

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE
APLICAÇÃO SIMULTÂNEA DE MICRO-ONDAS E
ULTRAVIOLETA UV-C PARA DESCONTAMINAÇÃO
DE CARNE BOVINA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Maria Fernanda da Silveira Cáceres de Menezes

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE APLICAÇÃO
SIMULTÂNEA DE MICRO-ONDAS E ULTRAVIOLETA UV-C
PARA DESCONTAMINAÇÃO DE CARNE BOVINA**

Maria Fernanda da Silveira Cáceres de Menezes

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Ragagnin de Menezes

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**Desenvolvimento de um sistema de aplicação simultânea de micro-ondas e
ultravioleta UV-C para descontaminação de carne bovina**

elaborada por
Maria Fernanda da Silveira Cáceres de Menezes

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Cristiano Ragagnin de Menezes, Dr.
(Presidente/Orientador)

Alexandre José Cichoski, Dr.
(Co-orientador)

Ana Lúcia de Freitas Saccol, Dr^a. (Unifra)

Juliano Smanioto Barin, Dr. (UFSM)

Eduardo Jacob Lopes, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 13 de março de 2015.

*Aos meus pais,
minha gratidão pela vida,
pelo amor, pelo exemplo.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria, em especial ao Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos/DTCA.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À minha família, por entender a minha ausência em muitos momentos, a Roger Cáceres, por poder compartilhar todos os momentos desta jornada, por entender e respeitar as minhas escolhas, por me dar força a cada novo desafio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cristiano Ragagnin de Menezes, exemplo de profissional, a quem tenho grande admiração e respeito, por antes mesmo de conhecer-me, abrir as portas do seu laboratório, confiar no meu trabalho e conduzir-me no desenvolvimento desta pesquisa. Minha eterna gratidão, por ser a pessoa que és, pelo apoio nos momentos em que mais necessitei durante esta caminhada, por participar da minha formação profissional e pessoal.

A todos os professores do PPGCTA, em especial: Prof^a Dr^a. Leadir Fries e Prof. Dr. Alexandre Cichoski, co-orientador, pelas contribuições na elaboração do projeto e durante a realização deste trabalho; Prof. Dr. César Bizzi, pelo auxílio inicial e pelas sugestões referentes a metodologia; Prof. Dr. José Neri Paniz por tornar viável o método para aplicação da radiação ultravioleta; Prof. Dr. Juliano Barin por compartilhar seus conhecimentos, pela atenção e colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho; Prof. Dr. Eduardo Lopes pela disponibilidade e paciência em me auxiliar nos dados estatísticos e pelas sugestões ao trabalho.

Aos funcionários do DTCA Marialene Manfio, Moisés Dias, Liana Milani, Ana Paula Rezer, Magé e Lia Cidade pela disponibilidade e atenção em todos os momentos que necessitei.

Aos colegas do PPGCTA pela amizade, pelo auxílio durante as análises, pelas trocas de experiências e aconselhamentos durante esta período.

Aos meus colegas de laboratório, Carlos, Caroline, Gabriela, Greice, Luíza, Andressa, Augusto, Thaianne, Graciela e Marina pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho, pelo aprendizado e experiências compartilhados, pela boa convivência, por tornarem meus dias de trabalho leves e agradáveis, pelos intervalos descontraídos de mates e cafés. Em especial, à Mariana, pela atenção peculiar nos momentos mais difíceis que passei durante esta etapa, pela amizade, pelas conversas, pela paciência, pela alegria que me transmite e pela força que me dá.

Aos amigos, que estiveram torcendo pelas minhas realizações.

À todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa.

À Deus, por ser minha força maior e por permitir-me essa vivência.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE APLICAÇÃO SIMULTÂNEA DE MICRO-ONDAS E ULTRAVIOLETA UV-C PARA DESCONTAMINAÇÃO DE CARNE BOVINA

AUTORA: Maria Fernanda da Silveira Cáceres de Menezes

ORIENTADOR: Cristiano Ragagnin de Menezes

CO-ORIENTADOR: Alexandre José Cichoski

Local e Data de Defesa: Santa Maria, 13 de março de 2015.

As carnes *in natura* apresentam condições favoráveis ao crescimento de micro-organismos, sejam eles oriundos da microbiota da carne ou do processo produtivo. A relevância do uso das radiações para a tecnologia de alimentos, assim como a combinação de tecnologias emergentes, tem sido proposta com o intuito de reduzir as alterações microbiológicas e aumentar a vida de prateleira dos alimentos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação da radiação micro-ondas e a otimização desta com a radiação ultravioleta UV-C na descontaminação da carne bovina moída *in natura*. Foi utilizado um forno de micro-ondas convencional (2450 MHz), de 800 W, uma lâmpada ultravioleta de cádmio (228 nm) e a matéria-prima utilizada foi adquirida em estabelecimento comercial local, processada no laboratório de processamento de alimentos, mantida sob refrigeração à 2°C até a realização dos tratamentos. Foram realizados estudos preliminares para utilização do micro-ondas, a determinação da potência real, a determinação da radiação pulsada de micro-ondas, o mapeamento do micro-ondas com água ultrapura, com imagem termográfica e com a lâmpada ultravioleta. Os tratamentos utilizados foram denominados de: C ou controle, o qual não foi submetido a irradiação; M 50 - tratamento com radiação pulsada de micro-ondas (potência 50%); M 100 - tratamento com radiação contínua de micro-ondas (potência 100%); MUV 50 - tratamento com radiação pulsada simultânea de micro-ondas e ultravioleta UV-C (potência 50%); MUV 100 - tratamento com radiação contínua simultânea de micro-ondas e ultravioleta

UV-C (potência 100%). Após a aplicação dos tratamentos, as amostras foram submetidas às análises microbiológicas de *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva, aeróbios mesófilos, psicrotróficos termófilos, bolores e leveduras, enterobactérias, termotolerantes, e às físico-químicas de pH, cor, atividade de água e umidade. Os resultados revelaram que o forno de micro-ondas adotado possui 78,4% de eficiência energética, com maior incidência nas regiões de borda do prato giratório e o estudo da radiação pulsada de micro-ondas demonstrou distribuição mais homogênea da irradiação nas amostras. As imagens termográficas confirmaram diferenças na distribuição da energia de micro-ondas aplicada nas formas, pulsada e contínua, tendo maior variação de temperatura ($\Delta T = 31,6$ °C) para o processo contínuo e, conseqüentemente maiores *hots spots*, enquanto que as imagens termográficas dos processos simultâneos contínuo e pulsado demonstraram menores variações de temperatura, $\Delta T = 19,4$ °C e $\Delta T = 11,5$ °C, respectivamente. Ainda, foi realizado o mapeamento com a lâmpada ultravioleta através da contagem de aeróbios mesófilos, a qual não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), quanto a altura e local de coleta da amostra no recipiente térmico. Quanto aos resultados microbiológicos e físico-químicos das amostras submetidas aos diferentes tratamentos, todos apresentaram diferença significativa quando comparados ao controle. No entanto, destacaram-se os tratamentos simultâneos das tecnologias, pois apresentaram melhores efeitos na redução microbiana, especialmente o MUV 100 que reduziu significativamente ($p < 0,05$) todas as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, aeróbios mesófilos, psicrotróficos, termófilos e bolores e leveduras. Dos resultados físico-químicos, ressalta-se o da cor das amostras tratadas por M 100 e MUV 100 que não diferiram significativamente do controle ($p > 0,05$) mantendo a coloração da carne fresca. Todas as amostras, tratadas e controle, apresentaram ausência de enterobactérias, termotolerantes e *Salmonella* spp (em 25g/amostra). O tratamento mais eficiente microbiologicamente foi o MUV 100, o qual foi utilizado para o estudo da vida de prateleira do produto, que envolveu as análises de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e *Pseudomonas* spp, pH, oxidação lipídica (TBARS), pigmentos heme totais, cor, umidade e atividade de água. O estudo em geral, demonstrou que é possível desenvolver uma metodologia eficiente, segura e com potencial de aplicação para a conservação de alimentos. O estudo da estabilidade microbiológica e físico-química da carne revelou que a aplicação simultânea de micro-ondas e ultravioleta em carne bovina moída *in natura* através do método desenvolvido é capaz de reduzir as contagens microbianas e manter a vida de prateleira por dois dias de armazenamento à 4°C, sem muita interferência nas características físico-químicas.

Palavras-chave: Micro-ondas. Ultravioleta. Carne bovina. Descontaminação.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

DEVELOPMENT OF A SYSTEM OF SIMULTANEOUS APPLICATION OF MICROWAVE AND ULTRAVIOLET UV-C DECONTAMINATION BEEF

AUTHOR: Maria Fernanda da Silveira Cáceres de Menezes

ADVISOR: Cristiano Ragagnin de Menezes

CO-ADVISOR: Alexandre José Cichoski

Date and Defense place: Santa Maria, March 13, 2015.

The raw meats they are favorable to the growth of microorganisms, whether they come from the microbiota of the flesh or of the production process. The relevance of the use of radiation to the food technology as well as the combination of emerging technologies has been proposed in order to reduce microbiological changes and increase the shelf life of food. In this context, the aim of this study was to evaluate the effects of applying microwave radiation and the optimization of this with ultraviolet radiation in the UV-C decontamination of ground beef *in natura*. A conventional microwave oven was used (2450 MHz) of 800 W, cadmium an ultraviolet lamp (228 nm), and the feedstock used was purchased at a local premises, food processed in the processing laboratory, kept under cooling to 2 °C to both treatments. Preliminary studies were performed to use the microwaves, determining the actual power, the determination of pulsed microwave radiation, the mapping of the microwave with ultrapure water, and thermographic imaging with ultraviolet light. The treatments were named: C or control, which was not subjected to irradiation; M 50 - treatment with pulsed microwave radiation (power 50%); 100 M - continuous treatment with microwave radiation (100% power); MUV 50 - Simultaneous treatment with pulsed microwave radiation and ultraviolet UV-C (50% power); MUV 100 - simultaneous continuous treatment with microwave radiation and ultraviolet UV-C (100% power). After the treatments, the samples were subjected to

microbiological analysis of *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase-positive, aerobic mesophilic, psychrotrophic, thermophilic, molds and yeasts, *Enterobacteriaceae*, thermotolerant, and the physical and chemical pH, color, water and moisture activity. The results revealed that the adopted microwave oven has 78,4% energy efficiency, focusing on border regions of the turntable and the study of pulsed microwave radiation showed more homogeneous distribution of radiation in the samples. The thermographic images confirmed differences in the distribution of the microwave energy applied to the forms, pulsed and continuous, and greater temperature variation ($\Delta T = 31,6$ °C) for the continuous process and consequently higher hot spots, while the images thermographic simultaneous processes of continuous and pulsed showed minor variations in temperature, $\Delta T = 19,4$ °C and $\Delta T = 11,5$ °C respectively. Still, it was done the mapping with ultraviolet light through the mesophilic aerobic counts, which showed no significant difference ($p > 0,05$), and the height and the sample collection site in the cooler. As for microbiological and physico-chemical results of samples submitted to different treatments, all they presented significant difference as compared to the control. However, they stood out simultaneous treatment technologies, as showed better effects on microbial reduction, especially the MUV 100 which reduced significantly ($p < 0,05$) all counts of *Staphylococcus* coagulase positive, aerobic mesophilic, psychrotrophic, thermophilic and molds and yeast. The physical and chemical results, we emphasize the color of the samples treated by M 100 and 100 MUV which did not differ significantly from the control ($p > 0,05$) keeping the color of fresh meat. All samples, treated and control, showed no *Enterobacteriaceae*, thermotolerant and *Salmonella* spp (at 25 g / sample). The most efficient treatment was the microbiologically MUV 100, which was used to study the shelf life of the product, involving the analysis of aerobic mesophilic, psychrotrophic bacteria and *Pseudomonas* spp, pH, lipid oxidation (TBARS), total heme pigments, color, moisture and water activity. The study generally showed that it is possible to develop an efficient methodology, safe and with application potential for the conservation of food. The study of microbiological and physico-chemical stability of the meat revealed that the simultaneous application of microwave and ultraviolet ground in fresh beef using the method developed is capable of reducing microbial counts and maintain shelf life storage for two days at 4 °C without much interference on the physicochemical characteristics.

Keywords: Microwave. Ultraviolet. Beef. Decontamination.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne

Anova – Análise de Variância

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

A_w – Atividade de água, do inglês “Activity water”

BHI – Infusão Cérebro Coração, do inglês “Brain Heart Infusion”

CLA – Ácido linolênico conjugado, do inglês “Conjugated Linolenic Acid”

CO₂ – Dióxido de carbono

DTA – Doença transmitida por alimentos

E. coli - *Escherichia coli*

ETEC – *Escherichia coli* enterotoxigênica

EUA – Estados Unidos da América

FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, do inglês “Food and Agriculture Organization of the United Nations”

FDA – *Food and Drug Administration*

g – Grama

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IN – Instrução Normativa

IFT – Institute of Food Technologists ou Instituto de Tecnologia de Alimentos

L – Litro

LAQIA – Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais

LED – *Light Emitting Diode* (diodo emissor de luz)

log - Logarítmo

LTDA – Limitada

m – Massa

MDA - Malonaldeído

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MHz - Megahertz

mL – Mililitro

MS – Ministério da Saúde

M 50 – Tratamento de radiação micro-ondas com nível de potência 50%

M 100 - Tratamento de radiação micro-ondas com nível de potência 100%

MUV 50 – Tratamento de radiação micro-ondas e ultravioleta com nível de potência 50%

MUV 100 - Tratamento de radiação micro-ondas e ultravioleta com nível de potência 100%

nm – nanômetro

OMS – Organização Mundial de Saúde

P - Potência

PCA – Ágar Padrão para Contagem, do inglês “Plate Count Ágar”

pH– Potencial Hidrogeniônico

PVC – Policloreto de vinila

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

S – Segundos

SECEX – Secretaria de Comércio Exterior

STEC – *E. coli* enterohemorrágica

TCA – Ácido Tricloroacético, do inglês “Trichloroacetic Acid”

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TBA – Ácido 2-tiobarbitúrico, do inglês “Thiobarbituric Acid”

W - Watts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espectro eletromagnético.....	33
Figura 2 - Fluxograma geral dos tratamentos aplicados à carne bovina moída <i>in natura</i>	44
Figura 3 – Carne bovina <i>in natura</i> . (A) matéria-prima (coxão duro); (B) carne moída.....	46
Figura 4 – Disposição da lâmpada ultravioleta na cavidade do micro-ondas. (A) micro-ondas, (B) tubo de quartzo contendo água destilada e a lâmpada ultravioleta e (C) recipiente térmico em polipropileno contendo água congelada.....	47
Figura 5 – Procedimento de determinação da potência real do micro-ondas. (A) 1000 mL de água ultrapura na cavidade de radiação micro-ondas. (B) Verificação da variação da temperatura (ΔT)	50
Figura 6 – Prato giratório do micro-ondas. (A) Posição dos béqueres para a realização do mapeamento do forno de micro-ondas com água ultra-pura; (B) Posição de cada béquer de região distinta e tamanho do prato, (1) borda, (2) intermediária e (3) centro.....	52
Figura 7 – Mapeamento da lâmpada ultravioleta com carne bovina moída <i>in natura</i> . (A) Altura da lâmpada (2 cm e 4 cm); (B) Local de coleta de amostra no recipiente térmico para análise microbiológica, (1) região de borda, (2) região central.....	54
Figura 8 – Papel termosensível irradiado sem e com o prato giratório.....	63
Figura 9 – Imagens termográficas obtidas de carne bovina moída <i>in natura</i> : (a) irradiação contínua de micro-ondas (M 100); (b) irradiação pulsada de micro-ondas (M 50)	76
Figura 10 – Imagens termográficas obtidas de carne bovina moída <i>in natura</i> : (a) irradiação contínua de micro-ondas e ultravioleta UV-C (MUV 100); (b) irradiação pulsada de micro-ondas e ultravioleta UV-C (MUV 50)	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de médias de temperatura de 25 g de carne moída submetidas a diferentes tempos de irradiação e níveis de potência.....	65
Tabela 2 – Aplicação de 3 tempos de radiação micro-ondas contínua (100%) sobre a microbiota existente de aeróbios mesófilos em carne bovina moída <i>in natura</i>	67
Tabela 3 - Dados referentes a calibração da potência real do micro-ondas nos diferentes níveis de programação.....	69
Tabela 4 - Níveis de potência programada, períodos alternados de irradiação, tempo real de irradiação e variação de temperatura atingida durante 60 s.....	71
Tabela 5 - Nível de 50% de potência programada, tempo programado de irradiação, intervalo alternado de irradiação, tempo real de irradiação e variação da temperatura atingida nos tempos de 10 a 60 s, intercalados a cada 5 s.....	73
Tabela 6 - Médias de variação de temperatura e potência absorvida por 25 mL de água ultrapura contida em béqueres, após 60 s de irradiação contínua e alternada.....	74
Tabela 7 - Valores médios das contagens de aeróbios mesófilos quanto a posição analisada, altura da lâmpada ultravioleta (2 cm e 4 cm) e região de coleta de amostra (borda e centro do recipiente de polipropileno)	79
Tabela 8 - Resultados das análises microbiológicas de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, aeróbios mesófilos, psicrotróficos, termófilos, bolores e leveduras, das amostras de carne bovina moída <i>in natura</i> submetida aos diferentes tratamentos.....	82
Tabela 9 - Valores de pH, atividade de água (a_w) e umidade das amostras de carne bovina moída <i>in natura</i> submetida aos diferentes tratamentos.....	85
Tabela 10 – Valores dos parâmetros de Luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarela (b^*), índice de saturação (c) e ângulo de tonalidade (h) das amostras de carne bovina moída <i>in natura</i> submetidas aos diferentes tratamentos.....	87
Tabela 11 - Número de colônias de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas e <i>Pseudomonas</i> spp em carne moída após a aplicação de 20 s de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta e durante o armazenamento à 4 °C.....	90
Tabela 12 - Valores de pH em carne bovina moída <i>in natura</i> submetida durante 20 s a radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta e durante o armazenamento à 4 °C.....	94

Tabela 13 - Resultados dos parâmetros da cor da carne bovina moída <i>in natura</i> durante o armazenamento à 4 °C.....	95
Tabela 14 - Valores de atividade de água (A_w) e umidade da carne bovina moída <i>in natura</i> após a aplicação de 20 s de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta durante o armazenamento à 4 °C.....	98
Tabela 15 – Valores de TBARS (mg.MDA/kg amostra) e pigmentos heme totais ($\mu\text{mol/g}$ de amostra) da carne bovina moída <i>in natura</i> após a aplicação de 20 s de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta durante o armazenamento à 4 °C.....	100

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	18
1.1 Objetivo geral	20
1.2 Objetivos específicos	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Mercado da carne bovina	21
2.2 Características da carne bovina	22
2.2.1 Aspectos microbiológicos da carne.....	24
2.2.2 Legislação.....	27
2.2.3 Qualidade da carne moída.....	30
2.3 Irradiação de alimentos	32
2.3.1 Radiação por micro-ondas.....	33
2.3.1.1 Forno de micro-ondas.....	34
2.3.1.2 Aquecimento por micro-ondas.....	35
2.3.1.3 Efeitos não térmicos das micro-ondas.....	36
2.3.1.4 Aplicações na tecnologia de alimentos.....	38
2.3.2 Radiação ultravioleta.....	40
2.4 Tecnologias limpas	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Materiais	45
3.1.1 Matéria-prima.....	45
3.1.2 Equipamentos e instrumentação.....	46
3.2 Métodos	47
3.2.1 Estudos preliminares para padronização da utilização do equipamento de micro-ondas convencional	47
3.2.1.1 Distribuição da irradiação micro-ondas no equipamento.....	48
3.2.1.2 Níveis de potência e tempo de irradiação.....	48
3.2.1.3 Avaliação do recipiente térmico de polipropileno.....	49
3.2.1.4 Avaliação microbiológica.....	49
3.2.2 Determinação da potência real do micro-ondas.....	49
3.2.3 Determinação da irradiação de micro-ondas pulsada.....	51
3.2.4 Mapeamento do micro-ondas com água ultrapura.....	51

3.2.5 Mapeamento do micro-ondas com imagem termográfica.....	52
3.2.6 Mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta.....	53
3.2.7 Análises microbiológicas.....	54
3.2.7.1 Preparo das diluições das amostras.....	55
3.2.7.2 Contagem de <i>Salmonella</i> spp.....	55
3.2.7.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	55
3.2.7.4 Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos.....	56
3.2.7.5 Contagem de micro-organismos aeróbios psicrotróficos.....	56
3.2.7.6 Contagem de micro-organismos aeróbios termófilos.....	56
3.2.7.7 Contagem de bolores e leveduras.....	57
3.2.7.8 Contagem total de enterobactérias e termotolerantes.....	57
3.2.7.9 Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp.....	57
3.2.8 Análises físico-químicas.....	58
3.2.8.1 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH).....	58
3.2.8.2 Determinação da cor.....	58
3.2.8.3 Determinação da atividade de água.....	59
3.2.8.4 Determinação da umidade.....	59
3.2.8.5 Determinação da oxidação lipídica.....	60
3.2.8.6 Determinação de pigmentos heme totais.....	61
3.2.9 Análise estatística.....	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4.1 Estudos preliminares para padronização do método de descontaminação por micro-ondas.....	63
4.1.1 Distribuição da irradiação micro-ondas no equipamento.....	63
4.1.2 Níveis de potência e tempo de irradiação.....	64
4.1.3 Avaliação do recipiente térmico de polipropileno.....	66
4.1.4 Avaliação microbiológica.....	66
4.2 Determinação da potência real do micro-ondas.....	68
4.3 Determinação da irradiação de micro-ondas pulsada.....	74
4.4 Mapeamento do micro-ondas com água ultrapura.....	74
4.5 Mapeamento do micro-ondas com imagem termográfica.....	76
4.6 Mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta.....	79
4.7 Tratamentos microbiológicos e físico-químicos.....	80

4.7.1 Efeitos do tratamento MUV 100 na estabilidade da carne bovina moída <i>in natura</i> armazenada à 4°C.....	89
5. CONCLUSÃO.....	102
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos contaminados são uma das principais preocupações de saúde pública, podendo ser uma das maiores causas de doenças e mortes. As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas por agentes químicos, como pesticidas, metais e micotoxinas ou por agentes biológicos, como micro-organismos patogênicos, através da ingestão de água ou alimentos contaminados (ROSSI, 2010).

Os micro-organismos são os principais agentes responsáveis pela deterioração dos alimentos e pelas DTAs, portanto, a conservação dos alimentos na indústria tem por princípio adotar métodos para inibir ou inativar o crescimento microbiano no intuito de garantir a segurança dos alimentos e aumentar a vida útil destes (MAÑAS; PAGÁN, 2005). Os micro-organismos que têm sido implicados na transmissão de agentes patogênicos humanos são *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Campylobacter* spp., *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolítica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (CHUN et al., 2009; AZIS et al., 2002). Destes micro-organismos patogênicos, destaca-se *Salmonella* spp por ser muitas vezes, a causa de infecção alimentar envolvendo produtos cárneos, principalmente, produtos à base de carne comercializados no varejo, podem estar contaminados com esta bactéria, sendo o sorotipo mais isolado *Salmonella Typhimurium* (CHUN et al., 2009). Ainda, a bactéria *Escherichia coli* O157:H7, frequentemente associada a práticas higiênico-sanitárias inadequadas e ao processamento do alimento a uma temperatura indevida por período prolongado permitindo o seu desenvolvimento (YILMAZ et al., 2005).

Muitos métodos químicos e físicos de descontaminação de carnes frescas tem sido investigados na literatura científica, como uso de ácidos orgânicos, ozonização, alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsado, irradiação, micro-ondas, radiofrequência, pasteurização à vapor, bioconservadores naturais juntamente com embalagens ativas, no entanto, algumas consomem muita energia, são onerosas e de difícil aplicação (CHEN et al., 2012; BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2014; AYMERICH; PICOUE; MONFORT, 2008; MOLINS et al., 2004).

A utilização de micro-ondas não só ganhou grande interesse industrial por tornar-se um método alternativo aos convencionais de processamento de calor, mas também porque o aquecimento por micro-ondas é mais rápido, eficiente, distribui melhor a energia no interior do alimento (contrário do aquecimento por condução) com melhoria significativa dos efeitos

térmicos e apresenta custo energético reduzido (CHANDRASEKARAN et al., 2013; CHEN et al., 2012; AYMERICH et al., 2008). Do mesmo modo, esta tecnologia está sendo considerada promissora para a descontaminação de produtos cárneos, pois enquanto reduz a contagem de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, não gera resíduos ou produtos tóxicos, e dispensa a utilização de produtos químicos comumente utilizados em alguns métodos convencionais. Todos esses motivos tornam esta tecnologia viável e competitiva, economicamente e ambientalmente, para ser implementada em sistemas industriais, desde que sejam revistas as suas limitações, como por exemplo, a falta de uniformidade na distribuição do aquecimento em sistemas sem controle de temperatura e potência (BÉLANGER et al., 2008; AYMERICH; PICOUET; MONFORT 2008; AZIS et al., 2002).

Neste sentido, a radiação ultravioleta também tem sido muito destacada na literatura e apresenta inúmeras vantagens sobre os métodos de desinfecção existentes (YANG et al., 2012; KOWALSKI, 2009; DEVINE et al., 2001), e tem demonstrado eficácia na redução microbiana em produtos cárneos (CHUN et al., 2009). A sua utilização, em especial, a UV-C, que compreende comprimentos de onda na faixa de 220-300 nm, foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) como um método para controlar micro-organismos na superfície de alimentos (CHUN et al., 2009; FDA, 2007). Igualmente autorizada, a utilização da radiação por micro-ondas foi aprovada pela Comissão Federal de Comunicação (FCC) dos EUA para aquecimento industrial com frequências de 433 MHz, 915 MHz, 2450 MHz e 5800 MHz.

A literatura científica apresenta resultados relevantes com o aplicação destas tecnologias isoladas ou combinadas, ressaltando que podem ser utilizadas para substituir parcial ou totalmente as tecnologias convencionais, assim como, é possível a obtenção de efeitos sinérgicos significativos (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2014; CHEN et al., 2012; FARKAS; MOHANCSI-FARKAS, 2011; AZIS et al., 2002).

Todavia, os consumidores exigem que as carnes e seu derivados apresentem atributos de qualidade além das características nutricionais, ou seja, que apresentem uma aparência fresca com sabor natural, cor, aroma, textura, vida útil prolongada, e ainda, que sejam microbiologicamente seguros, assim as tecnologias emergentes surgem com estas possibilidades (AYMERICH et al., 2008; BECKER; KIEL, 2011).

Neste contexto, o presente trabalho teve como propósito aplicar a irradiação por micro-ondas isolada e simultaneamente com a radiação ultravioleta em carne bovina moída *in natura* com o objetivo de redução do crescimento microbiano garantindo a segurança do alimento.

1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da aplicação da radiação micro-ondas e a otimização desta com a radiação ultravioleta UV-C na contaminação microbiana da carne bovina moída *in natura*.

1.2 Objetivos específicos

- Realizar os mapeamentos do equipamento micro-ondas isolado, com a lâmpada ultravioleta, com a amostra e com água ultrapura, e assim, padronizar o método de descontaminação;
- Verificar a potência real do equipamento de micro-ondas em todos níveis de potência programados (pulsado e contínuo);
- Avaliar a qualidade microbiológica do produto, antes e após a aplicação das tecnologias combinadas e micro-ondas isolada;
- Avaliar os efeitos nos parâmetros físico-químicos de pH, cor, atividade de água e umidade do produto;
- Comparar os efeitos nos parâmetros microbiológicos e físico-químicos do produto irradiado com micro-ondas em nível pré-determinado de potência alternada (50%) e contínua (100%);
- Realizar o estudo da vida de prateleira da carne bovina moída *in natura*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mercado da carne bovina

A agropecuária brasileira apresenta relevância no cenário econômico do país e a pecuária bovina tem grande influência nesse quadro, pois o Brasil é o maior exportador mundial de carne bovina. Impulsionado pelos problemas de encefalopatia espongiforme bovina (EEB) na Europa e no Canadá, especialmente a partir de 1996, o Brasil se consolidou na exportação de carne bovina no início de 2003, superando países como a Austrália e os Estados Unidos, liderando o ranking de maior exportador de carne bovina do mundo, desde 2008, e as estatísticas mostram crescimento também para os anos seguintes (MAPA, 2013). Segundo o relatório Perspectivas Agrícolas 2014-2023, 75% da produção agropecuária adicional a ser consumida no mundo, será suprida por países da Ásia e América Latina, tendo o Brasil como o foco dos compradores internacionais devido a produção de carne bovina e de aves. De acordo com dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013), a exportação de carne bovina crescerá anualmente 2,15% a cada ano, aumentando a participação brasileira no comércio internacional, com destaque para a produção de carne bovina, suína e de frango e, ainda, o mesmo Ministério considera que até 2020, a produção nacional de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial.

Segundo dados obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013) através da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX), a exportação brasileira e a carne bovina *in natura* no 1º trimestre de 2013 apresentou melhor desempenho que no mesmo período do ano anterior, tanto em volume como em faturamento. Em números, esta Secretaria afirma que os frigoríficos que operam no país, exportaram 1.504.317 toneladas de carne bovina dos três tipos (*in natura*, industrializada e miudezas) perfazendo um faturamento em torno de US\$ 6,660 bilhões, assim, a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) que representa o setor industrial no país, estima faturar em 2014 US\$ 8 bilhões.

Em relação à produção mundial, conforme a FAO (FAO, 2012), os Estados Unidos da América (EUA) são os maiores produtores de carne bovina e mesmo com alto consumo interno, ocupam a terceira posição em exportações, e são também, grandes importadores, principalmente para a produção de hambúrgueres. A China produz muito e consome

praticamente toda a sua produção, assim como a União Europeia que também apresenta uma produção e consumo elevados, figurando como um importante importador. A Austrália tem produção mediana, porém ocupa a posição de segundo maior exportador do mundo. Os maiores importadores de carne bovina do mundo são EUA, Rússia, Japão e União Europeia (CARVALHO, 2010).

A América Latina é o continente que mais exporta carne bovina no mundo e com maior vocação para a pecuária de corte, devido, as grandes áreas de pastagens, abundância de água e clima adequado para adaptação dos bovinos. Em 2009, segundo a mesma fonte, 41% do total de carne bovina exportada foi produzida no continente, sendo que o Brasil participou com 53,5% das exportações, seguidos pela Argentina, com 19,3%, Uruguai, com 10,7%, Paraguai 7,2% e Colômbia com 6,2% (CARVALHO, 2010).

Recentemente, representantes dos ministérios da agricultura e do comércio exterior, da Venezuela e Brasil, concordaram em criar um grupo de trabalho para avaliar as condições sanitárias necessárias para aprovar e habilitar mais frigoríficos brasileiros à comercialização de carne para a Venezuela (MOSER, 2015).

A demanda por alimentos e especialmente, pelo consumo de carnes e derivados, está impulsionada em países que estão em pleno desenvolvimento e com maiores taxas de crescimento populacional e aumento da renda (CARVALHO, 2010).

2.2 Características da carne bovina

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 17º, define como carne de açougue as massas musculares maturadas e demais tecidos que as acompanham, incluindo ou não a base óssea correspondente, procedentes de animais abatidos sob inspeção veterinária (BRASIL, 1997). A carne é o resultado das diversas transformações químicas sofridas pelo músculo após o abate dos animais. O músculo vivo é um tecido altamente especializado, com capacidade de contração e relaxamento que estão diretamente relacionados ao encurtamento das fibras musculares e à perda da maciez que ocorrem na carne no *post mortem* (KOBBLITZ, 2010).

Entre as transformações químicas ocorridas no processo de transformação do músculo em carne, uma das mais importantes envolve a redução do pH. No tecido vivo, o glicogênio é transformado em ácido lático e, posteriormente em dióxido de carbono (CO₂), com a liberação

de energia muscular. O CO₂ é eliminado através do sangue e nova reserva de glicogênio é produzido pelas substâncias nutritivas ingeridas. O processo é aeróbio e a presença de ácido láctico é passageira, assim o pH do tecido vivo permanece em torno de 7,0. Após o abate, cessam a oxigenação e a eliminação de CO₂, favorecendo a ação de certas enzimas que, com a participação do ácido fosfórico, decompõem o glicogênio em ácido láctico, que se acumula nos tecidos, reduzindo o pH até 5,4, sendo que, a velocidade e o grau de redução do pH dependem de muitos fatores, como a quantidade de glicogênio existente, a temperatura, dentre outros (CAMARGO, 2004).

Segundo Bressan (2001) o potencial hidrogeniônico (pH) da carne, logo após o abate, fica entre 7,0 e 7,5 devido à formação de ácido láctico e gás carbônico, reduzindo esses valores para 6,0, dentro de 4 até 20 horas. Quanto mais rapidamente o produto se acidificar e quanto mais baixo o pH for encontrado, maiores serão as perspectivas de boa conservação. No entanto, esta baixa acidez, pH entre 5,5 e 5,9, e a presença de compostos nitrogenados como aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos, além de glicose e outros carboidratos simples são favoráveis ao crescimento bacteriano (ELLIS; GOODACRE, 2001; LABADIE, 1999).

O manejo inadequado dos animais pré-abate favorece a uma queda anormal do pH, devido à reserva de energia, insuficiente para transformação em ácido láctico. Com o esgotamento do glicogênio muscular, o processo de transformação pós-morte há uma alteração do grau de acidez da carne (pH elevado), resultando em cortes escuros. Neste sentido, o pH se caracteriza como um importante indicador da qualidade da carne, influenciando a aparência dos cortes e atributos de qualidade (maciez, cor, sabor e odor) (PEREIRA, 2006).

A qualidade e a maciez da carne estão relacionadas com a sua composição enquanto tecido, e são classificados em: epitelial, nervoso, conjuntivo e muscular, sendo o muscular o mais relevante para a transformação do músculo em carne. Este é dividido em: esquelético, liso ou estriado e cardíaco, sendo o tecido muscular esquelético o principal constituinte da carne, representando em média, de 30 a 40% do peso vivo dos animais (KOBBLITZ, 2010).

A carne bovina é um alimento extremamente rico em proteínas, vitaminas, sais minerais e elevado teor de umidade, sendo um produto com características que promovem o desenvolvimento microbiano. Para evitar esta alteração deve ser conservada de maneira adequada e manipulada de acordo com as boas práticas de higiene (LAWRIE, 2005). Segundo Roça, [S.d.]; Olivo e Olivo (2006) e Shimokomaki et al., (2006) a carne vermelha magra possui em torno de 18 a 23% de proteína, 2 a 9% de gordura, 1% de minerais, menos de 1% de carboidratos e ao redor de 75% de água, em peso.

A água presente na massa muscular tem importante função celular, pois boa parte dela está fortemente ligada a diversas proteínas. Essa água é considerada livre e pode exsudar sob pressão ou durante os processos tecnológicos ou durante a cadeia de armazenamento e distribuição do produto (SHIMOKOMAKI et al., 2006). A umidade natural da carne é importante para a obtenção do rendimento e da qualidade final do produto, contribuindo para a textura, suculência, cor, sabor e palatabilidade da carne como alimento (SHIMOKOMAKI et al., 2006). Devido a composição nutricional e umidade elevada favoráveis ao desenvolvimento das reações biológicas, a carne constitui um substrato muito favorável ao crescimento microbiano durante o armazenamento e o processamento da carne (ROÇA, [S.d.]; MILLS et al., 2014).

A utilização de temperaturas de refrigeração (0°C a 7°C), comumente, os produtos armazenados entre 2°C a 4°C podem diminuir ou retardar a multiplicação de micro-organismos. Esta alteração ocorre devido ao decréscimo das reações metabólicas que são mediadas por enzimas, embora muitas bactérias possam se multiplicar em temperaturas inferiores à 7°C, sua multiplicação ocorre de forma mais lenta do que em temperaturas ideais (TONDO; BARTZ, 2011). Por esse motivo, a vida de prateleira dos produtos cárneos refrigerados não é muito extensa (ALVES, 2009).

2.2.1 Aspectos microbiológicos da carne

Os métodos utilizados na preservação de carne são baseados, principalmente, na inibição da deterioração microbiana, embora muitos sejam utilizados para minimizar as outras alterações (ZHOU; XU; LIU, 2010).

Um certo número de fatores influenciam a vida de prateleira e a qualidade da carne, especificamente, a temperatura, o ar atmosférico (O₂), enzimas endógenas, umidade (desidratação) e mais importante, os micro-organismos. Esses fatores, isolados ou combinados, podem resultar em mudanças prejudiciais na cor, odor, sabor e textura de carne. Embora a deterioração da carne possa ocorrer na ausência de micro-organismos (por exemplo, a proteólise, a lipólise e a oxidação), o crescimento microbiano é o fator mais importante em relação à manutenção da qualidade da carne fresca (ZHOU; XU; LIU, 2010).

A qualidade microbiológica de uma carne depende do estado fisiológico do animal no momento do abate, do grau de contaminação durante o processamento e das condições de

estocagem e distribuição, especialmente a temperatura (NYCHAS et al., 2008). Com toda certeza, a contaminação inicial da carne ocorre, durante a sangria, devido à utilização de utensílios não esterilizados adequadamente, os quais introduzem micro-organismos para o sistema vascular. Os micro-organismos que são introduzidos desta maneira podem espalhar-se no corpo do animal devido ao curto fluxo sanguíneo após a sangria. Enquanto que a contaminação posterior pode ocorrer nas fases seguintes do abate, como na esfolagem (retirada do couro), na evisceração (retirada das vísceras) e nas etapas de corte, processamento, armazenamento e distribuição da carne. Ainda, as fontes contaminantes podem incluir a água, as instalações, os equipamentos e os manipuladores. O número de micro-organismos presentes no produto determina se a contaminação irá causar deterioração microbiana ou doença (HÉRNANDEZ-MACEDO et al., 2011; BRESSAN, 2001).

Os animais destinados à produção de carne são considerados importantes reservatórios de micro-organismos patogênicos (PRICE; SCHEIGERT, 1994). Embora o tecido muscular seja isento de micro-organismos, imediatamente após a sangria, sendo posteriormente contaminado por procedimentos operacionais inadequados. A composição química da carne constituída de glicose, ácido láctico e aminoácidos livres a torna favorável para a deterioração bacteriana.

Nychas et al., (2008) consideram que a glicose e o ácido láctico parecem ser os substratos iniciais para o crescimento microbiano, quando esgotados estes, as bactérias passam a metabolizar compostos nitrogenados, como os aminoácidos. Quando esgotados os substratos nitrogenados não proteicos, as bactérias passam a alimentar-se de proteínas, o que ocasiona no amolecimento de tecidos e aumento da produção de compostos voláteis acelerando a decomposição (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Ellis e Goodacre (2001) associam o processo de deterioração de carnes ao consumo de compostos nitrogenados por bactérias do gênero *Pseudomonas* após o consumo da glicose. Confirmando este estudo, Koutsomains et al., (2006) observaram que as alterações sensoriais durante a estocagem de carne moída em aerobiose estavam correlacionadas com o aumento das populações desta bactéria. Jay, Vilai e Hughes (2003) também verificaram a predominância de espécies do gênero *Pseudomonas* na deterioração de carne moída, estocada sob aerobiose e temperatura de refrigeração (5°C a 7°C) e destacaram a importância do controle dessas espécies microbianas, pois atribuíram a estas a capacidade de formarem biofilme, provavelmente através de um mecanismo de sensor de quórum. Portanto, os micro-organismos após colonizarem as células de um tecido, produzem moléculas pequenas indutoras ou sinalizadoras que saem das células de origem e se acumulam. Quando um nível crítico dessas moléculas é atingido, elas

penetram e colonizam células vizinhas, induzindo a produção de pigmentos e formação de limo, dessa forma facilitando a adaptação dessas espécies. A maioria das bactérias psicrótróficas encontradas nos alimentos são espécies de *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptococcus*, entre outras (ALTUNATMAZ; ISSA; AYDIN, 2012).

Bactérias, leveduras e fungos podem causar a deterioração da carne em condições de aerobiose. Odores estranhos, resultantes de atividade bacteriana, normalmente constituem os primeiros sinais de alterações (DILBAGHI; SHARMA, 2007).

A prática de refrigeração na conservação de alimentos, é comum para controlar o crescimento de micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos, e conseqüentemente, manter a qualidade do produto. No entanto, fungos e bactérias psicrótróficas são comumente associados com a deterioração de alimentos em temperaturas de refrigeração. Os fungos predominam na deterioração dos alimentos refrigerados, quando estes apresentam baixa atividade de água, acidez elevada ou condições adequadas de embalagem para o seu crescimento. Fungos psicrótróficos também são comumente isolados em produtos refrigerados frescos de origem animal, frutas, produtos hortícolas e alimentos prontos para o consumo (ALTUNATMAZ; ISSA; AYDIN, 2012). Em geral a literatura define para o crescimento de bactérias, a faixa de pH externo de 4,0 a 9,0; para leveduras é de 1,5 a 8,0 e para fungos filamentosos é de 1,5 a 11,0 (AZEREDO, 2012).

Outro aspecto importante da maioria dos alimentos frescos é o teor da atividade de água (A_w) que normalmente apresentam $A_w > 0,95$. A bactéria patogênica mais tolerante a baixa atividade de água, é *Staphylococcus aureus* que, sob condições aeróbias, pode chegar a crescer em níveis de $A_w = 0,86$. Alguns fungos conseguem crescer a $A_w = 0,6$, enquanto que a $A_w < 0,6$ não possibilitam a deterioração microbiana (AZEREDO, 2012).

Em condições de anaerobiose, as principais alterações são a acidificação e a putrefação. Geralmente, a acidificação está relacionada com o acúmulo de ácidos orgânicos produzidos por bactérias durante a degradação enzimática de moléculas complexas, enquanto que a putrefação resulta da proteólise causada por espécies do gênero *Clostridium*, com produção de compostos de odor desagradável (DILBAGHI; SHARMA, 2007; MARTH, 1998).

Na Europa, a carne foi a responsável por 7% dos 1,7 milhão de casos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no período de 1996 a 2000. Embora os dados quantitativos sejam limitados, há indícios que o consumo de carne bovina levemente cozida foi um dos fatores responsáveis, e entre os principais patógenos de origem alimentar associados à carne

prevaleceu a *E. coli* (RHOADES; DUFFY; KOUTSOUMANIS, 2009). Entre as diferentes linhagens desta bactéria, destaca-se a *E. coli* Enterohemorrágica (STEC) que é produtora de toxinas (verotoxina ou toxina *shiga*), a qual causa danos severos as células epiteliais do intestino delgado, provocando colite hemorrágica, que em casos mais graves pode levar a morte do indivíduo (LUCATELLI, 2012; RHOADES; DUFFY; KOUTSOUMANIS, 2009). Segundo Rhoades, Duffy e Koutsoumanis (2009) a prevalência de STEC é maior na pele que nas fezes bovina.

2.2.2 Legislação

No Brasil, os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano, são estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), órgão subordinado ao Ministério da Saúde (MS), através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Essa norma determina, apenas como tolerância para o produto carne bovina resfriada *in natura* de bovinos e carne moída, ausência de *Salmonella* spp em 25g de produto (BRASIL, 2001b).

Portanto, em função da inexistência de padrões microbiológicos específicos, salvo *Salmonella* spp, para avaliar a qualidade da carne *in natura*, é necessário conhecer mais sobre a qualidade desta, além de oferecer informações aos órgãos de regulamentação e fiscalização, para que eles possam estabelecer padrões microbiológicos para carne bovina, baseados não só no conhecimento do perfil microbiológico, mas também na realidade dos critérios e padrões mundiais (FRANÇA FILHO et al.; 2006).

Segundo Aymerich, Picouet e Monfort (2008), na União Europeia há uma rigorosa legislação sanitária em vigor com critérios microbiológicos estabelecidos que devem ser cumpridos. No entanto, a prevalência de agentes patogênicos de origem alimentar e o número de casos e surtos ainda é elevado, afetando a saúde pública e a vida das pessoas. No ano de 2005, 380.000 cidadãos europeus foram afetados por doenças zoonóticas infecciosas, 5.311 surtos de origem alimentar foram relatados, envolvendo 47.251 pessoas e resultando em 5.330 hospitalizações e 24 mortes, sendo *Campylobacter* e *Salmonella* os micro-organismos relatados na maioria dos casos, seguidos por *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), *Listeria monocytogenes* e *Brucella mellitensis*. Grande parte destes casos pode ser atribuído à contaminação dos alimentos e a falta de água potável para a elaboração dos mesmos.

Embora as estatísticas brasileiras sejam precárias, acredita-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar em nosso país seja elevada. Mesmo em países desenvolvidos, nos quais o abastecimento de gêneros alimentícios é considerado seguro, do ponto de vista de higiene e saúde pública, a ocorrência de doenças desta natureza é significativa, apesar dos avanços tecnológicos nas áreas de produção e controle de alimentos (CUNHA; SILVA, 2006). A maioria dos casos de DTAs não são notificados, apenas em alguns casos são relatados. Embora a taxa de DTAs seja alta, praticamente não existem investigações científicas empreendidas para o isolamento de agentes etiológicos dos alimentos implicados em surtos alimentares. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que apenas dez por cento dos países desenvolvidos, e um por cento dos países em desenvolvimento notificam os episódios que envolvem as DTAs (VEMULA; KUMAR; POLASA, 2012).

Na Nova Zelândia, a Autoridade de Segurança Alimentar e Proteção à Saúde (NZFSA, 2005) trabalha regularmente investigando a vida de prateleira dos produtos alimentícios. Por isso, estabeleceram níveis (satisfatório, marginal e insatisfatório) para a determinação da qualidade microbiológicas de alimentos prontos, os quais correspondem: contagem padrão em placas (30°C) para carnes e aves: < 6 log UFC/g satisfatório; < 7 log UFC/g marginal e \geq 7 log UFC/g insatisfatório; Enterobacterias: < 3 satisfatório; 3 – 10 marginal e \geq 100 insatisfatório; *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* coagulase positiva: < 2 log UFC/g satisfatório; 2 log UFC/g – 3 log UFC/g marginal e \geq 4 log UFC/g insatisfatório; *Vibrio paraemolyticus*: < 3 satisfatório; 3 – 3 log UFC/g marginal e 2 log UFC/g – 4 log UFC/g insatisfatório; *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp: ausência em 25g de amostra (NZFSA, 2005).

A falta de padrões microbiológicos específicos influencia na manutenção da qualidade dos produtos. Também favorece durante a estocagem dos mesmos a ocorrência de alterações indesejáveis nas características físico-químicas, de cor, sabor ou textura e as alterações microbiológicas que comprometem a segurança do consumidor, como é o caso da produção de toxinas por micro-organismos patogênicos (AZEREDO, 2012). Com toda a certeza, a cor é o atributo sensorial de maior importância na decisão de compra de carnes frescas, pois afeta diretamente a aceitação do produto pelo consumidor, assim como pode determinar a sua vida de prateleira (AZEREDO, 2012).

Por este motivo, a vida de prateleira pode ser determinada pela combinação de análises microbiológicas e químicas de amostras de alimentos tomadas durante o tempo estimado (FORSYTHE, 2002). A definição mais completa para vida de prateleira é apresentada pelo IFT (Institute Food Technologists), para o qual a vida de prateleira é o “período de tempo” decorrido

entre a produção e o consumo de um produto alimentício, no qual se caracteriza pelo nível satisfatório de qualidade avaliado pelo valor nutritivo, sabor, textura e aparência. As interações alimentos-materiais de embalagem, caso existam, permanecem a níveis considerados aceitáveis (FORSYTHE, 2002).

Ainda, segundo Marth (1998) alimentos que receberam um processamento mínimo ou pré-cozimento são alimentos que apresentam uma vida de prateleira limitada e a refrigeração pode prolongar sua conservação. Esses alimentos incluem as carnes frescas, frutos do mar, massas frescas, entre outros, já que podem sofrer alterações microbiológicas causadas por micro-organismos mesófilos e psicotróficos. Tais micro-organismos podem ser bactérias, leveduras e bolores que podem crescer durante o armazenamento refrigerado (0 a 7°C) mas apresentam crescimento ótimo em temperaturas de 25°C a 30°C (MARTH, 1998).

Os limites microbiológicos para micro-organismos aeróbios mesófilos, sugeridos de vida de prateleira para carne crua e carne moída, segundo Forsythe (2002) é de 6 log UFC/g e 7 log UFC/g, respectivamente, pois com essas contagens bacterianas a deterioração destes produtos é visível, com presença de limo, odor e coloração alterada determinando o fim da vida de prateleira. Entretanto, esses parâmetros são relativamente elevados e a alteração já é visível, por isso, Silva et al., (2007) afirmam que quando as contagens destes micro-organismos ultrapassam a 4 log UFC/g, a vida de prateleira deste produto torna-se comprometida.

Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto altas contagens, em torno de 6 log UFC/g, indicam que houveram condições para a sua multiplicação. Além disso, esta análise é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, pois esses micro-organismos podem causar a deterioração e a redução da vida de prateleira dos produtos (MASSAGUER, 2005). Em razão das DTAs tratarem-se de um problema de saúde pública mundial, é imprescindível que as autoridades sanitárias estabeleçam legislações mais rigorosas, baseadas em padrões e recomendações internacionais para garantir a segurança dos alimentos (FORSYTHE, 2002).

2.2.3 Qualidade da carne moída

De acordo com a Instrução Normativa nº 83/2003 do MAPA (BRASIL, 2003b), a carne moída é o produto cárneo obtido a partir da moagem de massas musculares de carcaças de bovinos, seguido de imediato resfriamento ou congelamento, podendo ter a água como

ingrediente opcional, no valor máximo de 3%. A carne moída não possui coadjuvantes de tecnologia e o requisito físico-químico de gordura é de no máximo 15%, ou seja, a matéria-prima a ser utilizada deve ser a carne resfriada ou congelada bovina não sendo permitida a utilização de carne quente e tecidos inferiores, tais como, ossos, cartilagens, gordura parcial, aponeuroses, tendões, coágulos, nódulos linfáticos, entre outros. A temperatura de armazenamento da carne moída resfriada deve ser, de 0°C a 4°C, e a da carne moída congelada máxima de -18°C (BRASIL, 2003b). Ainda, é normalmente comercializada no Brasil, em balcões de autoatendimento nos supermercados, refrigerada em bandejas de isopor envoltas por filme plástico de policloreto de vinila (PVC).

A carne moída destaca-se, dentre outros produtos cárneos, pela sua aceitabilidade e por caracterizar-se como um produto acessível à todas as classes, além de poder ser utilizada em refeições de maneiras práticas e variadas (MOTTA et al., 2000). Todavia, se o meio oferecer condições favoráveis ao desenvolvimento microbiano, a carne moída e os condimentos a ela misturados podem representar um risco à saúde dos consumidores (ALMEIDA; SCHNEIDER, 1983).

Apesar da IN nº 83 (BRASIL, 2003b) definir a carne moída bovina, deve-se ressaltar que a qualidade é determinada por diversos parâmetros que podem ser resumidos em: características químicas, físicas, nutricionais, organolépticas e microbiológicas que influenciam na sua vida de prateleira (PELOSO, 1999). Por mais que, a legislação vigente não especifique padrão microbiológico para micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos, exceto de *Salmonella* spp. em carne *in natura*, é relevante o controle microbiológico de grupos de micro-organismos, como aeróbios totais, psicrotróficos, coliformes, entre outros. Além do mais, inúmeros trabalhos publicados apontam índices elevados de contaminação provocados por micro-organismos deteriorantes e patogênicos em carne bovina moída comprometendo a qualidade do produto e a saúde pública (MARTIN et al., 2013; DIAS et al., 2008; MARCHI, 2006; BANDEIRA, 2004). De acordo com Silva (2007), contagens microbianas em torno de 5 a 6 log UFC/g apresentam riscos do alimento estar deteriorado e ter suas características sensoriais e nutricionais comprometidas.

Dentre as características de qualidade citadas, não menos relevante é a cor da carne, sendo este atributo sensorial de maior importância no processo de decisão de compra de carnes frescas pelo consumidor. O pigmento responsável pela coloração das carnes é denominado de mioglobina, uma proteína muscular composta por um complexo de globina (porção proteica) e um grupo heme (cromóforo) (AZEREDO, 2012).

Na presença de oxigênio, a mioglobina (vermelho-púrpura) pode ser oxigenada, formando a oximioglobina, de cor vermelho-brilhante, típica de carne fresca. A oxidação da mioglobina acarreta conversão do átomo de ferro do estado ferroso (Fe^{+2}) para o férrico (Fe^{+3}), formando metamioglobina, de cor marrom, indesejável. Em carnes frescas, a oxidação é máxima a baixas pressões de oxigênio (AZEREDO, 2012). Pesquisadores da Universidade do Missouri (EUA) investigam como podem estender a vida útil da carne bovina moída, pois nos EUA a perda anual deste produto pode chegar a US\$ 1 milhão. Eles estudaram as alterações na coloração da carne exposta a luz fluorescente e de LED, e compararam a um grupo controle, ou seja, sem exposição a luz, sendo que o controle manteve a coloração vermelha por mais tempo que a carne exposta a luz de LED. A luz fluorescente elevou a temperatura da carne e formou metamioglobina mais rapidamente que as outras duas, indicando que as condições do varejo também devem ser revisadas para manter a qualidade dos produtos cárneos (MOSER, 2015).

A oxidação lipídica é um dos principais processos que levam à perda de qualidade dos produtos cárneos. Certamente, a carne moída é muito suscetível à esta alteração, pois o processo de moagem aumenta a superfície de contato com o oxigênio e potencializa à exposição dos lipídios (fosfolipídios altamente insaturados da membrana celular), e também a outros componentes catalíticos como enzimas, pigmentos heme e íons metálicos. A rancidez oxidativa resulta em rejeição do produto uma vez que é ocasionada pela oxidação de ácidos graxos poli-insaturados sendo a principal causa deste tipo de deterioração em carnes (ARAÚJO, 2008).

A deterioração das carnes é muito simples de ser determinada e a análise mais utilizada é o teor do pH. A determinação do pH corresponde à leitura do teor de íons hidrogênios efetivamente dissociados na solução, utilizado para caracterizar a deterioração dos alimentos, sua acidez natural, atividade enzimática e estabilidade de componentes, como os pigmentos. O valor do pH é indicativo de qualidade das matérias-primas cárneas e o pH final desta, dependerá diretamente da quantidade de glicogênio presente no músculo, no momento do sacrifício do animal (OLIVO, 2006).

A atividade de água é um parâmetro físico-químico relevante na determinação da qualidade e segurança do produto. A água é o solvente natural das proteínas e de outros componentes celulares, portanto, elevado conteúdo ou atividade de água, provocará, em geral, maiores oportunidades de reações químicas, bioquímicas e microbianas. Destacando-se que a níveis de atividade de água bastante reduzidas, inferior a 0,3, praticamente todas as reações degradativas dos alimentos são eliminadas, exceto a oxidação lipídica que tem intensidade mínima (SGARBIERI, 1996).

2.3 Irradiação de alimentos

A tecnologia de irradiação consiste na exposição de alimentos à irradiação eletromagnética ionizante ou não ionizante para descontaminar os alimentos (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008). A irradiação ionizante consiste em energia eletromagnética de baixa frequência e elevado comprimento de onda e compreende os raios gama, raios-x e ultravioleta, apresenta energia suficiente para arrancar elétrons dos átomos causando danos químicos às células. A luz ultravioleta é considerada por alguns autores como radiação ionizante, porém de baixa frequência e seus efeitos dependem da dose utilizada e o tempo de exposição (ZAMANIAN; HARDIMAN, 2005). A radiação não ionizante consiste em energia eletromagnética de alta frequência e baixo comprimento de onda, e compreende o infravermelho, micro-ondas e radiofrequência. A quantidade de energia produzida nestas regiões do espectro são insuficientes para ionizar as moléculas ou átomos dos alimentos. Na região intermediária do espectro, entre as irradiações ionizantes e não ionizantes encontra-se a luz visível (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008; ZAMANIAN; HARDIMAN, 2005).

A irradiação de alimentos é comprovadamente eficaz na conservação de muitos produtos alimentícios, embalados ou a granel, eliminando agentes patogênicos, insetos, parasitas e reduzindo o número de colônias de micro-organismos, muitas vezes constituídos por bactérias e fungos, que contribuem para a deterioração precoce de alimentos e redução da vida de prateleira (SATIN, 2002 apud DE CARLI, 2013). Logo, a principal razão para o uso desta tecnologia em alimentos é a capacidade de reduzir a carga microbiana nos alimentos (MOLINS et al., 2004). A Figura 1 ilustra o espectro eletromagnético com os diferentes tipos de irradiação.

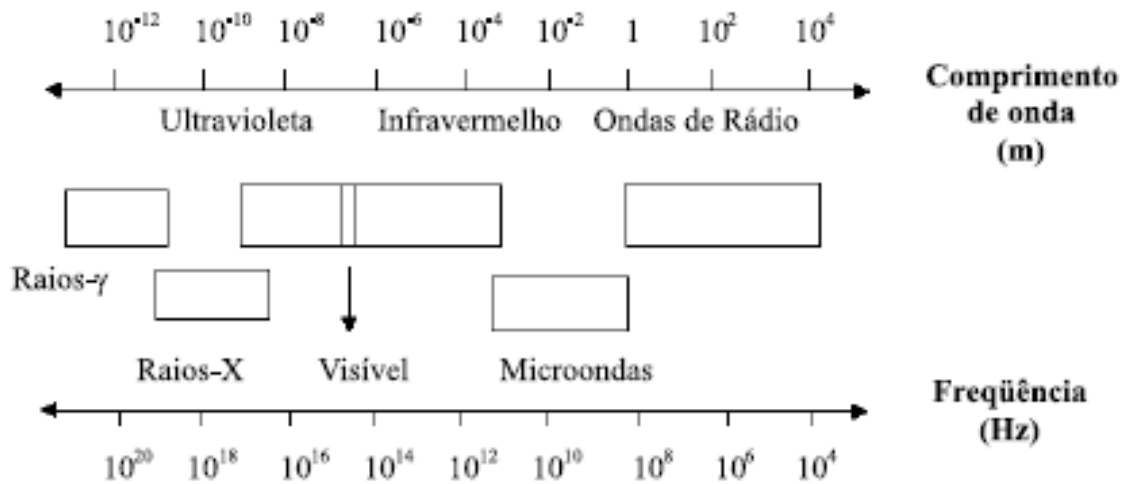


Figura 1 – Localização da região de micro-ondas no espectro eletromagnético.

Fonte: Sanserverino, 2002.

2.3.1 Radiação por micro-ondas

O uso de energia eletromagnética por micro-ondas no processamento de alimentos ganhou grande interesse industrial por tornar-se um método alternativo aos convencionais de processamento de calor. Isso ocorre, principalmente, em função da transferência de energia, que por micro-ondas apresenta vantagens na geração de calor interno de maneira mais rápida e eficiente, e ainda os equipamentos de micro-ondas são fáceis de operar e de manutenção relativamente simples (CHANDRASEKARAN et al., 2013; CHEN et al., 2012; VADIVAMBAL; JAYAS, 2010; PONNE; BARTELS, 1995). Outro atributo importante quanto à aplicação das micro-ondas é a absorção direta da energia pelo material a ser irradiado (ROSINI, NASCENTES, NÓBREGA, 2004). Enquanto que, nos métodos convencionais, as altas temperaturas alcançadas pelo tempo de processo utilizado podem afetar os atributos de qualidade como a cor, o sabor e os nutrientes dos alimentos (VADIVAMBAL; JAYAS, 2010).

O efeito da irradiação com micro-ondas é resultado da interação com a matéria e, ainda, uma combinação de efeitos térmicos e não térmicos (HOZ; DIAZ-ORTIZ; MORENO, 2007). Os efeitos térmicos são bem elucidados na literatura e são consequências da taxa de aquecimento, enquanto que os não térmicos, ou seja, radiação altamente polarizada, são mais complexos, segundo alguns autores (HOZ; DIAZ-ORTIZ; MORENO, 2007).

A radiação por micro-ondas refere-se às ondas (de 1 m a 1 mm) de energia elétrica e magnética que movem-se juntas através do espaço. Encontram-se na faixa de frequência de 300 mega-hertz (MHz) a 300 giga-hertz (GHz), entre a região de radiofrequência e a região do infravermelho no espectro eletromagnético de ondas (BALZARETTI; SCHIMIDT; MAI, 2007; THE GOVERNMENT OF THE HONG KONG SPECIAL ADMINISTRATIVE REGION, 2005).

A utilização de micro-ondas é autorizada pela Comissão Federal de Comunicações (FCC) para fins industriais, científicos e médicos dos EUA e as bandas de frequência permitidas correspondem a 433 MHz, 915 MHz, 2450 MHz e 5800 MHz (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008). De acordo com a literatura, as frequências de 915 MHz e 2450 MHz são as mais utilizadas para o aquecimento por micro-ondas, sendo que a frequência de 915 MHz é comumente utilizada quando deseja-se atingir maior capacidade de penetração (descongelamento a nível industrial), e 2450 MHz utilizada industrialmente e em fornos domésticos com várias aplicações (FARID; TAHER, 2001).

2.3.1.1 Forno de micro-ondas

O forno de micro-ondas convencional (doméstico) opera em frequência de 2450 MHz e apresenta tamanho de onda, de aproximadamente 12,2 cm (BALZARETTI; SCHIMIDT; MAI, 2007). Existe uma variedade de modelos de fornos de micro-ondas, todos compartilham os mesmos princípios, e constam os mesmos componentes. Resumidamente, o magnetron é a fonte de radiação, constituído por um tubo metálico formado por um cátodo, um ânodo, uma antena e ímãs permanentes, sendo considerado o “coração” do equipamento, e em fornos domésticos, gera campo eletromagnético em potência máxima e de frequência fixa (2450 MHz ou 2,45 GHz). Outro componente relevante, é o guia de ondas responsável por conduzir as ondas até a cavidade (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008; BALZARETTI; SCHIMIDT; MAI, 2007; THOSTENSON; CHOU, 1999; CARBALLIDO REBOREDO, 2008).

Apesar do magnetron trabalhar em potência máxima em fornos domésticos, durante um período de tempo especificado, é possível programar níveis de potência. Desta forma, a corrente de energia é desligada e ligada por segmentos do período, e a média de energia é reduzida, podendo ser chamada de irradiação pulsada ou alternada de micro-ondas (YARMAND; HOMAYONI, 2011; THOSTENSON; CHOU, 1999).

2.3.1.2 Aquecimento por micro-ondas

O aquecimento por micro-ondas é também chamado de aquecimento dielétrico, e existem dois mecanismos principais para a transformação de energia eletromagnética em calor: rotação de dipolo e condução iônica, sem causar mudanças na estrutura molecular (ROSINI, NASCENTES, NÓBREGA, 2004; SANSEVERINO, 2002). A rotação dipolo consiste no alinhamento das moléculas (que tem dipolos permanentes ou induzidos) com o campo elétrico aplicado. Quando o campo é removido as moléculas voltam a um estado desordenado e a energia, que foi absorvida para esta orientação, nestes dipolos é dissipada na forma de calor. Como o campo elétrico na frequência de 2,45 GHz oscila, $4,9 \times 10^9$ vezes por segundo, ocorre um pronto aquecimento destas moléculas. A condução iônica consiste na geração de calor através de perdas por fricção, que acontecem através da migração de íons dissolvidos quando estão sob a ação de um campo eletromagnético (SANSEVERINO, 2002).

Nos alimentos as micro-ondas em frequência de 2,45 GHz (rotação de dipolo), carregam energia que pode ser absorvida pelas moléculas polares, como a água, as gorduras e os açúcares, utilizando o fenômeno da ressonância. As moléculas polares alinham-se com o campo elétrico das ondas, como o campo muda de direção de acordo com a frequência, cada molécula tende a acompanhar essas mudanças, arrastando moléculas vizinhas. Essa agitação resulta no aumento da energia cinética das moléculas e, como consequência, ocorre o aumento da temperatura (BALZARETTI; SCHIMIDT; MAI, 2007). Apenas as moléculas polares interagem com as micro-ondas, assim, substâncias menos polares (hidrocarbonetos alifáticos) ou com momento dipolo nulo (dióxido de carbono) são fracamente absorvidas; materiais como o vidro, o teflon, o papel, e cerâmica são transparentes às micro-ondas (por isto, o prato giratório é normalmente de vidro) e os metais (aço inoxidável, aço pintado e alumínio) refletem as ondas e por isto a cavidade de irradiação é normalmente de metal (VADIVAMBAL; JAYAS, 2010; BALZARETTI; SCHIMIDT; MAI, 2007; SANSEVERINO, 2002).

O processamento por micro-ondas depende não apenas das propriedades térmicas do alimento, mas também de propriedades dielétricas, que variam segundo a frequência da radiação. As principais são a constante dielétrica, que mede a capacidade do material em estocar energia elétrica, e o fator de perda dielétrica, associado à capacidade de dissipar energia elétrica (AZEREDO; BRITO, 2012; SANSEVERINO, 2002).

Em virtude de otimizar a ação das micro-ondas, alguns fatores devem ser considerados como o tamanho e a forma do produto, a composição química, as propriedades dielétricas, bem

como o tipo de equipamento, a frequência utilizada e ainda, o tempo de exposição à radiação porque irão influenciar no aquecimento (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008; BANIK et al., 2003; CELIS et al., 2002). Em geral, os teores de sais, umidade e de água em um alimento desempenham um fator decisivo na determinação das propriedades dielétricas do mesmo, uma vez que a água é um bom absorvente de micro-ondas. Entretanto, o estado da água, livre ou ligada, também interfere nestas propriedades da mesma (CHANDRASEKARAN; RAMANATHAN; BASAK, 2013).

O principal inconveniente associado ao aquecimento por micro-ondas é a distribuição não uniforme da radiação em cavidades. Isso resulta em pontos quentes e frios no produto aquecido, não só afetando a qualidade do alimento, mas também a segurança dos alimentos, quando os micro-organismos não forem destruídos por estarem nestes pontos frios, principalmente no descongelamento de produtos cárneos ou produtos específicos para micro-ondas contendo carnes cruas (VADIVAMBAL; JAYAS, 2010; HUANG; SITES, 2010). Volmer e Parker (2004) justificam que esta ocorrência é devido às ondas que foram refletidas pelas paredes metálicas da cavidade e ficaram retidas no interior da mesma, ocasionando reflexões nestas paredes provocando interferências, gerando um campo eletromagnético não homogêneo no forno. Em alguns pontos, ocorrem interferências construtivas, ou seja, ondas de alta intensidade energéticas (pontos quentes ou *hot spots*), em outros pontos ocorrem interferências destrutivas, a incidência de pontos frios (PICHAI et al., 2014; ROSINI; NASCENTES; NÓBREGA, 2004). Para reduzir a incidência destes efeitos térmicos durante o aquecimento por micro-ondas em fornos domésticos, a maioria deles dispõe de um prato giratório, embora não seja suficiente para eliminá-lo (YARMAND; HOMAYONI, 2011; VOLMER; PARKER, 2004).

2.3.1.3 Efeitos não térmicos das micro-ondas

Ainda que a grande maioria dos trabalhos científicos apontem os efeitos térmicos provocados pelo aquecimento por micro-ondas, alguns autores defendem que as micro-ondas apresentam efeitos não térmicos (BANIK, et al.; 2003). No entanto, as discussões à respeito não são bem elucidadas, mas alguns pesquisadores sugerem o aquecimento seletivo de micro-organismos, eletroporação e, conseqüentemente ruptura da membrana celular biológica (FDA, 2015).

Shamis et al., (2011) analisaram efeitos específicos da radiação micro-ondas em *E.coli* através de técnicas de microscopia e concluíram que as micro-ondas apresentam efeitos não térmicos induzidos por diferentes efeitos biológicos, os quais alteram as estruturas das proteínas, a partir de íons e influenciam nas reações bioquímicas do micro-organismo. Segundo os autores, quando a aplicação das micro-ondas atingem temperaturas próximas de 45°C – 60°C, torna-se difícil distinguir os efeitos térmicos dos não térmicos das ondas, pois nestas temperaturas ocorre a desnaturação de proteínas e colapso das estruturas da membrana celular microbiana (SHAMIS et al., 2011).

Enquanto que, Celandroni et al., (2004) submetem esporos de *Bacillus subtilis* à aquecimento convencional e por micro-ondas durante 2 min e compararam os resultados obtidos através de análise por microscopia de varredura. Os dois métodos promoveram danos nos esporos, no entanto, as alterações provocadas na sua estrutura foram distintas, pois no aquecimento convencional os esporos apresentaram um inchaço do córtex, e os irradiados não apresentaram esse efeito, induzindo que o dano provocado foi causado pela ação do campo elétrico. Neste contexto, alguns autores tem investigado a existência dos efeitos não térmicos das micro-ondas sobre as bactérias Gram negativas e Gram positivas, atestando que estes efeitos são influenciados pela estrutura e composição celular bacteriana, sendo as Gram negativas mais sensíveis (BARNABAS et al., 2013).

Estes estudos indicam que a radiação por micro-ondas não pode ser considerada somente como um tratamento térmico, mas também como um tratamento de efeitos não térmicos devido a ação do campo elétrico sobre estruturas químicas de moléculas biológicas (SHAMIS et al., 2011; CELANDRONI et al., 2004). Assim, estes efeitos merecem maiores investigações, pois muitos trabalhos abordam apenas os efeitos promovidos pelo aquecimento das micro-ondas.

Latorre et al., (2012) avaliaram o efeito da radiação micro-ondas, com princípio de branqueamento, na inativação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase, na qualidade da beterraba vermelha. No branqueamento tradicional, imersão em água à 90°C, a peroxidase foi menos resistente à destruição, quando foi utilizado o processamento por micro-ondas, o perfil de temperatura de inativação das duas enzimas foram semelhantes à 90°C. Como as micro-ondas podem transferir energia por todo o volume do material, existe o potencial para reduzir o tempo de processamento, melhorar a qualidade geral e realizar a inativação da peroxidase e da polifenoloxidase. Os autores inferem este resultado como um efeito não térmico das micro-ondas, uma vez que a inativação foi alcançada mais rapidamente, mas não apresentou grande diferença de temperatura comparada ao método tradicional do branqueamento. Este estudo

demonstrou a viabilidade da aplicação das micro-ondas no processo de branqueamento de beterraba vermelha desde que se dê atenção às condições adotadas para inativação enzimática sem prejudicar a qualidade de cor e textura da raiz (LATORRE et al., 2012).

2.3.1.4 Aplicações na tecnologia de alimentos

A tecnologia de micro-ondas tem apresentado diversas aplicações relevantes na área de processamento de alimentos, tais como descongelamento, cozimento, secagem, pasteurização, prolongando a conservação de produtos alimentícios, além da desinfecção de utensílios (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008; SHARMA; EASTRIDGE; MUDD, 2009; BELANGER et al., 2008). Apesar da literatura limitada, o processamento por micro-ondas está recebendo uma considerável atenção dos pesquisadores e a maioria dos trabalhos publicados utilizando esta tecnologia produziram resultados satisfatórios, quanto aos objetivos propostos, em comparação com métodos convencionais (BELANGER et al., 2008).

Celis et al., (2002) inocularam cepas de *E.coli* em suco de maçã e submeteram o mesmo ao processo de pasteurização por micro-ondas convencional. O estudo consistiu em determinar o efeito da pasteurização em diferentes níveis de potência (270 W, 450 W, 720 W e 900 W) e tempos (40 s, 50 s, 60 s e 90 s) sobre a qualidade microbiológica do suco de maçã. Os resultados obtidos foram comparados com a pasteurização convencional (83 °C por 30 s) e demonstraram que a pasteurização por micro-ondas nas potências de 750 W e 900 W por 60 s e 90 s resultaram em uma redução de 2 a 4 log UFC/g da população de *E. coli*, permitiu uma redução no tempo morno e preservou as características naturais do suco. Deste modo, a pasteurização por micro-ondas mostrou que tem capacidade de reduzir os micro-organismos a temperaturas inferiores do que a de pasteurização convencional, devido à melhoria ou aumento dos efeitos térmicos significativos (RAMPELOTTO, 2012).

Muitos autores tem investigado o efeito do curto tempo de irradiação micro-ondas em micro-organismos inoculados em alimentos cárneos (GOMÓLKA-PAWLICKA et al., 2013; JAMSHIDI; SEIFI; KOOSHAN, 2010; PUCCIARELLI; BENASSI, 2005; YILMAZ et al., 2005). Jamshidi, Seifi e Kooshan (2010) inocularam cepas de *E. coli* O157:H7 (9,04 log UFC/G) em bifés de carne bovina *in natura* (200 g) e irradiaram por micro-ondas convencional durante os tempos de 10, 20, 30, 40 e 50 segundos. Os resultados demonstraram que a aplicação

da irradiação por 30 segundos foi suficiente para eliminar totalmente as cepas inoculadas e a temperatura superficial das amostras apresentaram médias de temperatura de 73°C.

Sharma, Eastridge e Mudd (2009) propuseram diferentes tratamentos de desinfecção de esponjas de cozinha: água sanitária (10%), suco de limão (pH 2,9), água fervente, máquina de lavar louça (programada no ciclo de lavagens cheias), irradiação em forno de micro-ondas por um minuto e uma esponja de cozinha usada (sem tratamento) para comparar a redução microbiana. A esponja sem tratamento apresentou contagem de 7,5 log/esponja e os resultados demonstraram que o forno de micro-ondas e a máquina de lavar louças reduziram significativamente as contagens de micro-organismos aeróbicos, < 0,4 log UFC/esponja e 1,6 log UFC/esponja, respectivamente, sugerindo que estes dois equipamentos convencionais, foram mais eficientes que os outros tratamentos químicos propostos e podem eliminar agentes patogênicos de origem alimentar no ambiente doméstico (SHARMA; EASTRIDGE; MUDD, 2009).

Borba et al., (2013), realizaram testes experimentais, comparando diferentes tratamentos térmicos: aquecimento com forno convencional, com micro-ondas e a utilização de fritura em óleo para hambúrguer de carne bovina e de carne de aves, a fim de avaliar as características físico-químicas destes e observaram que o uso da radiação de micro-ondas apresentou os maiores percentuais de perda de umidade, peso e maior grau de retração para os dois tipos de hambúrgueres analisados. Em razão da perda de umidade, os percentuais de gordura, proteína e cinzas foram maiores no tratamento micro-ondas para o hambúrguer de frango. No hambúrguer de carne bovina foi observado o maior percentual de proteínas e cinzas no tratamento com micro-ondas, enquanto que o maior percentual de lipídios foi encontrado no tratamento com fritura. Estes resultados não apenas sugerem a diferença na qualidade físico-química dos hambúrgueres de carne bovina e de frango que foram submetidos a diferentes tratamentos térmicos, como também demonstram algumas aplicações viáveis para o uso da radiação de micro-ondas para a tecnologia de alimentos (BORBA et al., 2013).

Apesar das tecnologias emergentes apresentarem amplo espectro de aplicação como um método isolado, muitos autores tem demonstrado que os processos combinados podem resultar em produtos alimentares de melhor qualidade sensorial e microbiológica através da ação complementar de cada método (AZIS; MAHROUS; YOUSEEF, 2002). Aziz, Mahrous e Youseef (2002) analisaram o efeito da irradiação gama e do tratamento com micro-ondas sobre os micro-organismos presentes e seu crescimento na carne bovina *in natura* (moída e bifés) armazenadas a 5°C. As amostras de carne apresentaram contagem bacteriana inicial de 6,69 log UFC/g, e foram expostas a raios gama nas doses de 1,0, 3,0 e 5,0 kGy, e tratamento com

micro-ondas nos tempos de 10, 20 e 30 s. A exposição à dose de 5,0 kGy de irradiação, a contagem bacteriana foi reduzida por 2-3 ciclos log e, quando aquecidas em forno de micro-ondas (atingindo as temperaturas de 45°C, 65°C e 85°C, respectivamente, no interior das amostras), as contagens bacterianas foram reduzidas em 1 log em 20s, e por 2 ciclos log em 30s de exposição. Nenhuma contagem de *Pseudomonas*, coliformes totais, fecais, e estafilococos coagulase positiva foi detectada nas amostras de carne bovina submetidas a 20 s de exposição às micro-ondas. As amostras não tratadas apresentavam um período de vida útil inferior a 7 dias, enquanto que, as amostras que foram irradiadas com uma dose de 3 kGy, em seguida irradiadas em forno de micro-ondas durante 20s apresentaram uma vida de prateleira de pelo menos 2 semanas armazenadas a 5°C (AZIZ, MAHROUS; YOUSEEF, 2002).

Siavasch, Watson e Parton (2011) baseados nas características de cada método de esterilização, desenvolveram um estudo para investigar os efeitos sinérgicos e a melhor ordem de aplicação das tecnologias de micro-ondas, ultravioleta UV-C, laser e aquecimento convencional sobre *E.coli* e em algumas bactérias deteriorantes e patogênicas. Em síntese, o resultado deste estudo demonstrou que houve redução significativa nas contagens microbiológicas provocadas pela combinação das tecnologias, comparadas com suas aplicações individuais, e a melhor combinação utilizada foi a sequência de ultravioleta, micro-ondas, laser e aquecimento convencional. No entanto, os autores afirmam que são necessárias maiores investigações para descobrir as razões destas diferenças (SIAVASCH; WATSON; PARTON, 2011).

2.3.2 Radiação ultravioleta

A radiação ultravioleta é uma tecnologia de intervenção não térmica que tem se mostrado muito promissora como uma técnica para reforçar a segurança alimentar, reduzindo as contagens de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, sendo muito utilizada na descontaminação de superfícies (GANGULY; MUKOPADHAYAY; BISWAS, 2012; SOMMERS; SITES; MUSGROVE, 2010). A luz ultravioleta é uma tecnologia não térmica, considerada com ação bactericida, aprovada pelo FDA dos EUA (FDA, 2007), o qual regulamenta todos os aspectos da irradiação, quanto ao tipo de produto comestível, dosagem e rotulagem de produtos alimentícios irradiados, enquanto que o Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) é responsável pela inspeção e controle de produtos irradiados (GANGULY; MUKOPADHAYAY; BISWAS, 2012; SOMMERS; SITES; MUSGROVE, 2010; CHUN et

al., 2009). A irradiação está em uma região restrita do espectro eletromagnético, e é subdividida em: UV-C (100-290 nm), UV-B (290-320 nm) e UV-A (320-400 nm), sendo que UV-A ainda subdivide-se em UV-A1 (340-400 nm) e UV-A2 (320-340 nm) (BALOGH et al., 2011).

Ochoa-Velasco, Cruz-González e Guerrero-Beltrán (2014) descrevem que a radiação ultravioleta com comprimento de onda de 254 nm apresenta propriedades bactericidas, e está no intervalo conhecido como UV-C (200 - 280 nm), tendo efeitos máximos letais em bactérias, vírus, protozoários, leveduras e bolores. Ortoneda et al., (2010) irradiaram luz ultravioleta, 254nm, sobre diversas culturas bacterianas (5 log UFC/g e 8 log UFC/g contagem inicial) em tempos de 0 a 60 segundos e doses de 0 a 600 J/m², e em 2 segundos a 600 J/m², obtiveram uma redução de 6 log UFC/g. Essa radiação é absorvida pelas proteínas e pelos ácidos nucleicos, podendo produzir modificações fotoquímicas letais para os micro-organismos. A baixa capacidade de penetração da radiação UV limita o seu uso na superfície de alguns alimentos, onde pode catalisar reações de oxidação, levando à rancidez, à descoloração e a outras reações (BALOGH et al., 2011). Segundo Balogh et al., (2011) o DNA é uma das principais moléculas que absorve a radiação UV e, portanto, pode sofrer mutações que, posteriormente, podem resultar em transformações malignas da célula.

Diegues e Martins (2013) afirmam que a desinfecção da água é atingida com doses de 25 a 30 mJ/cm² de irradiação ultravioleta pelo tempo de exposição de 1 a 2 segundos, visto que foi possível eliminar 99,9% das bactérias do gênero *Legionella*. Esta é considerada uma bactéria ambiental, gram negativa, que tem como habitat natural águas superficiais e subterrâneas, a doença causada por ela, implica em uma pneumonia bacteriana grave, demonstrando a relevância da aplicação da luz ultravioleta nos sistemas de tratamento de águas (DIEGUES; MARTINS, 2013).

Todavia, as doses de radiação ultravioleta, emitidas por lâmpada de mercúrio, a 253,7 nm requeridas para um índice de mortalidade de 99,9 %, são inferiores para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*: 7,0 mJ/cm², *Salmonella enteritidis*: 7,6 mJ/cm², *Streptococcus lactis*: 8,8 mJ/cm² e *Pseudomonas aeruginosa*: 10,5 mJ/cm² (DIEGUES; MARTINS, 2013). Dugatto (2012) utilizou aplicações de 5,4 kJ/m² e 9,46 kJ/m² de radiação UV-C em sobrecoxas de frango armazenadas a 5°C e 25°C. As duas aplicações, tanto a 5°C quanto a 25°C, reduziram significativamente (p < 0,05) o número de colônias de bactérias aeróbias totais e de bactérias psicrotróficas em relação ao controle, em boa parte do período de armazenamento das sobrecoxas de frangos. As doses aplicadas, na maioria das vezes, não provocaram efeito redutor no número de colônias de bolores e leveduras, independente da temperatura de aplicação da radiação UV-C (DUGATTO, 2012).

Chun et al., (2009) avaliaram o potencial bactericida de diferentes doses de irradiação ultravioleta UV-C, frente à amostras de presunto fatiado, inoculado com cepas de *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter jejuni*. A irradiação ultravioleta reduziu significativamente as cepas inoculadas, e a dose mais efetiva foi de 8000 J/m², mostrando que a radiação ultravioleta pode ser utilizada na descontaminação de presunto pronto para o consumo (CHUN et al., 2009).

Sommers, Sites e Musgrove (2010), utilizaram doses de 0,5 - 4,0 J/cm² de luz ultravioleta (UV-C) para inativar um “cocktail” de micro-organismos. Foram analisados *Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, os quais foram inoculados na superfície de salsichas, ovos com casca, coxinhas de frango sem pele, peitos de frango, costeletas de porco sem osso, tomates e pimentas. Em síntese, os autores verificaram que os micro-organismos exibiram sensibilidade a radiação ultravioleta e a redução dos patógenos variou de aproximadamente 0,5 log UFC/g em carne crua de porco e de aves e quase 4 log UFC/g para tomates (SOMMERS; SITES; MUSGROVE, 2010).

2.4 Tecnologias limpas

A crescente demanda do mercado consumidor por produtos de alta qualidade, convenientes e inovadores, revela a necessidade da utilização de tecnologias, que propiciem seguridade microbiológica na produção, aumentando sua vida de prateleira, e que ainda proporcionem mínimas alterações na qualidade nutricional e sensorial dos alimentos. (BARBOSA-CANOVA et al., 2014; COSTA; DELIZA; ROSENTHAL, 1999). Uma das consequências desta demanda é o crescente interesse por tecnologias de processamento e conservação que não provoquem alterações indesejáveis no alimento, que sejam produzidos com mínimo de aditivos alimentares e também não agridam o meio ambiente (menos produtos químicos e resíduos para tratar), sendo denominadas de tecnologias não convencionais, tecnologias emergentes, tecnologias limpas ou tecnologias de baixo impacto ambiental (CHEN et al., 2012; AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008; COSTA; DELIZA; ROSENTHAL, 1999). De acordo com Cichoski (2014) as tecnologias limpas visam produzir alimentos com qualidade e menor consumo de energia, permitindo executar as mesmas tarefas reduzindo os custos envolvidos no processo produtivo. Estas tecnologias, em sua grande maioria, reduzem o

tempo de processamento, o consumo de água, de energia elétrica, de produtos químicos e a geração de efluentes.

Algumas dessas tecnologias emergentes provaram ser confiáveis e são aprovadas por agências reguladoras internacionais como o FDA. O trabalho de implementação que necessita ser realizado para que essas tecnologias sejam aplicadas pelas indústrias de alimentos consiste na sua otimização. A saber, as técnicas que estão sendo consideradas promissoras a nível industrial para a descontaminação de alimentos, inclusive os cárneos, incluem as tecnologias de irradiação gama, ultravioleta, alta pressão hidrostática, antimicrobianos naturais, embalagens ativas, aquecimento ohmico, luz pulsante, ultrassom, micro-ondas, radiofrequência entre outros. Estas tecnologias alternativas procuram garantir uma aparência natural aos produtos, economia de energia e tempo de processo e, principalmente, menor impacto ambiental, enquanto reduzem os micro-organismos deteriorantes e patogênicos (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008).

Historicamente, a ciência e a tecnologia faziam parte da lógica inquestionável que envolvia crescimento econômico e progresso. Nos últimos tempos, a consciência de efeitos negativos do uso da tecnologia convencional, como por exemplo, consumo elevado de água, problemas ambientais em larga escala, alergias provocadas pelo uso de aditivos, resíduos de pesticidas e hormônios deixados nos alimentos, têm aumentado e se tornado mais um item em discussão (COSTA; DELIZA; ROSENTHAL, 1999).

As tecnologias alternativas foram delineadas para manter a aparência e o sabor natural dos alimentos, prevenir a deterioração por micro-organismos e eliminar patógenos, além de ser ambientalmente corretas. A combinação de tecnologias limpas, de acordo com a teoria do obstáculo, pode melhorar a sua eficácia para a descontaminação de alimentos, entretanto, deve-se refletir sobre as possibilidades e, especialmente, as limitações de cada uma delas (CHEN et al., 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi dividido em três etapas. A primeira parte consistiu no estudo do equipamento de micro-ondas, para elucidar a distribuição da radiação por meio dos mapeamentos, calibração da potência, estudo das micro-ondas no modo intermitente. Assim como na padronização do método para aplicação das tecnologias combinadas de micro-ondas e ultravioleta UV-C.

A segunda parte consistiu em aplicar os tratamentos, ou seja, a tecnologia de micro-ondas pulsada, (representada pelo número 50) e contínua (representada pelo número 100) nas amostras de carne bovina moída *in natura*, durante o tempo de 35 e 20s, respectivamente. Da mesma forma, aplicar as tecnologias, micro-ondas e ultravioleta simultaneamente, pulsada e contínua, no intuito de compará-las quanto ao melhor efeito na redução microbiana, logo M 100 e M 50, correspondem aos tratamentos realizados somente por micro-ondas e as siglas, MUV 100 e MUV 50, correspondem aos tratamentos combinados de irradiação micro-ondas com ultravioleta.

O terceiro momento deste estudo consistiu em analisar a vida de prateleira da carne moída bovina *in natura*, submetida a irradiação micro-ondas e ultravioleta UV-C contínua (100%), durante 14 dias de armazenamento refrigerado de 2 à 4°C. A Figura 2, ilustra como foram realizadas a aplicação das tecnologias neste experimento.

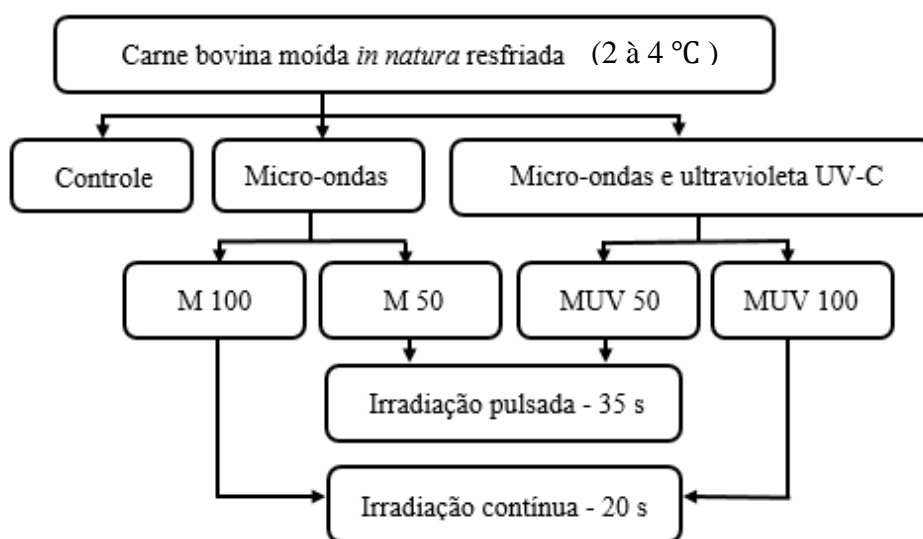


Figura 2. Fluxograma geral dos tratamentos aplicados à carne bovina moída *in natura*.

Os tratamentos foram identificados por siglas, para facilitar o entendimento, sendo assim:

C – corresponde ao tratamento controle (C), ou seja, amostra que não foi submetida a irradiação;

M 50 – corresponde ao tratamento com radiação micro-ondas (M), aplicação pulsada potência 50%;

M 100 – corresponde ao tratamento com radiação micro-ondas (M), aplicação contínua potência 100%;

MUV 50 – corresponde a combinação da radiação micro-ondas, aplicação potência 50% combinada com a radiação ultravioleta UV-C;

MUV 100 – corresponde a combinação da radiação micro-ondas, aplicação contínua potência 100% combinada com a radiação ultravioleta UV-C.

3.1 Materiais

3.1.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para a realização deste trabalho, carne bovina *in natura* resfriada, coxão duro (Figura 3a), foi adquirida em estabelecimento comercial local, processada (Figura 3b) em moedor de carne da marca Britânia com disco de tamanho intermediário ≈ 4 mm e acondicionada em bandejas de isopor envoltas por filme plástico de policloreto de vinila (PVC). Após o processamento e acondicionamento foram armazenadas sob refrigeração até atingir valores de 2 à 4°C de temperatura, a qual foi monitorada com termômetro de mercúrio. Após atingir a temperatura desejada, foram pesadas (100 g por unidade experimental) e submetidas à aplicação das tecnologias e a realização das análises.

As metodologias para amostragem, coleta, acondicionamento, transporte para a análise microbiológica das amostras foram conduzidas conforme na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, que estabelece os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle dos Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003a). A Figura 3 apresenta carne bovina *in natura*.

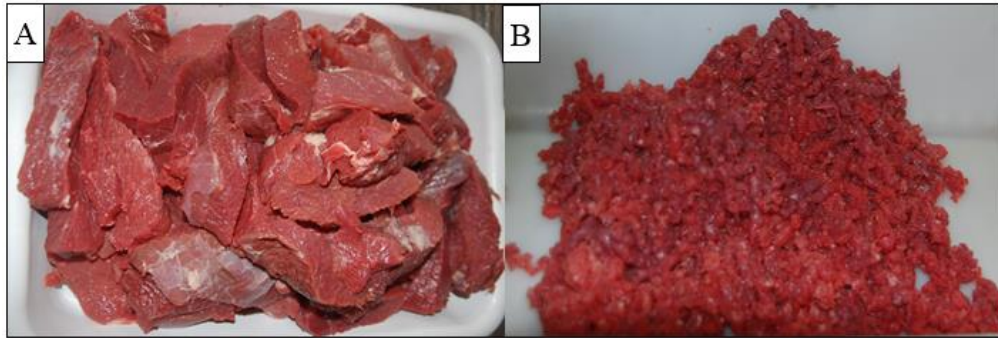


Figura 3 – Carne bovina *in natura*. (A) matéria-prima (coxão duro); (B) carne moída.

3.1.2 Equipamentos e instrumentação

O tratamento de descontaminação foi realizado em um forno de micro-ondas doméstico, marca LG® (modelo MS3042RA, 30 L, frequência de 2450 MHz) com potência nominal de 800 W (Figura 4a).

As amostras de carne bovina moída *in natura* foram acondicionadas em recipiente de polipropileno, redondo, de dimensões 17 x 3 cm, e a capacidade do reservatório de água de 350 mL. O recipiente é da marca GFR Indústria e Comércio de Artigos Infantis Ltda, atóxico, livre de bisfenol A, e recomendável para forno micro-ondas e congelador. Foi utilizado após o congelamento total da água no seu interior (-18°C) e o seu uso foi proposto a fim de evitar o aquecimento da amostra durante a aplicação da irradiação mantendo-a no estado *in natura* (Figura 4c).

A irradiação ultravioleta é acionada pelas micro-ondas e transfere a energia eletromagnética através de uma lâmpada de cádmio (Figura 4b), composta por uma antena de molibdênio revestida por quartzo (Antoon Paar). Esta lâmpada é responsável pela emissão da luz ultravioleta UV-C, na faixa de 228 nm, é utilizada em reatores de digestão de amostras assistidas por micro-ondas e ultravioleta, muito semelhante a utilizada nos experimentos de Florian e Knapp (2001) na decomposição de amostras submetidas a um sistema de alta temperatura e pressão, assistida por micro-ondas e radiação ultravioleta. Para a aplicação simultânea das micro-ondas e a ultravioleta, a lâmpada foi acondicionada no interior de um tubo de quartzo, de dimensões 13,5 cm (altura) x 1,5 cm (diâmetro), com aproximadamente 4

mL de água destilada, disposto no centro superior da cavidade de radiação micro-ondas, o qual foi preso por um fio de nylon.

A lâmpada ultravioleta foi gentilmente cedida pelo laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A disposição da lâmpada ultravioleta na cavidade do micro-ondas está apresentada na .

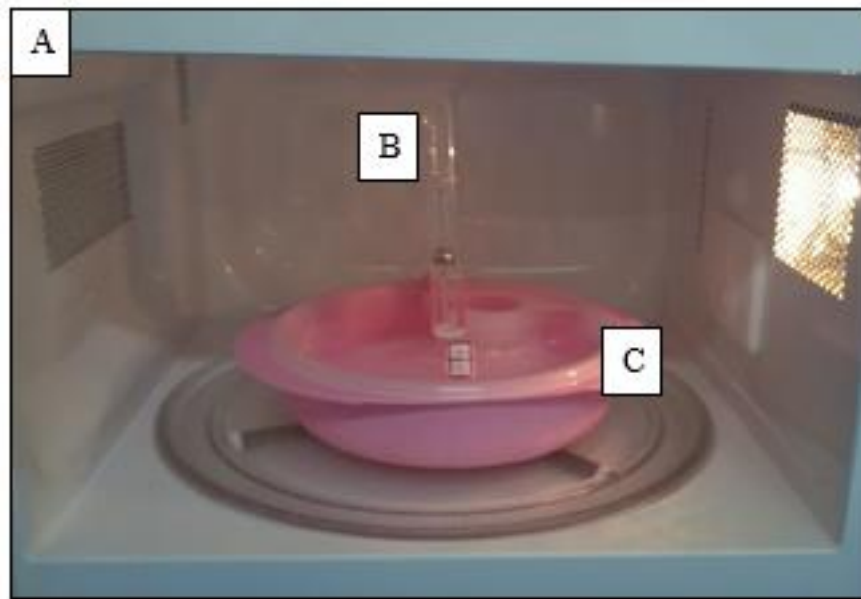


Figura 4 –Sistema de aplicação de micro-ondas e ultravioleta utilizado. (A) micro-ondas, (B) tubo de quartzo contendo água destilada e a lâmpada ultravioleta e (C) recipiente em polipropileno contendo água congelada.

3.2 Métodos

3.2.1 Estudos preliminares para utilização do micro-ondas

Testes prévios foram realizados para a padronização do método de aplicação da irradiação micro-ondas isolada e combinada com a ultravioleta UV-C, por meio de um forno de micro-ondas convencional com o objetivo de descontaminação de carne bovina moída *in natura*.

3.2.1.1 Distribuição da radiação micro-ondas no equipamento

Este experimento foi realizado para verificar a distribuição da radiação micro-ondas na cavidade do forno, baseado nos princípios da metodologia proposta por Volmer e Parker (2004), Rosini, Nascentes e Nóbrega (2004), ambos com modificações. O método consistiu em acrescentar papel termossensível (papel de fax) umedecido com água destilada durante 2 min na cavidade do micro-ondas com e sem o prato giratório com intuito de verificar a distribuição da irradiação micro-ondas e as regiões de maior e menor incidência destas, por meio dos pontos pretos que demonstram no papel.

3.2.1.2 Níveis de potência e tempo de irradiação

Realizou-se testes com 25g de amostra, dispostas em placas de Petri irradiadas em micro-ondas em potência máxima e em nível 10%, nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 s. Nestes testes, as mostras foram colocadas no centro do prato giratório do micro-ondas e os resultados favoreceram para avaliar a irradiação pulsada e contínua, assim como as temperaturas das amostras. A partir destes resultados, eliminou-se os tempos de 25 e 30 s, em função de que em potência de 100% a amostra foi cozida quase totalmente, conforme foi encontrado no estudo de Azis, Mahrous e Youssef (2002), onde a aplicação de 10, 20 e 30 s produziram temperaturas de aquecimento no centro das amostras de carne de bovina de 45, 65 e 85°C, respectivamente. Entretanto, de acordo com Azis, Mahrous e Youssef (2002), quando as amostras foram submetidas a 20 s de irradiação com micro-ondas, os micro-organismos foram reduzidos em 1 ciclo log e por 2 ciclos log em 30 s. Sobretudo, nenhuma *Pseudomonas*, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e termotolerantes foram detectados em todas as amostras submetidas a exposição por 20 s à irradiação micro-ondas (AZIS; MAHROUS; YOUSSEF, 2002). Desde então, o estudo baseou-se no método descrito por Azis, Mahrous e Youssef (2002) com adaptações, em relação a quantidade de amostra a ser irradiada (100 g), de onde foram retiradas 25g para as análises microbiológicas e a utilização de um recipiente de polipropileno para o acondicionamento da amostra a ser irradiada e evitar os pontos de superaquecimento.

3.2.1.3 Avaliação do recipiente de polipropileno

A avaliação do recipiente de polipropileno (marca GFR Indústria e Comércio de Artigos Infantis Ltda) foi realizada submetendo-se o mesmo a irradiação micro-ondas na potência máxima (100%) durante o tempo de 20 s para verificação da variação de temperatura de congelamento do mesmo. Verificou-se a temperatura com termômetros de mercúrio (imersão, -10°C à +110°C, Incoterm) e infravermelho (-60°C à +500°C, modelo ST – 600, Incoterm), ambos com precisão mínima de leitura de $\pm 0,1$ °C.

3.2.1.4 Avaliação microbiológica

A avaliação microbiológica preliminar consistiu em submeter amostras da matéria-prima à exposição da irradiação contínua (100%) por micro-ondas com o propósito de verificar a eficácia da tecnologia nas reduções das contagens microbianas da carne *in natura* sem promover o cozimento da mesma que foi verificado por análise visual. Os testes preliminares foram realizados pesando-se 100 g de matéria-prima, acondicionando-as no recipiente de polipropileno, antecipadamente congelado, e então submetê-los a irradiação por micro-ondas. Foram realizadas três repetições, para cada tempo, de 10, 15 e 20 s, independentemente. Após a irradiação foram retiradas 25 g de amostra para análise microbiológica de bactérias aeróbias mesófilas, de acordo com o procedimento de análise idêntico ao descrito no item 3.2.7.4.

3.2.2 Determinação da potência real do micro-ondas

A determinação da potência real do micro-ondas foi realizada através do método descrito por Raschen et al., (2014), Bizzi et al., (2011) e Barboza et al., (2001). Com o propósito de verificar a potência real do processo de aquecimento do equipamento de micro-ondas, foram realizados ensaios, com três repetições, do aquecimento de 1000 g de água ultrapura em béquer com capacidade para 2 L durante o tempo de 120 s. O béquer foi posicionado no centro da cavidade do micro-ondas, e após o aquecimento foi seguido de breve agitação para

homogeneização da temperatura da água. Esta foi determinada antes e após a irradiação com termômetro de mercúrio, conforme ilustra a Figura 5.

O procedimento de calibração da potência do micro-ondas foi realizado nos níveis de potência 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%, programados no painel de controle do equipamento. A potência (P) foi determinada (em watts, W) pela razão entre a energia absorvida pela água e o tempo de irradiação, através da equação:

$$P = C.m.\Delta T/t$$

Onde:

C: corresponde a capacidade calorífica específica da água ($4,184 \text{ J.g}^{-1}\text{K}^{-1}$);

m: massa de água (g)

ΔT : corresponde a variação da temperatura observada ($^{\circ}\text{C}$);

t: corresponde ao tempo de irradiação (s).



Figura 5 – Procedimento de determinação da potência real do micro-ondas. (A) 1000 mL de água ultrapura na cavidade de radiação micro-ondas. (B) Verificação da variação da temperatura (ΔT).

3.2.3 Avaliação da irradiação com micro-ondas pulsada

O estudo da irradiação pulsada foi realizado com o intuito de conhecer o comportamento do micro-ondas quando este trabalha com distribuição alternada de ondas. Convencionalmente, no uso de micro-ondas doméstico, esta operação ocorre com o equipamento trabalhando ligando e desligando o gerador de ondas.

Para verificar o tempo de irradiação de micro-ondas pulsada foram realizados ensaios, com três repetições, do aquecimento de 1000 mL de água ultrapura em béquer com capacidade para 2000 mL, durante o tempo de 60 s, seguido de uma breve agitação para homogeneização. Este procedimento foi realizado com o béquer no centro do equipamento de micro-ondas programado, no painel de controle do mesmo, nos níveis de potência (10 e 50%) e potência contínua 100% para fins de comparação.

3.2.4 Mapeamento do micro-ondas através da variação da temperatura da água

Este experimento foi realizado com o micro-ondas pulsado, ou seja, programado em potência 50% e assim com o micro-ondas no modo contínuo de potência (100%).

De acordo com Trindade e Cerqueira (2007) e Rosini, Nascentes e Nóbrega (2004), o procedimento consistiu em distribuir no prato giratório (30,5 cm) em “forma de cruz”, 9 béqueres com capacidade de 50 mL (3,5 cm de diâmetro), contendo 25 mL de água ultrapura, conforme ilustra a Figura 6. Cada béquer foi identificado, distintamente e posicionado no mesmo local no prato onde foram verificadas a temperatura inicial da água de cada béquer (Figura 6a). As identificações adotadas foram: B1, B2, B3 e B4 para os béqueres da borda do prato, ou seja, posicionados na faixa de 0 – 4,5 cm da extremidade do prato; I1, I2, I3 e I4 para os béqueres da área intermediária, posicionados na faixa de 5 – 9,5 cm da extremidade do prato; e C para o béquer posicionado no centro do prato giratório, posicionado na faixa de 10 – 15,2 cm da extremidade do mesmo, sendo que o prato apresenta 30,5 cm.

Programou-se a potência e o tempo de exposição no painel de controle do equipamento de micro-ondas. Ao final do tempo de 60 segundos, mediu-se as temperaturas simultaneamente (com dois termômetros, de béqueres de mesma posição) e individualmente. Este procedimento

foi repetido três vezes e determinou-se a potência por região analisada de acordo com a descrição do item 3.2.2. A Figura 6 demonstra a disposição dos béqueres no prato giratório.

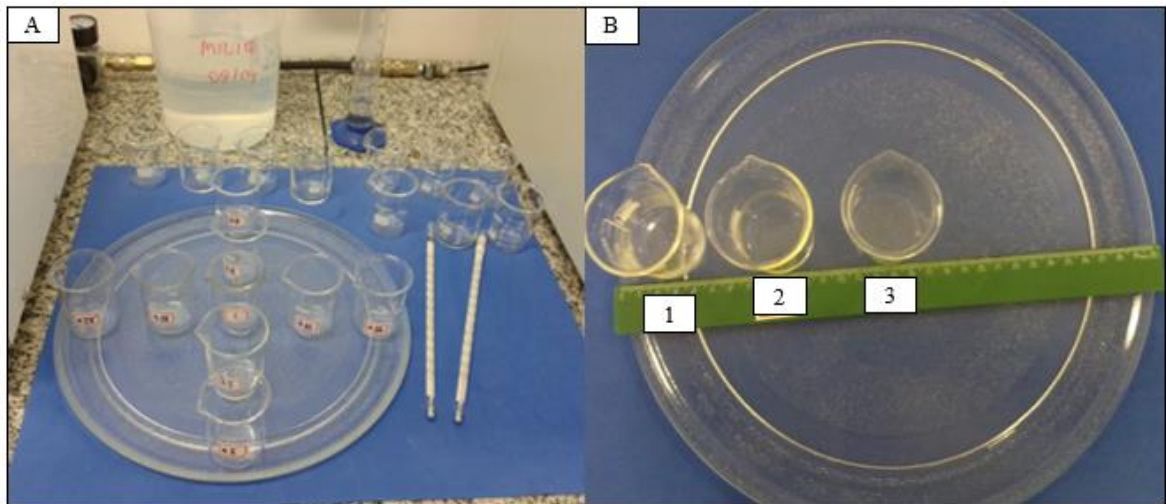


Figura 6 – Prato giratório do micro-ondas. (A) Posição dos béqueres para a realização do mapeamento do forno de micro-ondas com água ultrapura; (B) Posição de cada béquer de região distinta e tamanho do prato, (1) borda, (2) intermediária e (3) centro.

3.2.5 Mapeamento do micro-ondas através da variação da temperatura da amostra com imagem termográfica

O mapeamento foi realizado com uma câmera de infravermelho da marca Flir E-Series 60 (320×240 pixels) que opera na faixa de temperatura de -20°C a 650°C , com sensibilidade de $0,05^{\circ}\text{C}$. Utilizou-se 0,95 de emissividade (valor próximo da emissividade de água); 40 cm de distância da câmera ao recipiente térmico com 100 g de amostra de carne bovina moída *in natura* e a escala fixada de temperatura de -11 a 60°C .

As imagens termográficas foram obtidas para os tratamentos contínuo (100%) e pulsado (50%) após cerca de 5 s do término da irradiação.

Foi realizada uma média de 25 leituras dos pontos de região de borda e interior.

3.2.6 Mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta

O mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta foi realizado com a amostra de carne bovina moída *in natura* com o objetivo de determinar a disposição da lâmpada na cavidade do micro-ondas, assim como, definir o local para a retirada de amostra para análise microbiológica.

A altura da lâmpada e o local de coleta foram padronizados para a aplicação, sendo que a lâmpada ultravioleta foi adaptada, no interior de um tubo de quartzo de 13,5 cm de altura e 1,7 cm de diâmetro (especialmente desenvolvido para este experimento) com aproximadamente 4 mL de água destilada. O tubo de quartzo foi amarrado com fio de nylon e posicionado no centro superior da cavidade do micro-ondas, a 2 cm de altura da amostra. O tubo de quartzo é inerte e permite a passagem da radiação ultravioleta quando o magnetron está ligado.

Este procedimento foi realizado com o micro-ondas pulsado, ou seja, programado em potência 50% e com o micro-ondas contínuo (100%), nos quais foram utilizadas duas distâncias (alturas) da lâmpada ultravioleta até a amostra: 2 cm e 4 cm; e duas posições (local) no centro do prato (Figura 7b2) e borda do prato (Figura 7 b1), contendo a matéria-prima, para a coleta. A Figura 7 demonstra como foram realizados os procedimentos distância da lâmpada à amostra (A) e o local de coleta de amostra (B).

A análise microbiológica realizada para mensurar este estudo foi a determinação de bactérias aeróbias mesófilas (procedimento idem ao item 3.2.7.4).

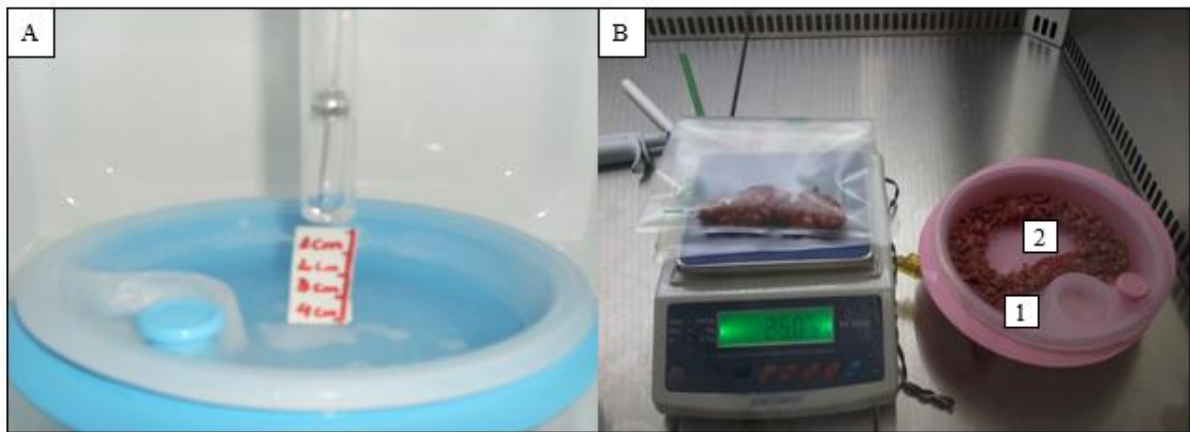


Figura 7 – Mapeamento da lâmpada ultravioleta com carne bovina moída *in natura*. (A) Altura da lâmpada (2 cm e 4 cm); (B) Local de coleta de amostra no recipiente térmico para análise microbiológica, (1) região de borda, (2) região central.

3.2.7 Análises microbiológicas

As amostras de carne bovina moída *in natura* foram submetidas a análise de *Salmonella* spp, contagem total de enterobactérias, coliformes termotolerantes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, termófilos, *Pseudomonas* spp e contagem de bolores e leveduras.

As análises microbiológicas das amostras foram realizadas conforme descrito na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, que estabelece os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle dos Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003a).

Os resultados foram expressos em log UFC/g e comparados com os padrões microbiológicos aprovados pela RDC nº 12, de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aplicados aos alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001b) e para as análises microbiológicas que não apresentam parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, foram utilizados dados obtidos na literatura.

3.2.7.1 Preparo das diluições das amostras

Foram pesados em saquetas estéreis (Bag Light Interscience), 25 g de amostra de carne bovina moída, controle e irradiada, separadamente, onde foram colocados em 225 mL de água peptonada a 0,1% (Himedia) esterilizada e após foram homogeneizadas em equipamento Stomacher (Marconi MA400/CF), obteve-se a diluição inicial 10^{-1} . A seguir, foram preparadas diluições decimais até 10^{-6} , empregando-se 1 mL da diluição anterior a 9 mL do diluente (BRASIL, 2003a).

3.2.7.2 Contagem de *Salmonella* spp

O pré-enriquecimento não seletivo foi realizado adicionando-se 25 g da amostra em 225 mL de caldo lactosado (Himedia) a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento seletivo, através da transferência de 1 mL para 10 mL de caldo Tetrionato Verde Brilhante (Himedia) e 1 mL para caldo Rappaport Vassiliadis (Himedia) e incubação à 42,5°C por 24 horas. A partir destes, realizou-se o plaqueamento seletivo diferencial, através da semeadura em placas com ágar SS (*Salmonella Shiguella*) (Himedia) e ágar Rambach (Himedia). As placas foram incubadas à 37°C por 24 horas. A confirmação final foi realizada através do resultado obtido na série bioquímica, conforme Brasil (2003a).

3.2.7.3 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva

Inoculou-se 0,1 mL das diluições sobre a superfície seca de ágar Baird-Parker (Himedia) adicionado de 5% de ovo contendo 0,1% telurito de potássio (Laborclin) espalhou-se o inóculo com alça de Drigalski por toda superfície do meio até a sua absorção. As placas foram incubadas, invertidas, em incubadora à 37°C por 48 horas. Foram realizadas as contagens de colônias típicas (circulares, coloração preta brilhante, lisas com halo opaco transparente nas bordas). Para a confirmação do teste de coagulação do *Staphylococcus* coagulase positiva, três

a cinco colônias típicas foram selecionadas e semeadas em caldo de infusão cérebro-coração (BHI - Himedia), em plasma de coelho (Laborclin), conforme Brasil (2003a).

3.2.7.4 Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos

Semeou-se 1 mL de cada diluição em placas de Petri estéreis e adicionou-se cerca de 15 a 20 mL de ágar padrão para contagem (PCA - Himedia) fundido (mantido em banho-maria a 46-48°C). Homogeneizou-se o ágar com o inóculo, aguardou-se e incubou-se as placas invertidas à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas (BRASIL, 2003a).

As contagens de mesófilos foram realizadas como parâmetros para estudos preliminares de redução microbiana; para o mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta UV-C; para a aplicação dos tratamentos propostos neste trabalho e como análise microbiológica do estudo da vida de prateleira após 0, 3, 6, 9, 12 e 14 dias de armazenamento. Todas estas contagens foram determinadas por meio de três repetições para cada tratamento.

3.2.7.5 Contagem de micro-organismos aeróbios psicrótróficos

Procedimento de análise idem a descrição do item 3.2.8.4, exceto a temperatura e tempo de incubação, 7°C por 7 a 10 dias, respectivamente. As contagens de psicrótróficos foram determinadas por meio de três repetições para cada amostra após 0, 3, 6, 9, 12 e 14 dias de armazenamento.

3.2.7.6 Contagem de micro-organismos aeróbios termófilos

Procedimento de análise idem a descrição do item 3.2.7.4, exceto a temperatura e tempo de incubação, 55°C por 24 horas, respectivamente.

3.2.7.7 Contagem de Bolores e Leveduras

Inoculou-se 0,1 mL das diluições sobre a superfície seca de ágar batata dextrose (Acumedia) 2% (acidificado à pH 3,5 por meio da adição de solução de ácido tartárico 10%) e espalhou-se o inóculo com alça de Drigalski por toda superfície do meio até a sua absorção. As placas foram incubadas, sem inverter, em incubadora à 25°C por 5 dias.

3.2.7.8 Contagem total de enterobactérias e termotolerantes

Inoculou-se 1 mL das diluições das amostras em placas de Petri esterilizadas a adicionou-se em torno de 15 mL de ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose (VRBG - Himedia) previamente fundido e mantido a 46 °C em banho-maria.

Homogeneizou-se o inóculo com o meio até a solidificação total e adicionou-se a segunda camada. Após a completa solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas em estufa à 36°C por 24 horas.

Foi realizada por meio da inoculação das colônias suspeitas em tubos de ensaio contendo caldo EC (*Escherichia coli*) (Himedia) e tubos de Durham, e posterior incubação em temperatura de $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas, em banho-maria com circulação de água. A presença de gás nos tubos de Durham evidencia a fermentação da lactose presente no meio indicando a presença de *Escherichia coli*.

3.2.7.9 Contagem de *Pseudomonas* spp

Inoculou-se 0,1 mL das diluições sobre a superfície seca de ágar Cetrimide Base (Himedia) contido em placas de Petri (previamente preparadas e adicionadas de glicerol), no qual espalhou-se o inóculo, com alça de Drigalski, por toda superfície do meio até a sua completa absorção. As placas foram incubadas, invertidas, em incubadora à 7°C por 7 dias.

As contagens de *Pseudomonas* sp foram determinadas por meio de três repetições para

cada amostra após 0, 3, 6, 9, 12 e 14 dias de armazenamento (TSHABALALA; KOCK; BUYS, 2012).

3.2.8 Análises físico- químicas

Previamente a realização das análises físico-químicas o preparo das amostras foram realizados, conforme a determinação de cada análise, baseando-se nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.2.8.1 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação direta do pH foi realizada com auxílio de potenciômetro (MPA210MS TecnoPan) o qual foi calibrado com as soluções-tampão, de acordo com as instruções do fabricante. Foram pesadas 10 g da amostra, para três repetições em duplicatas, em béquer onde foram dispersas com 100 mL de água destilada. Misturou-se até o conteúdo permanecer uniformemente suspenso.

Conforme a literatura, adotou-se os seguintes parâmetros de pH: valores de 5,8 a 6,2 carne apta ao consumo; pH 6,4 – apenas para consumo imediato (limite crítico para o consumo) e pH acima de 6,4 – início de decomposição. Os valores de pH foram determinados por meio de três repetições para cada amostra após 0, 3, 6, 7, 9, 12 e 14 dias de armazenamento.

3.2.8.2 Determinação da cor

A determinação objetiva da cor foi realizada através do colorímetro (Minolta, modelo CR-300), operando com fonte de luz D65 e ângulo de observação de 10° para avaliação dos componentes L^* (luminosidade), a^* (direção para o vermelho), b^* (direção para o amarelo) de acordo com o sistema CIELAB (*Commission International for Illumination*) (CIE, 1986). O uso de * caracteriza os padrões determinados por esta Comissão. O colorímetro fornece variáveis,

de acordo com o Diagrama de Hunter, onde o valor de L^* , situado no eixo vertical do diagrama, mede a luminosidade ou a porcentagem de refletância da amostra, variando de 0 (preto) a 100 (branco), e ainda, C^* (índice de saturação) e h^* (ângulo de tonalidade). A interpretação dos resultados, segundo Olivo (2006) e Minolta (1993):

a^* - variação entre a cor vermelha e a verde, onde a^+ tende para o vermelho e a^- tende para o verde; b^* - variação entre o amarelo e o azul, onde b^+ tende para o amarelo e b^- tende para o azul; a^*/b^* pode ser utilizada para estimar o teor de mioglobina em uma amostra.

A determinação da cor consistiu em colocar as amostras, em placas de Petri, no compactador de amostra, posicionar o canhão de leitura e pressionar a tecla “measure”, logo os resultados foram mostrados no display do equipamento e transcritos em planilha. Foram determinados as leituras de três repetições, sendo que, para cada uma foram obtidos o valor médio da leitura de quatro pontos diferentes na superfície das amostras e posteriormente a média das repetições. Esta determinação também foi realizada após 0, 7 e 14 dias de armazenamento da carne bovina moída *in natura* irradiada e controle.

3.2.8.3 Determinação da atividade de água

A determinação da atividade de água (A_w) foi realizada através do equipamento Aqualab (Series 4TE Water Activity Meter, WA, EUA). O equipamento apresenta faixa de leitura de 0,0300 – 1,0000 A_w . Esta metodologia segue as normas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.2.8.4 Determinação da umidade

A determinação da umidade foi realizada através de secagem direta em estufa, de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005). Identificou-se os cadinhos de alumínio com o nome dos tratamentos, secou-se previamente em estufa à 105°C por 1 hora. Reservou-se em dessecador por aproximadamente 20 minutos. Pesou-se de 2 a 3 g de amostra em cápsula de alumínio previamente tarada (anotou-se os pesos do cadinho vazio e com a amostra), incubou-se em estufa à 105°C por 6 horas. Após o período de secagem, as amostras foram

colocadas no dessecador até atingirem temperatura ambiente, em torno de 20 minutos, e foram realizadas as pesagens do resíduo seco.

Os valores de umidade obtidos foram determinados através de três repetições para cada amostra após 0, 7 e 14 dias de armazenamento e os resultados foram expressos em % de umidade conforme o cálculo:

$$100 \times N / P = \text{umidade a } 105^{\circ}\text{C por cento m/m}$$

Onde:

N = número de gramas de umidade (perda de massa em gramas);

P = número de gramas da amostra

3.2.8.5 Determinação da oxidação lipídica

A determinação da oxidação lipídica da carne bovina moída *in natura* foi realizada através do método das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) conforme Raharjo et al., (1992) com adaptações de Pereira (2009).

Este procedimento consistiu em pesar 10 g de amostra em béquer, adicionar 40 mL de ácido tricloroacético 5% (Vetec) e 1 mL de antioxidante sintético butilhidroxitolueno 0,15% (BHT - Synth), homogeneizar em “mixer” por 1 minuto e filtrar. Após a filtração, ajustou-se o volume para 50 mL em balão volumétrico com ácido tricloroacético 5% (TCA - Vetec). Com uma pipeta volumétrica retirou-se 2 mL do filtrado e transferiu-se para um tubo de ensaio, em seguida adicionou-se 2 mL do reagente de 2-tiobarbitúrico 0,08 M (Merck) em ácido acético 50% (Impex).

Incubou-se o tubo de ensaio fechado em banho-maria com água fervente à 95°C por 5 minutos. Aguardou-se o tubo atingir temperatura ambiente para a realização da leitura em espectrofotômetro a 531 nm e comparou-se contra o branco. A densidade ótica lida foi multiplicada por 7,8, bem como Hyun-Wook et al., (2014). Os valores de TBARS foram determinados em triplicata para cada amostra após 0, 7 e 14 dias de armazenamento e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra.

3.2.8.6 Determinação de pigmentos heme totais

Esta metodologia foi proposta por Hornsey (1956) e descrita por Ramos & Gomide (2012) para a determinação de pigmentos heme baseada na quantificação da hematina extraída da carne com solvente orgânico acidificado. Na presença de solventes orgânicos a globina coagula, sendo facilmente removida por centrifugação, enquanto a hematina permanece em solução. Segundo Hornsey (1956) a extração com acetona acidificada é mais eficiente que os outros solventes, pois remove quase toda a hematina da molécula de mioglobina/hemoglobina.

Este procedimento consistiu em pesar 10 g de amostra de carne moída em tubos falcon (50 mL), adicionar 10 mL de solução extratora, previamente preparada e resfriada a 4°C, de acetona: água: ácido clorídrico, na proporção de 40:9:1 (v/v), misturar com bastão de vidro, repousar a mistura durante 5 minutos e adicionar 30 mL de solução extratora. Embalar os tubos com alumínio e armazenar em refrigerador por aproximadamente 12 horas. O conteúdo sobrenadante foi transferido para outro tubo falcon e submetido a centrifugação a 5000 G por 15 minutos à 4°C. Filtrou-se o sobrenadante em papel filtro e realizou-se a leitura em espectrofotômetro em níveis de 640 nm, utilizando a solução de extração como branco. Realizou-se uma medida da turbidez através da leitura do filtrado à 730 nm de absorvância. Os valores de pigmentos totais foram determinados em triplicata para cada amostra após 0, 7 e 14 dias de armazenamento e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/g}$ de amostra, de acordo com a equação de Lambert-Beer:

$$C = A / \mathcal{E} \cdot b$$

onde:

C = concentração de substrato na cubeta ($\mu\text{mol/mL}$);

A = absorvância;

\mathcal{E} = coeficiente de extinção milimolar ($\text{cm}^2/\mu\text{mol}$);

b = distância percorrida pela luz (largura da cubeta, em cm).

Como foi realizada a medida de turbidez a 730 nm, o valor da absorvância obtido a 640 nm, foi subtraído para encontrar a concentração de pigmentos na amostra:

$$A = A_{640 \text{ nm}} - A_{730 \text{ nm}}$$

Para a realização dos cálculos, segundo Hornsey (1956), considerou-se:

$\mathcal{E}_{640\text{ nm}} = 4,8 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$, para hematina ácida (Peso Molecular = 652), $b = 1 \text{ cm}$, $P_a = 10 \text{ g}$ e $V_d = 50 \text{ mL}$.

Assim a concentração total de pigmentos foi expressa como a concentração de hematina ácida (μg de hematina/g de amostra):

$$C = (A / \mathcal{E} \cdot b) \cdot (V_d / P_a) \cdot PM$$

3.2.9 Análise estatística

Para cada tratamento, foram realizadas três repetições e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (one-way ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$) com auxílio do programa STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, Inc, Tulsa – OK, EUA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudos preliminares para padronização do método de descontaminação por micro-ondas

4.1.1 Distribuição da radiação micro-ondas

Na Figura 8, temos o resultado do papel termossensível irradiado por micro-ondas, o qual demonstrou visivelmente a distribuição da radiação no interior do forno. Na Figura 8A, sem o prato giratório, há pontos de superaquecimento no interior da cavidade, ou seja, região de borda, desfavorável para o acondicionamento da amostra em estudo, pois provavelmente provocaria o cozimento da mesma. Enquanto que na Figura 8B, a distribuição demonstrou-se mais uniforme com a utilização do prato giratório, conseqüentemente com menos pontos de superaquecimento.

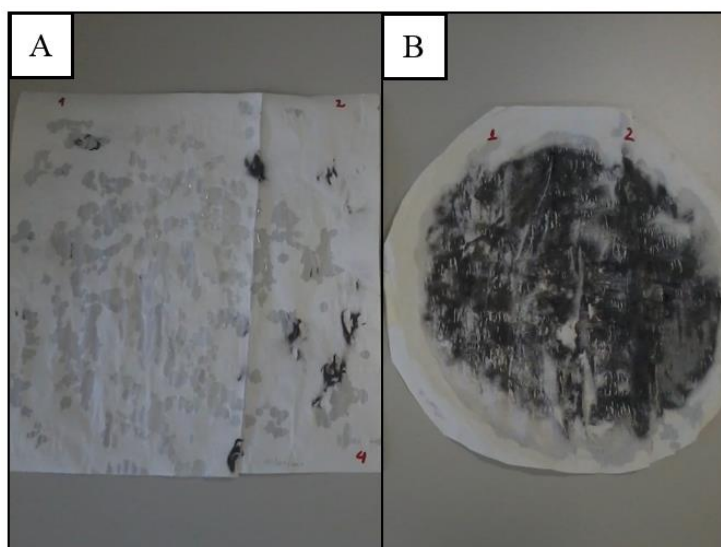


Figura 8 – Papel termosensível irradiado.
(A) sem prato giratório; (B) com o prato giratório.

De acordo com Rosini, Nascentes e Nóbrega (2004) a distribuição da radiação micro-ondas na cavidade do forno de micro-ondas não é uniforme porque uma pequena parte das ondas é absorvida pelas paredes metálicas e a maior parte é refletida pelas paredes do forno, podendo ocorrer a formação de ondas estacionárias. Segundo Volmer e Parker (2004) a existência do prato giratório no forno de micro-ondas doméstico consiste em fazer a rotação do alimento no interior da câmara, fazendo com que este circule tornando a irradiação mais homogênea melhorando a distribuição da temperatura no produto.

Este experimento justifica a escolha da utilização do micro-ondas com o prato giratório, pois com a rotação, a distribuição da irradiação é mais uniforme no interior do forno e reduz a possibilidade de pontos de superaquecimento. Segundo Yarmand e Homayouni (2011) além do prato giratório para se conseguir melhor uniformidade de aquecimento, a utilização da radiação pulsada de micro-ondas e a variação da frequência são medidas que favorecem esse processo.

Um dos objetivos do trabalho proposto, com a aplicação da radiação micro-ondas em carne *in natura*, parte do princípio de descontaminar sem promover o cozimento e pontos de superaquecimento. Assim, através dos testes preliminares conseguiu-se promover a descontaminação sem o cozimento da carne, devido à duas condições especiais, a utilização do recipiente de polipropileno e a baixa temperatura da amostra antes de ser irradiada, no máximo 4°C de temperatura de refrigeração.

A distribuição desigual da radiação na cavidade do forno é uma das principais limitações do aquecimento por micro-ondas, segundo Vadivambal e Jayas (2010). Na pasteurização por micro-ondas, os micro-organismos não são totalmente eliminados devido a esse fator.

4.1.2 Níveis de potência e tempo de irradiação

Os resultados de temperatura atingidos quando 25 g de amostra foram submetidos a potência máxima (100%) e nível de 10% de potência nos tempos de 5 à 30 s de irradiação micro-ondas estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados de médias de temperatura de 25 g de carne moída submetidas a diferentes tempos de irradiação e níveis de potência.

Níveis de Potência (%)	Tempo (s)					
	5	10	15	20	25	30
10	16,4 °C	17,1 °C	18,0 °C	18,8°C	19,1°C	19,6°C
100	25,5 °C	38,7 °C	47,1 °C	60,6°C	70,1°C	73,9°C

A partir destes resultados eliminou-se os tempos de 25 e 30 s, pois as amostras apresentaram-se quase totalmente cozidas na potência máxima, apresentando temperaturas de 70,1 e 73,9 °C respectivamente. Também foi possível perceber que seria necessário modificar a metodologia, pois a quantidade de 25 g de amostra, dispostas em placas de Petri apresentaram cozimento avaliados visualmente. Este resultado demonstrou a importância de conhecer o tamanho e a forma do produto que irá receber a irradiação por micro-ondas, pois quanto menor o tamanho da amostra maior é a sua eficiência em dissipar o calor (THOSTENSON; CHOU, 1999).

Analisando os resultados de temperatura obtidos ao longo dos 30 s de irradiação, tanto no nível de potência 10%, quanto na potência máxima (100%), observou-se que, no primeiro, as temperaturas foram reduzidas comparadas ao segundo, respectivamente, porque no nível de 10% de potência o magnetron é desligado. Deste modo, observou-se que o micro-ondas quando programado em 25 s, no nível 10% de potência, irradia micro-ondas por apenas 5 s. Embora este nível de potência (10%) tenha sido excluído do experimento, este estudo permitiu analisar o comportamento do forno de micro-ondas quanto a irradiação pulsada e contínua como propostas de métodos para os tratamentos deste trabalho.

Segundo Thostenson e Chou (1999), embora os fornos de micro-ondas domésticos operem em potência máxima (100%) é possível determinar potências pulsadas, programando o nível de potência no painel de controle do forno. Este tipo de programação faz com que o magnetron seja ligado e desligado por um período de tempo determinado (THOSTENSON; CHOU, 1999) conseguindo-se melhor uniformidade do aquecimento (YARMAND; HOMAYOUNI; 2011).

Outra observação que este estudo permitiu foi a adoção do recipiente de polipropileno para o acondicionamento da amostra a ser irradiada. Nas placas de Petri, as amostras de carne apresentaram pontos de cozimento e elevadas temperaturas devido a absorção da radiação micro-ondas pelas moléculas de água e gordura da carne e pelo vidro da placa. Segundo Souza e Miranda (2011) estes pontos isolados de altas temperaturas, ou *hot spots*, são efeitos específicos do aquecimento por micro-ondas e são denominados de efeitos térmicos. Os efeitos térmicos podem ser compreendidos como consequência da absorção das micro-ondas pelas substâncias polares (SOUZA; MIRANDA, 2011).

4.1.3 Avaliação do recipiente de polipropileno

Os resultados das temperaturas médias iniciais do recipiente de polipropileno obtidas nos termômetros de infravermelho e mercúrio foram de 0,9°C e 1,4°C, respectivamente. Após 20 s de irradiação micro-ondas as temperaturas obtidas foram de 1,3°C nos dois termômetros.

O resultado obtido pelo termômetro de imersão de mercúrio foi utilizado como referência, uma vez que a média da variação de temperatura foi de apenas 0,1°C. Assim, o recipiente de polipropileno demonstrou-se adequado para o experimento proposto, uma vez que suportou as variações de temperatura e manteve-se estável durante o tempo de irradiação proposto (20 s contínuo e 35 s pulsado).

4.1.4 Avaliação microbiológica

Com o micro-ondas na potência máxima (100%) e 100 g de carne bovina moída *in natura* acondicionadas no recipiente de polipropileno, foram feitas aplicações de micro-ondas com 10, 15 e 20 s, seguidas da análise de bactérias aeróbias mesófilas. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Aplicação de micro-ondas contínua (100%) sobre a microbiota existente de aeróbios mesófilos em carne bovina moída *in natura*.

	Tempo (s)			
	0	10	15	20
Contagens (log)	9,30 ^a ± 0,09	7,31 ^b ± 0,16	7,04 ^b ± 0,02	6,53 ^c ± 0,05

*Valores apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os curtos tempos de exposição à radiação de micro-ondas apresentaram reduções significativas nas contagens de bactérias aeróbias mesófilas da carne bovina moída *in natura*, apesar da amostra controle (sem irradiação) apresentar contagens elevadas. No tempo máximo utilizado, 20 s de irradiação micro-ondas verificou-se uma média de variação de temperatura de 31,6°C, conforme mostrou o estudo com a imagem termográfica (Figura 9).

Em termos de objetivo proposto e tempo de irradiação, um estudo realizado por Göksoy et al., (2000) analisaram peitos de frango inoculados com *E. coli* K12 e *Campylobacter jejuni* (em torno de $5 \pm 6 \log/\text{cm}^2$) após a exposição aos tempos de 10, 20 e 30 s de irradiação emitidas por um forno de micro-ondas doméstico, em potência máxima. A exposição às micro-ondas apresentaram efeitos mínimos na redução microbiana, 0,04 log UFC/g de diferença, entre amostra controle e irradiada, e em alguns casos, as contagens foram superiores após o tratamento, independentemente do tempo utilizado, e ainda, o estudo mostrou que houve grandes variações de temperatura na superfície dos peitos de frango. A temperatura superficial antes dos tratamentos era de 17°C e, após 10, 20 e 30 s de irradiação micro-ondas, apresentaram 30,2°C, 34,1°C e 46,7°C, respectivamente (GÖKSOY et al., 2000).

Buscando elucidar os resultados encontrados, pode-se dizer que a interação principal das micro-ondas (2450 MHz) ocorre com a água contida nos alimentos, e deve ser levada em consideração quando compara-se as diferentes matérias-primas aqui mencionadas, carne bovina moída e peito de frango. Com a ruptura das proteínas miofibrilares no processo de moagem, a carne moída apresenta vantagem para a aplicação desta tecnologia, pois dispõe de maior quantidade de água livre para absorver as micro-ondas, e conseqüentemente, transformar a energia eletromagnética em calor, um dos princípios desta tecnologia que é capaz de reduzir o número de micro-organismos. Também deve-se levar em consideração o tamanho e a forma do

alimento a ser irradiado que influenciam na absorção das micro-ondas (THOSTENSON; CHOU, 1999).

Outro aspecto importante para a aplicação da tecnologia como método de conservação, principalmente de carnes *in natura*, é respeitar o limite de temperatura, no máximo 7°C, segundo a legislação vigente (BRASIL, 1996). Embora a temperatura da carne moída não tenha sido verificada após a irradiação dos três tempos propostos, neste estudo, padronizou-se aplicar as micro-ondas somente após a carne apresentar temperatura máxima de 4°C, sendo a temperatura ideal 2°C.

O objetivo deste estudo preliminar foi aplicar a tecnologia de micro-ondas à carne bovina moída *in natura* e analisar seu efeito quanto à redução microbiana, que foi satisfatória em todos os tempos. Ainda, auxiliou na definição do tempo ideal de aplicação da radiação, o qual foi alcançado aos 20 s, pois apresentou redução microbiana estatisticamente significativa em comparação com os resultados obtidos nos demais tempos testados, e principalmente, em relação ao controle o qual apresentou uma redução de 2,77 log UFC/g mostrando que esta tecnologia apresenta potencial para descontaminação.

4.2 Determinação da potência real do micro-ondas

A potência real do forno de micro-ondas foi determinada para todos os níveis programados e os resultados estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados referentes a calibração da potência real do micro-ondas nos diferentes níveis de programação.

Níveis de Potência Programada (%)	Varição de Temperatura da água (°C)	Potência Determinada (W)
10	24,3	69,7
20	28,0	139,4
30	29,3	209,2
40	32,6	278,9
50	33,0	366,0
60	34,3	400,9
70	39,3	523,0
80	39,6	546,2
90	40,0	569,0
100*	41,6	627,5

*100% de potência não necessita de programação no painel de controle do micro-ondas, pois é a potência normal fixa de operação do forno doméstico.

Analisando a Tabela 3, é possível fazer algumas observações importantes, como por exemplo, o aumento do nível de potência programada favorece o aumento da variação da temperatura, assim como, favorece o aumento da potência determinada demonstrando que apresentam um comportamento linear. A potência nominal do forno 800 W, fornecida pelo fabricante (LG®) difere da potência real encontrada (potência máxima) que foi de 627,5 W, ou seja, correspondente a 78,4% da potência nominal. Utilizando o mesmo raciocínio, quando programamos o forno de micro-ondas com nível de potência a 50 % encontramos o valor de 366,0 W, ou seja, 45,7 % de aproveitamento de energia. Também pode-se observar que a média da variação de temperatura não é tão drástica (8,6°C de diferença) quanto a variação da potência real ou eficiência de energia entre o nível de radiação pulsado 50% e o contínuo 100% (261,5 W de diferença).

O mesmo raciocínio foi utilizado para verificar a quantidade de energia disponível quando utilizou-se o micro-ondas no nível de 10%, pois foram realizados estudos preliminares neste nível de potência e verificou-se que a quantidade de energia disponível foi muito reduzida para atingir os resultados esperados de descontaminação, apenas 8,71%. Para a utilização deste nível de potência, seria necessário elevar demasiadamente o tempo de irradiação pulsada, o que

pode alcançar temperaturas mais elevadas, devido ao aquecimento promovido por condução quando a emissão das micro-ondas são suspensas, durante o período pulsado, tornando inviável a sua utilização neste estudo.

A eficiência de conversão do micro-ondas em estudo foi considerada satisfatória, uma vez que, Bizzi et al., (2011) verificaram a potência real de um micro-ondas doméstico (Brastemp®) de 38 L, porém de potência nominal superior (950 W) e a eficiência de conversão foi de 71,6% equivalente à 680 W de potência disponível na cavidade de irradiação. A potência máxima determinada é relativamente inferior àquela fornecida pelos fabricantes de equipamentos de micro-ondas, embora esteja dentro da faixa de potência de fornos domésticos (BARBOZA et al., 2001).

Buscando conhecer a potência real de um forno micro-ondas doméstico, marca Philco® com 900 W de potência de saída, Raschen et al., (2014) encontraram o valor de 697 W, ou seja 77, 4% de energia disponível. Apesar de serem de marcas diferentes (LG® e Philco®), e o segundo possuir potência nominal superior, os fornos de micro-ondas apresentaram aproveitamento de energia similar. Esse resultado pode ser devido às adaptações realizadas no forno utilizado por Raschen et al., (2014), o qual foi adicionado uma mangueira de polietileno para a circulação de água e absorção do excesso de energia.

A calibração da potência foi realizada em todos os níveis, para o conhecimento do forno, verificar a eficiência da conversão durante a radiação pulsada e relacionar com a distribuição das micro-ondas no interior da cavidade. No entanto, serão discutidos os efeitos da descontaminação da carne bovina moída *in natura* baseados no nível pulsado (50%) e na potência contínua ou máxima (100%).

4.3 Avaliação da irradiação com micro-ondas pulsada

Partindo-se da temperatura inicial de 1000 mL de água ultrapura à 22°C, a Tabela 4, demonstra o resultado do estudo realizado com o forno micro-ondas programado nos níveis 10% e 50% (pulsado) e 100% (contínuo) de potência.

Tabela 4. Níveis de potência programada, períodos alternados de irradiação, tempo real de irradiação e variação de temperatura atingida durante 60 segundos.

Nível de Potência (P) Programada (%)	Intervalos alternados de irradiação (s)	Tempo real de irradiação (s)	Varição de temperatura ($\Delta^{\circ}\text{C}$)
10	60 - 55 e 28 - 23	10	1,0
50	60 - 43 e 28 - 11	34	4,5
100	60	60	9,1

O estudo da irradiação pulsada possibilitou uma série de informações. Primeiramente, demonstrou que o equipamento de micro-ondas doméstico ou convencional (e neste caso, 800 W de potência nominal e 627,5W de potência real) não pode ser alterado manualmente em quantidade de potência de operação e sim, quanto a distribuição pulsada ou alternada da irradiação micro-ondas. A maioria dos fornos domésticos, utilizam magnetrons que geram o campo eletromagnético e emitem as micro-ondas a 2,45 GHz (ou 2450 MHz) e permitem gerar micro-ondas contínuas ou pulsadas (THOSTENSON; CHOU, 1999; VOLMER; PARKER, 2004). Em síntese, os equipamentos convencionais trabalham sempre na mesma potência, porém se programado no seu painel de controle, de acordo com as instruções de cada fabricante, nos diferentes níveis de potência, ocorrerá uma distribuição da energia em períodos alternados de acordo com o tempo sugerido e o nível de potência programado.

Observando a Tabela 4 é possível analisar e discutir algumas informações relevantes deste estudo. Um dos testes preliminares (item 3.2.1.2) consistiu em comparar a temperatura atingida em 25 g de amostra irradiada durante 20 s para o tratamento com nível de potência pulsada 10% e tratamento com potência contínua (100%). Observou-se que os resultados de temperatura alcançados quando as amostras foram submetidas a irradiação contínua (100%) e pulsada à 10% foram de 60,6°C e 18,0°C, respectivamente. Ambos resultados não foram satisfatórios para o objetivo proposto deste trabalho, porque observou-se visualmente o cozimento das amostras, no entanto, a partir deste experimento foi definido o estudo da radiação pulsada e as adaptações para padronizar o método de descontaminação de carne bovina moída *in natura* por micro-ondas como a adoção do recipiente de polipropileno.

Através do estudo da radiação pulsada foi possível considerar que para compararmos tratamentos com radiação pulsada e contínua é necessário equiparar o tempo real de irradiação, ou seja, o tempo em que o magnetron está emitindo micro-ondas alternadas deve ser igual ao tempo da irradiação contínua. O teste preliminar citado acima, serve de exemplo para elucidar este fato, pois se quisermos comparar um tratamento com nível de potência pulsada 10% com um tratamento com potência contínua durante os 20 s propostos de tratamento de descontaminação, temos que equilibrar os tempos reais de irradiação, ou seja, na potência contínua a irradiação é máxima, permanece o tempo estabelecido, entretanto no nível de potência pulsada 10% são necessários 120 s, programados no painel de controle do forno de micro-ondas. Conforme ilustra a Tabela 4, no nível de 10% de potência, durante 60 s, o magnetron opera apenas durante 10 s, especificamente nos intervalos de tempo, entre 60 e 55 segundos, e entre 28 e 23 segundos.

O uso da irradiação pulsada em nível de 10% de potência, foi desconsiderada para fins experimentais deste trabalho, por necessitar de um tempo relativamente elevado para a aplicação desta tecnologia. Neste contexto, fez-se o estudo do nível de potência pulsada 50%, como demonstrado (Tabela 4) durante o tempo de 60 s, observou-se a emissão das micro-ondas, da mesma forma que a irradiação pulsada discutida anteriormente. Esta também ocorreu em dois pulsos, porém de 17 segundos cada, entre 60 e 43 segundos, e entre 28 e 11 segundos.

Não bastando este estudo, foram testados o aquecimento de 1000 mL de água ultrapura, com micro-ondas programado no nível de 50%, para todos os tempos, ou seja, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 segundos conforme demonstra a Tabela 5.

Tabela 5. Nível de 50% de potência programada, tempo programado de irradiação, intervalo alternado de irradiação, tempo real de irradiação e variação da temperatura atingida nos tempos de 10 a 60 s, intercalados a cada 5 s.

Tempo (s) programado no painel de controle	Intervalos alternados de irradiação (s)	Tempo real de irradiação (s)	Varição de temperatura ($\Delta^{\circ}\text{C}$)
10	10	10	1,2
15	De 15 a 3	12	2,0
20	De 20 a 3	17	2,0
25	De 25 a 8	17	2,0
30	De 30 a 13	17	2,0
35	De 35 a 18 e de 3 a 0	20	2,0
40	De 40 a 23 e de 8 a 0	25	3,3
45	De 45 a 28 e de 13 a 0	30	4,1
50	De 50 a 33 e de 18 a 1	34	4,1
55	De 55 a 38 e de 23 a 6	34	4,3
60	De 60 a 43 e de 28 a 11	34	4,2

Analisando a Tabela 5, verificou-se que em 10 s neste nível a irradiação foi contínua; em 15 s a irradiação foi de 12 s; enquanto que a programação de 20, 25 e 30 s não apresentam diferença de tempo pulsado de irradiação (17 s); 35 s foi o tempo programado que irradiou durante 20 s pulsados, sendo este tempo definido para a realização da irradiação pulsada, pois assim foi possível estabelecer tratamentos equivalentes, onde ambos receberam 20 s de irradiação, independentemente de ter sido contínuo ou intermitente. Os demais tempos de 40 e 45 s programados no nível de 50% compreenderam 25 e 30 s de irradiação, respectivamente, e 50, 55 e 60 s corresponderam todos à 34 s de irradiação pulsada. Verificou-se que o comportamento do micro-ondas durante a irradiação pulsada (50%) permaneceu constante e irradiou ou pulsou as micro-ondas em intervalos de 17 s, ou seja, demonstrou sempre que o micro-ondas iniciou o processo irradiando por 17 s, e logo tornou-se intermitente, só retornando a emissão em função do tempo que foi programado, neste caso, a partir de 35 s, observou-se que ele pulsou duas vezes, inicialmente, de 35 a 18 s e depois retornou a emissão quando

restavam 3 s para completar o tempo programado. Notou-se também que a variação da temperatura aumentou em relação ao tempo.

Já o micro-ondas em potência contínua (100%) atua na potência máxima, sem precisar de programação no painel de controle do micro-ondas, pois o tempo estabelecido de tratamento é igual ao tempo de irradiação, não necessita de equivalências.

4.4 Mapeamento do micro-ondas com água ultrapura

O resultado do mapeamento do forno de micro-ondas com água ultrapura pode ser observado na Tabela 6. As temperaturas foram verificadas simultaneamente após o tempo de irradiação de 60 s.

Tabela 6. Distribuição da radiação do forno de micro-ondas empregando-se irradiação nos modos contínuo e pulsado.

Regiões de Identificação dos bêqueres no prato giratório	Varição de Temperatura (°C)	Potência (W)
<i>Irradiação contínua (100%)*</i>		
Centro	38,6	67,4
Intermediária	28,7	50,3
Borda	38,9	67,8
<i>Irradiação pulsada (50%)**</i>		
Centro	16,6	29,1
Intermediária	14,3	25,4
Borda	18,8	33,6

Temperatura inicial da água: * 22°C e **25°C.

Este experimento foi importante para determinar as regiões de maior e menor incidência das micro-ondas. Partindo-se da eficiência de conversão de energia do micro-ondas seja, contínuo (78,4%) ou pulsado (45,7%), em ambos modos de aplicação das micro-ondas, foi

possível observar que a região intermediária apresentou o menor aumento de temperatura da água, assim como apresentou a menor incidência da radiação, 50,3 W e 25 W, respectivamente. Bizzi et al., (2011), através da irradiação contínua, mapearam um forno de micro-ondas doméstico de 71,6% de eficiência de conversão e encontraram o centro como a região de menor incidência de irradiação, isto mostra que independente da eficiência de conversão de energia de cada forno de micro-ondas, cada um deve ser mapeado, a fim atingir o objetivo proposto em relação a distribuição de energia dentro da cavidade de irradiação.

A realização deste mapeamento demonstrou, em geral, que a distribuição da irradiação na cavidade do forno de micro-ondas não é uniforme, pois a região da borda do prato de micro-ondas demonstrou ser a de maior absorção da irradiação pulsada (50%), enquanto que a irradiação contínua apresentou pouca diferença comparada a absorção no centro do prato. Com o propósito de verificar a distribuição da irradiação, Whittaker (2002 apud ROSINI et al., 2004) utilizaram *marshmallows* distribuídos uniformemente na cavidade de um forno de micro-ondas doméstico, com e sem o prato giratório e justificaram porque ocorre este efeito em um forno de micro-ondas. A distribuição da radiação não é uniforme porque uma pequena parte da radiação é absorvida pelas paredes do forno e a maior parte é refletida por estas, podendo ocorrer interferência de ondas, que podem ser construtivas (ondas de alta intensidade) ou destrutivas (WHITTAKER 2002 apud ROSINI et al., 2004). Quanto a irradiação com ou sem o prato giratório, o autor observou que quando o prato não foi utilizado, o aquecimento foi muito distinto entre os *marshmallows*, ou seja, nos pontos de maior incidência, ocorreu a caramelização (*hot spot*) e nos pontos de menor incidência de radiação permaneceram quase inalterados. Entretanto, os “marshmallows” que foram irradiados sobre o prato giratório apresentaram aumento de volume mais uniforme e não tiveram aquecimento excessivo.

O resultado deste estudo possibilitou padronizar para este trabalho, a utilização do prato giratório para a aplicação da irradiação e a posição da amostra, do recipiente de polipropileno contendo a amostra na cavidade do forno. O centro do prato giratório foi definido como posição ideal, uma vez que recebeu uma quantidade razoável de radiação e não apresentou aquecimento excessivo, desejável para a aplicação desta tecnologia na descontaminação de carne *in natura*.

4.5 Mapeamento do micro-ondas com imagem termográfica

O estudo do micro-ondas realizado por meio das imagens termográficas das amostras de carne irradiadas com micro-ondas, contínua e pulsada, pode ser visualizado na Figura 9.

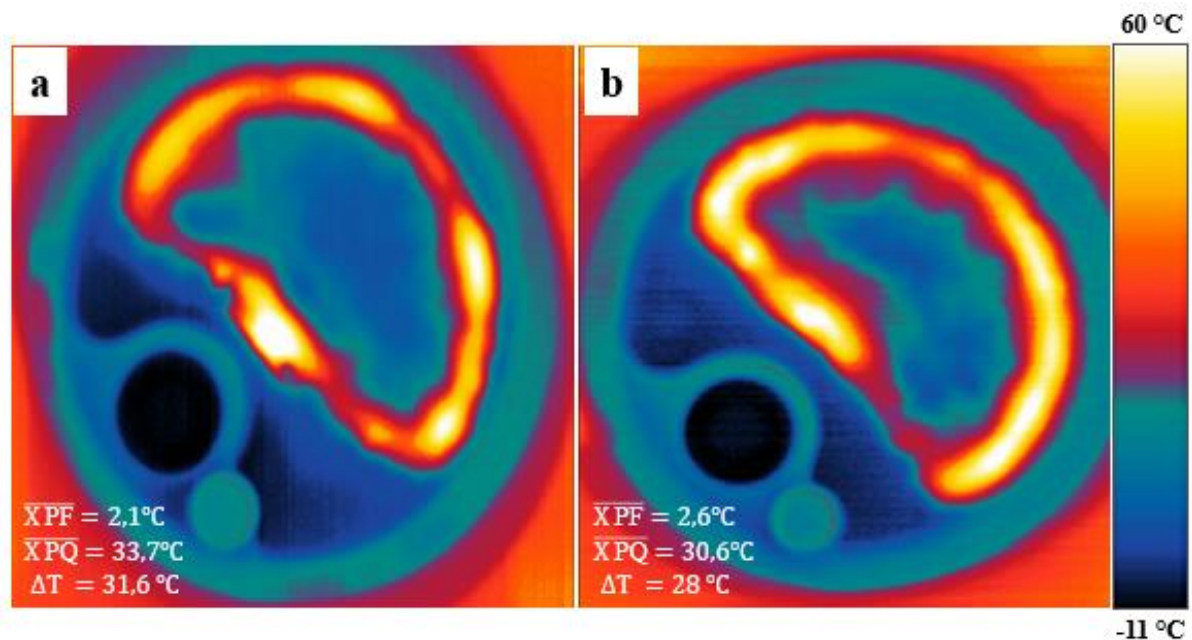


Figura 9 – Imagens termográficas obtidas de carne bovina moída *in natura*: (a) irradiação contínua de micro-ondas (M 100); (b) irradiação pulsada de micro-ondas (M 50).

Na Figura 9a, representada pela imagem da carne bovina moída *in natura* irradiada com tratamento contínuo de radiação micro-ondas (M 100), as médias dos pontos quentes (zona amarela ou borda do prato) e frios (zona azul ou centro do prato), foram 33,7 °C e 2,1 °C, e por estes resultados, apresentaram maior variação da temperatura, $\Delta T = 31,6$ °C ou seja, maior aquecimento, conseqüentemente, este tratamento é mais suscetível a formação de pontos de superaquecimento (*hot spots*) devido a distribuição da radiação ser mais heterogênea. No entanto, após a irradiação a carne bovina moída *in natura* não apresentou nenhum ponto de cozimento ou aspecto de cozimento visual. Buscando avaliar a transferência de calor, com este mesmo método, porém para uma escala de -10°C a 100 °C, Pichai et al., (2014) verificaram os pontos de *hots spots* em nuggets de frango congelado e encontraram valores médios de 5,8 °C

para os pontos frios e 26,2 °C para os pontos quentes, com uma variação de temperatura de $\Delta T = 20,4$ °C, após 90 s de irradiação por micro-ondas contínua. Estas variações de temperaturas estão relacionadas com as propriedades dielétricas dos produtos, pois estas sofrem alterações quando as temperaturas são alteradas, assim como a frequência.

Em contrapartida, a Figura 9b, carne bovina moída *in natura* irradiada com tratamento pulsado de micro-ondas (M 50), apresentou como médias de pontos quentes e frios, 30,6°C e 2,6°C, respectivamente, e a variação da temperatura $\Delta T = 28$ °C. Comparando a imagem (b) com a (a) na Figura 9, ficou visível, a diferença na distribuição da irradiação. A irradiação pulsada (b) permitiu o aquecimento mais lentamente, em função do seu processo intermitente, o qual iniciou irradiando a amostra por 17 s, sofreu uma interrupção de 15 s (sem irradiação). No entanto, o aquecimento continuou por meio da transferência de calor por mecanismo de condução, e retornou a receber a irradiação por mais 3 s até o final do tempo do seu tratamento (20 segundos). Analisando a Figura 9b é possível observar a expansão do calor das moléculas com temperaturas mais elevadas (borda) em direção às moléculas de temperaturas mais reduzidas (centro). Assim, a distribuição da radiação foi mais homogênea, com menor variação de temperatura, tanto nos pontos quentes, quanto nos frios reduzindo a ocorrência de *hot spots* no tratamento de irradiação micro-ondas pulsada (M 50).

As imagens termográficas obtidas da carne bovina moída *in natura* irradiadas através dos tratamentos: micro-ondas contínuo (M 100) e micro-ondas pulsado (M 50) foram utilizadas para justificar os resultados microbiológicos encontrados por estes tratamentos. Um dos desafios a ser superado para permitir a utilização plena da energia de micro-ondas na descontaminação de carnes é a falta da uniformidade na distribuição da temperatura, principalmente, o efeito de superaquecimento de borda, como mostrou a Figura 9 e de acordo com os resultados encontrados nos mapeamentos com água ultrapura e no teste com o papel termossensível, o qual é um fenômeno não-ressonante causado pelo campo elétrico paralelo para a extremidade do alimento (BARBOSA-CÁNOVA et al., 2014; YARMAND; HOMAYOUNI, 2011).

Segundo Barbosa-Cánova et al., (2014), Yarmand, Homayouni (2011) e Thostenson, Chou (1999) as propriedades dielétricas dos alimentos são os principais parâmetros que devem ser conhecidos, através de uma gama de temperaturas experimentadas pelo produto para permitir a adequada previsão do comportamento de aquecimento dielétrico, sendo que estas, são muitas vezes dependentes da temperatura. A fim de reduzir os efeitos de superaquecimento, Raschen et al., (2014) utilizaram água dentro da cavidade junto com o alimento, para auxiliar na remoção do excesso de radiação na cavidade. Yarmand, Homayouni (2011) sugerem ainda,

para micro-ondas convencionais a utilização da radiação pulsada, e em micro-ondas que não sejam de utilidade convencional, a variação da frequência de irradiação para minimizar este problema.

O estudo do mapeamento do forno de micro-ondas foi complementado após a realização das imagens termográficas das amostras de carne irradiadas simultaneamente com micro-ondas e ultravioleta UV-C, contínua e pulsada, como pode ser visualizado na Figura 10.

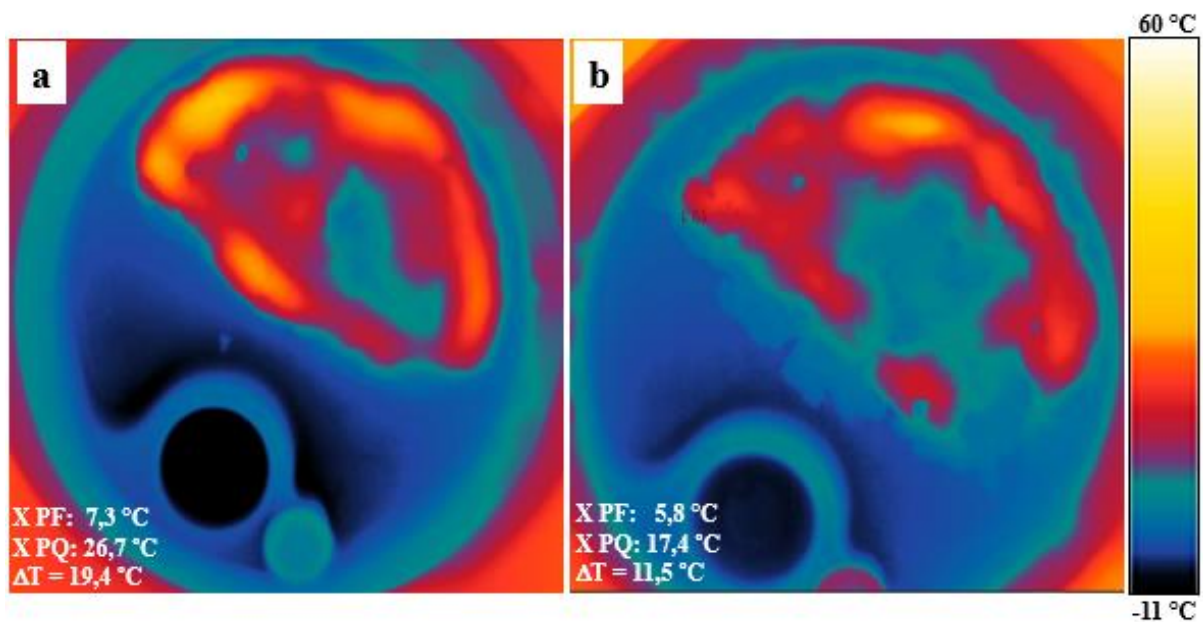


Figura 10 – Imagens termográficas obtidas de carne bovina moída *in natura*: (a) irradiação contínua de micro-ondas e ultravioleta UV-C (MUV 100); (b) irradiação pulsada de micro-ondas e ultravioleta UV-C (MUV 50).

Na Figura 10a, representada pela imagem da carne bovina moída *in natura* irradiada com tratamento contínuo e simultâneo de radiação micro-ondas e ultravioleta (MUV 100), as médias dos pontos quentes (zona amarela, partindo da borda para o centro do prato) e frios (zona azul ou centro do prato), foram 26,7°C e 7,3°C, com variação da temperatura, $\Delta T = 19,4^\circ\text{C}$, enquanto que a Figura 10b, representada pela imagem da carne bovina moída *in natura* irradiada com tratamento pulsado e simultâneo de radiação micro-ondas e ultravioleta (MUV 100), as médias dos pontos quentes e frios foram 17,4°C e 5,8°C, com variação da temperatura, $\Delta T = 11,5^\circ\text{C}$. Se compararmos as duas imagens (a e b) é possível dizer que o tratamento

simultâneo pulsado das tecnologias apresentou menor variação de temperatura e consequentemente, distribuição mais uniforme da temperatura.

Por outro lado, a comparação das imagens termográficas da Figura 9a e b com as da Figura 10a e b, mostra vantagem da aplicação simultânea das tecnologias micro-ondas e ultravioleta, pois as variações de temperaturas foram menores no método combinado, demonstrando que esta aplicação é uma alternativa promissora para a descontaminação de carne bovina moída *in natura*. Os resultados microbiológicos discutidos na sequência, demonstram quantitativamente a eficiência do método combinado das tecnologias.

4.6 Mapeamento do micro-ondas com a lâmpada ultravioleta

Os resultados obtidos na contagem de aeróbios mesófilos totais estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Efeito da irradiação com micro-ondas e ultravioleta em micro-organismos aeróbios mesófilos (log UFC/g) quanto a posição analisada, altura da lâmpada ultravioleta (2 cm e 4 cm) e região de coleta de amostra (borda e centro do recipiente de polipropileno).

Posição	Micro-ondas 50% e UV	Micro-ondas 100% e UV
1	4,68 ^a ± 0,02	4,83 ^a ± 0,30
2	4,62 ^a ± 0,21	4,62 ^a ± 0,35
3	4,45 ^a ± 0,69	4,50 ^a ± 0,30
4	4,58 ^a ± 0,83	4,75 ^a ± 0,36

*Valores apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) pelo Teste de Tukey. Legenda: Posição 1: lâmpada ultravioleta à 2 cm de altura da amostra e amostra coletada da borda do prato; Posição 2: lâmpada ultravioleta à 4 cm de altura da amostra e amostra coletada da borda do prato; Posição 3: lâmpada ultravioleta à cm de altura da amostra e amostra coletada do centro do prato; Posição 4: lâmpada ultravioleta à 4 cm de altura da amostra e amostra coletada do centro do prato.

Os resultados das análises microbiológicas obtidos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) quando comparados entre si, porém diferiram ($p < 0,05$) da amostra controle que

apresentou média de 6,37 log UFC/g. Os tratamentos com micro-ondas pulsada (M 50) e contínua (M 100) combinados com a radiação ultravioleta UV-C, tão pouco diferiram quanto as alturas estipuladas para o posicionamento da lâmpada no interior da cavidade e os locais de coleta da amostra para a análise microbiológica. Acredita-se que estes resultados não diferiram ($p > 0,05$) devido essas regiões apresentarem-se muito próximas, uma vez que a cavidade interna do micro-ondas (30 L) ser pequena, assim como o tamanho do recipiente da amostra.

Estes resultados foram considerados satisfatórios, uma vez que possibilitou a padronização desta técnica sem restrições quanto a posição da lâmpada e local de coleta de amostra para análise microbiológica. Ficou estabelecido como posição da lâmpada, independentemente da distância da amostra, o centro da cavidade interna do forno para melhor distribuição da radiação. Sendo o centro também a região de menor incidência de pontos de superaquecimento, uma vez que o objetivo é manter a carne com aspecto *in natura*.

4.7 Aspectos microbiológicos e físico-químicos das amostras submetidas à diferentes tratamentos com radiação micro-ondas e ultravioleta

A amostras de carne bovina moída *in natura* controle e irradiadas pelos tratamentos propostos com micro-ondas isolado e micro-ondas combinado com ultravioleta UV-C, nas potências alternada e contínua, foram submetidos a análise de *Salmonella* spp, conforme preconiza a legislação para este produto e todas apresentaram ausência deste micro-organismo em 25 g de amostra, estando de acordo com a legislação.

As placas submetidas a análise de enterobactérias apresentaram resultados dentro de um padrão satisfatório de qualidade, pois os resultados obtidos foram estimados, ou seja, < 1 log UFC/g, que corresponde a ausência de crescimento de colônias. Da mesma forma, não houve suspeita para a análise de coliformes termotolerantes, somente algumas placas, com duas e quatro colônias oriundas do tratamento MUV 50 foram submetidas a análise.

A enterobactéria gram-negativa *E. coli* é capaz de desenvolver-se em temperaturas de 7 a 46°C, sendo a temperatura ótima 37°C. A carne bovina moída quando consumida mal cozida é a maior responsável por surtos de *E.coli* (GERMANO; GERMANO, 2011). Entretanto, os resultados obtidos para a contagem de coliformes termotolerantes para o tratamento descrito foi < 1 log UFC/g, idem ao resultado para enterobactérias. Visto que os resultados encontrados nas análises de *Salmonella* spp, enterobactérias e termotolerantes corresponderam a ausência destes

micro-organismos nas amostras de carne moída *in natura* irradiadas e controle pode-se comprovar que a matéria-prima utilizada nas análises deste experimento foi obtida e processada em condições higiênico sanitária satisfatórias.

Pucciarelli e Benassi (2005) também estudaram o efeito da irradiação micro-ondas pulsada e contínua sobre *Salmonella enteritidis* inoculada em peitos de frango. No estudo, utilizaram um forno de micro-ondas doméstico (800 W) e avaliaram os efeitos do aquecimento por micro-ondas nos níveis de potência programada (60% e 100%), com tempos de 10 a 140 segundos de irradiação sobre *Salmonella enteritidis* inoculada (7 log UFC/g) em coxas de frangos frescos. As temperaturas foram medidas internamente e sob a pele da coxa, demonstrando que o resultado interno foi 11°C mais elevado que a temperatura da pele no nível contínuo (100%). Para a destruição das cepas de *S. enteritidis* inoculadas através da radiação pulsada (60%) foram necessários 140 s, por outro lado, a aplicação da radiação contínua atingiu este resultado após 80 s. De acordo com os autores, o aquecimento por micro-ondas foi eficiente na destruição desta bactéria, dependendo das condições de tempo de irradiação e de nível de potência propostos, sendo considerado o mais eficiente o nível de potência contínua (100%), pois nenhuma célula bacteriana foi detectada após 110 s (PUCCIARELLI; BENASSI, 2005).

As demais análises microbiológicas realizadas neste trabalho também prezam pela qualidade higiênico sanitária do produto e foram sugeridas para avaliar os efeitos dos tratamentos conforme consta na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados das análises microbiológicas de *Staphylococcus* coagulase positiva, aeróbios mesófilos, psicrotróficos, termófilos, bolores e leveduras, das amostras de carne bovina moída *in natura* submetida aos diferentes tratamentos.

Parâmetro (log UFC/g)	Tratamentos				
	C	M 50	M 100	MUV 50	MUV 100
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	2,53 ^a ±0,02	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Mesófilos	4,75 ^a ±0,08	4,78 ^a ±0,01	4,76 ^a ±0,03	4,70 ^a ±0,01	4,34 ^b ±0,16
Psicrotróficos	4,37 ^{ab} ±0,03	4,01 ^b ±0,02	3,25 ^c ±0,01	3,42 ^c ±0,02	2,94 ^d ±0,16
Termófilos	4,07 ^a ±0,04	3,35 ^b ±0,01	2,88 ^b ±0,16	2,25 ^c ±0,04	< 1,0
Bolores e leveduras	4,12 ^a ±0,26	3,70 ^a ±0,14	3,72 ^a ±0,15	2,20 ^b ±0,0	1,90 ^b ±0,19

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey; **C – controle; M 50 – micro-ondas pulsado (50%); M 100 – micro-ondas contínuo (100%); MUV 50 – micro-ondas e ultravioleta UV-C pulsado; MUV 100 –micro-ondas e ultravioleta UV-C contínuo.

Durante a obtenção da matéria-prima, o processamento e a manipulação, os alimentos podem ser contaminados com uma grande variedade de micro-organismos. Consequentemente, durante a distribuição e o armazenamento, as condições são favoráveis para a multiplicação de micro-organismos específicos, causando a deterioração do alimento (FORSYTHE, 2002).

Conforme demonstrado na Tabela 8, as médias obtidas para a análise de *Staphylococcus* coagulase positiva das amostras, controle (C) diferiu estatisticamente (p<0,05) das demais amostras tratadas, demonstrando a eficiência da aplicação da radiação micro-ondas e ultravioleta na destruição deste micro-organismo. A presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* nos alimentos, indica falhas na higiene dos manipuladores uma vez que estas são encontradas na pele, mucosas, intestino e trato respiratório humano (GERMANO; GERMANO, 2011).

Os tratamentos com radiação micro-ondas pulsada (M 50) e contínua (M 100) como métodos isolados e a aplicação simultânea de micro-ondas e ultravioleta pulsada (MUV 50) e contínua (MUV 100) foram eficazes na inativação microbiana de *Staphylococcus* coagulase

positiva, pois apresentaram ausência do mesmo ($< 1,0 \times 10$ UFC/g). Estes resultados sugerem que a otimização das tecnologias micro-ondas e ultravioleta promoveram a melhor eficiência na descontaminação da carne bovina moída *in natura*, talvez pelo sinergismo, as micro-ondas através dos seus efeitos térmicos e não térmicos atingindo toda a amostra, enquanto, que a ultravioleta, embora apresente potencial bactericida superficial, apresenta maior comprimento de onda que as micro-ondas, logo possui maior energia. Barnabas et al., (2013) comprovaram que cepas de *S. aureus* sofreram estes efeitos quando foram expostas por 5 s de irradiação com micro-ondas, promovidas por um forno doméstico. Estes efeitos não térmicos foram identificados por manchas pretas nas lâminas que continham as cepas irradiadas (BARNABAS et al., 2013).

Hardjawanata, Setiawati e Dewi (2005) comprovaram o efeito bactericida da radiação ultravioleta quando coletaram amostras do ar de uma clínica dentária, isolaram *S. aureus* e irradiaram com uma lâmpada ultravioleta (253,7 nm) em diferentes tempos de exposição e no tempo mínimo utilizado, 5 min, 89,1% das colônias já haviam sido inibidas.

Os estafilococos são bactérias mesófilas apresentando temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C (MASSAGUER, 2005). Os micro-organismos aeróbios mesófilos demonstraram ser o grupo mais resistente às tecnologias propostas, pois apenas o tratamento com a radiação simultânea de micro-ondas e ultravioleta contínua UV-C (MUV 100) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais, reduzindo 0,41 log UFC/g em relação ao controle.

Os resultados das contagens de micro-organismos psicotróficos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos, salvo o M 50, que não apresentou diferença significativa, porém a redução foi de 0,36 log UFC/g. De acordo com os demais resultados, observou-se que o tratamento simultâneo de micro-ondas e ultravioleta contínuo (MUV 100) apresentou o melhor efeito sobre os micro-organismos psicotróficos, pois apresentou uma redução de 1,43 log UFC/g comparado ao controle. De acordo com a literatura e com os padrões internacionais este resultado (2,94 log UFC/g) encontra-se abaixo de 6 log UFC/g considerando que o alimento apresenta qualidade sanitária e pode ter sua vida útil prolongada (MASSAGUER, 2005; SILVA et al., 2007). Este resultado é relevante, visto que vários estudos identificaram estes micro-organismos como os principais deteriorantes de carnes frescas refrigeradas (TSHABALALA; KOCK; BUYS, 2012; DOULGERAKI et al., 2012).

Os psicotróficos são definidos como grupo de micro-organismos que crescem a temperaturas mínimas baixas, próximo de 0°C, mas possuem uma temperatura máxima similar a dos mesófilos, tendo como faixa de temperatura ótima entre 20 – 30°C, também são definidos

por alguns autores, como aqueles que crescem visivelmente quando incubados por 7 a 10 dias de 0 a 7°C (TONDO; BARTZ, 2011; MASSAGUER, 2005). Talvez esta seja a justificativa para o tratamento M 50, não ter apresentado efeito significativo, já que as temperaturas médias de pontos quentes e frios, foram 30,6°C e 2,6°C.

As contagens de termófilos foram realizadas a fim de verificar os efeitos dos tratamentos. Segundo a literatura, estes geralmente se multiplicam em temperaturas acima de 45°C, com temperaturas ótimas de multiplicação entre 55°C e 65°C e não tem sido envolvidos em DTAs (TONDO; BARTZ, 2011). De acordo, com as imagens termográficas dos tratamentos utilizando apenas micro-ondas (Figura 9) ou a aplicação simultânea de micro-ondas e ultravioleta (Figura 10), as médias de temperaturas não alcançaram a faixa de multiplicação destes micro-organismos.

Assim, analisando a Tabela 8, observou-se que o tratamento MUV 100, apresentou o melhor efeito descontaminante e eliminou este grupo de micro-organismos (<1,0 log UFC/g). Enquanto que, a amostra controle apresentou 4,07 log UFC/g diferindo significativamente das amostras irradiadas. As amostras tratadas com M 50 (média de temperatura máxima de 28°C) e M 100 (média de temperatura máxima de 31,6°C) não apresentaram diferenças significativas entre si, mas diferiram significativamente do controle e dos demais tratamentos.

O crescimento de bolores e leveduras tem menor importância na deterioração de carnes, uma vez que a baixa acidez e alta atividade de água dificultam o seu crescimento (REMENANT et al., 2015), no entanto, foi relevante observar o efeito nas contagens microbiológicas dos tratamentos sobre este grupo de micro-organismos.

O desenvolvimento de bolores e leveduras das amostras controle, M 50 e M 100 não diferiram entre si, mas demonstraram diferenças significativas quando comparadas com as amostras irradiadas simultaneamente por meio das tecnologias micro-ondas e ultravioleta. Destacando, novamente, o tratamento MUV 100, como o mais eficaz significativamente, resultando em uma diferença de 2,22 log de redução microbiana em comparação com o controle (4,12 log) e o MUV 50 com uma diferença de 1,92 log UFC/g em relação ao controle. A otimização das tecnologias resultou em melhor efeito no controle microbiológico deste grupo de micro-organismos, embora outros autores tenham obtido resultados muito significativos com a irradiação micro-ondas contínua, como Sharma, Eastridge e Mudd (2009) apresentaram resultados satisfatórios no controle de bolores e leveduras de esponjas contaminadas (contagem inicial 7,3 log UFC/esponja) após a irradiação por micro-ondas durante 1 min, a contagem microbiana reduziu em torno de 6 log UFC/esponja. Corroborando com estes resultados, Poletto et al., (2014) irradiaram esponjas contaminadas (contagem inicial 8,14 log UFC/g) com micro-

ondas na potência máxima durante 20 s e obtiveram uma redução de 3,72 log UFC/g na contagem de bolores e leveduras. As micro-ondas de maneira isolada ou combinada à ultravioleta diante destes estudos demonstraram-se muito promissoras para o controle microbiológico de bolores e leveduras contribuindo para a literatura que não apresenta muitos resultados neste aspecto.

A Tabela 9 apresenta os valores obtidos de pH, atividade de água e umidade das amostras submetidos aos tratamentos deste estudo.

Tabela 9. Valores de pH, atividade de água (a_w) e umidade das amostras de carne bovina moída *in natura* submetida aos diferentes tratamentos.

Parâmetro	Tratamentos				
	C	M 50	M 100	MUV 50	MUV 100
pH (íons H ⁺)	5,46 ^a ±0,00	5,46 ^a ±0,00	5,45 ^a ±0,02	5,42 ^a ±0,00	5,43 ^a ±0,00
a_w	0,98 ^a ±0,00	0,99 ^b ±0,00	0,99 ^b ±0,00	0,99 ^b ±0,00	0,99 ^b ±0,00
Umidade (%)	75,89 ^a ±0,46	73,14 ^b ±0,79	74,35 ^c ±1,49	74,79 ^c ±0,42	74,90 ^c ±0,25

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão de cada análise, letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey;

**C – controle; M 50 – micro-ondas pulsado (50%); M 100 – micro-ondas contínuo (100%); MUV 50 – micro-ondas e ultravioleta UV-C pulsado; MUV 100 –micro-ondas e ultravioleta UV-C contínuo.

As médias de pH obtidas das amostras submetidas aos diferentes tratamentos não diferiram significativamente (p>0,05) entre si e comparadas ao controle. Apresentaram uma variação de 5,42 a 5,46, entre o menor e maior parâmetro obtido. Todos os valores encontraram-se de acordo com o pH de carne fresca, segundo Mills et al., (2014), uma carne que apresenta um pH normal pós-rigor, ou seja, pH final, quando todos os níveis disponíveis de glicogênio foram utilizados, deve estar em torno de 5,5. Assim, os tratamentos propostos com irradiação isolada de micro-ondas ou combinada com ultravioleta, independentemente de ser pulsada ou contínua não promoveram nenhum efeito no pH da carne bovina moída *in natura*. Deste modo, estas tecnologias com princípio de aplicação de descontaminação da carne *in*

natura podem ser viáveis, desde que tenham apresentado redução microbiana satisfatória, como os tratamentos que inativaram completamente *Staphylococcus* coagulase positiva, M 50, MUV 50 e M 100 e o MUV 100 que destruiu completamente os micro-organismos termófilos.

A sobrevivência, o crescimento e a sucessão de micro-organismos deteriorantes são afetados especificamente pelos componentes da carne, atividade de água, temperatura, pH e atmosfera da embalagem (DOULGERAKI et al., 2012). Neste contexto, analisando a atividade de água, a amostra controle diferiu significativamente ($p < 0,05$) de todas as amostras tratadas e estas não diferiram entre si ($p < 0,05$), mas apresentaram maior teor (0,99) o que pode ter influenciado negativamente na aplicação dos tratamentos. Neste teor de atividade de água todos os grupos de micro-organismos analisados são favorecidos a sobreviver e multiplicar-se. Embora, o teor de atividade de água da amostra controle tenha sido inferior (0,98) aos demais, nestes níveis o desenvolvimento microbiano ocorre normalmente, principalmente de bactérias, por isso é necessário criar outras barreiras para impedir a proliferação dos micro-organismos.

Quanto ao percentual de umidade encontrado nas amostras de carne bovina moída *in natura* tratadas com micro-ondas isolado e combinado com ultravioleta, nos respectivos níveis de potência, o tratamento M 50 foi o que apresentou menor índice, 73,14% e diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, assim como do controle 75,89% (Tabela 9). Os tratamentos M 100, MUV 50 e MUV 100 não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si. Estes parâmetros físico-químicos de a_w , pH e umidade estão diretamente relacionados com os resultados microbiológicos, pois influenciam diretamente no desenvolvimento microbiano, sendo possível analisar perfeitamente o efeito dos tratamentos aplicados.

Os fatores intrínsecos (sexo, raça, antioxidantes endógenos, idade do animal, o tipo de músculo e metabolismo, o pH final da carne, e a taxa de declínio de pH *post-mortem*) e extrínsecos (temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, tipo de embalagem, crescimento de micro-organismos) influenciam na cor e na sua estabilidade. Os mecanismos envolvidos na descoloração da carne não são completamente compreendidos devido à complexidade bioquímica da carne, no entanto, estes fatores tentam ser relacionados e revistos na literatura (BEKHIT; FAUSTMAN, 2005).

A Tabela 10 demonstra os resultados dos tratamentos, logo após a aplicação, sobre a cor da carne.

Tabela 10. Valores dos parâmetros de Luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarela (b^*), índice de saturação (c) e ângulo de tonalidade (h) das amostras de carne bovina moída *in natura* submetidas aos diferentes tratamentos.

Parâmetros	Tratamentos				
	C	M 50	M 100	MUV 50	M UV 100
L^*	38,59 ^a ± 0,06	39,60 ^a ± 0,22	40,34 ^a ± 0,08	40,15 ^a ± 0,17	40,54 ^a ± 0,37
a^*	19,03 ^a ± 0,01	17,10 ^b ± 1,10	18,52 ^a ± 0,18	17,85 ^{ab} ± 0,05	18,66 ^a ± 0,37
b^*	9,73 ^a ± 0,14	10,48 ^{ac} ± 0,46	9,80 ^a ± 0,22	9,38 ^{ab} ± 0,20	10,20 ^{ac} ± 0,35
c^*	21,37 ^a ± 0,06	19,68 ^b ± 1,07	20,72 ^{abc} ± 0,14	19,88 ^{bc} ± 0,05	21,03 ^{ac} ± 0,31
h^*	27,33 ^a ± 0,15	29,33 ^b ± 0,49	28,20 ^c ± 0,26	27,40 ^{ac} ± 0,30	27,96 ^{ac} ± 0,20

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão de cada análise, letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Analisando os efeitos promovidos pelos tratamentos observou-se que o brilho da carne não sofreu nenhum efeito significativo ($p > 0,05$) (Tabela 10).

Os diferentes tratamentos empregados não promoveram alterações significativas ($p < 0,05$) na cor vermelha (a^*) uma vez que o valor da amostra controle foi de 19,03 e as submetidas aos tratamentos por micro-ondas contínuo (M 100) 18,52 e por micro-ondas combinado a ultravioleta contínuo (MUV 100) 18,66, enquanto que as tratadas por micro-ondas pulsada (M50) 17,10 e micro-ondas combinado a ultravioleta pulsada (MUV 50) 17,85.

Analisando os tratamentos aplicados, pode-se dizer que a radiação micro-ondas no processo contínuo (M 100 e MUV 100) mantiveram mais estáveis a coloração vermelha da carne, indicando que o efeito térmico das micro-ondas, superior nestes dois tratamentos, não foi o fator responsável pela alteração que foi encontrada quando a radiação foi distribuída nos processos intermitentes (M 50 e MUV 50), onde a intensidade da cor vermelha (a^*) foi reduzida significativamente, e tão pouco esta redução possa ter sido influenciada pela radiação ultravioleta. Taze et al., (2013) utilizaram doses de 0 a 108,42 mJ/cm² de irradiação ultravioleta em suco de laranja e não encontraram diferenças significativas na coloração do mesmo. Assim, a ultravioleta pode não ser a responsável por esta redução significativa na intensidade da cor vermelha, e sim os efeitos não térmicos das micro-ondas, que causam alterações bioquímicas

ou eletrofísicas nas moléculas, decorrente dos campos eletromagnéticos induzidos, e não diretamente pelo aumento localizado ou distribuído de temperatura.

No processo de irradiação pulsada a distribuição das ondas, ou seja, da energia na forma de calor ocorre de maneira mais lenta, fato esse que pode ser verificado na imagem termográfica (Figura 12). Nessa imagem pode-se observar que o aquecimento é mais uniforme, e esse fator justifica os valores de a^* 17,10 e 17,85 obtidos nos tratamentos M 50 e MUV 50, respectivamente (Tabela 10).

Segundo Gonçalves e Lemos (2005) a desnaturação da mioglobina começa ser intensificada a partir de 70°C. Os mesmos autores avaliaram os parâmetros CIE L^* , a^* e b^* de carne bovina mal passada e encontraram os valores de 54,55; 13,28 e 16,55, respectivamente, quando compara-se com os resultados obtidos no tratamentos aplicados pode-se atestar que não houve a desnaturação do pigmento, pois em nenhum deles a temperatura aproximou-se deste valor.

Em síntese, os resultados microbiológicos encontrados através dos diferentes tratamentos com micro-ondas e a otimização com a ultravioleta resultaram na ausência de *Salmonella* spp em 25g de amostra de carne moída em todos os tratamentos e no controle. Todos os tratamentos foram satisfatórios no controle microbiológico de enterobactérias e termotolerantes, devido à ausência destes. A Tabela 8, apresentou os resultados microbiológicos dos tratamentos aplicados e a combinação das tecnologias micro-ondas e ultravioleta (pulsada ou contínua), e micro-ondas pulsado apresentaram resultado significativo ($p < 0,05$) sobre *Staphylococcus* coagulase positiva; o tratamento de irradiação contínua, tanto como método isolado como combinado apresentou maior redução sobre o grupo de mesófilos; o tratamento contínuo de micro-ondas foi significativo ($p < 0,05$) na redução de bactérias psicrótroficas; a destruição total de termófilos foi alcançada com a combinação das tecnologias por tempo contínuo, este tratamento também mostrou a maior redução de bolores e leveduras. Os resultados físico-químicos (Tabela 9) de pH não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) após os tratamentos, o teor de atividade de água de todos os tratamentos diferiu significativamente ($p < 0,05$) do controle e não entre eles, quanto à umidade das amostras, todos os tratamentos com irradiação micro-ondas e micro-ondas com ultravioleta apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) inferiores ao controle. Quanto à intensidade da cor vermelha da carne, os tratamentos contínuos (M 100 e MUV 100) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) do controle.

A seguir serão discutidos os efeitos na estabilidade da carne durante o armazenamento refrigerado.

4.7.1 Efeitos do tratamento MUV 100 na estabilidade da carne bovina moída *in natura* armazenada à 4°C

Diante dos resultados obtidos, anteriormente, nas análises da carne moída bovina *in natura* submetida aos diferentes tratamentos, a otimização das micro-ondas com a radiação ultravioleta no processo contínuo (MUV 100) foi o tratamento que demonstrou resultados estatisticamente satisfatórios, microbiológicos e físico-químicos. Por este motivo foi avaliado sua estabilidade microbiológica durante 14 dias de armazenamento à 4°C.

A microbiota natural da carne fresca é constituída por diversos micro-organismos, sendo mais comumente encontrados, bactérias lácticas, enterobactérias, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Shewanella* (CARDOSO, 2008). A carne moída é altamente suscetível à deterioração porque o processo de moagem fragmenta os sistemas musculares, distribuindo os micro-organismos em todo o produto, aumentando a oxidação de lipídios, os quais aceleram a descoloração da carne e o crescimento microbiano (GARNER et al., 2014). E ainda, o acondicionamento convencional da carne, altamente difundido nos supermercados brasileiros, que utiliza bandejas plásticas envoltas em filmes de alta permeabilidade ao oxigênio como o policloreto de vinila (PVC). Esse sistema combina alta permeabilidade ao oxigênio com baixa permeabilidade ao vapor de água garantindo a cor vermelho-brilhante atrativa para o consumidor no momento da compra. No entanto, a microbiota deteriorante composta principalmente por *Pseudomonas* spp. e a oxidação da oximioglobina à metamioglobina limitam a vida útil da carne na bandeja em cerca de 1 a 2 dias, dependendo da temperatura de refrigeração e do tipo de corte (SARANTÓPOULOS, 1991).

Neste contexto, foi avaliada a estabilidade microbiológica da carne bovina moída *in natura* nos dias 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12 e 14 dias de armazenamento refrigerado à 4°C, para as bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas e *Pseudomonas* spp conforme demonstra a Tabela 11.

Tabela 11. Número de colônias de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas e *Pseudomonas* spp em carne moída após a aplicação de 20 s de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta e durante o armazenamento à 4 °C.

Parâmetro microbiológico (log UFC/g)	Período de armazenamento (em dias)							
	0	1	2	3	6	9	12	14
<i>Mesófilas</i>								
MUV	4,35 ^a ± 0,03	4,98 ^a ± 0,05	6,23 ^a ± 0,03	7,33 ^a ± 0,06	9,04 ^a ± 0,56	9,04 ^a ± 0,56	9,16 ^a ± 0,11	9,23 ^a ± 0,21
Controle	4,71 ^b ± 0,12	5,28 ^b ± 0,03	6,53 ^b ± 0,10	7,53 ^a ± 0,22	9,34 ^a ± 0,07	9,23 ^a ± 0,05	9,17 ^a ± 0,04	9,28 ^a ± 0,15
<i>Psicrotróficas</i>								
MUV	4,25 ^a ± 0,04	5,86 ^a ± 0,06	5,96 ^a ± 0,06	6,25 ^a ± 0,34	7,85 ^a ± 0,60	8,82 ^a ± 0,13	9,30 ^a ± 0,25	9,49 ^a ± 0,03
Controle	5,33 ^b ± 0,30	6,27 ^b ± 0,13	6,65 ^b ± 0,42	7,29 ^b ± 0,04	9,16 ^b ± 0,26	9,48 ^b ± 0,45	9,71 ^b ± 0,27	9,89 ^b ± 0,21
<i>Pseudomonas</i>								
MUV	3,11 ^a ± 0,21	3,62 ^a ± 0,28	4,81 ^a ± 0,15	5,59 ^a ± 0,05	7,07 ^a ± 0,37	7,37 ^a ± 0,14	7,38 ^a ± 0,18	9,43 ^a ± 0,06
Controle	4,20 ^b ± 0,35	4,65 ^b ± 0,13	5,37 ^b ± 0,53	7,20 ^b ± 0,32	7,73 ^a ± 0,20	8,35 ^b ± 0,69	8,53 ^b ± 0,10	9,56 ^a ± 0,33

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão de cada análise, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

O estudo da vida de prateleira da carne bovina moída *in natura* irradiada (MUV 100) frente aos micro-organismos aeróbios mesófilos demonstrou diferenças significativas em relação ao controle nos dias 0, 1 e 2 de armazenamento, certificando que a aplicação das tecnologias promove a redução da microbiota existente tornando o método efetivo quanto ao efeito descontaminante. Entretanto, no segundo dia de armazenamento, as amostras irradiada e controle, apresentaram contagens superior a 6 log UFC/g indicando o início do processo de deterioração microbiana. Os resultados das contagens de aeróbios mesófilos nos dias 3, 6, 9, 12 e 14 de armazenamento não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre a amostra controle e irradiada, embora os resultados encontrados no 6º dia, demonstraram as amostras totalmente impróprias para o consumo, pois suas características sensoriais e microbiológicas denunciaram a deterioração do produto, conforme pode ser observado também através do resultado do pH neste dia 6,92 e a amostra controle com teor de pH superior, 7,21. De acordo com Venturini, Contreras-Castillo e Faria (2009), o desenvolvimento de odor pútrido ou azedo é perceptível quando as contagens de bactérias aeróbias é igual ou superior a 6 ciclos logarítmicos.

Mancini et al., (2002) descobriram que durante o armazenamento de carne moída (0 – 48 h) a carga microbiana de aeróbios aumenta significativamente. Ainda, eles encontraram cubos de carne moída entregues no mercado varejista com contagens de 2 a 4 log 10 UFC/g de bactérias aeróbias, logo, a contagem destes micro-organismos em carne moída exposta comercialmente durante 48h pode variar de 4 a 8 log UFC/g. Os resultados de aeróbios mesófilos deste estudo condizem com os dados da literatura, pois a deterioração causada por estes micro-organismos na carne bovina moída *in natura*, embalada em película estirável, permeável ao oxigênio, tratada com radiação micro-ondas e ultravioleta UV-C, e a amostra controle foi considerada aos 2 dias de armazenamento à 4°C, quando apresentou contagens de 6,23 log UFC/g e 6,53 log UFC/g respectivamente. A partir do 3º dia de armazenamento as amostras não apresentaram diferenças significativas para micro-organismos aeróbios mesófilos, indicando que novos estudos podem ser realizados para potencializar o efeito das tecnologias nos primeiros dias da vida de prateleira, uma vez que este grupo de micro-organismos são indicadores de qualidade.

Quanto ao efeito causado na microflora existente de psicotróficos nas amostras de carne que foram submetidas ao tratamento MUV 100, os resultados demonstraram diferenças significativas quando comparadas a amostra controle em todos os dias de análise da vida de prateleira. Destaca-se o efeito descontaminante das tecnologias combinadas sobre este grupo

nos dias 0, 1 e 2 dias de armazenamento, pois apresentaram diferenças de 1,08, 0,41 e 0,69 logs, respectivamente em relação ao controle. Da mesma forma que os resultados de mesófilos, as contagens de psicrotróficos, a partir do 3º dia de armazenamento excederam o limite de 6 logs, entretanto, segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) ambos grupos de micro-organismos são considerados indicadores de qualidade e não oferecem riscos direto a saúde humana.

Os micro-organismos psicrotróficos metabolizam proteínas, lipídeos e carboidratos em uma ampla faixa de temperatura de estocagem, quando esta se prolonga as mudanças são detectáveis (MASSAGUER, 2005). Ainda, segundo Franco e Landgraf (2008) a maioria da bactérias psicrotróficas tem seu crescimento ótimo em faixa de pH de 6,6 a 7,0, ou seja, as amostras tratadas de carne bovina moída *in natura* armazenadas a 6, 9, 12 e 14 dias de armazenamento, apresentaram teores de pH 6,92, 7,31, 7,77 e 7,72 (Tabela 12), ideais para o seu desenvolvimento.

Os resultados das contagens de *Pseudomonas* da carne bovina moída *in natura* mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra controle e a tratada até o 3º dia de armazenamento e com índices reduzidos na amostra tratada. Estes resultados reforçaram os obtidos anteriormente e, ainda, demonstraram o potencial que as tecnologias simultâneas de micro-ondas e ultravioleta apresentam como um método alternativo de conservação de alimentos, uma vez que estes micro-organismos são deteriorantes de carnes *in natura* e sua presença é indesejável, principalmente em alimentos de origem animal. As *Pseudomonas* psicrotróficas são encontradas comumente em carnes e vários estudos identificaram como sendo os principais micro-organismos deteriorantes de carnes frescas refrigeradas (TSHABALALA; KOCK; BUYS, 2012). Estas são estritamente aeróbias e nunca fermentativas, o uso de embalagem à vácuo é uma importante barreira de controle para evitar estes micro-organismos (MASSAGUER, 2005). Realmente as *Pseudomonas* são deterioradoras de carnes frescas, e este estudo ratificou esta afirmação, portanto, uma alternativa viável para a adoção do tratamento como método descontaminante seria a combinação deste com a utilização de embalagem à vácuo.

A irradiação ultravioleta UV-C ($\lambda = 250$ nm) foi avaliada por Molina et al., (2014) para aumentar a vida de prateleira de filé de robalo exposto à 7,9 k.J/m² e 15,8 k.j/m², durante 30 e 60 minutos, respectivamente, e uma amostra controle. Após os tratamentos, os filés foram armazenados até 11 dias à 4°C. Os resultados demonstraram que a radiação ultravioleta reduziu significativamente ($p < 0,05$) as contagens microbianas de psicrófilos, durante os 4 primeiros

dias, independente das doses utilizadas, por outro lado, aumentou a oxidação lipídica (MOLINA et al., 2014). Quando relaciona-se este estudo com o experimento, pode-se assegurar que a combinação de tecnologias, micro-ondas e ultravioleta, favorecem a redução do tempo de aplicação do tratamento, pois foi utilizado 20 s, enquanto que no estudo citado com apenas o uso da radiação ultravioleta utilizou como tempo mínimo 30 minutos de aplicação.

Yilmaz et al., (2005) inocularam cepas de *E. coli* O157:H7 em almôndegas armazenadas a 4°C e submeteram à diferentes métodos de cocção: aquecimento em forno convencional, por micro-ondas e em gril elétrico. Os resultados demonstraram que as almôndegas submetidas ao tratamento por micro-ondas e gril diminuíram de 2 a 3 log UFC/g a flora microbiana, enquanto que as cepas de *E. coli* foram completamente destruídas pelos três métodos de cocção.

Aziz, Mahrous e Yousef (2002) avaliaram a vida de prateleira de carne bovina (moída e em bifes) submetida a diferentes doses de irradiação de raios gama e diferentes tempos de micro-ondas. O resultado de 3 kGy de raios gama e 20 s de irradiação micro-ondas prolongaram a vida de prateleira do produto por 15 dias de armazenamento refrigerado a 5°C, ainda no dia 1, as carnes irradiadas e não irradiadas foram julgadas sensorialmente quanto a cor e odor. A cor das carnes irradiadas foram julgadas mais brilhantes, mais vermelhas, e as amostras não irradiadas foram deterioradas, devido principalmente ao aumento da contagem total e de *Pseudomonas*. Independente da tecnologia aplicada, a combinação delas, otimiza os resultados e reduz o tempo de aplicação, este estudo demonstrou resultado satisfatório também aos 20 s de irradiação micro-ondas.

Inevitavelmente a carne fresca é suscetível a decomposição durante o armazenamento devido as alterações físico-químicas e a propensão ao crescimento microbiano, uma vez que a composição de nutrientes fornecedores de energia, o seu elevado teor de atividade de água (0,99) e intervalo ótimo de pH para crescimento microbiano (5,5-6,5) facilitam a proliferação das células. Devido a carne *in natura* ser um gênero alimentício com um prazo de validade curto, novos métodos de conservação devem ser desenvolvidos, avaliados e discutidos quanto aos efeitos promovidos nas características microbiológicas e físico-químicas desta.

O pH é um importante parâmetro de qualidade e está relacionado a algumas características da carne, como a cor, capacidade de retenção de água, solubilização de proteínas e taxa de desenvolvimento microbiano. Carnes com pH acima de 6,0 apresentam-se escura, pois o consumo mitocondrial de oxigênio é alto e permanece assim por um período mais prolongado que nas carnes com pH mais baixo. Quando ocorre a diminuição gradual do pH pós-abate até o nível de 5,6 a carne apresenta cor normal, vermelha, tolerando bem a exposição ao ar

(CARVALHO; MANÇO, S.d.). A Tabela 12 apresenta os valores de pH da carne ao longo do período de armazenamento à 4°C.

Tabela 12. Valores de pH em carne bovina moída *in natura* submetida durante 20 s à radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta durante o armazenamento à 4°C.

	Período de armazenamento (em dias)					
	0	3	6	9	12	14
MUV 100	5,87 ^{aA} ± 0,04	5,85 ^{aA} ± 0,03	6,92 ^{aB} ± 0,02	7,31 ^{aB} ± 0,03	7,77 ^{aB} ± 0,14	7,72 ^{aB} ± 0,05
Controle	5,86 ^{aA} ± 0,02	5,95 ^{bA} ± 0,02	7,21 ^{bB} ± 0,03	7,53 ^{aB} ± 0,14	7,42 ^{bB} ± 0,07	7,65 ^{aB} ± 0,29

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão de cada análise, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

** Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Os resultados do pH da amostra irradiada (MUV 100) aumentaram com o tempo de armazenamento, porém não apresentaram diferenças significativas e variaram de 5,85 a 7,77, enquanto que a controle também apresentou aumento ao longo do período de estocagem, porém os resultados dos dias 0, 9 e 14 não apresentaram diferenças entre si, mas distintos dos resultados dos dias 3, 6, e 12.

Quando os resultados foram comparados com o controle, só houve diferença significativa no 14 dia de armazenamento. Observou-se que até o 9º dia, independente da média estatística, que o tratamento MUV 100 manteve o pH com valores sempre inferiores ao controle.

Estes resultados, estimam que ao 3º dia de armazenamento refrigerado à 4°C a carne está no seu limite máximo de segurança para o consumo desta carne.

Garner et al., (2014) avaliaram os efeitos na qualidade de dois tipos de carne bovina (sobrepaleta e retalho de carne – aderidas aos ossos de ligamentos) antes e após a moagem desta, durante o armazenamento.

A cor é um dos principais atributos que influenciam na decisão de compra do consumidor, por este motivo, a cor da carne bovina moída *in natura* foi avaliada durante o período de armazenamento à 4 °C e os resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Resultados dos parâmetros da cor da carne bovina moída *in natura* durante o armazenamento à 4 °C.

Parâmetro	MUV 100	Controle
<i>L*</i>		
Dia 0	41,12 ^{aA} ± 1,03	39,66 ^{aA} ± 2,21
Dia 7	32,19 ^{aB} ± 2,06	29,52 ^{aB} ± 2,28
Dia 14	35,60 ^{aC} ± 0,61	36,57 ^{aC} ± 0,85
<i>a*</i>		
Dia 0	19,41 ^{aA} ± 0,61	19,96 ^{aA} ± 1,45
Dia 7	8,96 ^{aB} ± 0,6	8,50 ^{aB} ± 0,73
Dia 14	8,15 ^{aB} ± 0,67	8,33 ^{aB} ± 0,62
<i>b*</i>		
Dia 0	18,23 ^{aA} ± 0,48	18,53 ^{aA} ± 1,62
Dia 7	11,40 ^{aB} ± 0,63	10,28 ^{aB} ± 0,48
Dia 14	11,31 ^{aB} ± 0,61	11,70 ^{aC} ± 0,78

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que não houve diferença significativa (p>0,05) pelo teste de Tukey, letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa (p>0,05) pelo teste de Tukey.

** *L**: luminosidade; *a**: cor vermelha; *b**: cor amarela.

Historicamente, os consumidores utilizam a cor como principal indicador de frescor e integridade, e desejam que a carne moída esteja disponível no varejo com a cor vermelho cereja (MARTIN et al., 2013).

O valor *L** representa o máximo estímulo luminoso, seja de reflectância ou de transmitância, e os valores *a** e *b** são entendidos respectivamente como as proporções de vermelho e amarelo refletidos ou transmitidos pelo objeto (CARVALHO; MANÇO, S.d.).

Observando os resultados obtidos (Tabela 13), e comparando-se os parâmetros, *L**, *a** e *b** das amostras, controle e tratada (MUV 100), observou-se que não apresentaram diferenças

significativas ($p > 0,05$) quando comparadas estatisticamente entre si, independentemente do período de armazenamento.

Segundo Shimokomaki et al., (2006) a cor observada na superfície das carnes é o resultado da absorção seletiva pela mioglobina, provocada pela distribuição da luz que emerge da carne. Ainda, segundo os autores, existe uma relação inversa entre os valores de pH e L^* , quanto menor o pH, maior será o valor de L^* , e vice-versa. Este é um importante parâmetro de qualidade da carne, muito utilizado na indústria para distinguir a carne pálida, flácida exudativa (PSE), pois o resultado demonstra a capacidade de retenção de água da carne, que será menor quanto maior for o valor do L^* (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Neste sentido, os valores de L^* e de pH, apresentaram-se inversamente proporcionais, durante o período de armazenamento, porém os valores de pH da amostra irradiada nos dias 6 e 14 foram 6,92 e 7,72 respectivamente, indicando a deterioração total da amostra.

Entretanto, quando as médias dos parâmetros foram comparadas durante o período de armazenamento (0, 7 e 14 dias) foram encontradas diferenças significativas que corroboram com os resultados obtidos nas demais análises realizadas durante a vida de prateleira da carne da carne bovina moída *in natura*.

O efeito do tratamento MUV 100 apresentou variação nos três parâmetros de cor analisados, principalmente quando os resultados do dia 0, foram comparados aos demais, demonstrando que durante o período de armazenamento, tanto o brilho quanto a intensidade da cor vermelha e da cor amarela sofreram reduções significativas ($p < 0,05$).

No dia 0, a amostra irradiada não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) na cor da carne quando comparadas, pois as médias dos parâmetros apresentaram resultados muito semelhantes, como pode ser observado na Tabela 13, L^* (41,12 irradiado e 39,66 controle), a^* (19,41 irradiado e 19,96 controle) e b^* (18,23 irradiado e 18,53 controle).

No dia 7, as amostras foram comparadas em relação a cada parâmetro e também não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre elas, L^* (32,19 irradiada e 29,52 controle), a^* (8,96 irradiada e 8,50 controle) e b^* (11,40 irradiada e 10,28 controle). Porém quando os parâmetros foram comparados em relação aos resultados do dia 0, as diferenças foram significativas ($p < 0,05$) em todos os parâmetros.

Os parâmetros de cor da carne foram relacionados, assim como a luminosidade reduziu para 32,19 na amostra irradiada e para 29,52 na amostra controle, conseqüentemente os resultados de a^* (8,96 irradiada e 8,50 controle) e de b^* (11,40 irradiada e 10,28 controle) também sofreram alterações. Os resultados de a^* (intensidade da cor vermelha) e b^*

(intensidade da cor amarela), devem ser discutidos analisando os resultados obtidos do pH e da oxidação lipídica da carne.

Segundo Carvalho e Manço, (S.d) a velocidade da perda da cor vermelha é mais rápida em temperaturas elevadas, na estocagem e no balcão de exposição. A temperatura de armazenamento ou exposição de carne fresca, deve estar de $-2,2$ a $1,1^{\circ}\text{C}$ para ser considerada ideal, durante o experimento, a temperatura de armazenamento foi mantida em torno de 4°C .

A redução do a^* (cor vermelha) demonstra estar relacionada com o aumento da formação de metamioglobina que é o pigmento responsável pela descoloração de carnes frescas e porque a metamioglobina atua como catalisador nas reações de radicais livres corroborando com os resultados encontrados. Este comportamento é comum no caso de carne bovina moída fresca armazenada refrigerada, e não demonstra que sofreu influência do tratamento de descontaminação.

A descoloração indesejável da carne durante a vida de prateleira também sofre influência do crescimento de micro-organismos deterioradores que consomem o oxigênio presente na superfície, reduzindo a penetração deste e favorecendo a formação de metamioglobina na superfície das carnes (MOTOYAMA et al., 2010; RAMOS; GOMIDE, 2012; MANCINI; HUNT, 2005).

O resultado de b^* também está relacionado com a oxidação, ao passo que, enquanto a intensidade do vermelho é reduzido no decorrer do período de armazenamento, a intensidade do amarelo b^* , também reduz, porém quando comparado com os resultados de a^* nos dias 0 e 7, o b^* demonstrou resultados superiores devido aos processos de oxidação.

A Tabela 14 apresenta os resultados da atividade de água e umidade da carne moída durante o armazenamento à 4°C .

Tabela 14. Valores de atividade de água (A_w) e umidade da carne bovina moída *in natura* após a aplicação de 20 segundos de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta durante o armazenamento à 4°C.

	Período de armazenamento (em dias)		
	0	7	14
A_w			
MUV 100	0,98 ^{aA} ± 0,00	0,99 ^{aB} ± 0,00	0,98 ^{aA} ± 0,00
Controle	0,98 ^{aA} ± 0,00	0,99 ^{aB} ± 0,00	0,98 ^{aA} ± 0,00
Umidade (%)			
MUV 100	75,00 ^{aA} ± 0,07	73,61 ^{aA} ± 1,70	72,20 ^{aA} ± 1,00
Controle	74,90 ^{aA} ± 0,47	74,13 ^{aA} ± 0,60	71,66 ^{aA} ± 3,18

*Valores médios (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey, letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Comparando-se os resultados de atividade de água, do tratamento e do controle nos dias de armazenamento, não apresentaram diferenças significativas (p>0,05), porém quando as amostras foram analisadas independentes, observou-se que apresentaram comportamentos distintos. As médias das amostras controle não apresentaram diferenças significativas, entretanto, as médias das amostras tratadas apresentaram diferenças significativas (p<0,05) entre os dias 0 (0,98), 7 (0,99) e 14 (0,98).

A aplicação da irradiação combinada de micro-ondas com ultravioleta pode ter provocado efeito na porção de água ligada às proteínas, liberando-as no meio, aumentando o teor de água livre disponível para a ocorrência das reações químicas e microbiológicas, uma vez que as micro-ondas atuam em moléculas polares.

Os micro-organismos mesófilos apresentaram crescimento máximo no dia 6 (9,34 log UFC/g), podem ter aproveitado esta disponibilidade maior de água livre, pois a temperatura de armazenamento (4 °C) da carne *in natura* é favorável ao crescimento de micro-organismos psicrotróficos, dentre eles a *Pseudomonas* spp. Tanto que o crescimento da população de micro-organismos psicrotróficos e, especificamente, de *Pseudomonas*, diante dos teores encontrados de pH, próximo à neutralidade a partir do sexto dia (6,92), atividade de água ideal (0,98-0,99) durante todo o período de armazenamento, a manutenção da temperatura de refrigeração (4°C) e as condições aeróbias promoveram a multiplicação constante destes micro-organismos.

A umidade natural da carne é importante para a obtenção do rendimento e da qualidade final do produto, contribuindo para a textura, suculência, cor e sabor (SHIMOKOMAKI et al., 2006; FELÍCIO, 1999). Se as proteínas não estão desnaturadas, elas continuam a ligar à água durante a conversão do músculo à carne, e durante as fases da cadeia do produto (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O tratamento combinado de radiação micro-ondas com ultravioleta não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) comparada ao controle no teor de umidade durante o armazenamento de 14 dias sob temperatura de 4 °C. Embora estatisticamente ao longo dos 14 dias não tenha demonstrado diferença significativa ($p>0,05$) (devido as grandezas envolvidas) houve uma diminuição no teor de umidade das amostras tratadas e controle (ambas demonstraram um certo ressecamento promovido pela baixa temperatura e exposição reduzida ao oxigênio) durante o armazenamento à 4 °C, resultado que é considerado esperado para carne moída *in natura* (MARTIN et al., 2013). Apesar de não ter ocorrido diferença significativa nos valores da amostra controle e tratada neste estudo, a literatura científica afirma que as micro-ondas provocam o ressecamento dos alimentos (YARMAND; HOMAYONI, 2011).

A carne crua não apresenta altas taxas de oxidação e a degradação em condições de refrigeração é devido principalmente à ação bacteriana ou enzimática. Porém, a desintegração da carne moída libera ácidos graxos insaturados dos fosfolípidios da membrana e íons Fe^{2+} da mioglobina, iniciando a oxidação mesmo em condições de resfriamento (ARAÚJO, 2008).

Neste contexto, a amostra tratada (MUV 100) foi exposta a alguns fatores oxidantes como a presença de íons Fe^{2+} , enzimas, oxigênio, temperatura elevada promovida pelas micro-ondas ($\Delta T = 31,6$ °C) durante a aplicação do tratamento, em comparação com a temperatura de armazenamento (4 °C), radiação ultravioleta, além dos micro-organismos naturalmente presentes na microbiota da carne bovina.

A Tabela 15 apresenta os valores obtidos de TBARS e pigmentos heme totais.

Tabela 15. Valores de TBARS (mg.MDA/kg amostra) e pigmentos heme totais ($\mu\text{mol/g}$ de amostra) da carne bovina moída *in natura* após a aplicação de 20 segundos de radiação micro-ondas contínua combinada com ultravioleta durante o armazenamento à 4°C.

	Período de armazenamento (em dias)		
	0	7	14
TBARS			
MUV 100	0,14 ^{aA} \pm 0,00	4,83 ^{aB} \pm 1,10	3,78 ^{aC} \pm 1,67
Controle	0,13 ^{aA} \pm 0,01	6,66 ^{aB} \pm 0,34	1,28 ^{aC} \pm 0,25
Pigmentos heme			
MUV 100	0,27 ^{aA} \pm 0,40	0,071 ^{aA} \pm 0,00	0,0051 ^{aA} \pm 0,02
Controle	0,10 ^{aA} \pm 0,01	0,062 ^{aB} \pm 0,03	0,0040 ^{aC} \pm 0,00

*Valores médios (n=3) \pm desvio padrão. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Embora, estatisticamente, as diferenças das amostras controle e tratada, nos níveis de TBARS, não tenham sido significativas ($p > 0,05$), a irradiação de micro-ondas com ultravioleta em carne bovina moída *in natura* apresentou valores dentro do limite máximo permitido no dia 0. Segundo a literatura, o limite recomendado de TBARS é 1 mg.MDA/kg de carne, porém os aromas de ranço em carnes podem inicialmente ser detectados em valores de 0,5 a 2,0 mg.MDA/kg de carne (SMITH 2000 apud SMITH, 2001).

A análise de 7 dias de armazenamento, aeróbico à 4°C, apresentou degradação total provocada pela deterioração bacteriana (Tabela 11) e pelas alterações químicas de oxidação. Os resultados de TBARS no dia 7, (Tabela 15) apresentaram valores de 4,38 mg.MDA/Kg de amostra irradiada e 6,66 mg.MDA/Kg de amostra não irradiada. Os resultados de pH (dia 6)

foram 6,9 irradiada e 7,21 não irradiada, ou seja, com estes índices, as reações bioquímicas estão aceleradas devido as condições favoráveis, assim como as reações microbiológicas.

A oxidação lipídica é catalisada pela mioglobina, hemoglobina, citocromos, ferro não heme e outros metais pesados de transição (HUR; PARK; JOO, 2007), logo o decréscimo dos valores de TBARS no intervalo de 7 a 14 dias de armazenamento foi considerado esperado, pois, de acordo com a literatura, estes resultados são similares em produtos cárneos. A principal justificativa deste decréscimo está relacionada com o desenvolvimento microbiano, pois alguns micro-organismos podem decompor o malonaldeído (MDA) ou, é possível que ocorra a continuação da oxidação do MDA em outros compostos (álcoois e ácidos) que não reagem na determinação pelo ácido tiobarbitúrico (TBA) (FERNANDEZ et al., 1997).

Observou-se que os valores de TBARS não diferiram ($p>0,05$) entre o controle e o tratamento nos dias de armazenamento analisados. O valor máximo obtido de oxidação lipídica foi de 6,66 mg.MDA/Kg de amostra, apresentado pela amostra controle no 7º dia de armazenamento. A partir deste dia, até o final do armazenamento da carne, independente da amostra, controle ou irradiada, apresentaram odores desagradáveis.

A oxidação lipídica em carnes está relacionada também com a oxidação dos pigmentos das carnes, provocando perda da cor pela transformação do pigmento oximioglobina, de coloração vermelho brilhante, em metamioglobina, tornando a carne marrom-acinzentada, aspecto rejeitado pelo consumidor (FERRARI, 1998; BRUM, 2004).

Em relação a análise de pigmentos heme totais, comparando-se os resultados obtidos entre a amostra irradiada e a controle, observou-se que não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$), quando comparadas durante o período de armazenamento, embora a amostra irradiada tenha demonstrado que manteve os níveis levemente superiores.

Em ambas amostras, o teor dos pigmentos heme reduziu durante o período, no entanto, as reduções na amostra irradiada não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) durante os 14 dias de armazenamento refrigerado à 4°C (0,27 $\mu\text{mol/g}$; 0,0051 $\mu\text{mol/g}$). Enquanto que a amostra controle apresentou diferenças significativas ($p<0,05$) durante o armazenamento.

Assim, a irradiação por micro-ondas contínua com ultravioleta mostrou-se uma alternativa para a conservação do ferro, visto manteve maiores teores comparados ao controle durante o período de armazenamento da carne bovina moída *in natura*. Entretanto, os íons ferro que foram desligados do grupo heme podem ter catalisado os processos de oxidação. O

tratamento controle, por exemplo, teve maior redução de ferro e maior oxidação lipídica no 7º dia de armazenamento.

A deficiência de ferro é uma das desordens mais comuns que acontece quando a quantidade de ferro ingerida é insuficiente para as necessidades nutricionais do indivíduo. O ferro presente nos alimentos se encontra em duas formas, a forma heme é aquele presente na molécula de hemoglobina e a forma não-heme é o restante presente em outros compostos presentes nos alimentos. Entretanto, o ferro heme é considerado mais importante por ser mais biodisponível (SOUZA; ARTHUR; CANNIATTI-BRAZACA, 2007).

Buscando descobrir o efeito da irradiação no teor de pigmentos heme totais de carne bovina *in natura*, Furtado Mistura (2002) irradiou carne bovina moída e em bifes com doses de 0 a 10 kGy e analisou a interferência da irradiação gama e do processo de preparo do alimento, determinou as concentrações de ferro heme (FeH) e ferro total (FeT). Os resultados deste estudo comprovaram que as condições de preparo (temperatura, tempo de cozimento, umidade do ambiente, apresentação da carne) da amostra provocaram maiores efeitos no conteúdo de FeH quando comparados com os resultados provocados pela irradiação. Enquanto que Souza, Arthur e Canniatti-Brazaca (2007) estudaram os efeitos provocados pela irradiação e armazenamento em carne de frango (coxa e peito) e sua influência nos teores de ferro heme e não heme. Os valores de ferro heme foram influenciados tanto pela irradiação quanto pelo armazenamento e o ferro não-heme foi influenciado tanto pelas doses empregadas (0, 1 e 2 kGy) quanto pelo tempo de estocagem, porém aumentou seus valores com o passar do tempo, devido à conversão do heme em não-heme.

Por fim, as carnes tratadas com MUV 100 demonstraram estabilidade microbiológica significativa ($p > 0,05$) aos 2 dias de armazenamento refrigerado para micro-organismos mesófilos e psicrotóxicos e aos 3 dias de armazenamento para *Pseudomonas* à 4 °C.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se fazer algumas considerações relevantes. Primeiramente, a padronização da metodologia, os estudos preliminares e dos mapeamentos foram indispensáveis para a aplicação da radiação por micro-ondas e ultravioleta nas amostras a serem analisadas. O método desenvolvido foi considerado promissor uma vez que o recipiente de polipropileno previamente congelado viabilizou a aplicação da tecnologia de micro-ondas isolada e simultânea com a radiação ultravioleta sem promover alterações no aspecto visual da carne *in natura*. A metodologia utilizada nos tratamentos com propósito descontaminante consistiu em utilizar 100g de amostra de carne bovina moída *in natura*, com temperatura de 2 °C, distribuída no recipiente de polipropileno, posicionado no centro do prato giratório do micro-ondas, posição que demonstrou ser a melhor para a amostra receber a irradiação, conforme demonstraram os estudos de mapeamento realizados com a água ultrapura e com a imagem termográfica da carne. A posição da lâmpada ultravioleta UV-C foi definida no centro superior da cavidade do micro-ondas à uma altura de 2 cm da amostra.

O estudo do equipamento de micro-ondas convencional foi essencial para a padronização e as adaptações realizadas na metodologia, assim como para demonstrar as suas limitações, como a falta de uniformidade na distribuição da temperatura e a impossibilidade de controle do campo elétrico, ou seja, não há como alterar a frequência e a potência neste tipo de equipamento.

Os resultados das imagens termográficas demonstraram diferença na distribuição da temperatura dos tratamentos com micro-ondas contínuo ($\Delta T = 31,6$ °C) e intermitente ($\Delta T = 28$ °C), os quais apresentaram 627,5 W (100%) e 366 W (50%) de potência real disponível na cavidade de irradiação, assim como os tratamentos com micro-ondas e ultravioleta contínuo ($\Delta T = 19,4$ °C) e intermitente ($\Delta T = 11,5$ °C).

Em relação aos resultados microbiológicos, verificou-se que após os tratamentos de radiação por micro-ondas e por micro-ondas simultâneo com ultravioleta, ambos de maneira contínua e intermitente, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$). Todos os tratamentos foram eficazes na eliminação de *Staphylococcus* coagulase positiva; os combinados, pulsado (MUV 50) e contínuo (MUV 100), foram eficazes na redução de bolores e leveduras em carne

moída, ainda, o tratamento MUV 100 reduziu significativamente as contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e termófilos.

Quanto aos efeitos nos parâmetros físico-químicos os resultados das análises de pH demonstraram que nenhum tratamento influenciou significativamente comparado ao controle, entretanto, quanto ao teor de atividade de água os tratamentos não diferiram entre si, porém diferiram significativamente do controle ($p < 0,05$). Os tratamentos combinados (MUV 50 e MUV 100) e micro-ondas contínuo (M 100) diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do controle, e do micro-ondas pulsado (M 50), mas não diferiram entre si ($p > 0,05$). Os quatro tratamentos sofreram redução no teor de umidade quando comparados ao controle, indicando que sofreram influências térmicas das micro-ondas, resultado que pode ter influenciado positivamente na redução microbiana, pois os parâmetros de pH e atividade de água de todos os tratamentos mantiveram os teores ideais de desenvolvimento microbiano. Os tratamentos contínuos (M 100 e MUV 100) demonstraram os melhores resultados de a^* (intensidade cor vermelha), pois não apresentaram redução na coloração pelo curto tempo de irradiação e intensa transferência de energia, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle e mantiveram a cor e o aspecto de carne fresca após a irradiação.

Quanto a estabilidade da carne bovina moída *in natura* irradiada pelo tratamento simultâneo contínuo (MUV 100), não foi possível prolongar a vida de prateleira além de 2 dias de armazenamento refrigerado à 4°C, entretanto, houve uma redução microbiana inicial significativa e as características físico-químicas sofreram poucas alterações quando comparadas com as amostras controle.

A aplicação de radiação micro-ondas associada à radiação ultravioleta apresentou potencial na redução da carga microbiana da carne. Porém, são necessários estudos mais aprofundados para elucidar melhor os efeitos promovidos pelas tecnologias propostas. Sugere-se a aplicação da metodologia desenvolvida em câmara de resfriamento, com temperatura máxima de 7°C, a fim de aumentar a eficiência do tratamento e simular um ambiente real de processamento de carnes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.C.C.; SCHNEIDER, I.S. Aspectos microbiológicos e químicos de produtos alimentícios elaborados com carnes moídas, vendidas no varejo no município de Campinas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.2, n. 1-2, p. 37-41, 1983.

ALTUNATMAZ, S. S.; ISSA, G.; AYDIN, A. Detection of airborne psychrotrophic bacteria and fungi in food storage refrigerators. **Brazilian Journal of Microbiology** p.1436-1443, 2012.

ALVES, E. **Atividade antioxidante de extratos de própolis comercializados em Santa Maria – RS e aplicação em linguiça toscana refrigerada**. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 4.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008. 596 p.

AYMERICH, T.; PICOUET, P. A.; MONFORT, J.M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, n. 78, p. 114-129, jul. 2008.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2 ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2012, 326 p.

AZIS, N.H.; MAHROUS, S.R.; YOUSSEF, B.M. Effect of gamma-ray and microwave treatment on the shelf-life of beef products stored at 5°C. **Food Control**, 13. p. 437 – 444, 2002.

BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; BABY, A.R.; VELASCO, M.V.R.; KANEKO, T.M. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis à atualidade em fotoproteção: Revisão. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.86, n.4, p. 732-742, 2011.

BALZARETTI, N.M.; SCHIMIDT, J.E.; MAI, I. **Utilizando um forno de microondas e um disco rígido de computador como laboratório de física**, v.18, n.6, 2007.

BANDEIRA, M.T.P.S.B. **Qualidade microbiológica da carne bovina**. 2004. 25f. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) -Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

BANIK, S. et al. Bioeffects of microwave – a brief review. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 2, p.155-159, 2003.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. et al. Advanced retorting, microwave assisted thermal sterilization (MATS), and pressure assisted thermal sterilization (PATS) to process meat products. **Meat Science**, n. 98, p. 420-434, jun. 2014.

BARBOZA, A.C.R.N.; CRUZ, C. V. M. S.; GRAZIANI, M. B.; LORENZETTI, M. C. F.; SABADINI, E. Aquecimento em forno de micro-ondas: desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais. **Química Nova**, v.24, n.6, p. 901-904, 2001.

BARNABAS, J. et al. Reduction of microbial pathogenic population using non-thermal microwaves. **International Journal of Advanced Life Science**, v.6, n.1, 2013.

BECKER, A.K.; KIEL, G. Análise microbiológica de carne bovina *in natura* comercializada em supermercados de Cascavel - PR. **Revista Thêma et Scientia**, v. 1, n. 2, jul/dez, p. 149 - 155, 2011.

BEKHIT, A.D.E.; FAUSTMAN, C. Metmyoglobin reducing activity. **Meat Science**, n. 71, p. 407–439, 2005.

BÉLANGER, J.M.; PARÉ, J.R.; POON, O.; FAIRBRIDGE, C.N.S.; MUTYALA, S.; HAWKINS, R. Remarks on various applications of microwave energy. **Journal of Microwave Power & Electromagnetic Energy**, v. 42, n. 4, p. 24-44, 2008.

BIZZI, C.A.; BARIN, J.S.; HERMES, A.L.; MORTARI, S.R.; FLORES, E.E. A Fast Microwave-Assisted Procedure for Loss on Drying Determination in *Saccharides*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 2, 2011.

BORBA, C. M.; OLIVEIRA, V. R.; MONTENEGRO, K. R.; HERTZ, P. F.; VENZKE, J. G. Avaliação físico-química de hambúrguer de carne bovina e de frango submetidos a diferentes processamentos térmicos. **Alimentos e Nutrição: Brazilian Journal of Food Nutrition**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. xx-xx, jan./mar. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001 (a). Regulamento Técnico para a Irradiação de Alimentos. **Diário Oficial da União**, 29/01/2001, seção 1, p. 35. Brasília, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (b). Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, 10/01/2001, Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (a). **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle dos Produtos de Origem Animal e Água**. Brasília, DF, 2003. Disponível em: <http://www.hidrolabor.com.br/IN62.pdf> Acesso em: 09 out. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003 (b). **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carnes Bovina em Conserva (Corned Beef) e Carne Moída**. Brasília, DF, 2003. Disponível em: ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpseesp/bibliote/informe_eletronico/2003/IELS.dez.03/Iels233/U_IN-MAPA-SDA-83-REP_031203.pdf Acesso em: 19 out. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 001 de 07 de outubro de 1981. **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes: Métodos Físicos e Químicos**. Brasília, DF, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de Industrial e Sanitário de Produtos de Origem Animal –RIISPOA**. Brasília, DF, 1997.

BRESSAN, M. C.; PRADO, O. V.; PÉREZ, J. R. O. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 293-303, 2001.

CARBALLIDO REBOREDO, M.R. **Síntesis assistidas por micro-ondas de compuestos de interés biológico e industrial: haloarenos, fuluenos, tricloropirrolidonas, azoles e flavonoides**. Ed: Universidad Santiago de Compostela, 28 mar. 2008.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v. 24, p. 95-101, 2006.

CARVALHO; S.R.S.T.; MANÇO, M.C.W. **Cor**. Disponível em: <http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/roca306.pdf> Acesso em: 10/01/2015.

CARVALHO, E.M. Mercado da carne bovina no mundo com enfoque no Brasil. **Rehagro**, [S.l.], 2010. Disponível em: <http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=2069>. Acesso em 20 out. 2013.

CELANDRONI, et al. Effects of microwave radiation on *Bacillus subtilis* spores. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 1220–1227, 2004.

CELIS, J. E. et al. Pasteurisation of apple juice by using microwaves. **Food Science & Technology**, v. 35, p. 389–392, 2002.

CICHOSKI, A. Tecnologias limpas inovam o modo de elaborar produtos cárneos. **Agência Central Sul de Notícias**, 01 mai. 2014. Disponível em: <http://centralsul.org/2014/tecnologias-limpas-inovam-o-modo-de-elaborar-produtos-carneos/>
Acesso em: 10 jan. 2015.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, T. Microwave food processing, a review. **Food Research International**.v.52, n.1, p. 243-261, 2013.

CHEN, J. H. et al. Intervention Technologies for Ensuring Microbiological Safety of Meat: Current and Future Trends. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, 2012.

CHUN, H. et al. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteric* serovar *Typhimurium*, and *Campylobacter jejuni* in ready-to-eat sliced ham using UV-C irradiation. **Meat Science**, v. 83, p. 599-603, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174009002137>>. Acesso em: 04/01/2015.

COSTA, M.C.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A. Revisão: tecnologias não convencionais e o impacto no comportamento do consumidor. In: **Boletim CEPPA**, v.17, n.2, p. 187-210, jul/dez. 1999.

CUNHA, M.A.; SILVA, M.R. Métodos de detecção de micro-organismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v.1, p. 09-13, jan./jun. 2006.

DE CARLI, E.M. **Efeitos de Métodos Combinados Irradiação UV-C, Ácidos Orgânicos, Solução Salina, na Validade Comercial da Carcaça Suína**. 2013. 178 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

DEVINE, D.A. et al. Ultraviolet disinfection with a novel microwave-powered device. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 786 – 794, 2001.

DIAS, P.A. et al. Qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados nos Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 359 – 363, 2008.

DILBAGHI, N.; SHARMA, S. **Food and Industrial Microbiology**, 25 sep. 2007, 42 p. Disponível em: <http://nsdl.niscair.res.in/jspui/bitstream/123456789/386/2/FoodSpoilage.pdf> Acesso em: 10/01/2015.

DIEGUES, P.; MARTINS, V. **Prevenção da Doença dos Legionários**. Sistemas de Tratamento: vantagens e desvantagens. Direção Geral da Saúde. Ministério da Saúde. Mar 2013. Disponível em: <https://pt.grundfos.com/content/dam/BGP/Cases/DGS.pdf> Acesso em: 07/01/2015.

DOLGERAKI, A. I. et al. Characterization of the *Enterobacteriaceae* community that developed during storage of minced beef under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, p. 77–83, 2011.

DUGATTO, J. S. **Qualidade de Sobrecoxas de Frangos submetidas à Radiação UV-C**. 2012. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. **Trends in Food Science and Thechnology**, v. 12, n. 11, p. 414 - 424, 2001.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and agricultural commodities production in 2011**. 2012. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em 04. mai. 2013.

FARID, M. M.; TAHER, B. J. Cyclic microwave thawing of frozen meat: experimental and theoretical investigation. **Chemical Engineering and Processing**, v. 40, p. 379–389, 2001.

FARKAS, J.; MOHANCSI-FARKAS, C. History and future of food irradiation. **Trends in Science and Technology**, v. 22, p. 121–126, 2011.

FDA. **Food and Drug Administration**. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100250.htm> Acesso em: 10/01/2015.

FDA. Food and Drug Administration. Irradiation in the production, processing and handling of food: 21CFR. Part 179.39. **Code of Federal Regulations**, 3, 439–440. 2007.

FERNANDEZ, J. et al. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, v.59, n.3, p.345-353, 1997.

FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-temperature, microwave assisted UV digestion: a promising sample preparation technique for trace element analysis. **Analytical Chemistry**, v.73, n.7, p.1515 - 1520, 2001.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

GANGULY, S.; MUKOPADHAYAY, S. K.; BISWAS, S. Preservation of food items by irradiation process. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v.1, p. 11-13, 2012.

GARNER, C. M. et al. Effects of subprimal type, quality grade, and aging time on display color of ground beef patties. **Meat Science**, n. 98, p. 301–309, 2014.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. 4ª ed., Barueri: Manole, 2011. 1088 p.

GÖKSOY, E. O.; JAMES, C.; CORRY, J. E. L. The effect of short-time microwave exposures on inoculated pathogens on chicken and the shelf-life of uninoculated chicken meat. **Journal of Food Engineering**, v. 45, p. 153 - 160, 2000.

GOMÓLKA-PAWLICKA, M. et al. Effect of short-time microwave heating on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in beef hamburgers. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n. 22, p. 2371 - 2374, 18 nov. 2013.

GONÇALVES, J.R.; LEMOS, A.L.S.C. Efeitos do grau de cozimento na qualidade de cortes de *Supraspinatus* acondicionado à vácuo em embalagem cook-in. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 2, apr/jun, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612005000200030&script=sci_arttext Acesso em 07/01/2015.

- HARDJAWINATA, K.; SETIAWATI, R.; DEWI, W. Bactericidal efficacy of ultravioleta irradiation on *Staphylococcus aureus*. **Asian Journal Oral Maxillofac Surg**, v. 17, n.3, p. 157 - 161, 2005.
- HÉRNANDEZ-MACEDO, M. L.; BARANCELLI, G. V.; CONTRERAS- CASTILLO, C. J. Microbial Deterioration of Vacuum-Packaged Chilled Beef Cuts and Techniques for Microbiota Detection and Characterization: A Review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1 - 11, 2011.
- HOZ, A.; DÍAZ-ORTIZ, A.; MORENO, A. Review on non-thermal effects of microwave irradiation in organic synthesis. **Journal of Microwave Power & Electromagnetic Energy**, v. 41, n. 1, p. 41 - 48, 2007.
- HUANG, L; SITES, J. New Automated Microwave Heating Process for Cooking and Pasteurization of Microwaveable Foods Containing Raw Meats. **Journal of Food Science**, v.75, n. 2, p. 110 - 115, 2010.
- HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v.18, n.8, p. 939 - 947, 2007.
- HYUN-WOOK K., et al. Effects of kimchi and smoking on quality characteristics and shelf life of cooked sausages prepared with irradiated pork. **Meat Science**, n. 96, p. 548 – 553, 2014.
- IBGE. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção pecuária 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasília, DF, 2013. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abat-e-leite-couro-ovos_201301comentarios.pdf Acesso em: 29/09/2013.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, 4. ed, 1ª ed. digital, 2005.
- JAMSHIDI, A.; SEIFI, H. A.; KOOSHAN, M. The effect of short-time microwave exposures on *Escherichia coli* O157:H7 inoculated onto beef slices. **African Journal of Microbiology Research**, v.4, n.22, p. 2371 - 2374, 18 nov. 2010.
- JAY, J.M.; VILAI, J.P.; HUGHES, M.E. Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7°C. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 81, p. 105-111, 2003.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

KOUTSOUMANIS, K.; STAMATIOU, A.; SKANDAMIS, P.; NYCHAS, G.J.E. Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 72, n. 1, p. 124-134, 2006.

KOWALSKI, W. **Ultraviolet germicidal irradiation handbook: UVGI for air and surface disinfection**, 2009. Disponível em: <http://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-642-01999-9>
Acesso em: 15/09/2014.

LABADIE, J. Consequences of packing on bacterial growth. Meat is an ecological niche. **Meat Science**, v. 52, n. 3, p.299 - 305, 1999.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 384 p.

LUCATELLI, A. **Escherichia coli produtora de toxina Shiga em carne moída comercializada em São Paulo, SP**. 2012. Dissertação (Mestrado em Bromatologia). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MANCINI, R. A., et al. Temperature management to minimize ground beef aerobic and lactic acid bacteria growth. **Cattleman's day Report of progress**, n. 890, p. 65–67, 2002.

MAÑAS, P.; PAGÁN, R. Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387 – 1399, 2005.

MARCHI, P. G. F. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos**. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, SP. 2006.

MARTH, E. H. Extended shelf life refrigerated foods: microbiological quality safety. **Food Technologists**, v. 52, n. 2, p. 57 – 62, fev. 1998.

MARTIN, J. N. et al. Storage length, storage temperature and lean formulation influence the shelf-life and stability of traditionally packaged ground beef. **Meat Science**, n. 95, p. 495 – 502, 2013.

MILLS, J.; DONNISON, A.; BRIGHTWELL, G. Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: a review. **Meat Science**, v. 98, p. 71 – 80, 2014.

MINOLTA. **Precise Color Communication** – Color Control, from feeling to Instrumentation. Minolta Camera Co., Ltda, Osaka-Japan, 1993.

MISTURA, L.P.L. **Irradiação de carne bovina: efeito na concentração de ferro heme**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) –Universidade de São Paulo, 2002.

MOLINA, B., et al., Effect of ultraviolet light treatment on microbial contamination, sometextural and organoleptic parameters of cultured sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.07.002> Acesso: 06/12/2014.

MOLINS, R.A. et al. **Irradiation de alimentos: principios e aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, 2004. 490 p.

MOSER, B. In: Venezuela planeja aprovar mais exportadores de carnes do Brasil. **Carnetec**, 2015. Disponível em: <http://www.carnetec.com.br/industry/news/details/55930>. Acesso em: 29 jan. 2015.

MOTOYAMA, M. et al. *Pseudomonas* spp. convert metmyoglobin into deoxymyoglobin. **Meat Science**, v.84, p. 202–207, 2010.

MOTTA, M. R. A. et al. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região oeste de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 78/79, p. 59 – 62, 2000.

NYCHAS, G. J.; SKANDAMIS, P.N.; TASSOU, C.C.; KOUTSOUMANIS, K.P. Meat spoilage during distribution. **Meat Science**, v. 78, n. 1-2, p.77-89, 2008.

OCHOA-VELASCO, C.H.; CRUZ-GONZÁLEZ, M.; GUERRERO-BELTRÁN, J.A. Ultraviolet UV-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*cocos nucifera L.*) milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, xx, xx, xxx – xxx, 2014.

OLIVO., R; OLIVO, N. **O mundo das carnes: ciência, tecnologia & mercado**. Criciúma: ed. do autor, 2006. 214 p.

ORTONEDA, M. et al. Use of UV light for environmentally Friendly Microbial Control. 2010.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Varela, 2005. 258 p.

PICHAHAI et al. A microwave heat transfer model for a rotating multi-component meal in a domestic oven: Development and validation. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p. 60-71, 2014.

POLETO, G. et al. Descontaminação de bolores e leveduras em esponjas de uso doméstico por micro-ondas. In: **Jornada Acadêmica Integrada**, UFSM, 2014.

PONNE, C.T.; BARTELS, P.V. Interaction of electromagnetic energy with biological material: relation to food processing. **Radiation Physics and Chemistry**, v.45, n.4, p. 591 – 607, 1995.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. **Ciencia de la carne y de los productos carnicos**. Zaragoza: Acribia, 1994. 581 p.

PUCCIARELLI, A.B.; BENASSI, F. O. Inactivation of *Salmonella* Enteritidis on Raw poultry Using Microwave Heating. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n. 6, p. 939 - 945, 2005.

RAHARJO, S.; SOFOS, N. J.; SCHMIDT, R. G. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 40, n.11, p. 2182 – 2185, 1992.

RAMOS, E.M., GOMIDE, L.A.M. Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias. Viçosa, MG: ed. UFV, 2007. 599 p.

RAMPELOTTO, C. **Pasteurização de salsichas com ultrassom e micro-ondas**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

RASCHEN, M. R. et al. Determinação do teor de umidade em grãos empregando radiação micro-ondas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p.925 – 930, mai. 2014.

REMENANT, B. et al. Bacterial spoilers of food: behavior, fitness and functional properties. **Food Microbiology**, n. 45, p. 45 – 53, 2015.

RHOADES, J.R.; DUFFY, G.; KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. **Food Microbiology**, n. 26, p. 357 - 376, 2009.

ROÇA, R.O. **Composição Química da Carne**. Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal. Fazenda Experimental Lageado, F.C.A. UNESP - Campus de Botucatu, SP. [S.d].

ROSINI, F.; NASCENTES, C. C.; NÓBREGA, J. A. Experimentos didáticos envolvendo radiação micro-ondas. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1012 – 1015, 2004.

ROSSI, E. M. **Avaliação da Contaminação Microbiológica e de Desinfecção de Esponjas utilizadas em Serviços de Alimentação**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) –Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SANSEVERINO, A. M. Micro-ondas em síntese orgânica. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 660 – 667, 2002.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. Embalagem à vácuo e com atmosfera modificada para carnes frescas. In: **CETEA (org). Embalagens para produtos cárneos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, cap. 1, p. 1 – 20, 1991.

SCOTT, C. In: Cientistas estudam meios de prolongar a vida útil de carne bovina moída. **Carnetec**, 2015. Disponível em: <http://www.carnetec.com.br/industry/news/details/55932>. Acesso em: 29 jan. 2015.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos**. São Paulo: Varela, 1996. 516 p.

SIAVASCH, M.; WATSON, I.; PARTON, R. Synergistic effect of UV, laser and microwave radiation or conventional heating on *Escherichia coli* and some spoilage and pathogenic bacteria. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.12, p. 129 – 134, 2011.

SILVA, N. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. 3. Ed. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SHAMIS, Y. et al. Specific electromagnetic effects of microwave radiation on *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, mai, 2011.

SHARMA, M.; EASTRIDGE, J.; MUDD, C. Effective household disinfection methods of kitchen sponges. **Food Control**. v. 20, p. 310-313. 2009.

SHIMOKOMAKI, M. et al. Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo: Varela, 2006. 236 p.

SOMMERS, C. H.; SITES, J. E.; MUSGROVE, M. Ultraviolet light (254 nm) inactivation of pathogens on foods and stainless steel surfaces. **Journal of Food Safety** v.30, p. 470 – 479, 2010.

SOUZA, A.R.M.; ARTHUR, A.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Alterações provocadas pela irradiação e armazenamento nos teores de ferro heme em carne de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, Campinas apr/jun 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612007000200016&script=sci_arttext. Acesso em 10/01/2015.

SOUZA, R.O.; MIRANDA, L.S. de M. Irradiação de micro-ondas aplicada a síntese orgânica: uma história de sucesso no Brasil. **Química Nova**. v. 34, n. 3, p. 497-506, 2011.

TAZE, B. H. et al. The impact of UV-C irradiation on spoilage microorganisms and colour of orange juice. **Journal Food Science Technology**, p. 1 – 8, 2013.

THE GOVERNMENT OF THE HONG KONG SPECIAL ADMINISTRATIVE REGION. Food and Environmental Hygiene Department. **Microwave cooking and food safety**. Hong Kong, 2005.

THOSTENSON, E. T.; CHOU, T. W. Microwave processing: fundamentals and applications. **Composites: Part A**, v. 30, p. 1055 – 1071, 1999.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. **Microbiologia e Sistemas de gestão da segurança de alimentos**. Porto Alegre: Sulina, 2011. 263 p.

TRINDADE, M.E.J.; CERQUEIRA, R.C. Saponificação assistida por forno de micro-ondas doméstico. In: **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa**, PB, 2007.

TSHABALALA, P.A.; KOCK, H.L.; BUYS, E. M. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 co-cultured with different levels of *Pseudomonas fluorescens* and *Lactobacillus plantarum* on fresh beef. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1406 – 1413, 2012.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S. Non-uniform Temperature Distribution During Microwave Heating of Food Materials: A Review. **Food Bioprocess Technology**, v. 3, p. 161–171, 2010.

VEMULA, S. R.; KUMAR, R.N. POLASA, K. Foodborne diseases in India – a review. **British Food Journal**. v. 114, n. 5, p. 661 - 680, 2012.

VENTURINI, A. C.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; FARIA, J.A.F. Revisão: sistemas de embalagem para carne bovina fresca em atmosfera modificada. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 128 - 137, abr./jun. 2009.

ZAMANIAN, A.; HARDIMAN, C. Eletromagnetic Radiation and Human Health: a Review of sources and Effects. **High Frequency Eletronics**. p. 16 – 26, jul. 2005.

ZHOU, G.H.; XU, X.L.; LIU, Y. Preservation Technologies for fresh meat – a Rewiew. **Meat Science**, n. 86, p. 119 - 128, 2010.

YANG, Y. et al. Minimizing the exposure of airborne pathogens by upper-room ultravioleta germicidal irradiation: na experimental and numerical study. **Journal of the Royal Society Interface**, p. 3184 - 3195, 18 jul. 2012.

YARMAND, M. S.; HOMAYONI, A. Microwave heating. In: __. **Microwave processing of meat**, p. 107 – 134, 2011.

YILMAZ, I.; ARICI, M.; GÜMÜS, T. Changes of microbiological quality in meatballs after heat treatment. **Euro Food Research Technology**, v. 221, p. 281 – 283, 2005.