

RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C) NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO POR *E. COLI* EM CAQUI 'RAMA FORTE'

DANIELA ALBUQUERQUE LIMA¹, YASMIM CRISTINA RODRIGUES DA
SILVA², FRANCIANE COLARES SOUZA USBERTI³

¹ Aluna de Graduação, Bolsista PIBIC/CNPq, FEAGRI/UNICAMP.

² Doutoranda em Engenharia Agrícola, Bolsista CNPq, FEAGRI/UNICAMP.

³ Professora Doutora, FEAGRI/UNICAMP, fran2606@unicamp.br

Apresentado no
LII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2023
18 a 21 de outubro de 2023 – Ribeirão Preto - SP, Brasil

RESUMO: O caqui é uma fruta oriental, que se adaptou ao clima tropical brasileiro, sendo a variedade 'Rama Forte' a mais comum e a mais consumida no Brasil. Frutos consumidos frescos, como o caqui, podem ser precursores de doenças que causam infecções e podem gerar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos. A radiação UV-C é considerada eficiente na eliminação de bactérias como *E. coli*, apresentando alto interesse pela área agroindustrial. O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese de que a radiação UV-C reduz a contaminação por *Escherichia coli* em frutos de caqui 'Rama Forte'. Frutos recém-colhidos foram submetidos a radiação UV-C nas doses de 0,0 kJ.m⁻² (controle); 1,5 kJ.m⁻²; 3,0 kJ.m⁻²; 4,5 kJ.m⁻² e 6,0 kJ.m⁻². Foi realizados testes *in vivo*, inoculando uma suspensão de 10⁶ UFC.mL⁻¹ na superfície das frutas e procedendo à aplicação da radiação UV-C; e testes *in vitro*, espalhando 30 µL da solução do inóculo de *E.coli* (10⁶ UFC.mL⁻¹), em placa de petri com meio BHI ágar, seguindo da aplicação da radiação UV-C. Os resultados mostraram uma redução de 0,78 a 2,46 log nos testes *in vivo* quando comparado aos frutos não tratados, e nos testes *in vitro* redução variando de 1,38 a 1,59 log. Nota-se, portanto, a ação germicida que a radiação UV-C possui contra microrganismos patogênicos. A radiação UV-C nas doses de 1,5 a 6,0 kJ.m⁻² mostrou-se eficaz na redução da *E.coli* na superfície de caquis inoculados e em testes *in vitro*, evidenciado ser um método sanitizante potencial para frutas.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças Transmitidas por Alimentos, Sanitização, Controle alternativo.

ULTRAVIOLET RADIATION (UV-C) IN THE CONTROL OF CONTAMINATION BY *E. COLI* IN 'RAMA FORTE' PERSIMMON

ABSTRACT: Persimmon is an oriental fruit adapted to the Brazilian tropical climate, with the 'Rama Forte' variety being the most common and most consumed in Brazil. Fruits eaten fresh, such as persimmons, can be precursors to diseases that cause infections and can lead to outbreaks of Foodborne Illnesses. UV-C radiation is considered efficient in eliminating bacteria such as *E. coli*, showing great interest in the agro-industrial area. This work aimed to test the hypothesis that UV-C radiation reduces contamination by *E. coli* in 'Rama Forte' persimmon fruits. Freshly picked fruits were subjected to UV-C radiation at doses of 0.0 kJ.m⁻² (control); 1.5 kJ.m⁻²; 3.0 kJ.m⁻²; 4.5 kJ.m⁻² and 6.0 kJ.m⁻². *In vivo* tests were carried out, inoculating a suspension of 10⁶ CFU.mL⁻¹ on the surface of the fruits and proceeding with the application of

UV-C radiation; and *in vitro* tests, spreading 30 μL of the *E.coli* inoculum solution (10^6 CFU.mL⁻¹) in a petri dish with BHI agar medium, followed by the application of UV-C radiation. The results showed a reduction of 0.78 to 2.46 log in the *in vivo* tests when compared to untreated fruits, and in the *in vitro* tests a reduction ranging from 1.38 to 1.59 log. Note, therefore, the germicidal action that UV-C radiation has against pathogenic microorganisms. UV-C radiation at doses of 1.5 to 6.0 kJ.m⁻² proved to be effective in reducing *E.coli* on the surface of inoculated persimmons and in *in vitro* tests, proving to be a potential sanitizing method for fruits.

KEYWORDS: Foodborne Diseases, Sanitization, Alternative Control.

INTRODUÇÃO: O caquizeiro é de origem asiática, mais especificamente da China e do Japão. A planta pertence à família das plantas Ebenacea, destacando-se o gênero *Diospyros*, de onde surge a espécie *D. kaki*, que engloba os cultivares de caqui conhecidos e consumidos mundialmente (PENTEADO, 1986). O caqui é uma fruta oriental, que se adaptou ao clima tropical brasileiro, sendo a variedade ‘Rama Forte’ a mais comum e a mais consumida no país. O Brasil é o quarto maior produtor mundial do fruto. Segundo dados do IBGE, em 2021, foram produzidas mais de 170.242 toneladas do produto (IBGE, 2023). A fruta possui uma coloração vermelha alaranjada quando madura, e forma redonda achatada, possuindo textura lisa. O caqui ‘Rama Forte’ possui polpa doce e taninosa, sendo necessária a passagem pelo processo de destanização para consumo. Frutos consumidos frescos, como o caqui, podem ser precursores de doenças que causam infecções e podem gerar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Um surto de DTA é definido como um incidente onde duas ou mais pessoas apresentam uma enfermidade semelhante após a ingestão de um mesmo alimento ou água e são um problema de âmbito público, sendo que estas doenças se derivam, além da ingestão de alimentos e água contaminados, a fatores como falta de saneamento básico e utilização de água contaminada para irrigação de culturas (BRASIL, 2022). A bactéria da espécie *Escherichia coli* está presente no trato gastrointestinal e quando as condições do meio em que se encontram permitem sua multiplicação, esta se torna um dos patógenos de maior potencial de infecções alimentares. A radiação UV-C é considerada eficiente na eliminação de bactérias como *E. coli*, protozoários, algas, vírus e fungos, apresentando, portanto, alto interesse pela área agroindustrial. A importância deste estudo visa o controle de contaminações microbiológicas, tencionando a diminuição das perdas de produtos agrícolas, garantindo um alimento seguro aos consumidores e um tratamento não poluente ao meio ambiente. De acordo com ROCHA (2014), o principal mecanismo de ação da radiação UV-C na desinfecção é através da interferência na biossíntese e na reprodução celular, os microrganismos são inativados pela radiação UV-C como resultado dos danos fotoquímicos causados ao DNA. O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese de que a radiação UV-C reduz a população de *Escherichia coli* em frutos de caqui ‘Rama Forte’.

MATERIAL E MÉTODOS:

Produto: Caquis frescos da variedade ‘Rama Forte’ foram adquiridos na cidade de Taquarivai, no sudoeste do estado de São Paulo e levados até ao Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita da FEAGRI/UNICAMP. Foram selecionados frutos livres de enfermidades e defeitos fisiológicos visíveis.

Preparo do inóculo de E.coli: O inóculo com *E. coli* foi produzido utilizando uma colônia isolada da bactéria em meio caldo, cérebro e coração (BHI), que foi homogeneizado e incubado a 37°C por 20 h (SILVA, 2010). Com um hemacitômetro, ajustou-se a concentração

de inóculo para 10^6 células da bactéria por mililitro (UFC.mL⁻¹), utilizando-se água peptonada 0,1% para a diluição.

Experimentos in vivo: Vinte e cinco frutos foram alocados em uma capela de fluxo laminar e inoculados pelo método de spray (10^6 UFC.mL⁻¹), até que ficassem completamente encharcados, depois esperou-se 1 h até a secagem em ar ambiente. Em seguida, foram submetidos ao tratamento com a radiação UV-C. Após o tratamento com a radiação, procedeu-se a preparação das amostras por diluição (1:9) utilizando a casca das frutas e água peptonada 0,1%, seguida da diluição seriada até obter concentrações de 10^{-1} a 10^{-6} . Foram retiradas 1 mL dessas diluições e inoculados em profundidade em ágar padrão de contagem (PCA). Após este procedimento, as placas foram incubadas a 37 °C e feita a contagem das UFC após 24 horas, procedendo-se ao cálculo da redução logarítmica bacteriana (SILVA, 2010).

Experimentos in vitro: Utilizando o inóculo de *E.coli* (10^6 UFC.mL⁻¹), 30 µL da solução foram espalhados na placa de petri contendo ágar cérebro e coração (BHI ágar). Em seguida, as placas foram submetidas aos diferentes tratamentos com a radiação UV-C e incubadas por 24 horas a 37°C, após esse período realizou-se a contagem das UFC, procedendo-se ao cálculo da redução logarítmica bacteriana (SILVA, 2010).

Aplicação dos Tratamentos com Radiação UV-C: A aplicação da radiação UV-C nos frutos foi realizada em uma câmara com dimensões de 1000 x 1000 x 600 mm e revestida internamente com alumínio, com 12 lâmpadas germicidas UV (30W, Phillips), sendo seis na parte superior e seis na parte inferior, com comprimento de onda de 254 nm (SOUZA, 2012), a uma distância de 22 cm dos frutos de caqui ou das placas de petri. As doses de radiação UV-C testadas foram de 0 kJ.m⁻² (controle), 1,5 kJ.m⁻² (34 s), 3,0 kJ.m⁻² (68 s), 4,5 kJ.m⁻² (102 s) e 6,0 kJ.m⁻² (136 s).

Análise estatística: Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os resultados foram apresentados em redução logarítmica da contaminação bacteriana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: No experimento *in vivo* (Tabela 1) observou-se que o tratamento com a dose de 3,0 kJ/m² foi o menos eficiente na redução da população de colônias de *E.coli*. Já as maiores reduções foram observadas nos caquis tratados com UV-C em 6,0 kJ.m⁻². Contudo, em todos os tratamentos foi observada redução da população de UFC, variando de 0,78 a 2,46 log UFC.mL⁻¹. Esta redução indica que o uso da radiação UV-C tem potencial como sanitizante, devido sua ação germicida, como comprovado por Graça et al. (2013), em que a dose de 1,0 kJ.m⁻² de radiação UV-C foi eficiente na redução de contaminação por *Escherichia coli* em maçãs minimamente processadas. Os resultados encontrados neste estudo evidenciam que mesmo em doses baixas houve uma redução da população da bactéria estudada.

TABELA 1. Valores médios da redução logarítmica de *E. coli* dos experimentos *in vivo* e *in vitro* submetidos à radiação UV-C.

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

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

No experimento *in vitro* (Tabela 1) é possível observar o efeito direto da radiação UV-C sobre as colônias de *E. coli* dispostas em placas de petri, com redução de 1,38 a 1,59 log UFC.mL⁻¹. O tratamento controle (0 kJ.m⁻²) apresentou colônias numerosas, enquanto as placas submetidas a radiação UV-C, independente da dose de tratamento, indicaram tendência de redução, sendo o tratamento com energia de radiação igual a 6,0 kJ.m⁻² o mais eficaz.

CONCLUSÕES: A radiação UV-C nas doses de 1,5 a 6,0 kJ.m⁻² mostrou-se eficaz na redução da *E.coli* na superfície de caquis inoculados e em testes *in vitro*, evidenciado ser um método sanitizante potencial para produtos hortícolas.

AGRADECIMENTOS: Ao CNPq pela concessão das bolsas de Iniciação Científica e Doutorado.

REFERÊNCIAS:

- ADHIKARI, A.; SYAMALADEVI, R.M.; KILLINGER, K.; SABLANI, S.S. 2015. Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *listeria monocytogenes* on organic fruit surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 136–142.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2022>. Acesso: 30/09/2022.
- IBGE. PAM – Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=resultados>. Acesso: 30/03/2023.
- GRAÇA, A.; SALAZAR, M.; QUINTAS, C.; NUNES, C. 2013. Low dose UV-C illumination as an eco-innovative disinfection system on minimally processed apples. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 1-7.
- PENTEADO, S. R. 1986. *Cultura do caqui*. In: Fruticultura de clima temperado em São Paulo. Campinas: Fundação Cargill. p. 155-173.
- ROCHA, A. B. O. 2014. *Principais métodos físicos de controle de doenças pós-colheita em frutas e hortaliças*. Nucleus, v. 11, n. 1.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, F.S.; GOMES, R.A. 2010. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. Livraria Varela, 4ªed., 624p.
- SOUZA, F. C. 2012. *Utilização combinada de radiação UV-C e atmosfera modificada para conservação do figo após a colheita*. 111f. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.