostrando a maior redução e os microorganismos formadores de esporos apenas uma modesta redução. Segundo os autores, a análise sensorial indicou que o tratamento excessivo ou impróprio pode afetar

o sabor do leite, de forma que cuidado deve ser feito na forma de tratar o leite por UV. Possíveis aplicações descritas pelos autores incluíram: pré-tratamento do leite dado a bezerros para redução da transmissão de doenças; tratamento a frio do leite cru; redução das bactérias não susceptíveis ao tratamento térmico; redução de microorganismos psicrotróficos em leite refrigerado por longos períodos e redução das bactérias para preservar a qualidade do leite refrigerado onde a falta de suprimento de energia e os altos custos de refrigeração na fazenda sejam elevados.

Cawe (2006) caracterizou microbiologicamente os microorganismos *L.monocytogenes, Salmonella, E.coli* e coliformes, *Clostridium botulinum, Staphylococcus aureus* para métodos de contagem padrão em placas em leite cru e pasteurizado de uma região da África do Sul estudando a possibilidade do uso da radiação UV para redução do nível destes. Foram verificados níveis inaceitáveis de coliformes, onde 74% das amostras de leite pasteurizado continham mais de 1 UFC/ml e leite cru mais de 1,4 UFC/ml. Outrossim, foi verificado por CAWE (2006) que 71% do leite cru excedeu 10^6 UFC/ml e apenas 17% das amostras pasteurizadas estavam na faixa aceitável para contagem bacteriana total no país (50.000 UFC/ml), sem contudo detectar bactérias patogênicas neste tipo de leite. Por isso, Cawe (2006) tratou por radiação UV 28 amostras de leite cru, verificando redução média de 90% para psicrotróficos e aeróbios, 93% para coliformes e 73% para leveduras, sem alteração significativa da composição do leite (em termos de gordura, proteínas, sólidos totais, acidez, aminoácidos, vitaminas, umidade e minerais).

Howarth (2007) assinalou que testes em uma indústria de queijos na Holanda mostraram uma redução de 3 $\log_{10}$ (99,9 %) de bactérias termofílicas e de 5 $\log_{10}$ (99,999%) de bacteriófagos usando tratamento por UV. Ainda em queijos, Greene e Babel (1948) verificaram efeito positivo do uso de UV na superfície de queijos frente ao uso do cloro para combater a acidez gerada pelos bacteriófagos.

Importantes estudos práticos foram conduzidos por Matak *et al.* (2007). Usando um equipamento industrial, submeteram leite de cabra durante 18 segundos a uma dose UV de 15,8 ± 1,6 mJ/cm^2. Diversos testes foram realizados posteriormente: um teste sensorial triangular revelou diferenças significativas (α=0,05) entre o odor do leite cru e do leite irradiado (UV); foi verificado aumento da oxidação do leite e testes cromatográficos indicaram aumento da concentração de pentanal, hexanal e heptanal no leite após 1,3 mJ/cm^2.

Bishop *et al.* (2008) estudaram o tratamento UV conjuntamente à pasteurização para avaliar os efeitos sensoriais e microbiológicos. Para tanto, realizaram dois tratamentos: o primeiro, no qual o leite cru foi submetido a um fluxo de 250 nm de UV a 32 ^{o}C em três diferentes doses: 474 Joules/litro (J/l); 930 J/l e 1472 J/l com posterior pasteurização a 74 ^{o}C por 15 segundos e refrigeração a 4 ^{o}C. O segundo tratamento – controle – foi realizado somente coma a pasteurização do leite, sendo que todas as amostras foram analisadas quanto à contagem bacteriana total, coliformes, microorganismos psicrotróficos e de bactérias termodúricas, submetidas à análise sensorial para provadores treinados em um, sete, quatorze e vinte e um dias após os tratamentos. Concluíram que o tratamento UV foi efetivo para reduzir de 100.000 UFC/ml para menos de 20.000 UFC/ml, sendo que a exposição à dose maior (1472 J/l) apresentou defeitos sensoriais perceptíveis de oxidação.

Em outra pesquisa para determinar a eficácia do tratamento por UV para soro de leite com quatro repetições, o soro cru foi submetido a um fluxo de 250 nm de UV a 32 ^{o}C e amostras foram retiradas 1, 2, 4, 7, 9, 15 e 29 segundos após e analisadas microbiologicamente (contagem bacteriana total e bactérias láticas); foi então verificada redução de 5 $\log_{10}$ (mais de 99,999 % de redução) por Bishop *et al.* (2008).

Por outro lado, Donaghy *et al.* (2009) utilizaram um reator em escala piloto (20 litros) com doses que variaram de 0 mJ/ml a 1836 mJ/ml para verificar a sobrevivência de *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* (Map) e que pode sobreviver à pasteurização sob determinadas condições. Após a inoculação da bactéria no leite UHT e o tratamento por UV passando cinco vezes por um sistema com uma lâmpada de 30 W, foi verificado pelos autores uma redução média de somente 0,1 $\log_{10}$ a 0,6 $\log_{10}$, não representando uma alternativa à pasteurização para este microorganismo (redução de 4 $\log_{10}$ de Map); por outro lado esclareceram que há necessidade de mais estudos que verifiquem o efeito da redução do Map utilizando tratamento UV e pasteurização.

Zonneveld (2010) estudou o uso conjunto da radiação ultravioleta com a pasteurização de leite. Para isso, o leite padronizado (3,5% de gordura) foi tratado pelo equipamento da SurePure® (África do Sul) de 6 lâmpadas seguido de uma pasteurização a 74 ^{O}C por 15 segundos. Posteriormente, realizou testes realizando uma dupla pasteurização mais tratamento com o equipamento UV de 6 reatores, um terceiro teste utilizando um reator SurePure® de 40 lâmpadas seguido da pasteurização e por fim uma pasteurização com posterior tratamento UV no reator de 6 lâmpadas. Foram seguidos plaqueamento de todas as amostras um e quatro dias após os tratamentos para contagem

bacteriana total e coliformes, bem como do leite cru. Foi observado que todos os tratamentos foram eficientes, sendo que o pré-tratamento por radiação UV seguida da pasteurização (tratamento três citado) foi a melhor forma de desinfecção para redução de contagem padrão em placas (8 UFC/ml), mostrando a possibilidade de acoplar esse método anteriormente à pasteurização.

Segundo National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods dos Estados Unidos (NACMCF, 2004) o tratamento por UV para leite é viável, embora a ação sobre o microorganismo alvo da pasteurização – *C. burnetti* – não tenha sido avaliada, daí porque a equivalência ao leite pasteurizado é desconhecida. NACMCF (2004) destacou que, para poder vir a se equivaler à pasteurização, vários parâmetros devem ser considerados no monitoramento, verificação e validação da eficiência do tratamento UV: comprimento de onda (nm), intensidade, duração, número de pulsos (se pulsado), espessura de líquido a ser exposta, microorganismo(s) alvo(s) do processo e, sobretudo, as características do alimento, como transparência, coluna de líquido, cor, conteúdo de sólidos, características químicas e homogeneidade.

Portanto, para considerar o uso do tratamento UV em detrimento à pasteurização há necessidade de se determinar, entre outros fatores: parâmetros para concentração de sólidos em suspensão nos líquidos a serem tratados, identificação dos patógenos mais resistentes ao tratamento UV, otimização dos fatores de processamento críticos com protocolos para monitorá-los e verificação da eficiência da luz pulsada frente ao tratamento contínuo. Por isso, NACMCF (2004) esclareceu que deve ser estudado mais profundamente o mecanismo de reparo que algumas enzimas microbianas têm sobre o dano original provocado pelo tratamento UV, podendo necessitar de outros controles posteriores a este tratamento (NACMCF, 2004).

Se possível sua utilização, Barnes (2010) destacou que, por dispensar energia para aquecimento e resfriamento de água como é necessário para pasteurização, a tecnologia UV poderia melhorar a qualidade dos alimentos e permitir uma economia anual às indústrias americanas da ordem de trinta milhões de dólares e de redução de queima de cerca de 272.000 toneladas de CO_2, reduzindo o efeito estufa e, por isso o Dairy Innovation Australia Limited (DIAL) tem trabalhado em cooperação com o Innovation Center for U.S. Dairy em protótipos de UV, verificando a viabilidade técnica e comercial dessa tecnologia em leite. Nesse sentido, Innovation Center for U.S. Dairy (ICUSD, 2009) ressaltou que, do total de 28 milhões de toneladas métricas de CO_2 produzidas pela cadeia do leite nos Estados Unidos, perto de 2 milhões equivalem à

energia especialmente gasta para produção de vapor e resfriamento na pasteurização. Para isso, ICUSD propôs o uso da tecnologia UV em detrimento da pasteurização em quatro etapas antes de uma aprovação final pelo FDA: comparação dos rendimentos energéticos dos dois processos, análises físico-químicas e microbiológicas dos produtos obtidos, determinação da vida de prateleira e aceitação sensorial do produto.

Por outro lado, não obstante os resultados obtidos, ainda parece que existem diversos desafios à consolidação da tecnologia UV para tratamento de líquidos turvos. Isso, porque, de certa forma, embora seja uma tecnologia utilizada a mais de quarenta anos para tratamento de água (CAWE, 2006) a pesquisa e, por isso, o uso do tratamento por radiação ultravioleta para fluidos alimentares e em especial o leite é recente e necessita maiores estudos. Koutchma (2009) destacou, por exemplo, que poucas foram as informações já obtidas da interação da luz UV com fluidos alimentares de matriz complexa; que as doses ideais de destruição dos principais microorganismos de interesse de saúde pública para cada equipamento não foram determinadas; que faltam estudos dos danos às vitaminas, proteínas, lipídeos, perdas de cor e/ou alteração de sabor e ainda formação de radicais livres.

Cawe (2006) em seus estudos detectou redução média de 90% da contagem inicial de microorganismos, mostrando que não pode substituir a pasteurização, mas que a instalação em fazendas leiteiras melhoraria a qualidade microbiológica do leite.

Em relação aos órgãos de controle sanitário há muito ainda a ser feito. Koutchma *et al*. (2009) destacaram que nos Estados Unidos em 2000 através de FDA houve a aprovação do uso da luz UV para sucos, conquanto não pode ser usada em substituição à pasteurização; no Canadá o Departamento de Saúde estudou o uso do tratamento UV para sucos de maçã e cidra concluindo pela necessidade de continuar a se adotar medidas (pasteurização) para eliminação de patógenos e na Europa o processo UV é considerado irradiação e não radiação e seu uso ainda não foi discutido, sendo permitido se e somente houver tecnologia disponível, não oferecer riscos à saúde, for benéfico ao consumidor e não for usado como substituto das boas práticas de fabricação ou higiene no campo e indústria. Para a validação do equipamento UV é necessário, segundo Koutchma *et al.*, (2009): documento descrevendo o impacto entre a dose e a inativação microbiana, informações de vazão, potência e propriedades absortivas e físico-químicas do alimento que está sendo tratado, dados de inativação do microorganismo alvo e sua dose respectiva, bem como interpretação dos resultados da validação para assegurar que o reator alcança os requerimentos descritos.

Portanto, verifica-se que há uma potencialidade do uso do equipamento e tecnologia, desde que adaptada e apropriada à matriz leite, atendendo ao interesse de inocuidade e segurança alimentar.

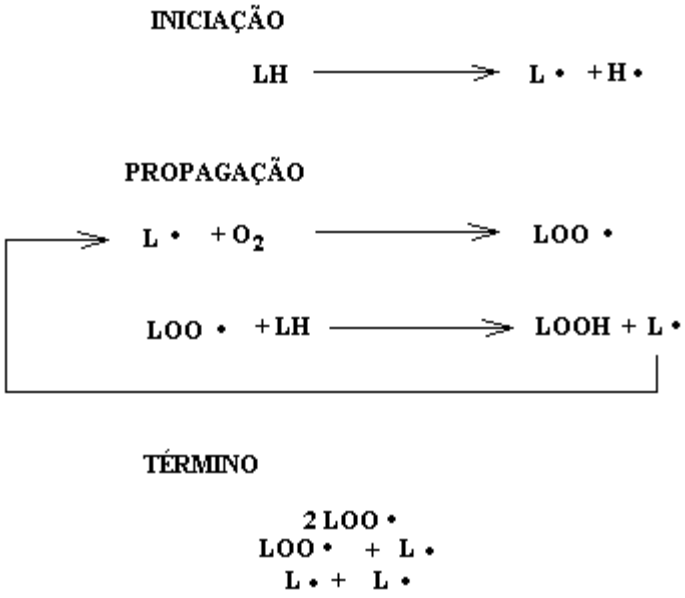
2.3.13. Efeitos da luz UV sobre o leite

Os efeitos da luz ultravioleta sobre o leite podem ser medidos de duas maneiras: mudanças sensoriais de sabor, aparência e viscosidade medidos por um grupo de análise sensorial e através de mudanças físicas e químicas de espectrofotometria de cor, pH, análises químicas de vitamina. Nesse sentido, para que haja uma interação, a luz UV atua sobre um dado componente alimentício (fotosensibilizador) como vitamina A, vitamina B, vitamina D, vitamina E, vitamina K, ácido fólico, triptofano ou ácidos graxos insaturados que agem sobre outros componentes, por um processo conhecido como fotooxidação (KOUTCHMA *et al.*, 2009).

Os lipídeos estão presentes na maioria dos alimentos e são susceptíveis à diferentes alterações químicas como autooxidação, fotooxidação, oxidação térmica e oxidação enzimática (rancidez hidrolítica).

Shashidi e Zhong (2005) destacaram que a autooxidação é a oxidação mais comum e exige a presença de oxigênio atmosférico para ocorrer, segundo esquema (Figura 8).

Figura 8 – Etapas da autooxidação lipídica

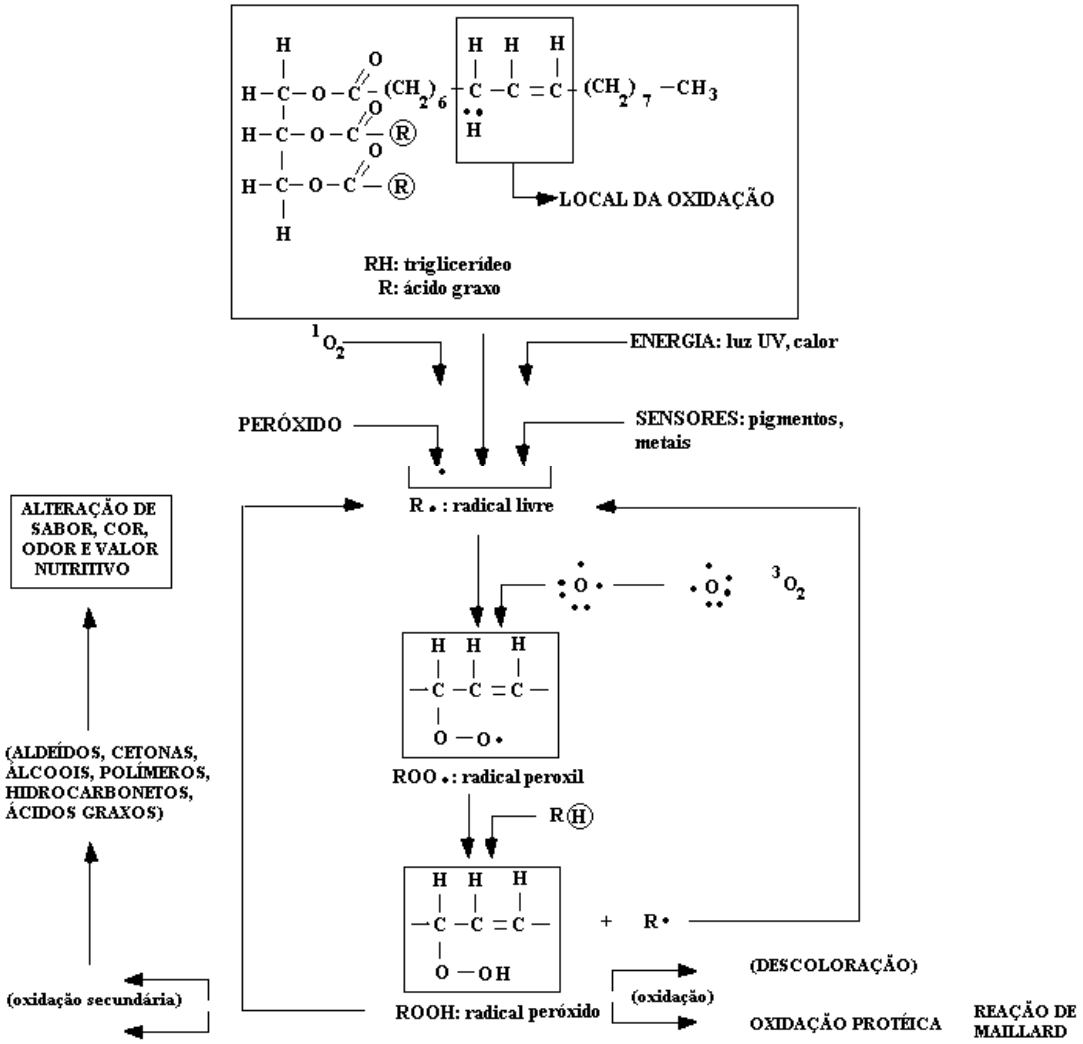


Fonte: SHASHIDI e ZHONG (2005).

No primeiro estágio, o oxigênio combina-se com ácidos graxos (poli)insaturados, produzindo hidroperóxidos e radicais livres peroxil, ambos altamente reativos e instáveis; na segunda etapa – propagação – há um reação cíclica ou em cadeia onde os produtos reagem com mais ácidos graxos e finalmente no estágio final há reações mais lentas que formam compostos finais (KOON, 2009). O autor divide esses compostos em primários: peróxidos (ROO) e hidroperóxidos (ROOH) e em secundários: aldeídos, amidas, ácidos carboxílicos, cetonas, aldeídos, alcoóis e aldeídos.

O principal tipo de gordura em alimentos são os triacilgliceróis com 95% do total (KOON, 2009) e no leite não é diferente. Segundo Araújo (2002) a oxidação lipídica dos triacilgliceróis por rancificação oxidativa ocorre na parte da insaturação dos ácidos graxos livres pela presença de oxigênio, luz UV, calor e sensores. Reações acontecem em cadeia (Figura 9) o que gera, *a posteriori*, compostos desagradáveis formadores do ranço (alcoóis, aldeídos, ácidos e cetonas) que alteram a cor, sabor, odor e características nutricionais originais da matéria-prima.

Figura 9 – Meio e vias de alterações de oxidação lipídica



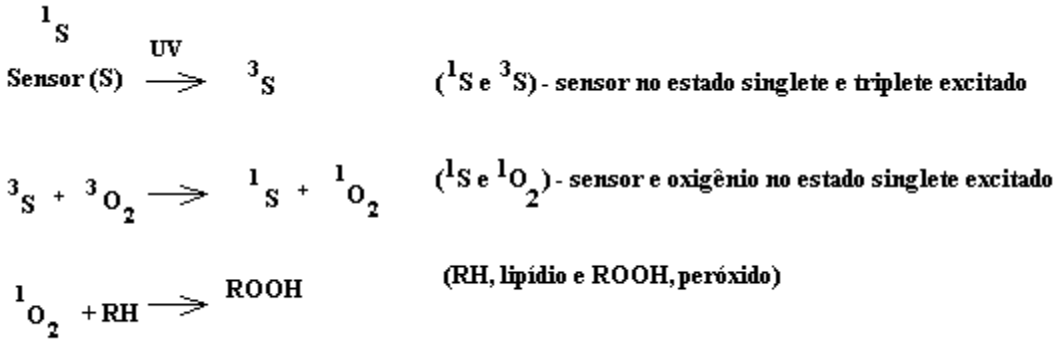
Fonte: adaptado de ARAÚJO, (2002).

Na fotooxidação ou oxidação por UV, aparentemente, a reação direta do oxigênio com a molécula do lipídio (insaturação), segundo Araújo (2002) parece improvável porque a molécula do lipídeo está no estado *singlete* e o oxigênio no estado *triplete*, sendo necessária a presença de fotosenssores que rompam a barreira de energia de ativação inicial (64 Kcal/mol) e convertam o oxigênio *triplete* em oxigênio *singlete*.

Conforme Jung *et al.* (1998) o fotosenssor essencial é a riboflavina (vitamina B2) presente originalmente no leite que é muito sensível à luz a 450 nm. Para provar isso, Lee (2002) estocou leite a 4 ^{o}C com e sem luz, com e sem adição de riboflavina e verificou que compostos de rancificação como pentanal, dimetil dissulfetos, hexanal e heptanal aumentaram muito somente no leite estocado sob luz e aumentaram significativamente quando houve um aumento do teor de riboflavina.

A reação em cadeia descrita por Araújo (2002) abaixo (Figura 10) inicia-se com a ativação do fotosenssor para um estado mais excitado pela absorção da luz UV, seguida da transferência de energia para a molécula de oxigênio, passando este para o estado *singlete*; podendo enfim este reagir nas duplas ligações com o lipídeo formando o (hidro)peróxido, que desencadeia todas as outras reações.

Figura 10 – Mecanismos da fotooxidação do oxigênio singlete por fotosenssor



Fonte: adaptado de ARAÚJO, (2002).

Como possíveis efeitos da luz UV em alimentos, Koutchma (2009) descreveu que a fotodegradação de moléculas em alimentos por reações fotoquímicas é resultado de energia radiante (fótons – *hv*) sobre aquelas, sendo necessário, para tanto duas condições: o fóton deve ser absorvido para promover as reações e o fóton deve ter energia suficiente para romper ou formar uma ligação química (Figura 11).

Figura 11 – Reação geral de fótons sobre partículas alimentares

$$A + hv \rightarrow A^{\ddagger} \rightarrow subprodutos$$

Os nutrientes mais sensíveis a luz UV são: vitamina A, carotenos, vitamina B12, vitamina D, ácido fólico, vitamina K, vitamina B2, tocoferóis (vitamina E), triptofano e ácidos graxos insaturados, bem como fosfolipídios, a vitamina D e alguns corantes naturais (KOUTCHMA, 2009).

De acordo com Herrington (1956) para a indústria de laticínios a rancidez restringe-se aos defeitos da hidrólise da gordura, gerando ácidos graxos livres, di e monoglicerídeos principalmente de 6, 8 e 10 carbonos, responsáveis pelo sabor e odor desagradável. Como mencionado, a luz UV parece ter papel decisivo como agente efetivo para a rancificação. Nesse sentido, métodos são necessários para medir o grau de oxidação gerado. Matak (2004) descreveu que diversos autores associaram o uso do tratamento por UV entre 280 nm e 700 nm como fator chave para a formação de defeitos de sabor e odor no leite.

Scheidegger *et al*. (2010) submeteram o leite integral e leite desnatado a luz UV de 0h a 24 h a 4 ^{o}C e avaliaram o grau de oxidação das proteínas pelo teor de carbonilas protéicas (CP) e observaram uma taxa de aproximadamente 1,20 nmol/h destes compostos; ocorrência de fragmentação protéica; formação de agregados protéicos, sem entretanto observar alterações da ação da pepsina e do coalho para ambos os tipos de leite.

Por outro lado, Elmnasser *et al.* (2008) estudaram o efeito do tratamento UV (280 nm) por campos pulsados sobre proteínas e lipídeos e não foi verificado quaisquer alterações na composição dos aminoácidos das proteínas e oxidação lipídica, indicando que pode ser aplicada a alimentos protéicos, como o leite, para a preservação sem mudanças significativas em suas estruturas.

Por isso, outros estudos se fazem necessários para a melhor compreensão dos tipos de equipamentos e dispositivos para tratamento de luz ultravioleta e as alterações possíveis no leite.

2.3.14. Equipamentos para tratamento por radiação ultravioleta

A partir das diversas pesquisas, muitos foram os protótipos e pedidos de patentes para uso do tratamento UV, sendo, entretanto e principalmente para tratamento de água.

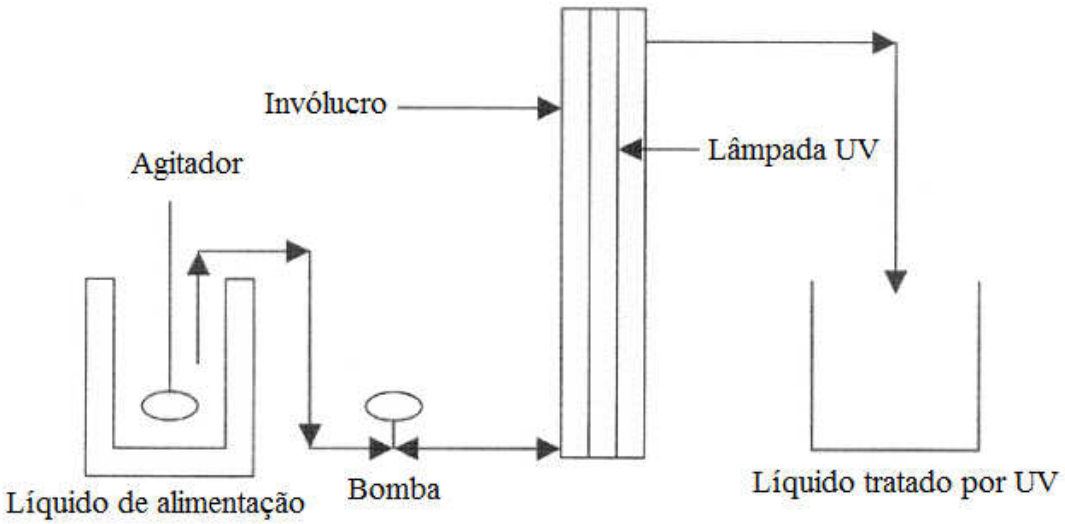
Atualmente, existe somente uma patente para esterilizador por UV para líquidos turvos sob no. internacional PCT/ZA00/00189 de 2000 (US 6916452 B1 de 2005), que consiste em uma câmara com entrada tangencial de produto e direcionado a um tubo espiral que mantém o produto em turbulência e uma lâmpada UV protegida por uma película de quartzo, mantendo um filme de produto na menor distancia de 5 mm e a maior distancia de 10 mm devido a espiral. Entretanto, parece que o defeito desta tecnologia está na distância entre a fonte de luz e a parte mais distante de produto, que dificulta a penetração da radiação ao produto sendo necessária recirculação por várias vezes nesta câmara para se obter maior eficiência, o que ocasiona problemas de oxidação, especialmente em produtos como o leite.

Um reator UV ideal deve prover uma dosagem uniforme de fótons ao fluido alvo para grandes volumes de líquido (KOUTCHMA *et al.*, 2009).

De acordo com Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) o equipamento mais simples (figura 12) para UV consiste de um sistema tubular dentro do qual fica uma lâmpada envolvida por um tubo de quartzo sobre o qual circula um pequeno filme de

líquido a ser tratado, uma única vez ou recirculado até alcançar o efeito germicida desejado. Além disso, Guerrero-beltrán e Barbosa-cánovas (2004) destacaram também que esse equipamento pode ser preenchido com mais lâmpadas para aumentar o efeito germicida e também de um sistema de resfriamento na entrada e saída dos tubos para resfriar o líquido.

Figura 12 – Equipamento mais simples para tratamento por luz UV



Fonte: adaptado de GUERRERO-BELTRÁN & BARBOSA-CÁNOVAS (2004).

Koutchma (2009) descreveu dois tipos principais de reatores para lâmpadas UV atualmente utilizados para fluidos alimentares: os de fluxo laminar e os de fluxo turbulento, admitindo-se o fluxo laminar ou em camadas com número de Reynolds (Re) – eq. (7) – menor que 2000 e turbulento para valores maiores que 2400, onde se tem:

$$\mathrm{Re} = \frac{\rho v D}{\mu} \qquad \text{Equação 7}$$

Fonte: KOUTCHMA (2009).

Re = número de Reynolds

ρ = densidade do líquido (kg/m^3)

v = velocidade média do fluido (m/s)

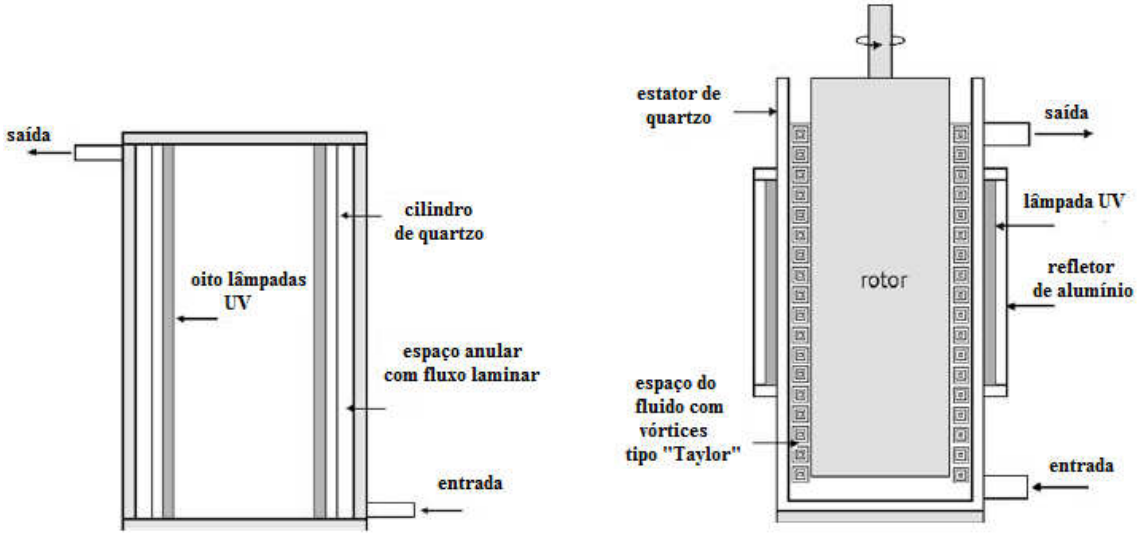
D = diâmetro do tubo (m)

μ = viscosidade dinâmica de um fluido (kg.m/s)

Para fluxo laminar (figura 13) reatores das empresas CiderSure® e Taylor-Couette® foram utilizados por diversos pesquisadores nos últimos dez anos; não

obstante, por terem maior velocidade no centro, levou-se a resultados não tão uniformes (KOUTCHMA, 2009).

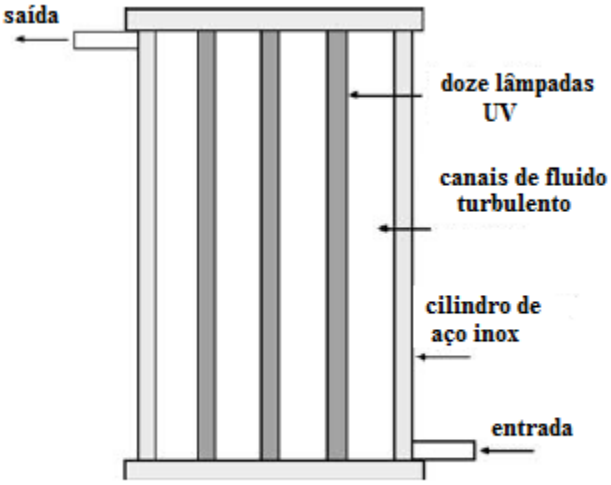
Figura 13 – Esquemas de reatores UV de fluxo laminar CiderSure® e Taylor-Couette®



Fonte: adaptado de KOUTCHMA (2009).

Por outro lado, reatores UV de fluxo turbulento como o mostrado na figura 14, permitem homogeneidade embora isso leve a uma queda de pressão interna e um menor tempo de residência, o que pode ser um problema em equipamentos em escala industrial (KOUTCHMA, 2009). Nesse sentido, a CFR 179 definiu o tratamento UV para sucos estipulando reatores de fluxo turbulento (EUA, 2000). Estudos descritos por Koutchma (2009) mostraram que quanto maior o fluxo maior era a taxa de redução para *E.coli*.

Figura 14 – Esquema de reator de fluxo turbulento Aquionics (Hanovia)®



Fonte: adaptado de KOUTCHMA (2009).

2.3.15. Dispositivos de controle da radiação ultravioleta

A pasteurização do leite é baseada na aplicação de aumento de temperatura no leite em um determinado tempo (binômio tempo e temperatura). Para conseguir isso, dispositivos são instalados no equipamento (sensores de temperatura, controladores, válvulas solenóides) a fim de garantir o controle do processo. Ao mesmo tempo, se for detectado que não foi devidamente pasteurizado a válvula de desvio (ou reversão) de fluxo automaticamente desvia o leite subpasteurizado de retorno ao tanque de equilíbrio, repasteurizando esse leite.

Da mesma forma, o sistema de tratamento por radiação ultravioleta deve possuir dispositivos de controle. A fim de garantir uma dose constante, bombas positivas (tipo booster), sensores de detecção de fluxo, medidores de vazão e pressão (manômetros) devem ser adicionados aos equipamentos. Além disso, para medir a dose (em J/l) radiômetros (térmicos ou fotônicos) são utilizados. Os radiômetros são mais precisos quando previamente calibrados e quando medem um feixe colimado de radiação, ou seja, o feixe de luz UV deve ser uniforme ao longo da seção de radiação (lâmpada) para assegurar que a superfície como um todo da amostra recebeu a mesma dose e mesmo fluxo médio (BOLTON, 2000).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada nas dependências do laboratório experimental e Laboratório de pesquisa em Leite e Derivados do Instituto de Laticínios Cândido Tostes – EPAMIG no período de outubro a dezembro de 2011.

3.1. Equipamento experimental para tratamento por ultravioleta

Foi utilizado o equipamento para tratamento por radiação ultravioleta para líquidos turvos da TECNOPURE®, distribuído pela empresa MONTEX® (figura 15).

Figura 15 – Equipamento UV TECNOPURE®/ MONTEX®

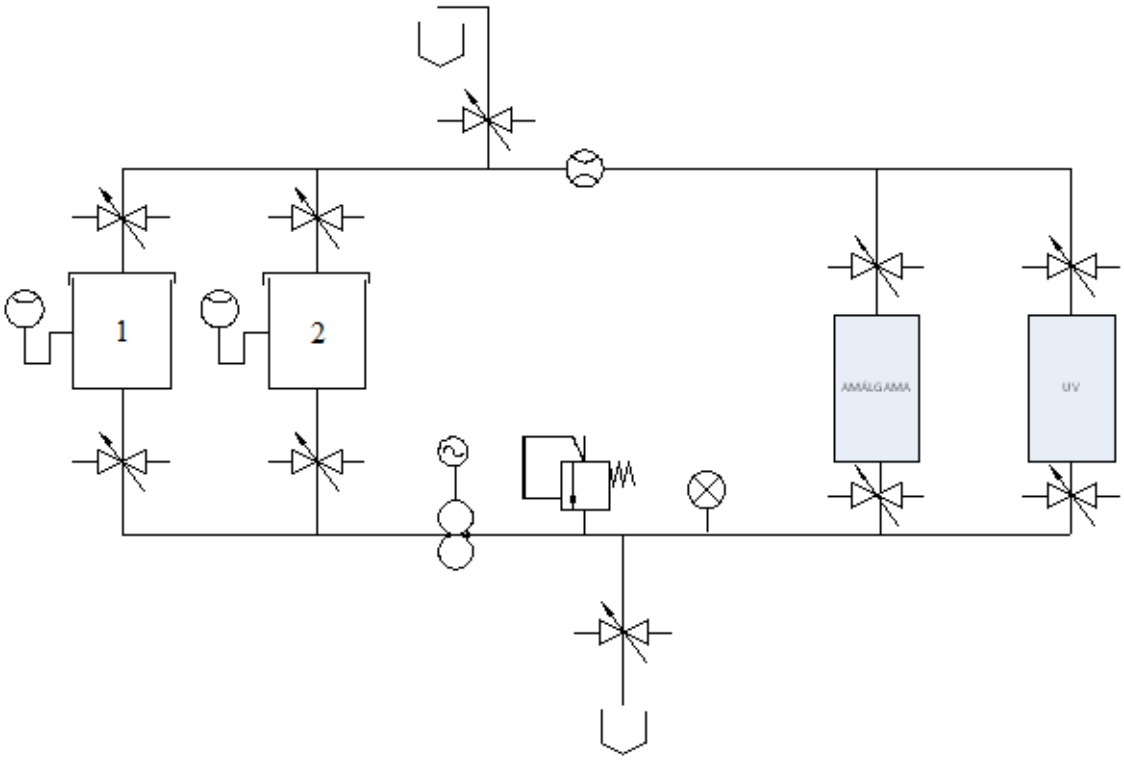
Fonte: o autor (2011).

O sistema é encaixado dentro de uma cabine em inox com portas de inspeção em policarbonato impedindo a emissão de luz UV para fora. Montado em “skid”, acomoda varias câmaras de radiação em série com lâmpadas UV e tubulações associadas, bomba positiva de produto, instrumentações, válvulas de amostragens, medidor de fluxo, ventilação das lâmpadas e painel de comando PLC. O líquido tratado nunca chega a estar em contato com as lâmpadas UV que estão protegidas dentro de uma película de quartzo. As câmaras de radiação são construídas em tubos de aço inox AISI 304 espelhados lisos e dentro delas são instaladas as lâmpadas ultravioleta, ou seja, o líquido a ser purificado flui entre o tubo espelhado e a película de quartzo. Segundo o

fabricante, o fluido é conduzido a uma velocidade elevada (entre 4 e 6 m/s) por pouco tempo (cerca de somente 7 segundos) criando uma turbulência com numero de Reynolds altíssimo (entre 19000 e 25000). O espaço entre a película de quartzo e o tubo espelhado liso das câmaras de radiação é garante a transmitância dos raios ultravioleta através dos líquidos turvos.

A figura 16 mostra o esquema de funcionamento do equipamento TECNOPURE®/ MONTEX®.

Figura 16 – Esquema do equipamento UV da TECNOPURE®/MONTEX®



Fonte: o autor (2011).

Nele, o líquido a ser tratado é bombeado a 4000 l/h do tanque 1 pela bomba positiva com vazão constante (e controle pelo medidor de vazão e variador de freqüência) e passa pela seqüência de dez lâmpadas UV em um tipo de tratamento (UV ou amálgama) recebendo a primeira dose (cerca de 250 J/l) e retornando ao tanque 2. Então, através de um sistema de manobras de válvulas, o líquido (leite, por exemplo) é então bombeado do tanque 2 ao tanque 1, passando antes de novo pelo sistema UV recebendo nova dose de mais 250 J/l, totalizando cerca de 500 J/l. O número das inversões determinará, portanto, a dose final que o produto receberá. Entre cada uma

dessas, podem ser coletadas amostradas nos pontos de coleta (figura 17) para análises físico-químicas e microbiológicas. O sistema permite trabalhar também com lâmpadas amálgama (LBPAR).

Figura 17 – Um dos pontos de coleta do equipamento UV da TECNOPURE®/MONTEX®

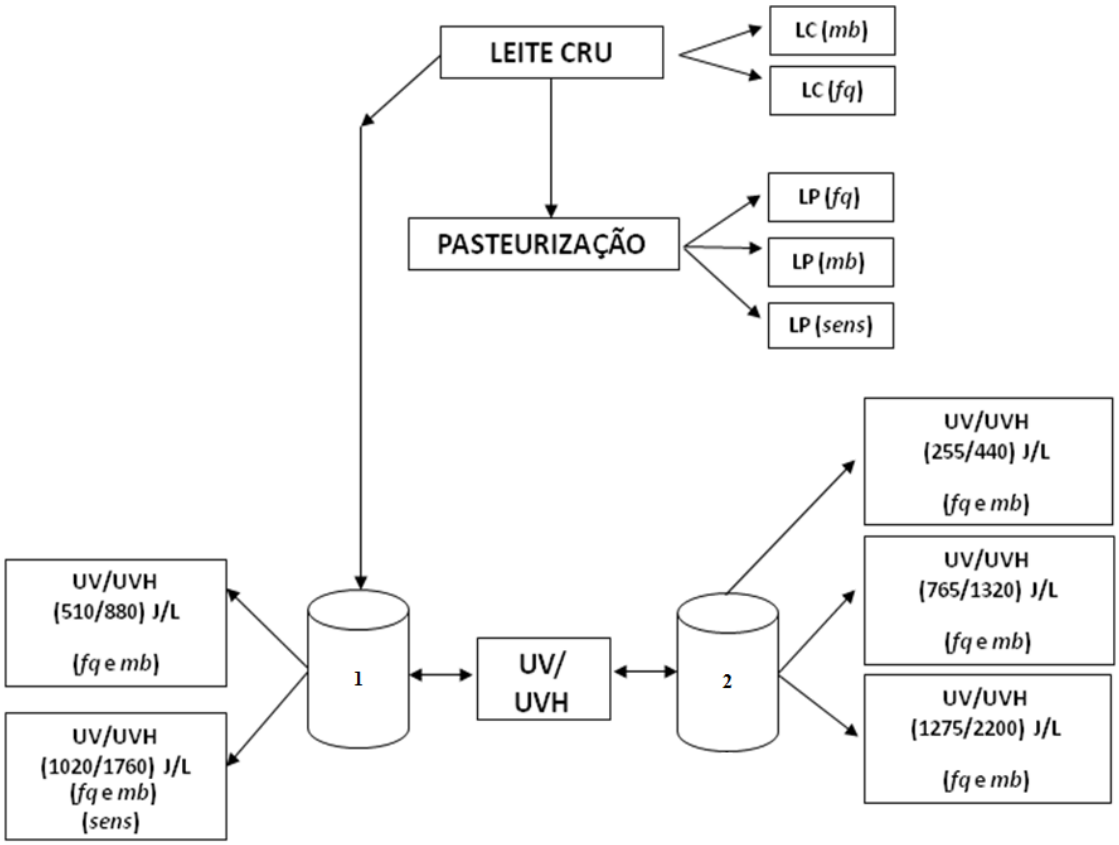
Fonte: o autor (2011).

Portanto, independente de qual seja o design ou layout dos reatores, estes devem ser capazes de tratar fluidos alimentares turvos, permitindo um grau de penetração de luz suficiente e eficiente para o tratamento a que se propõe na redução ou eliminação dos microorganismos deteriorantes e/ou patogênicos a níveis satisfatórios.

3.2. Preparo das amostras

Foram recebidas amostras de leite cru refrigerado de tanques de expansão da Embrapa Gado de Leite (CNPGL/EMBRAPA) durante quatro semanas (quatro repetições) que receberam tratamentos segundo a figura 18.

Figura 18 – Descrição geral dos experimentos



Fonte: o autor (2011).

Os experimentos foram realizados independentes da época do ano (seca e chuvas, inverno e verão respectivamente).

Do leite cru (LC) que chegou, foram coletadas duas amostras de 500 mL que em análises físico-químicas (fq) e microbiologia (mb).

Uma parte do leite cru foi pasteurizado (LP) por pasteurização lenta de 65°C por trinta minutos e foram coletadas três amostras de 500 mL para as devidas análises

físico-químicas, microbiológicas e sensorial (sens).

Parte do leite cru foi separada para o equipamento UV - conjunto de tratamento de leite por radiação UV 4000 L/h, purificador UV-G1, marca TECNOPURE® modelo/série MTX/09 - cedido pela empresa MONTEX® para a realização e validação dos experimentos. Uma vez no primeiro tanque do equipamento (figura 18) o leite foi bombeado e passou pelo tratamento das lâmpadas (primeiro passe) recebendo uma dose inicial de cerca de 250 J/L, coletando-se amostras de 500 mL para as análises físico-químicas e microbiológicas. O leite foi novamente bombeado no equipamento (segundo passe), recebendo mais 250 J/L num total de cerca 500 J/L. Este leite fez esse novo ciclo mais uma vez até que recebesse uma dose intermediária de cerca de 750 J/L, uma dose de 1000 J/L e finalmente 1250 J/L, sendo em todas retiradas duas amostras para testes físico-químicas e microbiológicos (500 mL). O equipamento dispõe simultaneamente de dois tipos de lâmpadas, caracterizando dois tipos de tratamentos: UV e amálgama e as amostras coletadas: lâmpadas de UV (UV 255 J/L; UV 510 J/L; UV 765 J/L, UV 1020 J/L e UV 1275 J/L) e lâmpadas de amálgama (UVH 440 J/L; UVH 880 J/L; UVH 1320 J/L, UVH 1760 J/L e UVH 2200 J/L).

Para todos os experimentos, foram caracterizadas as diferenças básicas entre os três métodos de tratamento do leite: UV, amálgama e pasteurização, verificando a eficiência do tratamento de leite por ultravioleta em relação ao método permitido pela legislação (pasteurização), tomando como padrões os valores preconizados pela legislação.

3.3. Metodologias analíticas

Todas as análises foram conduzidas conforme Instrução Normativa nº. 68/2006 do MAPA e IN 62/2011.

3.3.1. Análises físico-químicas

Foram realizadas as análises em todas as amostras do leite cru e tratado (UV, UVH – amálgama e pasteurização) para: acidez por titulação (LANARA/MA: 1981), gordura pelo método de Gerber (FIL 1C: 1987), densidade por termolactodensimetria (LANARA/MA: 1981), proteínas totais pelo método de Kjeldhal (FIL 20B: 1993),

estabilidade ao alizarol 72% v/v (CLA/DDA/DAS/MAPA), extrato seco desengordurado pelo método gravimétrico (FIL 21B: 1987) e testes de enzimas peroxidase (Método guaiacol) e fosfatase (kit rápido BIOSYS®).

2.3.16. Análises microbiológicas

Foram realizadas as análises em todas as amostras do leite cru e tratado (UV, UVH – amálgama e pasteurização) imediatamente após o tratamento para: contagem padrão em placas UFC/ml (CLA/DDA/SDA/MA,1993), coliformes (NMP/mL) a 30ºC (CLA/DDA/SDA/MA,1993), coliformes (NMP/mL) a 45ºC (CLA/DDA/SDA/MA,1993) e *Salmonella spp*. (CLA/DDA/SDA/MA,1993).

2.3.17. Análises sensoriais

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análises Sensoriais do ILCT – EPAMIG. As amostras de leite após os tratamentos foram armazenadas sob refrigeração (5 ^{o}C) e analisadas somente três dias depois, tentando simular condições de comércio e tempo médio de validade desses produtos.

Aos provadores foi oferecida uma bandeja (Figura 19) onde foram apresentadas três amostras, duas delas codificadas com três dígitos numéricos: leite pasteurizado, UV-1275 J/L ou UVH-2200 J/L e a última a amostra de referência (código R), igual a do leite pasteurizado, por ser a de maior costume popular.

Doze provadores (maiores de 18 anos) foram selecionados para quatro testes, totalizando vinte e duas amostras por tipo de amostra (UV-1020 e UVH-1760) e a eles foi solicitado que cheirassem cada amostra separadamente (entre cada prova cheirassem grãos de café) e anotassem em ficha própria qual a amostra se assemelhava à amostra de referência.

Foi reiterado a cada provador a não provar as amostras, mas apenas cheirá-las, por se tratar de amostras (tratamentos ultravioleta) sem aprovação fiscal e sanitária para consumo humano.

Figura 19 – Exemplo de bandeja apresentada aos provadores

Fonte: o autor (2011).

O teste duo-trio foi preferido ao teste triangular pelo menor número de avaliações necessárias ao julgamento (CHAVES, 1998). Foi utilizada a Tabela 10 abaixo para análise dos testes. Segundo a mesma, se, por exemplo, forem realizados 15 julgamentos das amostras UV ou UVH usando uma amostra de referência R (leite pasteurizado) e se a um nível de significância (alfa) igual a 0,05 doze provadores acertassem, apontando realmente a amostra codificada pasteurizada como a de referência (R), haveria diferença significativa entre as amostras de referência R com as amostras UV ou UVH. Ou seja, neste caso, as amostras seriam diferentes. Do contrário, se, por exemplo, forem realizados 15 julgamentos de amostras UV ou UVH e menos de 12 provadores perceberem diferença entre elas e amostra de referência (pasteurizado) poder-se-ia dizer que elas seriam iguais sensorialmente.

Tabela 10 – Número mínimo de seleções corretas necessário para diferença significativa, a vários níveis (alfa) de significância, pelo método duo-trio

Número (N) de julgamentos	**Níveis de probabilidade**						
	0,05	**0,04**	**0,03**	**0,02**	**0,01**	**0,005**	**0,001**
7	7	7	7	7	7		
8	7	7	8	8	8	8	
9	8	8	8	8	9	9	
10	9	9	9	9	10	10	10
11	9	9	10	10	10	11	11
12	10	10	10	10	11	11	12
13	10	11	11	11	12	12	13
14	11	11	11	12	12	13	13
15	12	12	12	12	13	13	14
16	12	12	13	13	14	14	15
17	13	13	13	14	14	15	16
18	13	14	14	14	15	15	16
19	14	14	15	15	15	16	17
20	15	15	15	16	16	17	18
21	15	15	16	16	17	17	18

Fonte: adaptado de CHAVES (2008).

2.3.18. Simulação econômica

Uma simulação econômica foi realizada com o auxílio da empresa MONTEX® para um estudo técnico-econômico de gastos principais (custos variáveis: consumo de combustível para produção de vapor, consumo de eletricidade, homens/hora de trabalho, etc.) a fim de verificar a viabilidade dos dois processos (pasteurização e tratamento por UV), com fins de estudo e aprovação empresarial.

2.4. Estatística dos experimentos

Basicamente, foi testada a hipótese de eficácia e/ou diferença significativa do efeito do tratamento por ultravioleta (UV) em relação à pasteurização (P), considerando as condições homogêneas dos tratamentos de ultravioleta por UV (UV 255 J/L; UV 510 J/L; UV 765 J/L, UV 1020 J/L e UV 1275 J/L) e UVH amálgama (UVH 440 J/L; UVH 880 J/L; UVH 1320 J/L, UVH 1760 J/L e UVH 2200 J/L). Desta forma a hipótese nula H_0 e alternativa – H_a são mostradas genericamente abaixo.

- H_0: o tratamento UV nos diferentes níveis e doses é igual ao tratamento P.
- H_a: o tratamento UV nos diferentes níveis e doses é diferente do tratamento P.

Desta forma foi realizado um delineamento experimental com apenas um fator de estudo (tratamento) com 12 níveis (LC, LP, UV 255 J/L; UV 510 J/L; UV 765 J/L, UV 1020 J/L e UV 1275 J/L) e UVH amálgama (UVH 440 J/L; UVH 880 J/L; UVH 1320 J/L, UVH 1760 J/L e UVH 2200 J/L), onde LC representa o leite cru e LP o leite pasteurizado.

Os efeitos dos tratamentos foram testados por um conjunto dos principais parâmetros de controle de qualidade exigidos segundo a IN 62/2010, por diferentes análises (físico-químicas, microbiológicas e sensoriais) em réplicas genuínas autênticas em duplicatas com quatro repetições em amostras independentes.

Todos os dados gerados pelas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais foram trabalhados através dos softwares SPSS® e EXCEL®, adequando-se ao modelo estatístico proposto.

Tabela 11 – Métodos experimentais e parâmetros utilizados para os diferentes tratamentos

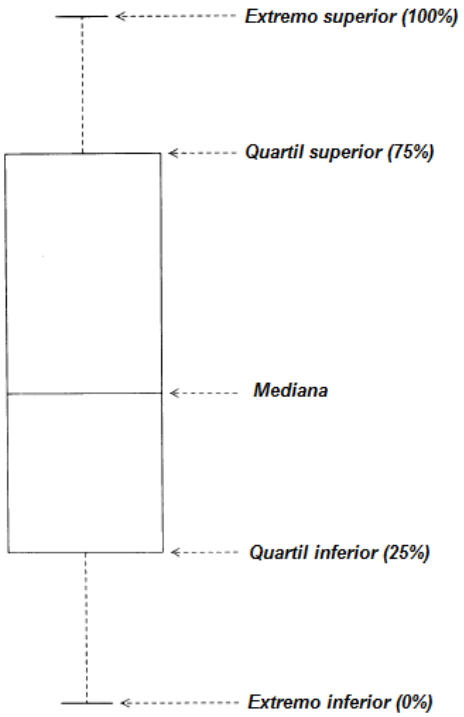
Requisitos	**Limites**	**Métodos de análises**
Matéria gorda (g/100 g)	Teor original, com mín de 3,0	FIL 1C: 1987
Densidade relativa a 15 ^{o}C (g/ml)	1,028 a 1,034	LANARA/MA: 1981
Estabilidade ao alizarol 72% (v/v)	Estável para todas as variedades quanto ao teor de gordura	CLA/DDA/DAS/MAPA
Acidez titulável (g de ácido lático/100 ml)	0,14 a 0,18	LANARA/MA: 1981
Extrato seco desengordurado (g/100 g)	mín.8,4	FIL 21B: 1987
Proteínas (g/100 g)	mín. 2,9	FIL 20B: 1993
Contagem padrão em placas (UFC/ml)	n>5;c>2 m>4x10^{4} M>8x10^{4}	CLA/DDA/SDA/MA,1993
Coliformes NMP/ml (30/35 ºC)	n>5;c>2 m>2 M>4	CLA/DDA/SDA/MA,1993
Coliformes NMP/ml (45 ºC)	n>5;c>1 m>1 M>2	CLA/DDA/SDA/MA,1993
Salmonella spp./25 ml	n>5;c>0 m>ausência	CLA/DDA/SDA/MA,1993

Fonte: BRASIL (2010).

Originalmente, foi realizada uma análise exploratória dos dados através da inspeção dos diagramas de caixa (*boxplot*) de *Tukey*. Segundo Tukey *et al.* (1978) os elementos desse tipo de gráfico (Figura 20) fornecem cinco dados interessantes: os dois extremos, os dois quartis e a mediana. Nesse caso, mostra como cada um dos quartos do total de cada uma das amostras se distribui em relação à mediana. Bakker *et al.* (2004) afirmaram que esse tipo de gráfico fornece uma visão compacta de onde os

dados estão centralizados e como eles são distribuídos, além de permitir facilmente verificar e comparar os quartis nos dois grupos separados pela mediana.

Figura 20 – Esquema geral de um gráfico de diagrama de caixa (boxplot)

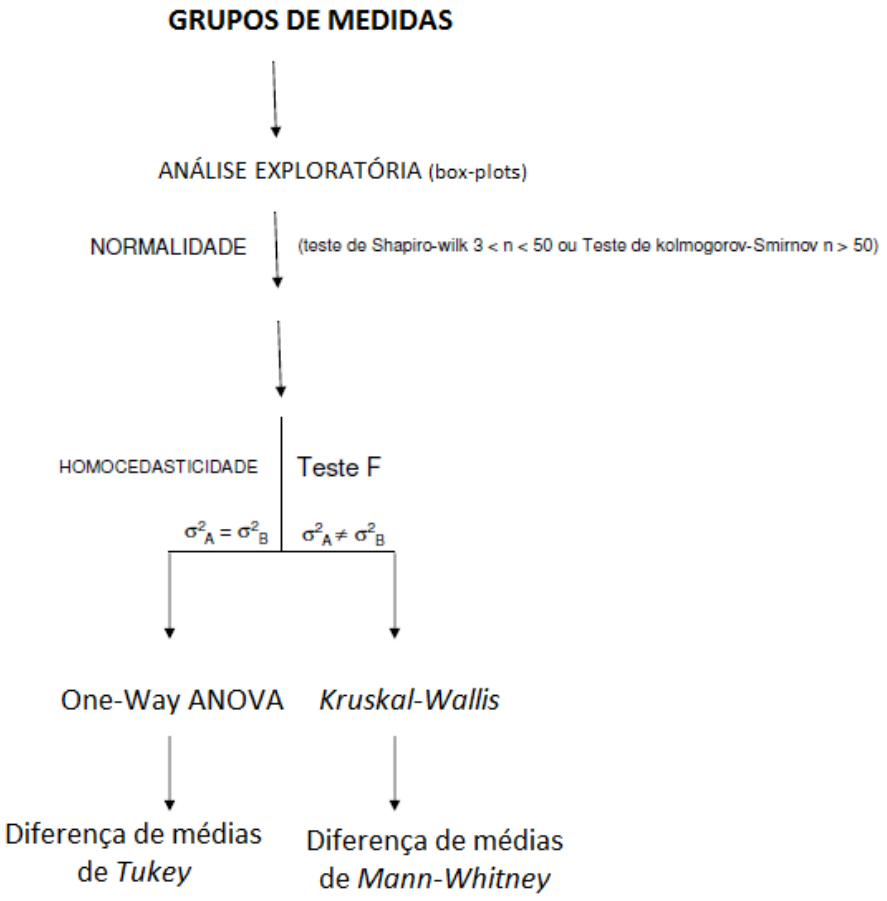


Fonte: TUKEY *et al.* (1978).

Uma vez obtidos os dados gerais das análises, uma série de passos (figura 21) foram seguidos para garantir que os resultados fossem bem analisados. A significância estatística dos testes foi avaliada em todos os testes a um nível alfa igual a 0,05.

Inicialmente, foi avaliada a normalidade dos dados numéricos contínuos pela inspeção visual dos histogramas e pelos testes de *Kolmogorov* ou *Shapiro-Wilk*. Estes testes permitem verificar a distribuição de freqüência dos dados e se esta segue uma distribuição normal (99,7% das observações estão entre três desvios-padrão a mais ou menos da média) ou não.

Figura 21 – Sequência de passos (estatística) gerais para análise dos dados



Fonte: o autor (2011).

Uma vez analisada a normalidade dos dados, foi verificada posteriormente a homocedasticidade de variâncias pelo Teste de *Levene* (Figura 21). Este teste analisa as variâncias (σ^2) dos testes entre si para que se verifique como os resultados se distribuem nos diferentes tratamentos e nas diferentes análises para leite pasteurizado e as diversas doses de UV e UVH.

A partir daí e seguindo a seqüência da figura 21 foi então configurada uma Análise de Variância a um fator (ANOVA *One-way*) para o conjunto das análises citadas quando o pressuposto da homocedasticidade das variâncias dos dados foi verificado ($\sigma^2_A = \sigma^2_B$). Do contrário, utilizou-se o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* quando as variâncias dos tratamentos foram diferentes para dada análise ($\sigma^2_A \neq \sigma^2_B$). Ambos os testes serviram para analisar se haveria uma diferença de médias dos tratamentos (UV, UVH e pasteurização) para as diferentes análises (proteínas, gordura, acidez, extrato seco desengordurado, contagem padrão em placas, coliformes

30 ^{o}C e 45°C e *Salmonella* spp.).

Configurada uma diferença dos dados (diferença de médias por ANOVA ou *Kruskal-Wallis*) foram analisadas as diferenças das médias de cada par de níveis pelo uso do Teste *Tukey* de comparação posterior de médias ou pelo teste não paramétrico de *Mann-Whitney* conforme o Teste de *Levene* indicasse ser a análise paramétrica ou não. Estes testes finais permitiriam confirmar se, em relação ao tratamento de pasteurização, haveria diferenças dos dados das análises físico-químicas e microbiológicas em relação aos métodos de ultravioleta (UV e UVH) e ainda se entre esses dois haveria diferenças e quais as doses que se diferenciaram. Nesse caso, qualquer valor de p-valor (ou simplesmente p) menor que 0,05 indicaria que os dados diferiam significativamente a 5% de significância (α=0,05) e valores maiores que 0,05 para p indicariam que as amostras não diferiram.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram obtidos as dosagens de intensidade de luz segundo os parâmetros experimentais obtidos.

4.1. Cálculo da dosagem

Os dados para cálculo da dosagem foram obtidos a partir do fabricante (TECNOPURE®/MONTEX®).

Para cálculo da radiação em Joules por litro (J/l) foi usada a equação 8 a seguir.

$$Duv = \frac{Puv}{Q} \qquad \text{Equação 8}$$

Onde se tem: Duv é a dose em UVC em J/l; Puv é a energia recebida em Watts (W) e Q a vazão do líquido em l/s.

4.1.1. Dosagem para unidade UV (lâmpada de baixa pressão)

Foram considerados os seguintes dados: lâmpada face/face de 970 mm; comprimento útil de 840 mm; potência de 28 W e corrente de operação 800 mA.

Para efeitos de estudos, foi verificado que nos testes por UV (LBP) houve uma vazão média nos experimentos para esse sistema de 3960 l/h ou 1,1 l/s (a uma pressão média de 5 bar), então Duv foi igual a 28 W/1,1 l/s ou 25,45 W/l/s ou ainda 25,45 W.s/l. De outra forma, como J (Joule) é o mesmo que W.s (J=W.s) tem-se que a dose média recebida por câmara com lâmpada é de aproximadamente 25,5 J/l. Como o equipamento possui instalado 10 câmaras com 10 lâmpadas em série em cada passagem obtém-se um total de 255 J/l (Tabela 12).

Tabela 12 – Doses experimentais UV (lâmpadas de baixa pressão) no leite

Vazão (l/h)	**1ª. passagem (J/l)**	**2ª. passagem (J/l)**	**3ª. passagem (J/l)**	**4ª. passagem (J/l)**	**5ª. passagem (J/l)**
3960	255	510	765	1020	1275

Fonte: o autor (2011).

4.1.2. Dosagem para unidade UV-amálgama (lâmpada de baixa pressão e alto rendimento)

Foram considerados os seguintes dados: lâmpada face/face de 970 mm; comprimento útil de 900 mm; potência de 45 W; corrente de operação 1500 mA.

Para efeitos de estudos, foi verificado que houve uma vazão média nos experimentos para esse sistema de 3700 l/h ou 1,02 l/s a uma pressão média de 7 bar, então Duv é igual a 45 W/1,02 l/s ou 44,12 W/l/s ou ainda 44,12 W.s/l. De outra forma, como J é o mesmo que W.s (J=W.s) tem-se que a dose média recebida por câmara com lâmpada é de aproximadamente 44,1 J/l. Como o equipamento possui instalado 10 câmaras com 10 lâmpadas em série em cada passagem obtém-se um total de 440 J/l (Tabela 13).

Tabela 13 – Doses experimentais UV-amálgama (lâmpadas de baixa pressão e alto rendimento) no leite

Vazão (l/h)	**1ª. passagem (J/l)**	**2ª. passagem (J/l)**	**3ª. passagem (J/l)**	**4ª. passagem (J/l)**	**5ª. passagem (J/l)**
3700	440	880	1320	1760	2200

Fonte: o autor (2011).

Importante observar que, embora as doses UV e UVH sejam diferentes as amostras de leite utilizadas foram as mesmas para ambas, no mesmo equipamento e sob as mesmas condições originais (vazão de 4000 l/h) e tratamento por ultravioleta.

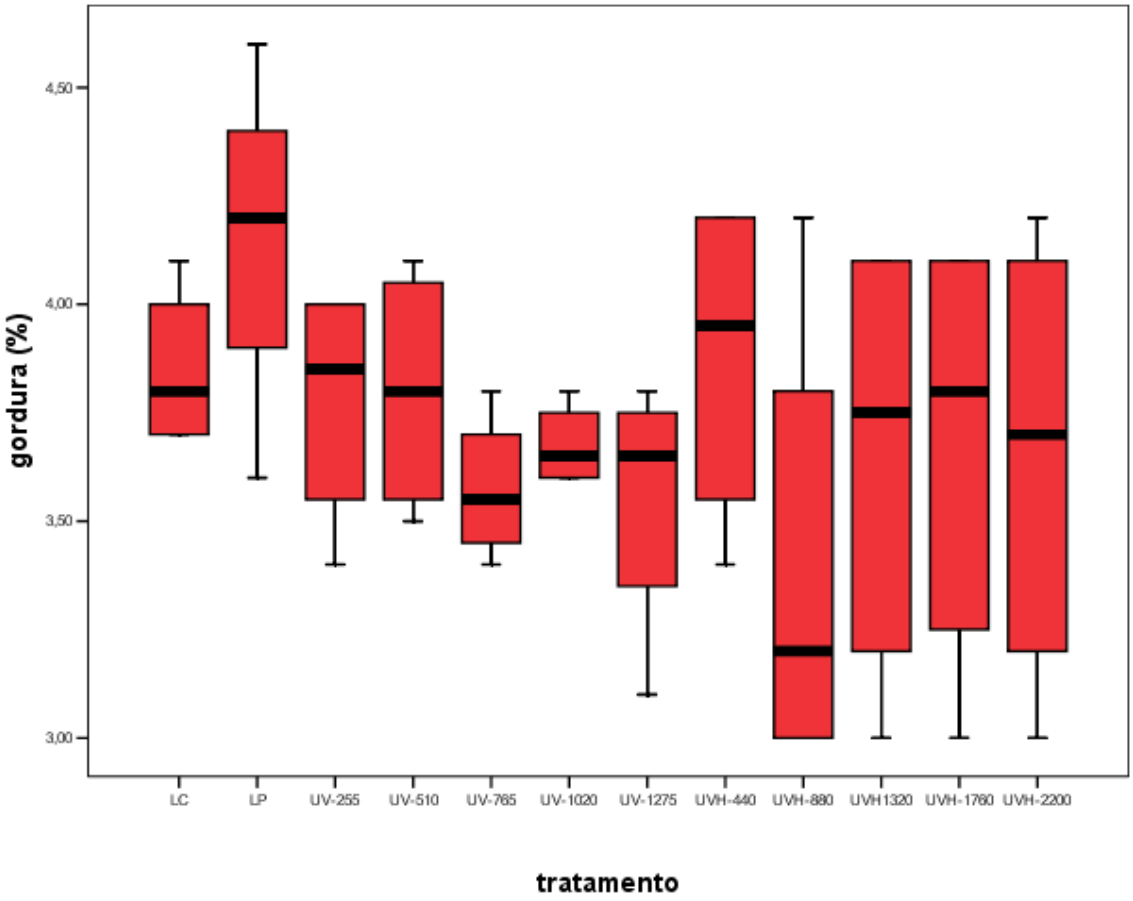
4.2. Análises físico-químicas

4.2.1. Análise de gordura

O gráfico *boxplot* da figura 22 foi obtido para análise de gordura das diferentes amostras. Por ele, foi possível verificar que houve maior variabilidade desse efeito para os tratamentos de leite pasteurizado e tratamento por amálgama (UVH).

Por outro lado, o teste de *Kruskal-Wallis* permitiu confirmar que as médias de gordura entre os grupos foram estatisticamente iguais (p = 0,598) e que, portanto, os métodos pasteurização, UV e UVH não provocaram alteração no teor de gordura do leite em relação ao leite cru. Isso pode sugerir que, sendo a gordura um importante parâmetro do controle de qualidade e de pagamento, o uso do tratamento por ultravioleta não alterará sua concentração, o que pode ser interessante se for usado para tratamento e posterior transporte de leite cru.

Figura 22 – Distribuição *boxplot* do teor de gordura das amostras



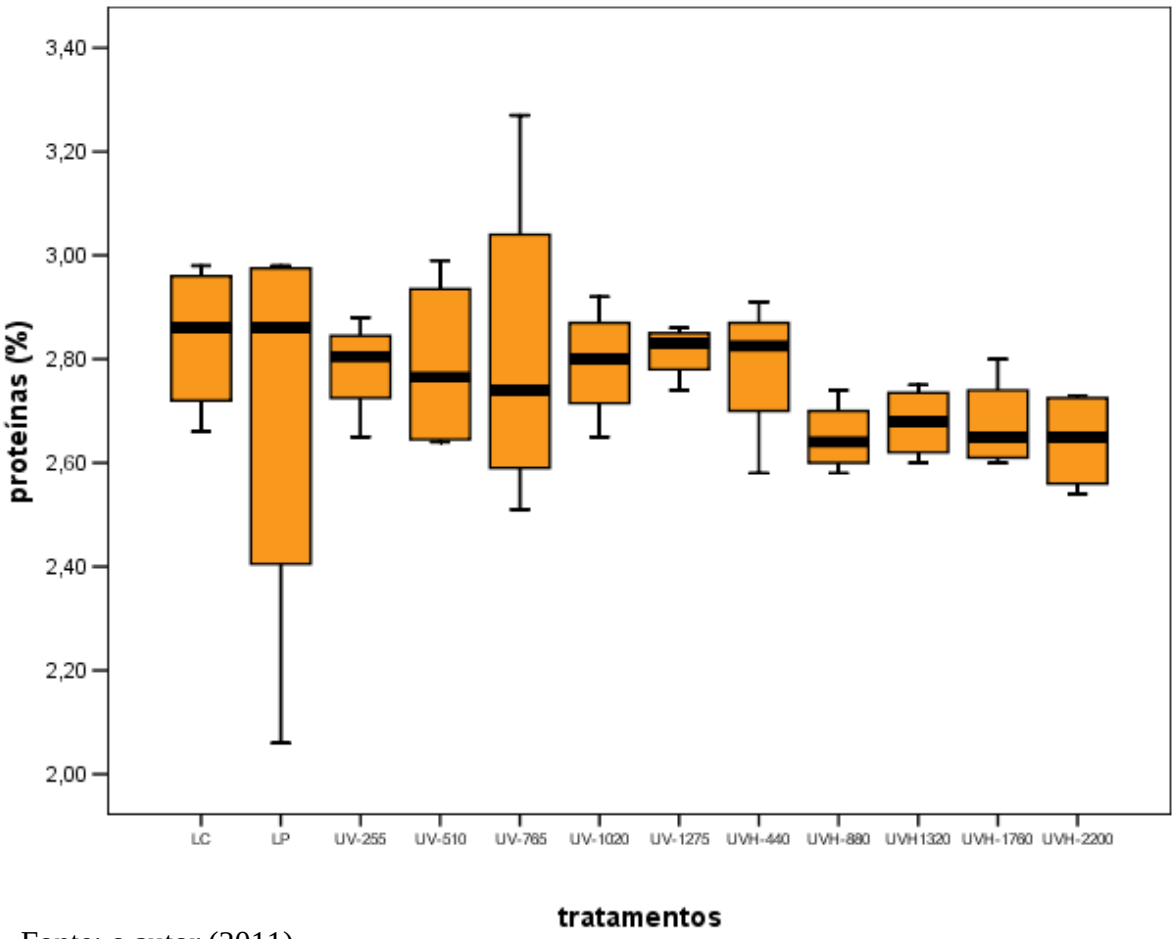
Fonte: o autor (2011).

4.2.2. Análise de proteínas

O gráfico *boxplot* foi obtido para análise de proteínas das diferentes amostras. (figura 23). Por ele, foi possível verificar que houve maior amplitude de dados para tratamentos de leite pasteurizado, causado possivelmente pela alteração das proteínas durante o aquecimento.

O teste de *Kruskal-Wallis* permitiu confirmar que as médias de proteínas entre os grupos são estatisticamente iguais (p = 0,294) e, que, portanto, os métodos pasteurização, UV e UVH não apresentaram efeitos estatisticamente significativos sobre o teor de proteínas do leite. Da mesma forma que para a gordura, por ser o teor de proteínas um importante fator de qualidade, a manutenção de sua concentração mesmo sob o uso do tratamento por ultravioleta sugere a possibilidade do mesmo para leite cru.

Figura 23 – Distribuição *boxplot* do teor de proteínas das amostras

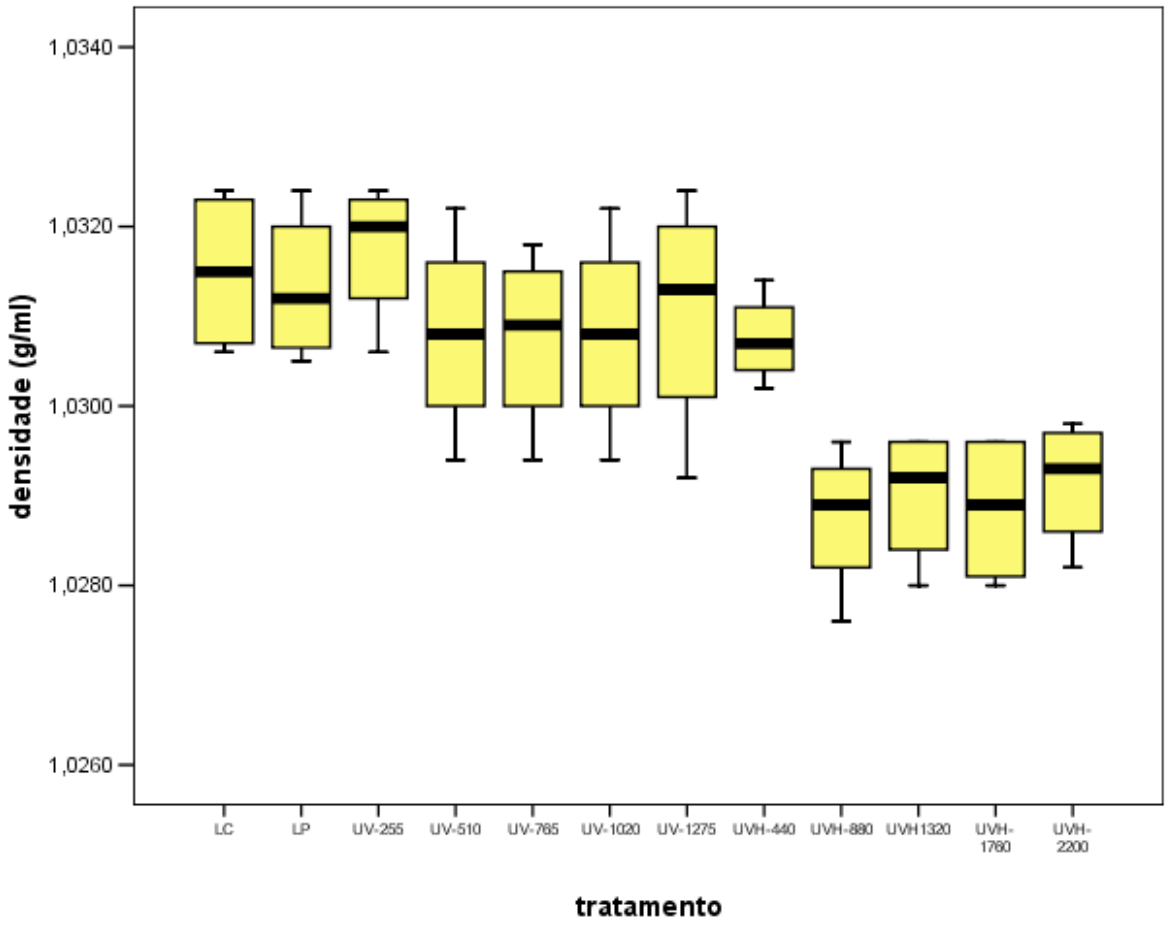


Fonte: o autor (2011).

4.2.3. Análise de densidade

O gráfico tipo *boxplot* foi obtido para análise de densidade das diferentes amostras. (figura 24). Nele se observa que, aparentemente, de maneira geral as amostras tratadas por amálgama (UVH) apresentaram uma densidade relativa média menor.

Figura 24 – Distribuição *boxplot* da densidade das amostras



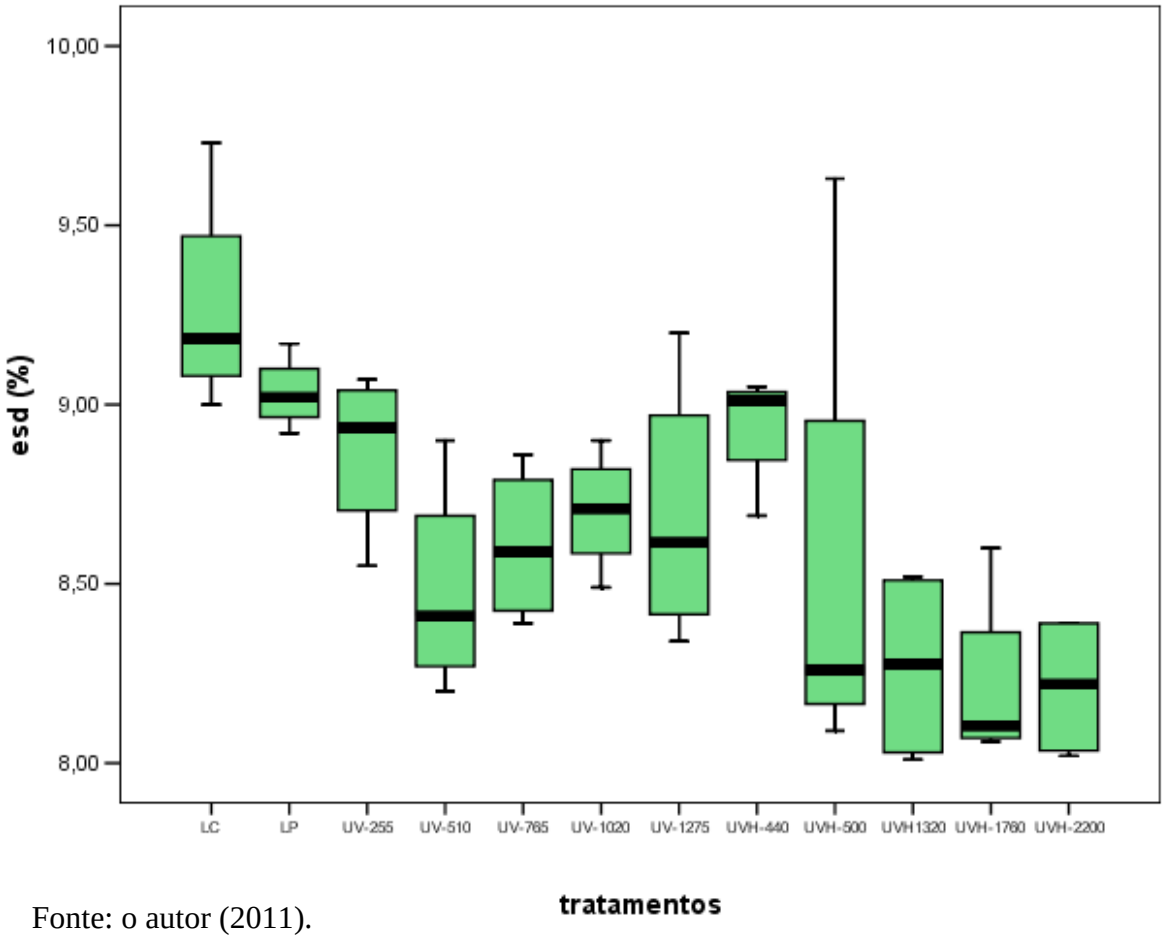
Fonte: o autor (2011).

Essa diferença visual foi detectada pelo teste ANOVA ($p < 0,001$). O teste posterior de comparação de médias duas a duas (*Tukey*) confirmou a presença de dois subgrupos homogêneos, ou seja, uma semelhança entre o LC e LP e os grupos UV em geral e o UVH440, que diferiram significativamente do outro subgrupo definido pelos tratamentos UVH nas doses mais elevadas (UVH-880, UVH-1320, UVH-1760 e UVH 2200).

4.2.4. Análise de extrato seco desengordurado

O *boxplot* obtido para análise de extrato seco desengordurado (esd) das diferentes amostras. (figura 25) permitiu observar que aparentemente, de maneira geral, as amostras tratadas por amálgama (UVH) apresentaram extrato seco desengordurado relativamente menor, ainda que a maioria das amostras atendeu mínimo de 8,4% segundo a IN 62 (Tabela 5).

Figura 25 – Distribuição *boxplot* do extrato seco desengordurado (esd) das amostras



Fonte: o autor (2011).

Foi observada que as médias de extrato seco desengordurado entre amostras apresentaram diferenças altamente significativas entre os grupos no teste de *Kruskal-Wallis* (p=0,002). O teste posterior de comparação de médias duas a duas (*Mann-Whitney*) permitiu verificar que houve diferença significativa das amostras de leite pasteurizado apenas em relação aos últimos tratamentos UVH (UVH-1320, UVH-1760 e UVH 2200), possivelmente explicado pela variação da densidade como supracitado.

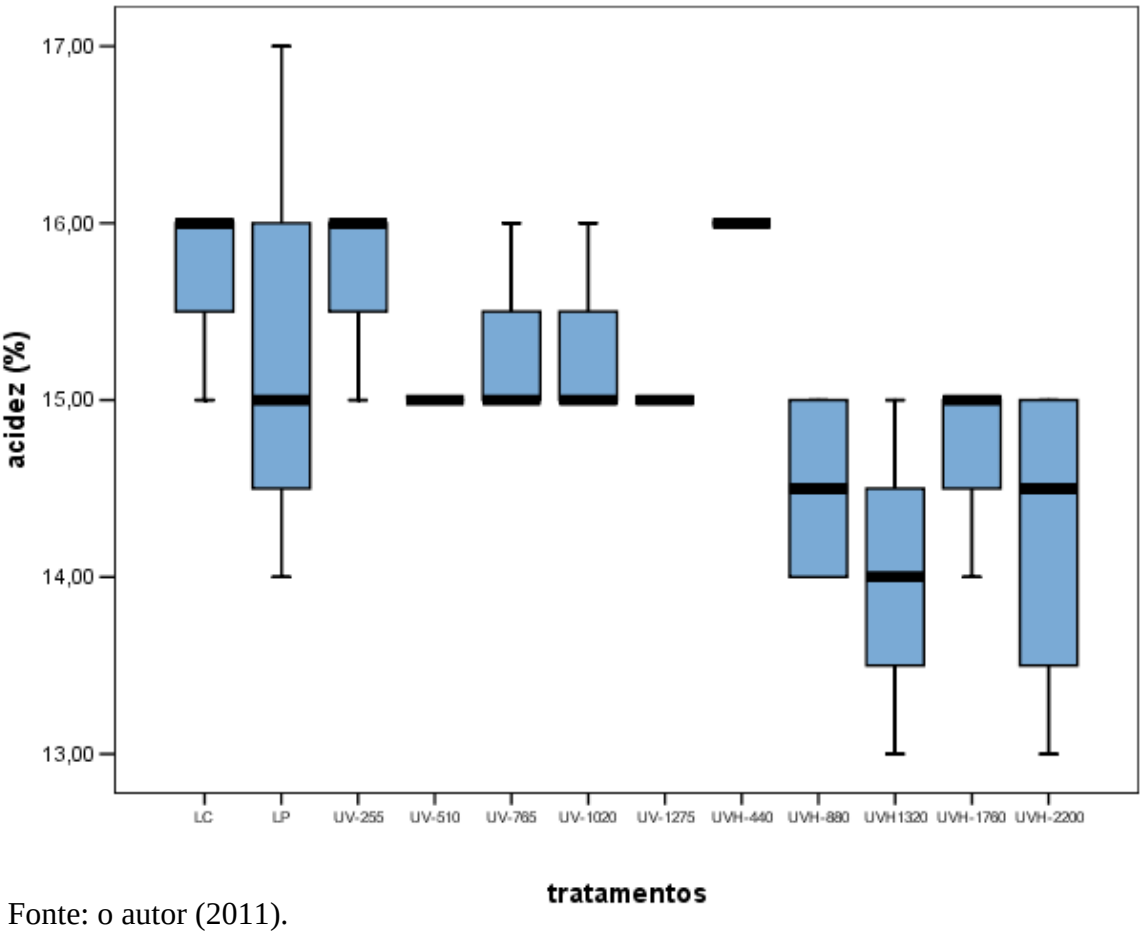
4.2.5. Análise de acidez titulável

O *boxplot* obtido para análise de acidez (figura 26) permitiu verificar que houve maior variabilidade para o grupo de leite pasteurizado (14°D a 17°D).

Foi observada que as médias de acidez entre os grupos são estatisticamente diferentes (p=0,003) pelo teste de *Kruskal-Wallis*. Todavia, foi verificado que as amostras tratadas (UV e UVH) não diferiram do tratamento pasteurização significativamente, mas apenas do leite cru. Isso sugere que realmente os tratamentos (pasteurização ou UV) realmente afetaram a acidez de modo semelhante.

Esses dados sugeriram o uso do tratamento UV pela não diferença significativa frente à pasteurização nesse teste (acidez titulável), de importante controle dentro da indústria de laticínios. Além disso, mostrou que a maioria das amostras estava dentro dos limites de acidez (0,14 a 0,18 g de ácido lático por 100 ml de amostra) segundo a IN 62 (Tabela 5).

Figura 26 – Distribuição *boxplot* do teor de acidez das amostras



Fonte: o autor (2011).

4.2.6. Estabilidade ao alizarol

Todas as amostras (leite pasteurizado, UV e UVH) foram estáveis ao alizarol 72 % atendendo aos critérios da IN 62/2011 segundo tabela 5.

4.2.7. Testes de enzimas – fosfatase e peroxidase

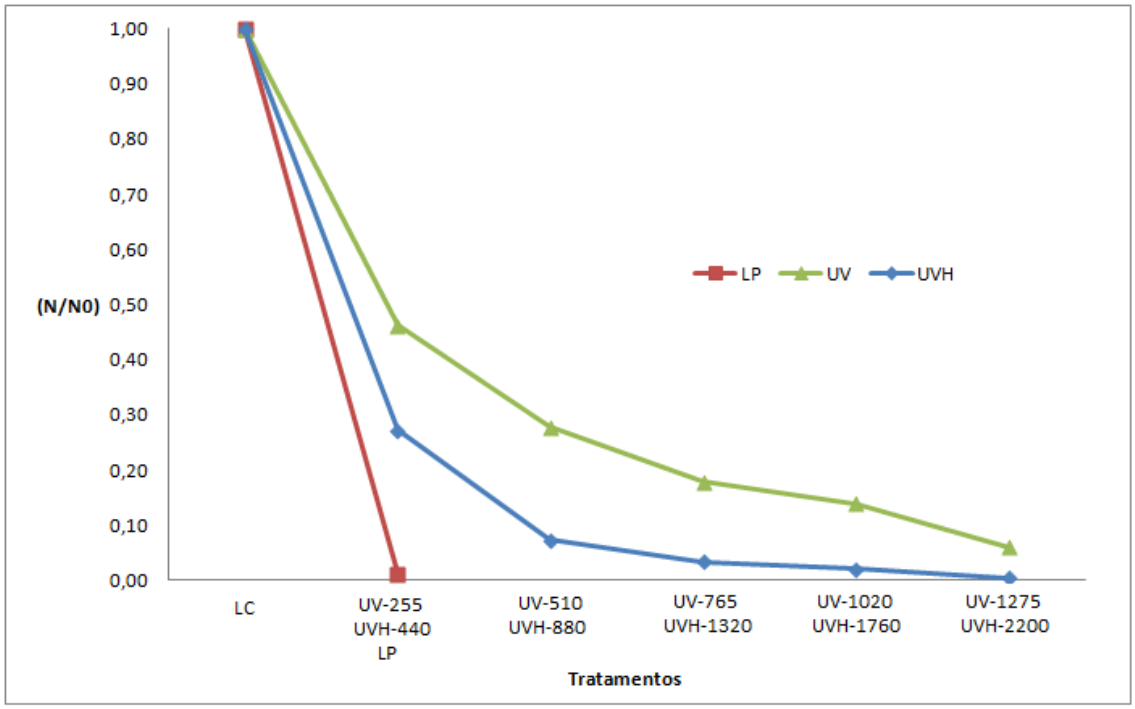
Como era de se esperar, as amostras de leite pasteurizado apresentaram enzima peroxidase positiva e fosfatase negativa, indicando eficiência do tratamento. Por outro lado, todas as amostras de tratamento UV (UV e UVH) nas diferentes doses equivaleram-se às amostras de leite cru (fosfatase e peroxidase positiva), indicando que não há alterações nessas enzimas. Isso pode ser particularmente interessante para o uso desse processo antes ou após o transporte de leite cru, uma vez que não altera propriedades dessas enzimas, que são indicadoras de tratamento térmico drástico do leite.

4.3. Análises microbiológicas

4.3.1. Contagem padrão em placas (CPP)

A figura 27 mostra a curva de inativação microbiana (N/N_0) de contagem padrão em placas das diferentes amostras independentes (N é a contagem final de microorganismos – em UFC/ml – após os tratamentos pasteurização, UV ou UVH e N_0 é a contagem inicial de microorganismos do leite cru). Por ela, foi possível ver claramente, que, a partir do leite cru houve uma redução de contagem dos microorganismos à medida que se aumentaram as dosagens dos tratamentos (UV e UVH). Isto mostra a eficiência do uso da radiação ultravioleta para redução microbiana no leite cru e seu potencial uso, indicando que a dosagem influi diretamente no efeito (redução microbiana) dos diferentes tratamentos.

Figura 27 – Curva de inativação microbiana (UFC/ml) para contagem padrão em placas (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH



Fonte: o autor (2011).

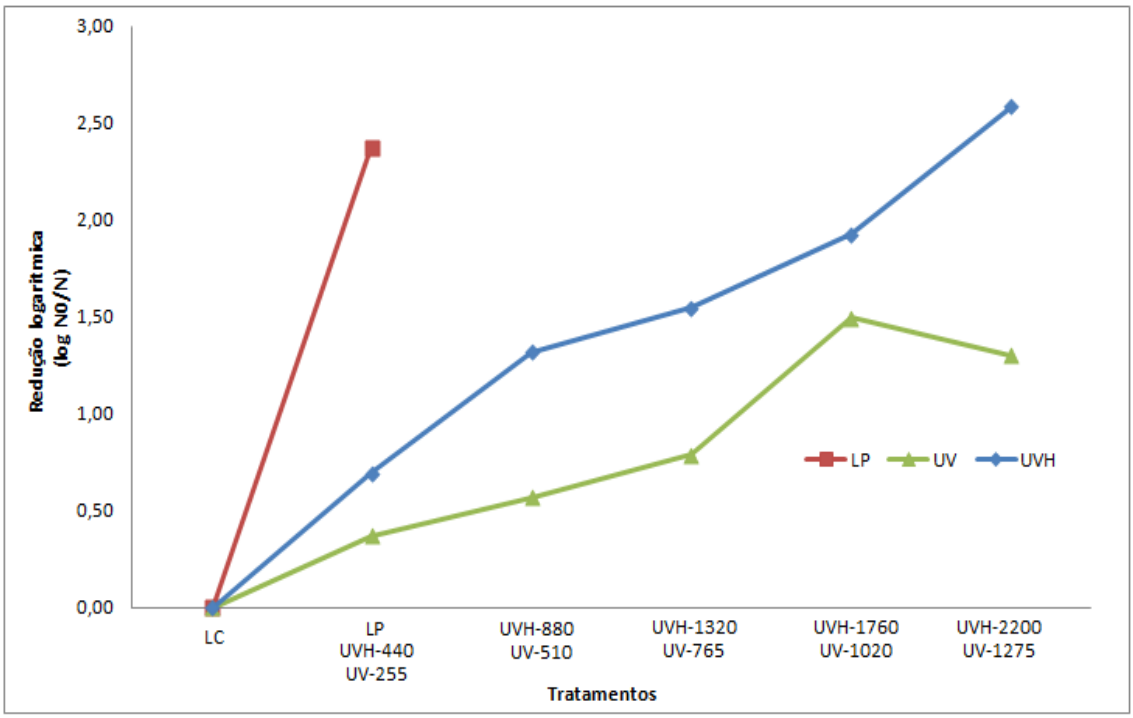
Em relação à legislação vigente (IN 62/2011) foi verificado que as amostras de leite cru atenderam às exigências preconizadas (contagem menor que 600.000 UFC/ml) e as amostras de leite pasteurizado e todos os tratamentos UV e UVH tiveram contagem menor que 80.000 UFC/ml com exceção do tratamento UV-255 (assemelhou-se ao leite cru), o que mostrou que a maioria dos tratamentos por ultravioleta (UV e UVH) são eficazes e comparáveis à pasteurização, conforme mostrado a seguir.

Particularmente, a redução logarítmica ($\log_{10}(N_0/N)$ da figura 28 aumentou proporcionalmente ao aumento das dosagens dos tratamentos (UV e UVH) e mostrou que, aparentemente, o tratamento UVH-2200 equivaleu-se ao da pasteurização.

Além disso, foi percebido uma redução logarítmica microbiana média de 98,7% (ou 2,4 $\log_{10}$) para pasteurização, 94% (ou 1,30 $\log_{10}$) para o tratamento de maior dose UV – UV-1275 e de 99,5% (ou 2,58 $\log_{10}$) para o tratamento final de maior dose UVH (UVH-2200). Portanto, de modo geral, percebeu-se uma redução microbiana muito maior e maior eficiência de tratamento utilizando a lâmpada amálgama (tratamento

UVH) que a UV. Além disso, pode-se perceber a quase equivalência do tratamento UVH-2200 em relação ao de pasteurização.

Figura 28 – Médias da redução logarítmica microbiana para contagem padrão em placas (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH

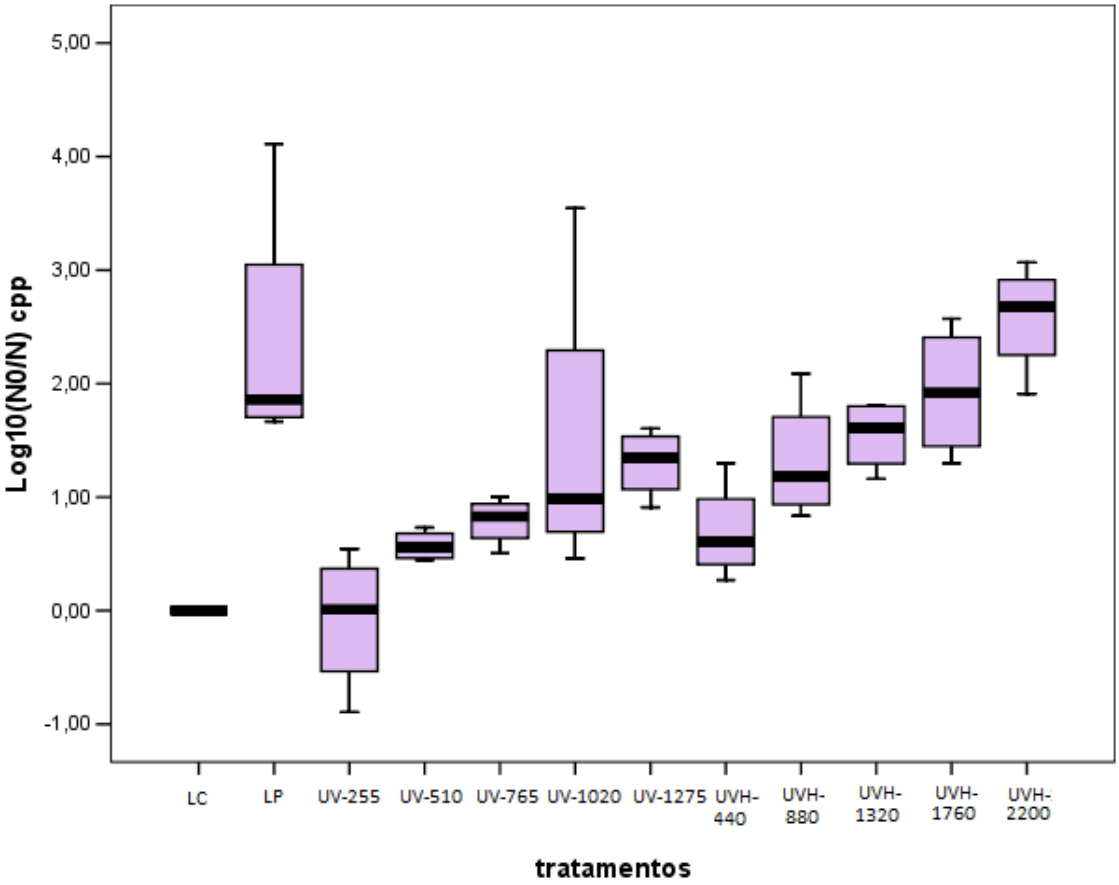


Fonte: o autor (2011).

Essa constatação de equivalência dos tratamentos foi verificada após análises estatísticas. Inicialmente, foram constatadas diferenças significativas entre as reduções logarítmicas dos grupos de estudo UV, UVH e pasteurização (em diferentes doses e tratamentos), de acordo com o teste de *Kruskal-Wallis* das distribuições da variável "logaritmo da redução microbiana para contagem padrão em placas" ($\log_{10}N_0$/NCPP) com $p<0,001$.

O teste posterior (*Mann-Whitney*) verificou equivalência estatística somente entre os tratamentos de pasteurização (LP) e os tratamentos UVH-2200 ($p=0,386$), UVH-1760 ($p=0,564$), UVH-1320 ($p=0,248$), UVH-880 ($p=0,149$) e o único tratamento UV-1020 ($p=0,149$). Estes resultados indicam que, de modo geral, os tratamentos UVH são mais eficientes que os tratamentos UV para redução microbiana (Contagem padrão em placas). Por outro lado, embora estatisticamente iguais, os dados amostrais do grupo UVH-2200 foram de fato superiores ao tratamento de pasteurização no estudo, sugerindo uma possível substituição a esse método tradicional.

Figura 29 – Distribuição *boxplot* da redução logarítmica (CPP) em leite pasteurizado, UV e UVH

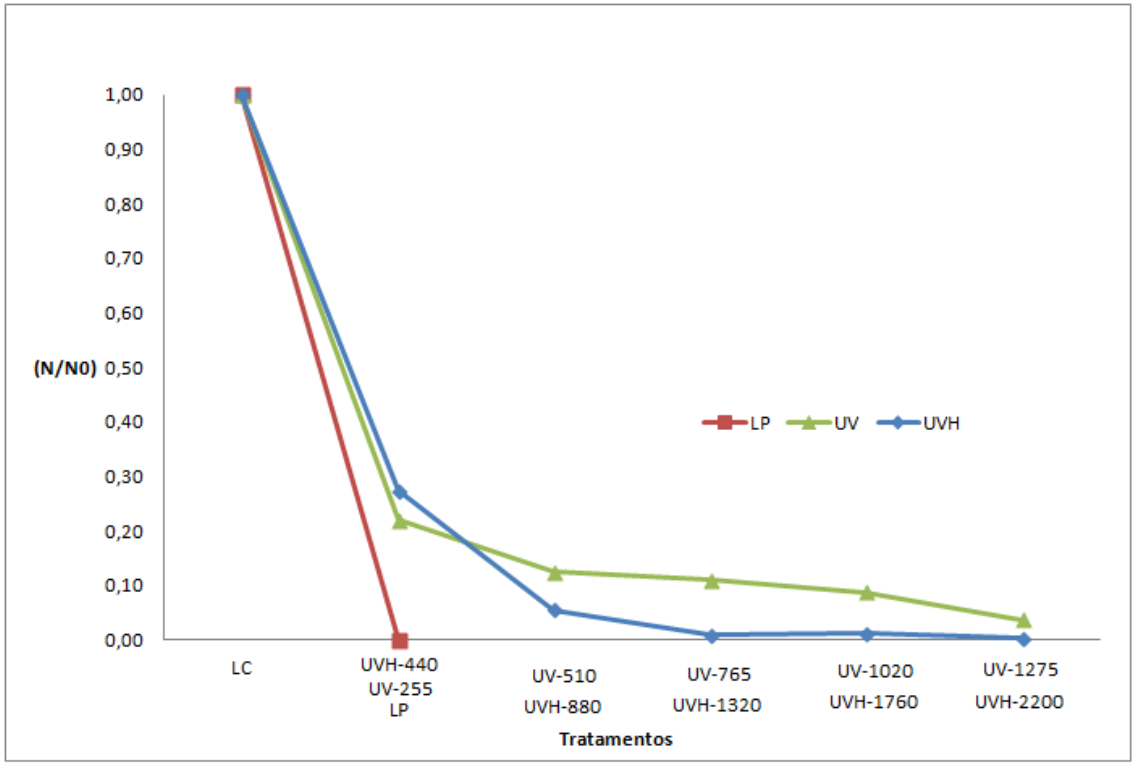


Fonte: o autor (2011).

4.3.2. Coliformes (30 ^{o}C)

Na figura 30 é mostrada a curva de inativação microbiana (N/N_0) de coliformes (30°C) das diferentes amostras. Pelo gráfico é possível notar uma redução mais rápida e acentuada utilizando-se o tratamento UVH (em relação ao UV) e quase zerando a contagem de coliformes final (tratamento UVH-2200). Essa redução rápida também foi alcançada com o tratamento de pasteurização.

Figura 30 – Curva de inativação microbiana para coliformes (30 ^{o}C) para leite pasteurizado, UV e UVH

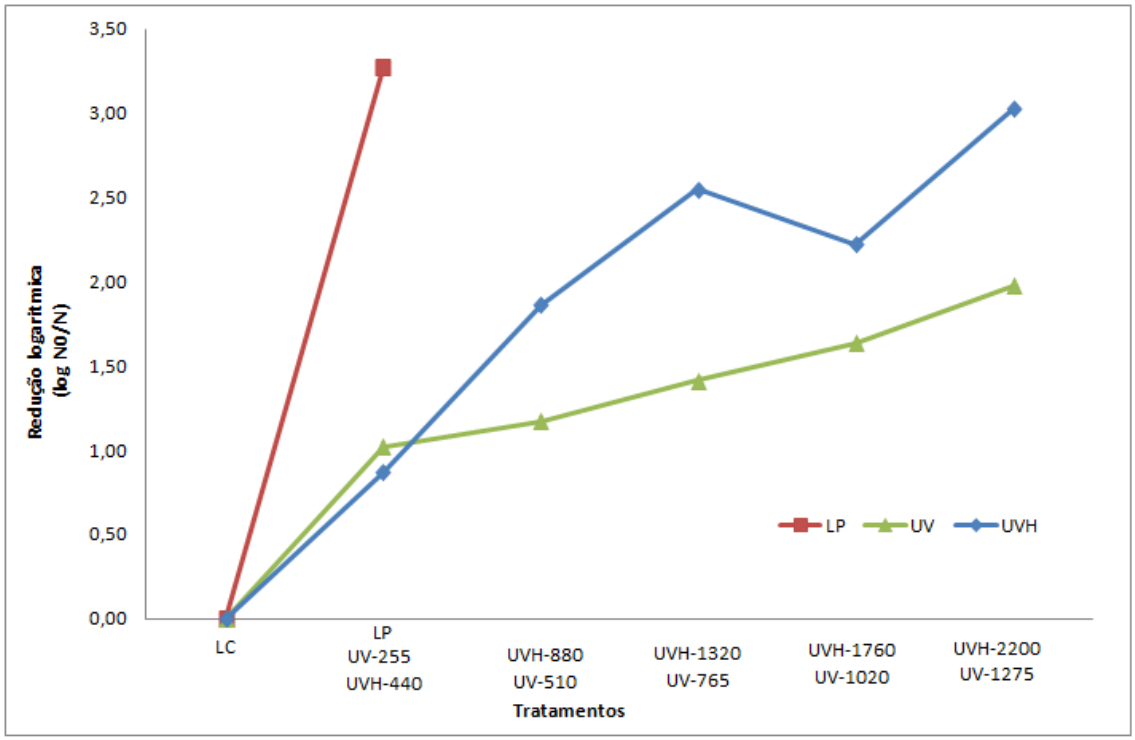


Fonte: o autor (2011).

De acordo com a legislação o leite pasteurizado atendeu os parâmetros exigidos (IN 62/2011). Por outro lado, somente o tratamento UVH-2200 conseguiu atender aos requisitos da legislação para leite pasteurizado (menor que 4 UFC/ml), indicando que somente este método e dose pode ser comparado ao tratamento de pasteurização.

O gráfico da Figura 31 mostra a redução logarítmica, onde é possível deduzir que houve uma redução maior de coliformes (30°C) do leite pasteurizado em relação ao leite tratado por UV- amálgama (UVH-2200) e esta maior que o tratamento UV (UV-1275).

Figura 31 – Médias da redução logarítmica microbiana para coliformes (30 °C) em leite pasteurizado, UV e UVH

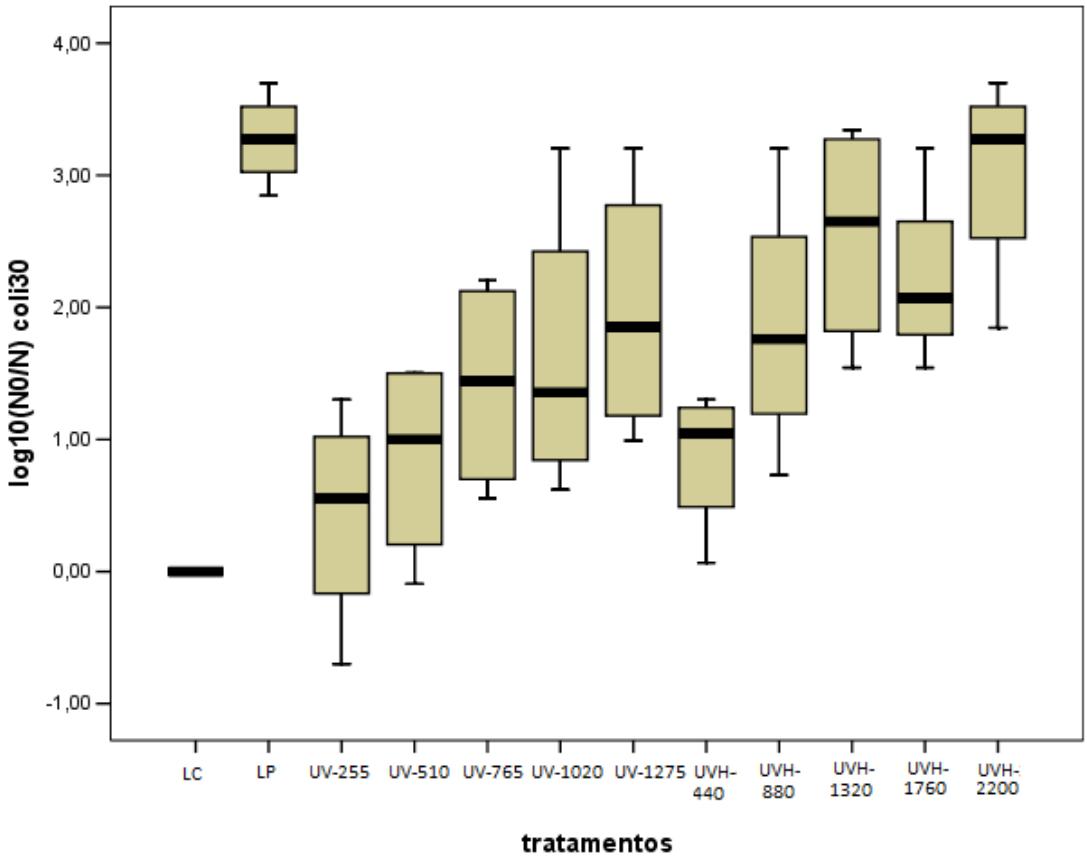


Fonte: o autor (2011).

As análises estatísticas obtidas a partir da distribuição de medianas do boxplot da figura 32 permitiram verificar através do teste de ANOVA diferenças significativas entre as médias de redução logarítmica dos grupos de estudo ($p<0,001$), relativas às distribuições da variável "logaritmo da redução microbiana para coliformes 30 °C" ($\log_{10}N_0$/Ncoli30).

O teste subseqüente (*Tukey*) mostrou que os tratamentos UV e UVH nas doses mais altas apresentaram certa homogeneidade com o tratamento de pasteurização (LP), ou seja, o processo de pasteurização para redução de coliformes (Coli 30°C) foi estatisticamente igual aos tratamentos UV-1020 ($p=0,184$), UV-1275 ($p=0,500$), UVH-880 ($p=0,377$), UVH-1320 ($p=0,976$), UVH-1760 ($p=0,775$) e UVH-2200 ($p=1,000$).

Figura 32 – Distribuição *boxplot* da redução logarítmica para coliformes (30 °C) em leite pasteurizado, UV e UVH

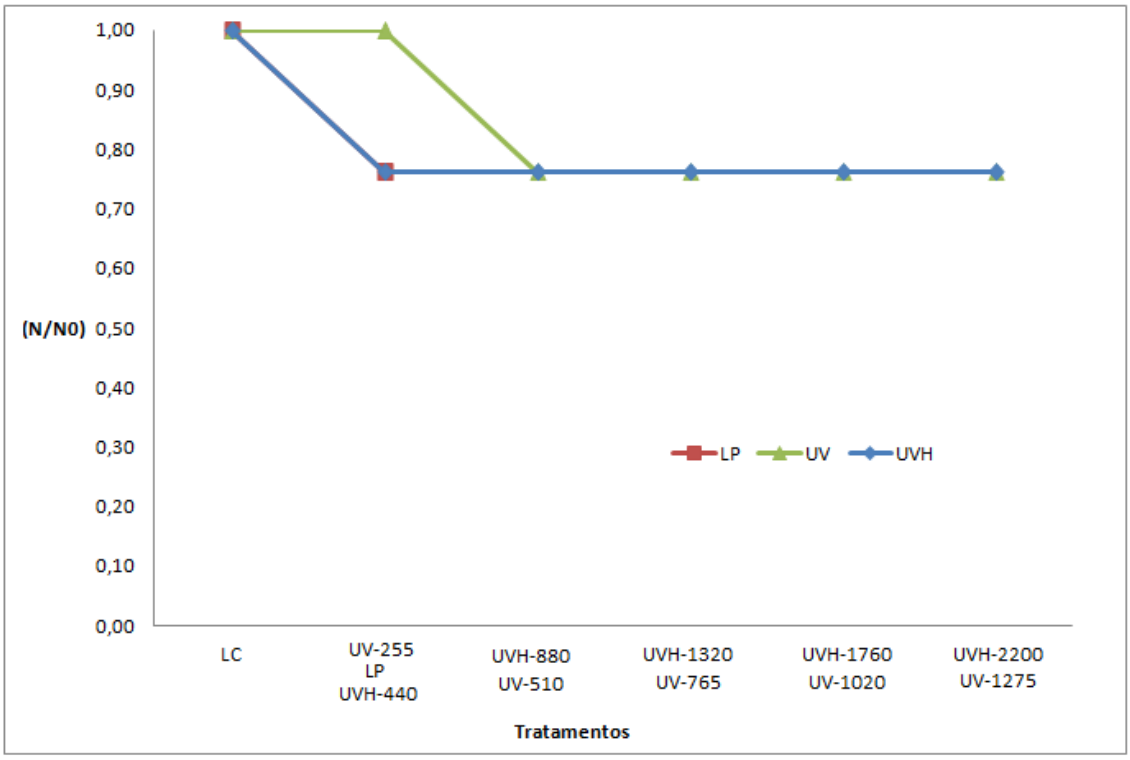


Fonte: o autor (2011).

4.3.3. Coliformes (45 °C)

A figura 33 a seguir demonstra o comportamento da curva de inativação microbiana (N/N_0) de coliformes (45°C). Observa-se que o tratamento UVH imediatamente seguiu a redução do leite pasteurizado, o que só foi alcançado no segundo tratamento UV (UV-510).

Figura 33 – Curva de inativação microbiana para coliformes (45 °C) em leite pasteurizado, UV e UVH



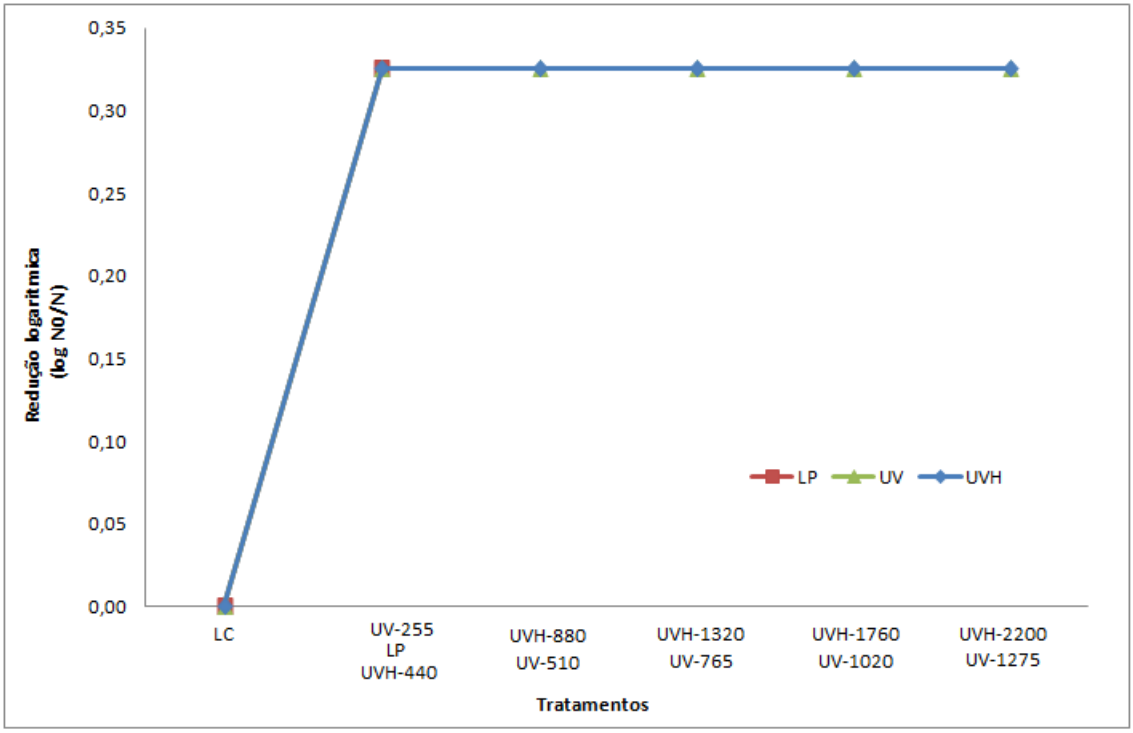
Fonte: o autor (2011).

Todos os tratamentos (UV, UVH e pasteurização) foram capazes de reduzir e atuar de forma a atender os pressupostos exigidos originalmente para leite pasteurizado (menor que 2 UFC/ml) da IN 62/2011.

A partir da redução logarítmica decimal (Figura 34) constatou-se que não houve diferença entre os tratamentos, o que foi verificado pelo teste ANOVA de um fator (p=1,000).

Para coliformes (30 °C/45 °C), o que pode ser percebido é que os tratamentos foram equivalentes entre si, mostrando a eficiência do tratamento UV e UVH para a redução microbiana, tanto quanto a pasteurização. Neste caso, sugerir-se-ia o último tratamento (UVH-2200) que atendeu a todos os critérios mínimos para contagem microbiana (IN 62/2011) preconizados para leite pasteurizado.

Figura 34 – Médias da redução logarítmica microbiana para coliformes (45 °C) em leite pasteurizado, UV e UVH



Fonte: o autor (2011).

4.3.4. *Salmonella* spp.

Não foi verificada a presença de *Salmonella* spp. em qualquer leite, seja ele cru ou nos tratamentos subseqüentes (pasteurização e tratamentos UV e UVH).

Desta forma, os testes adequaram-se aos dispositivos do item 3.2.2. do Anexo IV da IN62 (2011) quanto à ausência de *Salmonella* spp.

Portanto, não pôde ser constatada a eficiência dos métodos (UV e UVH) para a eliminação deste tipo de microorganismo, pois o leite cru recebido não se apresentava com *Salmonella* spp. originalmente.

4.4. Análises sensoriais

As análises sensoriais permitiram verificar que, de modo geral, houve uma diferenciação das amostras tratadas por ultravioleta e leite pasteurizado a um nível de significância (alfa) de 0,05.

Portanto, tanto para o tratamento UV-1020 quanto para o tratamento UVH-1760 foi notada diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) quanto ao odor do leite pasteurizado (amostra referência).

Foi caracterizado e anotado, em geral, pelos provadores que as amostras codificadas como leite pasteurizado eram tidas com odor e aromas semelhantes ao de "leite comum", com "cheiro de cozido", "normal", enquanto as amostras de leite tratadas por ultravioleta (tanto a UV-1020 quanto a UVH-1760) foram, em sua maioria, caracterizadas como "leite cru", "sem alteração", "cheiro de vaca", entre outras, sugerindo pouca alteração perceptível ao olfato.

4.5. Simulação econômica

Os estudos de análise econômica conduzidos foram realizados para comparação entre os sistemas de pasteurização e tratamento por ultravioleta para 1000 litros de leite.

4.5.1. Produção de vapor para produzir água quente para o pasteurizador

Foram considerados os seguintes dados para produção de vapor.

- Lenha da região amazônica (baixo custo) de R$ 0,03125 por quilo
- 1 m^3 de lenha produz 1000 kg de vapor (base acadêmica de cálculo)
- Densidade da lenha seja de 266 kg por m^3

Neste caso, numa caldeira de 8000 kg/h que consome 2.133 kg/h de lenha, tem-se: 2.133 kg/h/8.000 kg/h x 1000 = 270 kg/h de lenha para produzir 1000 quilos de vapor (cerca de 30 kg por quilo) ou em valores: 0,03125 x 270,00 que é igual a R$ 8,44 por 1000 quilos de vapor ou R$ 0,00844 por quilo de vapor

4.5.2. Consumo energético para produzir água gelada para o pasteurizador

Segundo dados da APV®, para um pasteurizador que receba leite a 3 °C, aqueça a 72 °C e resfrie novamente a 3 °C, para cada 1000 l de leite tem-se: 9000 kcal/h x 0,001162 (conversão kcal/h para kW) que é igual a 10,458 kWh/h, referente aos compressores frigoríficos e condensador/torre evaporativo.

4.5.3. Consumo energético de bombas no pasteurizador

De acordo com a APV®, para um pasteurizador pasteurizar 1000 l/h de leite há um consumo médio de 0,50 kWh/h para movimentação das bombas de água gelada e do produto.

Na Tabela 14 é mostrado o custo final para pasteurizar 1000 litros de leite de cerca de R$ 2,22.

Tabela 14 – Custos variáveis para pasteurizar 1000 litros de leite

Item	**Consumo**	**Custo unitário**	**Custo total**	**Peso relativo**
Vapor	30 kg	R$/kg = 0,00844	R$= 0,25	11,2%
Água gelada	10,458 kW	R$/kW = 0,18 energia elétrica variável	R$= 1,882	84,7%
Elétrico	0,5 kW	R$/kW = 0,18	R$ = 0,090	4,1%
Total			**R$ = 2,22**	**100%**

Fonte: o autor (2011).

4.5.4. Consumo energético para tratamento por ultravioleta

Para base de cálculo, foi levado em consideração o equipamento Tecnopure® 4000 l/h que consome cerca de 20 kW para funcionamento de suas lâmpadas, bomba positiva, bomba booster, medidor de vazão e ventiladores para ventilação das lâmpadas.

Portanto, para 1000 l/h, teríamos: 20/4000 que é igual 0,005 x 1000 ou 5 kW. A Tabela 15 mostra o custo final para tratar por UV 1000 litros de leite que é de cerca de R$ 0,90.

Tabela 15 – Custos variáveis para tratar por UV 1000 litros de leite

Item	Consumo	Custo unitário	Custo total	Peso relativo
Elétrico	5kW	R$/kW = 0,18	R$ = 0,90	100,0%
Total			**R$ = 0,90**	**100%**

Fonte: o autor (2011).

Portanto, pode-se concluir que há uma economia de R$ 1,32 (2,22 – 0,90) a cada 1000 litros de leite, sendo uma economia percentual de 60% no mínimo, podendo chegar a mais de 75% dependendo dos custos de produção de vapor (custos logístico de lenha). Supondo um laticínio que trabalhe 100.000 litros de leite ao dia, ter-se-ia uma economia de R$ 132,00 ao dia ou R$ 47.520,00 por ano.

Outrossim, não foram considerados para efeitos de cálculo, custos de manutenção das caldeiras, instalações frigoríficas (banco de gelo), amortização dos investimentos e mão-de-obra especializada, além de que muitas vezes o custo de produção de vapor possa aumentar se a base de matéria-prima passe de lenha a outros (como óleo combustível).

5 CONCLUSÕES

Os estudos de análise do tratamento de leite por ultravioleta pelos tratamento UV e UVH em comparação ao tratamento de pasteurização permitiram obter algumas conclusões.

De modo geral, não foram constatadas quaisquer alterações do teor de proteínas gordura e acidez em relação ao leite pasteurizado quando o leite foi tratado por UV e UVH.

As alterações de densidade e extrato seco desengordurado (esd) foram pequenas e relativas sobretudo ao tratamento por UVH (amálgama), diferenciando-se em relação aos outros tratamentos. Particularmente isso se torna muito interessante, visto que o objetivo do tratamento UV (ou UVH) era provocar o mínimo de alterações químicas possíveis ao leite cru, garantindo seu uso em postos de resfriamento e coleta e permitindo sua aplicação para o dia a dia das grandes indústrias lácteas.

Todos os tratamentos UVH foram mais eficientes como tratamento microbiológico que os tratamentos UV. Em especial, os tratamentos de maior potência de UVH – UVH 2200 – apresentaram melhor redução de contagem microbiana (redução de 99,5%) que os tratamentos UV de maior potência – UV 1275 – com redução de 94%, sugerindo o uso comercial e industrial do uso da lâmpada (amálgama) em detrimento à lâmpada (UV) para o tratamento do leite.

O tratamento UVH-2200 equivaleu-se estatisticamente ($p<0,001$) ao tratamento de pasteurização quanto à redução logarítmica de CPP (leite pasteurizado com redução de 98,7% e UVH-2200 redução de 99,5%) e coliformes 30 ^{o}C (leite pasteurizado com redução de 98,7% e UVH-2200 redução de 99,5%). Isso indicou a possibilidade deste tipo de tratamento (UVH-2200) para controle e redução da carga microbiana inicial do leite cru, pela extrema equivalência com o tratamento térmico (pasteurização).

Em relação à avaliação sensorial, foi percebida diferença olfativa dos leites tratados (UV -1020 e UVH-1760) em relação ao leite pasteurizado, tendo os provadores caracterizado os tratados por ultravioleta como odor de leite cru e o pasteurizado como leite comum e/ou cozido. Esse fenômeno pode ser considerado desejado e mesmo após três dias de estocagem a frio poucas mudanças sensoriais foram sentidas, ou seja, em relação ao leite cru pode-se supor a possibilidade de uso da tecnologia e estocagem da matéria-prima tratada. Particularmente, para grandes laticínios que trabalham transportando e estocando centenas de toneladas de leite cru diariamente, pelo uso da

tecnologia UV e UVH não mostrar alterações significativas de odor no leite, possa garantir que o mesmo possa passar depois por um processo de pasteurização ou outro tratamento térmico.

Por todos os resultados obtidos, pode-se sugerir o tratamento UVH-1760 para o leite cru como o mais útil para controle microbiológico e com pequenas alterações possíveis (requisitos físico-químicos e sensoriais).

A avaliação econômica do tratamento UV mostrou ser este muito mais vantajoso que o método de pasteurização (mínimo de 60% de economia) com o mínimo de impactos ambientais gerados, configurando-se excelente alternativa como “tecnologia limpa”.

Entretanto, outros parâmetros precisam ser estudados, tais como: alterações dos componentes menores do leite (proteínas, ácidos graxos, sais, peptídeos, entre outros); avaliar a redução, controle ou eliminação de microorganismos patogênicos associados ao leite como *Listeria monocytogenes*, *S.aureus*, microorganismos psicrotróficos, *Mycobacterium* spp. entre outros e determinar os parâmetros ótimos do equipamento de tratamento como vazão, tipo e potência da lâmpada, entre outros. É preciso ainda verificar a ação sobre outras matrizes lácteas ou não presentes, tais como soro de leite, creme de leite e salmoura. Além disso, um estudo deve ser feito para verificar o efeito da entrada de leite cru com melhor qualidade microbiológica (pré-tratado por UV) em produtos que tipicamente podem possuir problemas, como a presença de termodúricos em linhas de processamento, com estufamento tardio em queijos e a possível aplicação em tratamento UHT para redução da temperatura de processo, com conseqüentes economia de vapor, melhoria das características sensoriais e manutenção de vitaminas e oligoelementos no produto final.

Por tudo isso, pode-se ver que a consolidação da tecnologia UV para líquidos turvos como o leite ainda tem caminho longo a ser percorrido, dependendo dos avanços nessa ciência e rápida disponibilidade de equipamentos industriais e estudos que comprovem sua eficácia e eficiência.

Com isso, pode-se contar que esse tratamento possa ser um grande coadjuvante no processo de granelização do leite e tratamento deste que possa vir a garantir uma logística integrada, garantindo a chegada de uma matéria-prima com grande redução microbiana e sem alterações, o que pode permitir às indústrias o uso de tratamentos térmicos menos drásticos e por conseqüência maior economia e produtos mais frescos e mais seguros ao consumidor final.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.O. **Controle rápido da eficiência e segurança do processo de pasteurização* do leite. (*htst – high temperature short time).** 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus Jaboticabal, UNESP, Jaboticabal, 2006.

ARAÚJO,J.M.A. **Química de Alimentos:** Teoria e Prática. 2ª. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2002. 239 p.

ALTIC, L.C.; ROWE, M.T.; GRANT, I.R. UV Light Inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Milk as Assessed by *FASTPlaque*TB Phage Assay and Culture. **Applied Environmental Microbiology**, Belfast, v. 73, no. 11, 3728-3733, jun. 2007.

BAKKER, A. BIEHLER, R., KONOLD, C. **Curricular Development in statistics education**. Suécia. 2004. Disponível em: <http://www.stat.auckland.ac.nz/~iase/publications/rt04/1_Frontmatter.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2012.

BARNES, G. **U.S. Dairy Industry Takes Leadership Role.** Disponível em:<http://www.dairyfoods.com/Articles/White_Papers/BNP_GUID_9-5-2006_A_10000000000000835239>. Acesso em: 23 jul. 2010.

BERSON. **UV disinfection in the dairy industry**. 2005. Disponível em: <http://www.foodprocessing.com.au/articles/158-UV-disinfection-in-the-dairy-industry>. Acesso em: 17 dez. 2008.

BISHOP, J.R.; BARMORE, G.; CHUCK. **Final Report to Pure UV for work performed at Wisconsin Center for Dairy Research**. Disponível em: <http://www.surepure.net/brinereportuvv2.pdf>. Acesso em: 11 mai. 2009.

BOLTON, J. **Terms and definitions in ultraviolet disinfection**. In: PROCEEDINGS OF “DISINFECTION 2000”. 2000, New Orleans. Water Environment Federation. Alexandria: 2000. 25-40.

BRASIL. Aprova o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos da Instrução Normativa. Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, seção I, p. 8, 29 dez. 2011.

CAWE, N.B. **General hygiene of commercially available milk in the Bloemfontein area**. 2006. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Microbial, Biochemical and Food Biotechnology, Bloemfontein, 2006.

CHANG, J., OSSOFF, S., LOBE,D., DORFMAN, M., DUMAIS, C., QUALLS, R., JOHNSON, D. UV Inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Chapel Hill, v.49, no.6, 1361-1365, jun. 1985.

CHAVES, J.B.P. **Métodos de Diferença em Avaliação Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Cadernos didáticos. 2ª. ed. Viçosa: Editora UFV, 1998. 91 p.

CODEX ALIMENTARIUS. **Code of hygienic practice for milk and milk products**. **CACRCP 57-2004**. 2004. Disponível em: <www.codexalimentarius.net>. Acesso em: 16 març. 2012.

DONAGHY, J., KEYSER, M., JOHNSTON, J., CILLIERS, F.P., GOUWS, P.A., ROWE, M.T. Inactivation of *Mycobacterium avium* spp.*paratuberculosis* in milk by UV treatment. **Letters in Applied Microbiology**, Belfast, v. 49, 217–221, abr. 2009.

ELMNASSER, N. DALGALARRONDO, M. ORANGE, N. BAKHROUF, A. HAERTLÉ, T. FEDERIGHI, M. CHOBERT, J. Effect of Pulsed-Light Treatment on Milk proteins and lipids. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Nantes, v.56, 1984-1991, fev. 2008.

EPA. **Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term to enhanced surface water treatment rule.** United States Enviromental Protection Agency. Disponível em: <http://www.epa.gov/safewater/disinfection/lt2/compliance.html>. Acesso em 21 set. 2011.

FALGUERA, V. PAGÁN, J. GARZA, J.GARVÍN, A. IBARZ, A. **Ultraviolet processing of liquid food: a review**. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF FOOD INNOVATION. FOOD INNOVA 2010. Valência: 25 out. 2010. 4 p.

EUA. **Irradiation in the production, processing and handling of food.** FDA 21 CFR Part 179. Federal Register. 2000. 65. 71056–71058. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=179&showFR=1>. Acesso em: 28 ago. 2011.

EUA. **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies. Ultraviolet Light.** FDA. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Junh. 2000. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/ift-uv.html>. Acesso em: 13/01/2009 em 18:30 h.

EUA. **PMO – Pasteurized milk ordinance**. FDA. 2003. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/~acrobat/pmo03.pdf>. Acesso em: 17/12/2008 às 17:30 h.

FEDERIGHI, M., ELMNASSER, N. GUILLOU, S., LEROI, F., ORANGE, N., BAKHROUF, A. Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: a review. **Can. Journal of Microbiology**, Monastir, v. 53,813-821. març. 2007.

FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. 2ª.ed. Nova Iorque: Editora Springer-Verlag, 1998. 480 p. Disponível em: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=937&VerticalID=0>. Acesso em: 08 jun. 2010.

GERMETEC. **Tecnologia ultravioleta na industria de laticínios**. Germetec UV & IR Technology Ltda. Rio de Janeiro. 2010.

GRAPPIN, R.; BEUVIER, E. Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. **International Dairy Journal**, . vol. 7, n 12,751-761, ago. 1997.

GREENE, G.I. & BABEL, F.J. Effect of ultraviolet irradiation on bacteriophage active against *Streptococcus lactis*. **Journal Paper J-1520**, Lafayette, 509-515, fev. 1948.

GUERRERO-BELTRÁN, J.A. & BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**. Pullman, vol. 10, no. 3, 137-147, jan. 2004.

HANOVIA. Disponível em: <www.hanovia.com>. Acesso em: 29 dez. 2008.

HAYES, M.C., BOOR, K. Raw milk and fluid milk products. In: MARTH, E.H., STEELE, J.L. **Applied Dairy Microbiology**. 2a. ed. New York: Marcel Dekker, 2001. 745 p., capítulo II, 59-76. Disponível em: <http://www.ebooksdownloadfree.com/Science-Technology/Applied-Dairy-Microbiology-BI12056.html>. Acesso em: 05 fev. 2012.

HEDRICK, T.I. & HELDMAN, D.R. Air quality in fluid and manufactured milk products plants**. J. Milk Food Technol.,** vol. 32, p. 265-269, 1969.

HERRINGTON, B.L. The control of rancidity in milk. **Journal of Dairy Science**, vol. 39. 1613-1616, 1956.

HOWARTH, C. **UV disinfection shows promise**. 2007. Disponível em: <www.hanovia.com>. Acesso em: 17 dez. 2008.

HOYER, O. Testing performance and monitoring of UV systems for drinking water disinfection. **Water supply,** vol. 16, 424-429, jan. 1998.

ICUSD. **Non-thermal ultraviolet processing**. Disponível em: <http://www.usdairy.com/sustainability/TheCommitment/Documents/NonThermalProcessingProjectSummary063009.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2011.

INFRALIGHT. **Applications of Ultraviolet Light**. Disponível em: <http://www.infralight.com.au/Ultraviolet_Technology.html>. Acesso em: 26 dez. 2008.

JUNG *et al*. Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off-flavor in skim milk exposed to light. **Journal of Food Science**, v.63, no.3., 408-412, 2002.

KAMANI,H.; VAEZI,F.; NABIZADEH, R.; MESDAGHINIA, A.R.; ALIMOHAMMADI,M. Application of medium pressure UV lamp for wastewater disinfection of milk production industry. **Journal of Applied Sciences**, Teerã, v.6 no.4, 731-734, 2006.

KANG, Y.J. & FRANK, J.F. Evaluation of air samplers for recovery of artificially generated aerosols of pure cultures in a controlled environment. **Journal of Food Protection**, vol. 52, 655-659, 1989.

KOON, R. **Understanding rancidity of nutritional lipids.** Disponível em: <http://www.naturalproductsinsider.com>. Acesso em: 09 abr.2010.

KOUTCHMA, T. Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. **Food Bioprocess Technology**, vol. 2, 138–155, jan. 2009.

KOUTCHMA, T.; FORNEY, L.; MORARU, C. **Ultraviolet light in food technology: principles and applications**. 1a. ed. Atlanta: CRC Press, 2009. 296 p.

KRISHNAMURTHY, K. DEMIRCI, A., IRUDAYARAJ, J.M. ***Staphylococcus aureus* inactivation using Pulsed UVlight for Continuous Milk Treatment**. 2005. Paper number 056151. In: ASAE ANNUAL MEETING, 056151, 2005, Michigan. American Society of Agricultural and Biological Engineers. 2005. Disponível em: <http://asae.frymulti.com/abstract.asp?aid=19590&t=2>. Acesso em: 19 dez. 2008.

KRISHNAMURTHY, K. DEMIRCI, A., IRUDAYARAJ, J.M. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-Light treatment system. **Journal of Food Science**, Lafayette, vol. 72, no. 7, 233-239, jun. 2007.

LEE, B.H.; KERMASHA, S. ; BAKER, B.E. Thermal, ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. **Food Microbiology**. vol.6, no.3, 143-152, set. 1989.

LEE, J.M.S. **Photooxidation and photosensitized oxidation of linoleic acid, milk, and lard.** 2002. 124 p. Tese de Doutorado - Ohio State University, 2002.
LIGHTSOURCES. **Low Pressure Amalgam Lamps**. 2011. Disponível em: www.lightsources.com. Acesso em: 08 jun. 2011.

LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Ultraviolet light and food Preservation. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. *et al.*. **Novel Food Processing Technologies**. 2a. ed. CRC Press., 2005. Cap. 18. p. 405-419. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=fpZ1Vpf17JkC&pg=PA414&lpg=PA414&dq=Shama,+G.+1999.+Ultraviolet+light&source=bl&ots=1I-g5wToKr&sig=QuARfeQ9oexFsxxnx3cEKuJZOCk&hl=pt-BR&sa=X&oi=book_result&resnum=1&ct=result#PPA419,M1>.
Acesso em: 19 dez. 2008.

MATAK, K. E. **Effects of UV irradiation on the reduction of bacterial pathogens and chemical indicators of milk**. 2004. 44 p. Tese (Doutorado) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2004.

MATAK, K. E., J. J. CHUREY, R. W. WOROBO, S. S. SUMNER, E. HOVINGH, C. R. HACKNEY, M. D. PIERSON**.** Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat's milk. **Journal of Food Protection**, Geneva, vol**.** 68, no. 10, 2212-2216, jan. 2005.

MATAK, K. E., SUMNER, S.S., DUNCAN, S.E. Hovingh, E.; WOROBO, R.W.; C. R. Hackney,C.R.; PIERSON, M.D. 2007. Effects of Ultraviolet Irradiation on Chemical and Sensory Properties of Goat Milk. **Journal of Dairy Science**, Geneva, vol. 90, 3178-3186, mar. 2007.

MONE, J.G. **Ultraviolet Water Purification**. Pollution Engineering Magazine. vol.5 no.12. 1973. Disponível em: <http://www.cpesystemsinc.com/data/WebSite/Processing%20Equipment%5CUV%20Sterilization%5CArticle1.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2008.

MUNKACSI, F. ELHAMI, M. Effect of ultrasonic and ultraviolet irradiation on the chemical and bacteriological quality of milk**. Egyptian Journal of Dairy Science**, vol.4, no. 1, 1-6, nov. 1976.

MURPHY, M.F. Microbiology of butter. In: MURPHY, M.F. **Dairy microbiology**. 2a. ed. Londres: Ed. Elsevier Applied Science, 1990, 109-130.

NACMCF. **Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization.** National advisory committee on microbiological criteria for foods. 2004. EUA.

NASA. **Advanced Food Technology Workshop Report.** 1a. ed. Houston: National Aeronautics and Space Administration, 2003. 64 p.

OMS-OLIU,G. MARTÍN-BELLOSO, O. SOLIVA-FORTUNY, R. Pulsed light treatments for food preservation: a review. **Food Bioprocess Technology**, Lleida, vol. 3, 13–23, 2010.

RADMORE, K.; HOLZAPFEL, W.H. & LÜCK, H.. Proposed guidelines for maximum acceptable air-borne microorganism levels in dairy processing and packaging. **Journal of Food Microbiology**, vol. 6, no.1, 91-95, 1988.

REINEMANN, D. J., P. GOUWS, T. CILLIERS, K. HOUCK, J. R. BISHOP. **New methods for UV treatment of milk for improved food safety and product quality**. ASABE paper no. 066088. In: AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL AND BIOLOGICAL ENGINEERS (ASABE) ANNUAL INTERNATIONAL MEETING. Portland, 2006, 9 p. Disponível em: <http://asae.frymulti.com/abstract.asp?aid=21493&t=2>. Acesso em: 19 dez. 2008.

RIISPOA. **REGULAMENTO DA INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL** Art. 517. 1952. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br>. Acesso em: 23 dez. 2008.

SCHEIDEGGER, D.PECORA, R.P., RADICI, P.M., KIVATINITZ, S.C. Protein oxidative changes in whole and skim milk after ultraviolet or fluorescent light exposure. **Journal of Dairy Science**, Córdoba, vol. 93, no. 11, 5101-5109, nov. 2010.

SHARP, D.G. The lethal action of short ultraviolet rays on several common pathogenic bacteria. **Journal of Bacteriology**, Duke, vol. 37, no.4, 447-460, abr. 1939.

SHASHIDI,F.; ZHONG, Y. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6ª. ed., vol. 1-6, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2005, 3616 p., capítulo VIII, 357-385.

SMIT, G. **Dairy processing – improving quality**. 1ª. ed. Cambridge: CRC Press, 2000. 554 p. Disponível em: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=915>. Acesso em: 14 jul. 2011.

SMITH, W.L.; LAGUNAS-SOLAR, M.C.; CULLOR, J.S. Use of Pulsed Ultraviolet Laser Light for the Cold Pasteurization of Bovine Milk. **Journal of Food Protection**, California, vol. 65, no. 9, 1480-1482, set. 2002.

SUPPLEE, G.C.; FLANIGAN, G.E.; JENSEN, O.G. **The lethal effectiveness of ultraviolet rays applied to milk**. In: 36th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN DAIRY SCIENCE ASSOCIATION. Jun. 1941. 23-26.

TUKEY, J., McGILL, R., LARSEN, W. Variations of box plots. **The American Statistician**. Alexandria, vol. 32, no. 1. 12-16, fev. 1978. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2683468>. Acesso em: 03 fev. 2012.

UV-XTENDER. **UV-Xtender Amalgam™ Lamps.** Disponível em: <www.spectralinnovations.com>. Acesso em: jan. 2011.

WIRTANEN, GUN, MIETTINEN, HANNA, PAHKALA, SATU, ENBOM, SEPPO & VANNE, LIISA. **Clean air solutions in food processing.** In: ESPOO, 2002. VTT Publications 482. 95 p.

YOUSEF, A.E. MARTH, E.H. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M1 in raw or heated milk with and without added peroxide. **Journal of Dairy Science**, Madison, vol. 69, 2243-2247, jan. 1986.

ZONNEVELD, J. **Ultraviolet light as an adjunct treatment to pasteurization for microbial reduction in milk intended for extended shelf life**. 2010. 31 p. Bacharelado. Dairy Science – Universidade Politécnica Califórnia, Califórnia, 2010.

ANEXO A – cartas de solicitação ao Ministério da Agricultura para uso da tecnologia ultravioleta para leite

EPAMIG

Juiz de Fora, 20 de abril de 2010.

À Chefia do UTRA/JFO –MAPA
A/C.: Sr. Márcio Botelho

Prezado Sr.,

Vimos, por meio deste, solicitar autorização ao MAPA/SIF quanto à instalação e uso de equipamento por tratamento UV (ultravioleta) do leite no setor industrial do ILCT – EPAMIG. Trata-se de tecnologia emergente mundialmente, que será objeto de dissertação de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados (convênio Embrapa Gado de Leite, UFJF e EPAMIG – ILCT) do pesquisador Pedro Henrique Baptista de Oliveira, na qual, mais uma vez, o Instituto de Laticínios Cândido Tostes participará na vanguarda da pesquisa por novas tecnologias em Leite e Derivados.

Em momento algum é propósito da mesma substituir o tratamento térmico do leite – pasteurização – regido pelo RIISPOA/1952, mas sim obter respostas que possam auxiliar num futuro tratamento que venha a melhorar a qualidade do leite cru transportado no país, a fim de garantir ao mercado consumidor um leite e seus derivados de melhor qualidade.

Por outro lado, todo o leite a ser utilizado em objeto de pesquisa será desviado posteriormente aos setores de ensino e pesquisa do mesmo Instituto, não gerando produtos lácteos ao setor varejista local.

Em anexo, segue um propósito da pesquisa e alguns trabalhos já estudados internacionalmente.

Certos de poder contar com a colaboração, despedimo-nos.

Atenciosamente,

Fernando Antonio Resplandes Magalhães
Chefe do CEPQ – ILCT – EPAMIG

Nelson Tenchini
Chefe do CAPC – ILCT - EPAMIG

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
R.Tenente Luiz de Freitas, 116 – Santa Terezinha – Juiz de fora - MG cep: 36045-560
Tel.: (32) 3224-3116 - Fax: (32) 3224-3113
e.mail: ilct@epamig.br

Fonte: o autor (2010).

ANEXO B – carta de aprovação do Ministério da Agricultura para uso da tecnologia ultravioleta para leite

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no Estado de Minas Gerais
Divisão Técnica
Unidade Técnica Regional de Agricultura, Pecuária e Abastecimento,
em Juiz de Fora - (UTRA-JFO/DT-MG)

Ofício nº 302 /2010 - JCG

Em, 08 de junho de 2010.

Ao
Instituto de Laticínios Candido Tostes
Rua Tenente Freitas nº 116 – Santa Terezinha
36045-560 – Juiz de Fora -MG

Assunto: Uso de equipamento

Senhor Responsável,

Em resposta à solicitação pleiteada no Memorando nº 480/2010 de 18 de maio de 2010, comunicamos que o mesmo teve parecer favorável, podendo este estabelecimento utilizar o referido equipamento experimental na indústria, dentro dos moldes descritos na solicitação.

Atenciosamente,

Carlos Jorge Marques
Chefe Substituto da UTRA-JFO/DT-MG

EDSON DE SOUZA GOMES
FISCAL FED. AGROPECUÁRIO
CART. FISCAL N.º 600
MED. VET. CRMV 2548
UTRA/JFO/DT - MG

Rua Cel. Tancredo, 204 – Bairro Fábrica – CEP. 36.080-240 – Juiz de Fora/MG Fone: (32) 3215-1616 – FAX (32)3218-1905 E-mail: utra-jf@veloxmail.com.br

Fonte: o autor (2010).