

# Estudo de eficácia do processo de higienização da couve utilizando UV, ozônio e solução clorada

*Study of the effectiveness of the cabbage sanitation process using UV, ozone and chlorine solution*

## Engenharia de Alimentos

***Ilana Racowski*** ([pro6389@cefsa.edu.br](mailto:pro6389@cefsa.edu.br))

*Doutora em Biotecnologia pela Universidade de São Paulo (USP) e professora da Faculdade Engenheiro Salvador Arena*

***Camila Saldanha Santos*** ([051200010@faculdade.cefsa.edu.br](mailto:051200010@faculdade.cefsa.edu.br))

*Bacharela em Engenharia de Alimentos na Faculdade Engenheiro Salvador Arena*

***Daiane Rodrigues Dantas*** ([051200034@faculdade.cefsa.edu.br](mailto:051200034@faculdade.cefsa.edu.br))

*Bacharela em Engenharia de Alimentos na Faculdade Engenheiro Salvador Arena*

***Larissa de Melo Marques*** ([051200035@faculdade.cefsa.edu.br](mailto:051200035@faculdade.cefsa.edu.br))

*Bacharela em Engenharia de Alimentos na Faculdade Engenheiro Salvador Arena*

***Sofia Arantes de Oliveira*** ([051200045@faculdade.cefsa.edu.br](mailto:051200045@faculdade.cefsa.edu.br))

*Bacharela em Engenharia de Alimentos na Faculdade Engenheiro Salvador Arena*

FTT Journal of Engineering and Business

• SÃO BERNARDO DO CAMPO, SP JUN. 2025

• ISSN 2525-8729

Submissão: 11 mar. 2025 Aceitação: 3 jun. 2025

Sistema de avaliação: às cegas dupla (double blind review)

FACULDADE ENGENHEIRO SALVADOR ARENA, p. 39 - 55

FTT JOURNAL  
*of Engineering and Business*



## Resumo

Procedimentos de sanitização desempenham um papel fundamental na garantia da qualidade microbiológica dos alimentos, sendo muitas vezes essenciais para a remoção de diversos contaminantes, tais como bactérias, fungos, vírus, parasitas e resíduos de pesticidas. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar a eficácia de dois métodos de sanitização alternativos — água ozonizada e radiação ultravioleta (UV) — em relação ao método convencional com solução de hipoclorito de sódio, aplicados em folhas de couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*). A aplicação da água ozonizada foi realizada à temperatura ambiente, utilizando uma concentração de 30 mg de O<sub>3</sub>/L durante 3 minutos. O tratamento com luz UV foi conduzido com uma dose de 1,62 kJ·m<sup>-2</sup> pelo mesmo período. Já o tratamento com hipoclorito de sódio seguiu as orientações do fabricante, com uma solução contendo 2,85% de cloro ativo, aplicada por 15 minutos. As análises microbiológicas foram realizadas ao longo de três semanas, utilizando os meios de cultura PCA (Plate Count Agar) para a quantificação de bactérias mesófilas totais e PDA (Potato Dextrose Agar) para a contagem de bolores e leveduras. Os resultados demonstraram que os tratamentos apresentaram eficácias distintas frente aos diferentes grupos microbianos analisados. Para as bactérias mesófilas totais, os métodos com água ozonizada e luz UV mostraram maior efetividade, promovendo reduções próximas a 2 ciclos logarítmicos na carga microbiana. Em contraste, no caso de bolores e leveduras, apenas o tratamento com água ozonizada apresentou resultado significativo, com redução de aproximadamente 1,2 ciclos logarítmicos.

**Palavras-chave:** Luz ultravioleta. Cloro. Sanitização. Bactérias. Bolores e Leveduras.

## Abstract

Sanitization procedures play a fundamental role in guaranteeing the microbiological quality of food and are often essential for removing various contaminants such as bacteria, fungi, viruses, parasites and pesticide residues. In this context, this study aimed to evaluate and compare the effectiveness of two alternative sanitization methods - ozonated water and ultraviolet (UV) radiation - in relation to the conventional method with sodium hypochlorite solution, applied to butter cabbage leaves (*Brassica oleracea* var. *acephala*). Ozonated water was applied at room temperature, using a concentration of 30 mg of O<sub>3</sub>/L for 3 minutes. The UV light treatment was carried out at a dose of 1.62 kJ·m<sup>-2</sup> for the same period. Treatment with sodium hypochlorite followed the manufacturer's guidelines, with a solution containing 2.85% active chlorine, applied for 15 minutes. Microbiological analyzes were carried out over three weeks, using PCA (Plate Count Agar) culture media to quantify total mesophilic bacteria and PDA (Potato Dextrose Agar) to count molds and yeasts. The results showed that the treatments had different efficacies against the different microbial groups analyzed. For total mesophilic bacteria, the ozonated water and UV light methods were most effective, promoting reductions of close to 2 logarithmic cycles in the microbial load. In contrast, in the case of molds and yeasts, only treatment with ozonated water showed significant results, with a reduction of approximately 1.2 logarithmic cycles.

**Keywords:** Chlorine. Sanitization. Kale. Ultraviolet light. Bacteria. Molds and Yeast.

# *Introdução*

Procedimentos de sanitização são muito importantes para garantir a qualidade microbiológica dos alimentos, de forma a não oferecer riscos à saúde do consumidor, sendo cruciais para a remoção de contaminantes, incluindo bactérias, vírus, parasitas e resíduos de pesticidas.

As hortaliças, por serem consumidas frequentemente cruas, estão mais suscetíveis à contaminação durante o cultivo, colheita, transporte e armazenamento (Madeira et al., 2013). Tendo isso em vista, é necessário cada vez mais o desenvolvimento e/ou melhoria de processos para garantir um alimento seguro (Brasil, 2022). A Resolução nº 52, de 29 de setembro de 2014, que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, indica que os sanitizantes são “substâncias ou preparações destinadas à higienização, desinfecção ou desinfestação domiciliar, em ambientes coletivos e/ou públicos, em lugares de uso comum e no tratamento de água” (Brasil, 2014).

De acordo com estudos recentes, a higienização de hortaliças pode ser realizada por diversos métodos, sendo a utilização do cloro a mais comum (Siteo et al., 2025). Entretanto, a aplicação deste método, apesar de sua eficácia na redução da carga microbiana, tem sido questionada devido à formação de subprodutos prejudiciais à saúde humana, como os trihalometanos, que estão associados a riscos potenciais à saúde (Bachelli, 2016; Cavalcante e Lima, 2023).

Como resposta a essas preocupações, novos métodos de higienização têm sido investigados e desenvolvidos. Entre eles, a utilização de radiação ultravioleta (UV) e ozônio tem ganhado destaque.

O ozônio é um gás instável naturalmente encontrado na atmosfera, que representa a estrutura triatômica do oxigênio ( $O_3$ ). A geração de ozônio começa com a divisão de uma molécula de oxigênio diatômico. O oxigênio livre produzido nesse processo pode reagir com outras moléculas de oxigênio, formando moléculas de ozônio (Silva, 2011).

A capacidade germicida do ozônio foi comprovada na França, no final do século XIX, quando seu uso como desinfetante no tratamento de água teve início (Lapolli et al., 2003; Rice et al., 1981). Desde então, o ozônio tem sido amplamente treinado e aplicado, especialmente na Europa, para a purificação e desinfecção de água, tendo sua primeira aplicação em grande escala no tratamento de água em 1893 em Oudshoorn, na Holanda (Lapolli et al., 2003; Langlais; Reckhow; Brink, 1991; Rice et al., 1981).

A radiação UV é compreendida como qualquer radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 100 e 400 nanômetros (nm) e de frequência maior que a luz visível; é subdividida em três categorias, conforme recomendação da Comissão Internacional de Iluminação: UVC (100-280 nm), UVB (280-315 nm) e UVA (315-400 nm) (ICNIRP, 2004). Reconhecida como antimicrobiana há quase um século, a radiação UV-C, identificada em 1910, é a faixa de menor comprimento de onda e maior energia no espectro UV. Sua ação germicida ocorre pela capacidade de danificar o DNA e o RNA de microrganismos, promovendo a formação de dímeros de timina (Ramos, 2020). A radiação UV é eficaz na inativação de microrganismos patogênicos, porém sua eficiência pode ser limitada pela baixa penetração em alimentos com superfícies irregulares, que é o caso da couve, por ter algumas partes lisas e onduladas e com folhas mais grossas e fibrosas (Embrapa, 2009). Além disso, a exposição prolongada à luz UV pode causar degradação dos tecidos vegetais, o que tende a comprometer a qualidade do produto (Filho e Borges, 2020).

Por outro lado, a água ozonizada surge como uma alternativa promissora devido ao seu alto poder oxidante e à ausência de resíduos tóxicos após a aplicação. Estudos recentes indicam que a água ozonizada é eficaz na redução de patógenos em hortaliças, sem comprometer a qualidade sensorial do produto (O'Donnell et al., 2012; Bachelli, 2016). Além disso, por ser uma substância que se decompõe rapidamente em oxigênio, o ozônio não deixa resíduos químicos nos alimentos, tornando-se uma opção segura tanto para o consumidor quanto para o meio ambiente (Cavalcante e Lima, 2023).

De acordo com Silva e Bueno (2022), a importância da higienização de hortaliças é amplificada pelo aumento do consumo de alimentos frescos e minimamente processados, uma tendência que vem crescendo nos últimos anos. A busca por métodos de sanitização que sejam eficazes e seguros reflete a necessidade de atender a essa demanda, garantindo a segurança alimentar sem comprometer a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos. Assim, a higienização adequada das hortaliças é um componente crucial pois contribui significativamente para a prevenção de doenças e promoção da saúde pública (Pandolfi; Moreira; Teixeira, 2020). Portanto, foi definido como objetivo deste trabalho, estudar a eficácia da água ozonizada e da radiação UV em comparação com o hipoclorito de sódio na higienização da couve-manteiga (*Brassica oleracea*).

## ***Metodologia***

### ***Resultados***

### ***Materiais***

A couve-manteiga utilizada para as análises foi obtida por meio de uma plantação de média escala localizada em Ibiúna, interior de São Paulo, onde o cultivo é realizado por replantio para a obtenção de novas folhas de couve.

Os equipamentos utilizados para o desenvolvimento do projeto foram: o Gerador de Ozônio Doméstico (Ozone Generator) 6000 mg O<sub>3</sub>/L, 8W e a Luz UV 9V.

Os meios de cultura utilizados foram o PCA (Plate Count Agar - Merck), para análise de Bactérias Mesófilas Totais (BMT), e o PDA (Potato Dextrose Agar - Merck), para as análises de Bolor e Levedura (BeL). Acrescentou-se ainda cloreto de sódio P.A para a preparação das soluções salinas estéreis a 0,85% e solução de hipoclorito de sódio, obtido através em uma entidade filantrópica, na concentração de 2,85% de cloro ativo, como especificado em sua embalagem.

## *Métodos*

### *Análises microbiológicas e preparo das amostras*

Os procedimentos analíticos para determinações microbiológicas foram extraídos de métodos padrão conforme a American Public Health Association (APHA) (2004). As análises microbiológicas foram realizadas semanalmente nas folhas de couve em um período de três semanas, sendo os resultados expressos pela média das contagens durante esse período.

De cada amostra de couve, foram retiradas assepticamente 25 g, que foram transferidas para béquer (2 L) previamente esterilizado em autoclave. A este béquer, foram adicionados 225 mL de solução salina 0,85% estéril, que, após homogeneização com as folhas, realizada com auxílio de um mixer (Moulinex) esterilizado anteriormente com álcool 70 %, resultou na diluição inicial denominada de 10<sup>-1</sup>. Em seguida, 1 mL desta primeira diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de solução salina 0,85 % estéril, obtendo-se assim a diluição 10<sup>-2</sup>, e sucessivamente, até serem obtidas, pelo mesmo procedimento, as diluições 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup>, que foram utilizadas em todas as determinações microbiológicas.

### *Enumeração de bactérias mesófilas totais*

Das diluições 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup>, foram transferidos 1 mL para placas de Petri estéreis, respectivamente, utilizando-se o método de contagem em profundidade. Em seguida, para cada uma das placas, foram

adicionados cerca de 15 mL de meio de cultura PCA (Plate Count Agar - Merck) estéril, fundido e resfriado à temperatura em torno de 45°C. Após a homogeneização da amostra com o meio e solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 48 horas. Decorrido o tempo, as contagens das placas foram realizadas em contador de colônias, segundo técnica padrão, preferencialmente em placas contendo de 30 a 300 unidades formadoras de colônias.

A média do número de colônias contadas nas placas multiplicada pelo fator de diluição das amostras correspondentes fornece o número de bactérias totais mesófilas por grama de amostra.

### *Enumeração de bolores e leveduras*

Para a contagem de bolores e leveduras, foram adicionados cerca de 15 mL de meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar - Merck) estéril, fundido e resfriado à temperatura em torno de 45°C em placas de Petri. Após a solidificação do ágar em temperatura ambiente, com o auxílio de uma alça de Drigalski, foi espalhado 0,1 mL de cada diluição (diluição  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ). Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C por 72 horas. Decorrido o tempo, as contagens das placas foram realizadas em contador de colônias, segundo técnica padrão, preferencialmente em placas contendo de 25 a 250 unidades formadoras de colônias.

A contagem total de bolores e leveduras foi realizada pela multiplicação da média dos números de unidades formadoras de colônias pelo fator de diluição das amostras correspondentes.

### *Processo de sanitização*

Para a sanitização da couve-manteiga utilizaram-se três diferentes formas, sendo elas: o uso do hipoclorito de sódio, o ozônio e a luz UV, além da folha de couve-manteiga controle, que não passou por nenhuma sanitização, a qual somente foi adicionada a um béquer esterilizado e misturada com auxílio de um Mixer (Moulinex) à solução salina 0,85 % estéril, conforme descrito no item 2.2.1.

Para a sanitização da couve-manteiga pelo método tradicional, que foi o uso de hipoclorito de sódio, 25 g da folha foi imersa em um béquer (2 L) com 1 L água filtrada com a adição de 20 gotas do hipoclorito de sódio (1 mL) com concentração de 2,85 % de cloro ativo. Logo, as equações abaixo demonstram a quantidade de partes por milhão (ppm) final na solução sanitizante:

**Equação 1:** Massa de cloro ativo

$$1,0 \text{ g} \cdot \frac{2,85}{100} = 0,0285 \text{ g} = 28,5 \text{ mg}$$

**Equação 2:** Concentração de cloro ativo na solução

$$ppm = \frac{\text{massa de cloro ativo (mg)}}{\text{massa da solução (kg)}} = \frac{28,5 \text{ mg}}{1 \text{ kg}} = 28,5 \text{ ppm}$$

Portanto, com a solução com 28,5 ppm, a folha da couve ficou por um tempo padrão de 15 min., seguindo a instrução de higienização de alimentos da embalagem do sanitizante.

Após o tempo determinado, as folhas foram retiradas utilizando-se luvas higienizadas com álcool 70 % e trituradas juntamente com 225 mL de solução salina estéril a 0,85 %, em um béquer de 2 L previamente esterilizado em autoclave, em um mixer da marca Moulinex, também esterilizado com álcool 70%.

Para o processo de higienização com ozônio (O<sub>3</sub>), as folhas de couve-manteiga foram imersas em um béquer com capacidade de 2 L contendo 1 L de água comum filtrada à temperatura ambiente. Uma mangueira com pedra porosa na extremidade foi inserida no recipiente, permitindo a difusão do ozônio na água. A produção de ozônio foi realizada por um gerador com capacidade de 600 mg de O<sub>3</sub>/L, 8 W, ativado ao ser conectado à tomada. As folhas permaneceram imersas por 3 minutos, conforme o protocolo utilizado por Kim et al. (1999) para alface.

Em seguida, 25 g das folhas já higienizadas foram transferidas para um béquer de 1 L esterilizado, junto com 225 mL de solução salina estéril a 0,85 %, para a preparação da diluição 10<sup>-1</sup>. A mistura foi homogeneizada utilizando novamente o mixer esterilizado com álcool 70%.

Para a sanitização com luz ultravioleta (UV), optou-se por um equipamento de baixo custo, comumente utilizado em aquários, por ser acessível ao uso doméstico. Em um béquer com capacidade de 2 L, contendo 1 L de água comum filtrada à temperatura ambiente, foram imersos 25 g de folhas de couve-manteiga juntamente com o equipamento emissor de luz UV, mantendo-se o contato por 3 minutos, conforme o tempo padronizado na higienização com ozônio. Decorrido o tempo de exposição, as folhas foram retiradas e transferidas para um béquer esterilizado de 2 L. A seguir, procedeu-se da mesma forma descrita anteriormente para a preparação da diluição 10<sup>-1</sup>: foram adicionados 25 g da amostra a 225 mL de solução salina estéril a 0,85 %, homogeneizando-se a mistura com auxílio de um mixer previamente higienizado com álcool 70 %, visando à realização das análises microbiológicas.

### *Análise de dados*

Os dados resultantes das contagens microbiológicas foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-HSD a 5% de significância realizada no Software Action Stat (versão 3.7).

## *Resultados e discussões*

Os resultados obtidos neste estudo consideraram a redução da carga microbiana promovida pelos tratamentos aplicados, com base na contagem de bactérias mesófilas totais, bolores e leveduras, em comparação ao grupo de controle. Apesar da amostragem envolver um material vegetal naturalmente heterogêneo, foram adotados cuidados metodológicos, como a coleta padronizada de folhas internas da couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*), por se tratar de estruturas potencialmente menos expostas a pragas e contaminantes ambientais.

A coleta das amostras foi realizada de forma sistemática, sempre na mesma área do cultivo e com o mesmo procedimento, visando reduzir a variabilidade experimental e aumentar a reprodutibilidade dos dados.

No que diz respeito à sanitização com ozônio e luz ultravioleta (UV), verificou-se uma lacuna na literatura científica referente à aplicação desses tratamentos em folhas de couve-manteiga. Diante disso, o tempo de exposição ao ozônio foi baseado no estudo de Kim et al. (1999), que estabeleceu três minutos como tempo ideal para a sanitização de alface (*Lactuca sativa*). Tal parâmetro foi adotado neste experimento, com o objetivo de avaliar sua eficácia na couve-manteiga. No entanto, é importante destacar que, apesar de ambas pertencerem à família Asteraceae, essas hortaliças apresentam características morfofisiológicas distintas. A alface possui folhas mais finas e delicadas, o que a torna mais suscetível a danos mecânicos e degradação. Em contraste, a couve-manteiga apresenta folhas mais espessas e robustas, conferindo-lhe maior resistência física e durabilidade pós-colheita.

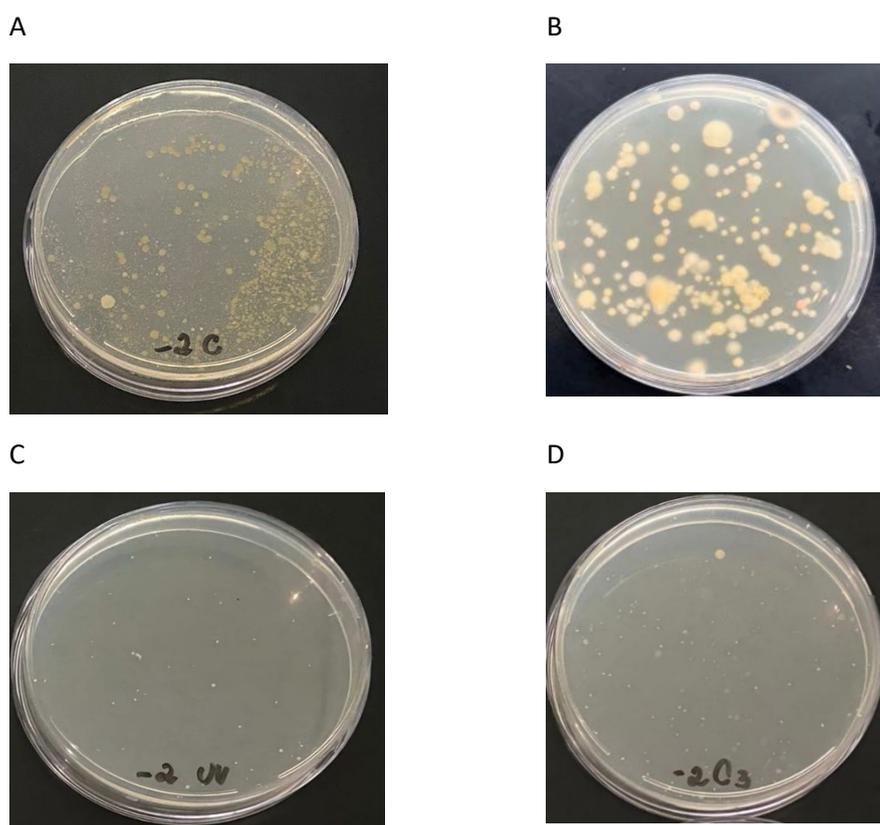
### *Contagem de bactérias mesófilas totais*

A legislação brasileira ainda não define limites para a contagem total de bactérias mesófilas em hortaliças frescas; no entanto, essa avaliação é amplamente utilizada como um parâmetro de qualidade microbiológica geral dos alimentos (ICMSF, 2002). De acordo com os critérios estabelecidos pelo ICMSF

(2002), é permitido um máximo de 7,0 log UFC/g de bactérias totais nos produtos alimentícios, e após a desinfecção dos vegetais, espera-se uma diminuição da carga microbiana para, no mínimo, de 5 log UFC/g.

Após 48 horas em estufa, as placas com o meio de cultura PCA para contagem de BMT (Figuras 1A, 1B, 1C e 1D), contendo 1 ml de alíquota da amostra diluída em solução salina 0,85 % estéril das folhas de couve-manteiga higienizadas, foram contadas para quantificar o número de bactérias mesófilas totais (Tabela 1). De acordo com Barbosa et al. (2017), alguns fatores contribuem para a proliferação de microrganismos nos vegetais, como o período estendido de conservação. No estudo conduzido por Allende; Aguayo; Artés (2004), os itens minimamente processados mostraram um crescimento de 5,0 para 8,0 log UFC/g na quantidade de microrganismos, após uma semana de armazenamento a 5°C. Para este projeto, as couves foram colhidas da plantação, armazenadas por dois dias a 4°C e analisadas de acordo com a quantidade de bactérias mesófilas totais perfazendo um prazo menor de estocagem em relação ao estudado pelos autores acima, justificando possivelmente uma concentração dos microrganismos ligeiramente superior ao referido 5 log UFC/g (contagem média de BMT 5,54 log UFC/g).

Figura 1 - Crescimento de bactérias mesófilas totais resultantes de análise utilizando diluição seriada em profundidade. **A.** Placa com meio PCA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga sem higienização. **B.** Placa de meio PCA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com hipoclorito de sódio. **C.** Placa de meio PCA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com luz UV. **D.** Placa de meio PCA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com água ozonizada.



Fonte: elaboração das autoras (2024).

Tabela 1 - Média de contagem final de bactérias mesófilas totais por UFC/g e Log (UFC/g)

Tratamento	Contagem média de bactérias mesófilas totais	
	(UFC/g)	Log (UFC/g)
Controle	3,50E+05 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,9
Hipoclorito de sódio	1,80E+05 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,3
Ozônio	7,50E+03 <sup>b</sup>	3,9 ± 0,5
Luz UV	6,20E+03 <sup>b</sup>	3,8 ± 0,3

\*Letras distintas na mesma coluna diferem significativamente a  $p < 0,05$ .

Fonte: elaboração das autoras (2024).

Ao realizar a comparação de contagem de bactérias mesófilas totais por grama de couve é possível verificar que os tratamentos utilizando a água ozonizada e a luz UV são eficazes quando se fala de redução de carga microbiana de bactérias. São dois tratamentos distintos, que utilizam mecanismos diferentes de atuação para a morte microbiana; de acordo com Andrade e Macêdo (1996), a luz UV induz alterações fotobioquímicas nos microrganismos, comprometendo sua viabilidade e levando à morte celular; por sua vez, segundo Traore et al. (2020), a água ozonizada age por meio da oxidação gradual de componentes celulares essenciais, resultando na eliminação dos microrganismos. Porém, não possuem diferença significativa nos valores finais de UFC por grama de amostra ( $p < 0,05$ ), fato que já não pode ser observado no caso do hipoclorito de sódio, o qual não teve diferença significativa, ao nível de 0,05 em relação ao controle.

Dessa forma, pode-se dizer que, no caso deste estudo, a ação do hipoclorito foi nula, não servindo como agente sanitizante quando aplicado na concentração e no tempo estipulado pelo fabricante.

No caso da sanitização utilizando hipoclorito de sódio, quando produtos clorados estão presentes em soluções aquosas, é liberado o ácido hipocloroso, que apresenta ação germicida. A ação dele nas células de microrganismos, tanto em bactérias quanto em bolores e leveduras, consiste na reação do ácido com múltiplas biomoléculas, como lipídios, aminoácidos, proteínas, peptídeos e ácidos nucleicos, atingindo muitas estruturas e compostos celulares, como a parede celular, as membranas celular e mitocondrial, enzimas e até o DNA dos microrganismos (Grosso et al., 2021).

A partir dos dados da Tabela 1 e da Figura 1B, observa-se o crescimento de bactérias tanto em valor quanto nas placas presentes na folha de couve-manteiga higienizada com esse agente, que, comparado com os

outros meios de sanitização (ozônio e UV), pode ser considerado um valor alto. Porém, apesar da baixa eficácia observada do hipoclorito de sódio, na primeira semana de análises foi obtido um resultado positivo na redução de bactérias mesófilas, que foi a primeira análise realizada, onde o log de UFC/g do controle foi de 6,1, e o do hipoclorito, 5,0, observando-se então uma redução de 1,1 ciclos logarítmicos em comparação com o controle; mas, com o passar do tempo, os resultados das análises começaram a mostrar altas quantidades de bactérias com o sanitizante. Portanto, essa observação pode ser explicada pela instabilidade do hipoclorito de sódio, que, com o passar do tempo, de acordo com Prado et al. (2012), o cloro na solução se degrada, perdendo gradativamente a sua eficácia antimicrobiana. Isso deve ser levado em conta já que a solução de hipoclorito foi adquirida sem custo em uma instituição filantrópica; além disso, apesar de estar dentro do prazo de validade, a embalagem possuía uma tampa de plástico rígido branco, que, após aberta, não ofereceu a devida vedação, permitindo a entrada de ar.

Já o tratamento utilizando a luz UV, de acordo com Andrade e Macêdo (1996), provoca alterações fotobioquímicas nos microrganismos, sendo absorvidos pelas bases purínicas e pirimidíacas constituintes do DNA, resultando em mutações irreversíveis que promovem a inviabilidade ou morte do microrganismo. Os resultados da contagem de bactérias mesófilas totais utilizando esse método mostram uma média de  $6,2 \times 10^3$  UFC/g, sendo inferior às contagens que usam como método de desinfecção o cloro. Vale dizer que sua aplicação no processo de higienização alcançou uma redução de quase dois ciclos logarítmicos em relação ao controle.

O uso de água ozonizada na higienização, por sua vez, mostrou-se eficaz na redução da carga de bactérias mesófilas, com uma contagem média de  $7,4 \times 10^3$  UFC/g, obtida a partir das medições realizadas ao longo de três semanas de análise, indicando uma diminuição significativa, de cerca de 1,6 ciclos logarítmicos em relação a controle. Um dos resultados é demonstrado na Figura 1D, o qual mostra o crescimento das bactérias totais na placa da diluição  $10^{-2}$ . Esses resultados reforçam o potencial do ozônio como um agente sanitizante eficiente para hortaliças.

Segundo Traore et al. (2020), devido à sua elevada atividade oxidante, o ozônio tem sido associado à indução de alterações fisiológicas, químicas e microbianas em produtos frescos. Além disso, sua ação elimina microrganismos ao promover a oxidação progressiva de componentes celulares essenciais. Dessa forma, o prolongamento do tempo de tratamento intensifica o efeito oxidativo, favorecendo uma redução logarítmica em produtos tratados com água ozonizada.

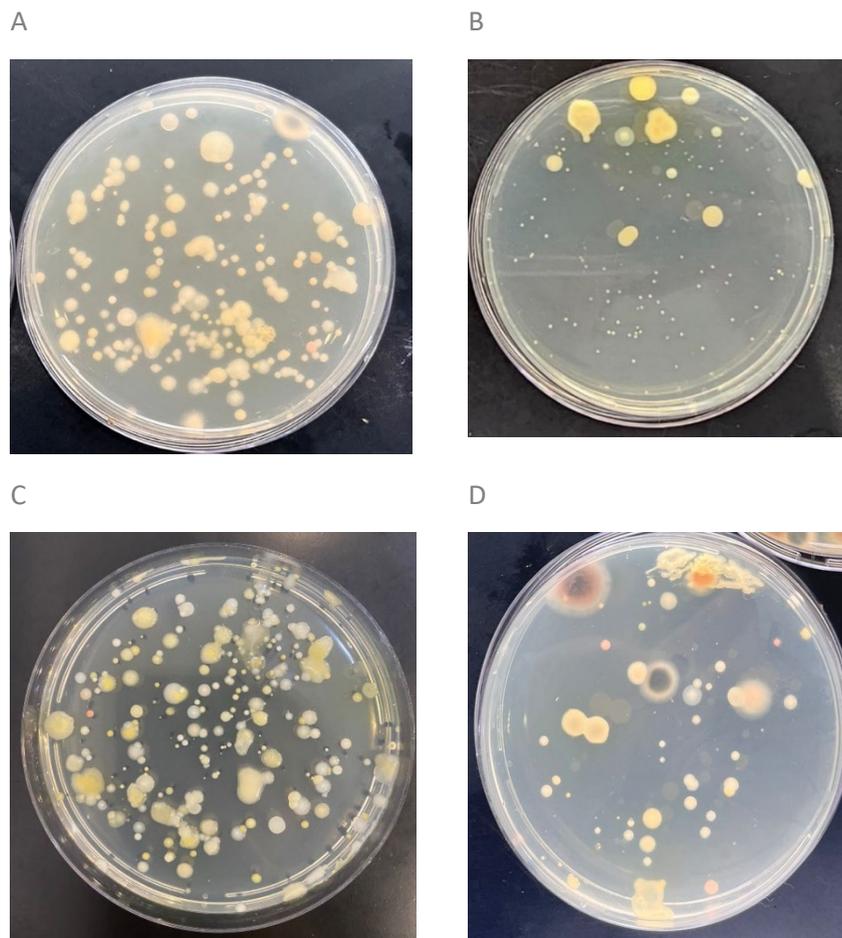
Ao comparar os resultados deste estudo com os de Silva (2023), que avaliou a higienização de folhas de alface em água ozonizada por 5 min., com uma redução de carga microbiana de 1,4 ciclos logarítmicos, observa-se que a higienização da couve-manteiga por 3 min. no presente estudo resultou em uma redução de carga microbiana muito semelhante, com redução de 1,6 ciclos logarítmicos. Esse dado comprova que o uso de ozônio para higienização é eficaz na redução de bactérias mesófilas, assim como o uso da luz UV.

### *Análise de bolor e leveduras*

Diferentemente da análise de BMT, na análise de bolores e leveduras (Figura 2), o único agente sanitizante que teve efeito sobre a concentração desses microrganismos foi o ozônio (Tabela 2). Os tratamentos utilizando hipoclorito de sódio e luz UV não mostraram diferença significativa entre si e nem em relação ao controle para a contagem média de bolores e leveduras ao nível de significância de 0,05. Porém, vale dizer que, mesmo apresentando redução de concentração de bolores e leveduras, o tratamento utilizando o ozônio não foi tão efetivo quanto a sua ação nas bactérias, já que a diminuição de concentração microbiana não chegou nem a 1.5 ciclo logarítmico.

Segundo Silva Júnior (2008), são consideradas altas contagens de bolores e leveduras valores acima de  $5 \cdot 10^5$  UFC/g, indicando, pelo mesmo autor, a ocorrência de prática inadequada de higiene no processamento. De acordo com a Tabela 2, assim como na contagem de bactérias mesófilas, houve tratamento de higienização eficaz, porém, o que se percebe é que a contaminação inicial da couve não é considerada muito alta, corroborando provavelmente a ideia exposta por Allende; Aguayo; Artés (2004).

Figura 2 - Crescimento de bolores e leveduras resultante de análise utilizando diluição seriada em superfície. **A.** Placa com meio PDA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga sem higienização. **B.** Placa de meio PDA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com hipoclorito de sódio. **C.** Placa de meio PDA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com luz UV. **D.** Placa de meio PDA da diluição  $10^{-2}$  da couve-manteiga higienizada com água ozonizada.



Fonte: elaboração das autoras (2024).

Tabela 2 - Média de contagem final de bolores e leveduras por UFC/g e Log (UFC/g)

Tratamento	Contagem média de bolores e leveduras	
	(UFC/g)	Log (UFC/g)
Controle	4,15E+05 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,9
Hipoclorito de sódio	1,78E+05 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,3
Luz UV	1,78E+05 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,5
Ozônio	2,52E+04 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,2

\*Letras distintas na mesma coluna diferem significativamente a  $p < 0,05$ .

Fonte: elaboração das autoras (2024).

De acordo com o estudo de Bachelli (2016), no qual foi avaliada a eficácia de diferentes métodos de sanitização em produtos minimamente processados, como alface e mamão, os resultados demonstraram que a radiação UV apresentou uma eficiência menor quando comparada com a água ozonizada, estando esse resultado de acordo com o que foi estudado no presente trabalho. Ademais, segundo estudo de Silva et al. (2017), em que foi avaliada a eficiência do UV na inibição do crescimento de leveduras, foi observado

que o UV não teve a mesma eficiência para todas as leveduras avaliadas. Este argumento foi reforçado por uma pesquisa da Embrapa (2019), na qual foi analisado o efeito do UV no controle de *Aspergillus flavus* e de contaminantes naturais na castanha, sendo observada uma redução menor de bolores quando comparado com a sua eficiência em bactérias. Adicionalmente, o estudo cita que a eficiência do processo depende da espécie estudada, demonstrando que algumas espécies podem ser mais resistentes do que outras, tornando-se necessária uma dose maior de radiação ou um maior tempo de exposição.

Já a não redução do número de bolores e leveduras com o uso de hipoclorito de sódio segue o mesmo resultado obtido na enumeração de bactérias mesófilas, tendo em vista a instabilidade associada ao cloro conforme sua armazenagem, associado ao problema com a vedação da embalagem do hipoclorito de sódio utilizado para este trabalho.

## *Considerações finais*

Com base nos resultados obtidos nas análises de eficácia de diferentes métodos de higienização em folhas de couve, pôde-se concluir que os métodos avaliados apresentaram resultados distintos quando comparados em termos de sua eficiência na redução de bactérias mesófilas e bolores e leveduras.

No que se refere à redução de bactérias mesófilas, os tratamentos com luz UV e ozônio se destacaram pela sua eficácia. A luz UV foi tão eficiente quanto o método utilizando o ozônio, enquanto o hipoclorito de sódio não demonstrou uma redução significativa na carga bacteriana, apresentando resultados semelhantes aos do controle. Esse baixo desempenho pode ser explicado pela instabilidade do hipoclorito de sódio, que compromete sua ação, o que justifica a ausência de redução significativa nas contagens bacterianas em comparação aos outros métodos.

Já em relação à redução de bolores e leveduras, o ozônio foi o tratamento mais eficaz, diferente da luz UV e do hipoclorito de sódio, que não apresentaram redução relevante desses microrganismos.

Os custos para higienizar hortaliças podem variar bastante dependendo do método usado. Contudo, futuros estudos sobre viabilidade econômica são necessários para compreender melhor os custos envolvidos em cada método, considerando-se não apenas o investimento inicial, mas também as despesas de manutenção e operação ao longo do tempo.

Em suma, os métodos de higienização testados e da forma como foram analisados levaram a crer que, levando-se em conta os microrganismos estudados, o melhor tratamento de sanitização seria a imersão das folhas de couve-manteiga por 3 min. em presença da água ozonizada, visto que ele se mostrou eficiente tanto na redução do número de bactérias quanto no número de leveduras. Em relação ao tratamento com luz UV, talvez para sua maior efetividade seria necessária a utilização de mais tempo de contato com a folha, para poder atingir de maneira mais eficaz os bolores e leveduras; entretanto, no que concerne à utilização desse método, seriam necessários mais estudos devido à sua capacidade de interferência no DNA do alimento.

Por fim, o uso de hipoclorito de sódio apresentou limitações no estudo aqui desenvolvido, visto que o esperado para ele seria uma alta eficácia na eliminação tanto de bactérias quanto de bolores e leveduras; contudo, o resultado não foi atingido devido a problemas relacionados à embalagem. Porém, já é possível pensar nessa instabilidade do cloro como um ponto negativo desse sanitizante, visto o quanto sua eficácia foi afetada devido ao problema detectado.

## *Referências*

ALLENDE, A.; AGUAYO, E.; ARTÉS, F. **Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life**. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 91, p. 109-117, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14996454/>. Acesso em: 10 abr. 2024.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION –WEF. **Standard methods for the examination of dairy products**. 17th Ed. Washington DC, p.552, 2004. Disponível em: <https://scirp.org/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2329795>. Acesso em: 09 abr. 2024.

ANDRADE, Nélio José de; MACÊDO, Jorge Antônio B. de. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

BACHELLI, T. P. **Avaliação da radiação ultravioleta C e água ozonizada para sanitização de alface e mamão minimamente processados**. 2016. 157 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) — Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br>. Acesso em: 22 nov. 2024.

BARBOSA, Talita Araújo et al. **Avaliação microbiológica de couve minimamente processada comercializada em supermercados de Brasília**, DF. Higiene Alimentar, v. 31, n. 272/273, 2017. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876174/272-273-p-97-101.pdf>. Acesso em: 20 out. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde, 2014. **Portaria nº 650 da ANVISA**, de 29 de maio de 2014. Disponível em: [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3637614/RDC\\_52\\_2014\\_.pdf/ca9f2f97-a99a-4e778ed0-302f19faa714](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3637614/RDC_52_2014_.pdf/ca9f2f97-a99a-4e778ed0-302f19faa714). Acesso em: 19 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Livro Boas Prática Agrícolas para a produção de Alimentos Seguros**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Pecuária, 2022.

CARDOSO, C. C.; VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; FIORINI, J. E.; AMARAL, L. A. **Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 1, p. 59-61, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/Fyv8jMQtzhsSZjPg5nQC/>. Acesso em: 20 out. 2024.

CAVALCANTE, Maria Leidiane; LIMA, Jorgiane da Silva Severino. **A utilização do ozônio como sanitizante na indústria de alimentos: uma revisão narrativa.** *Nutrivisa-Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde*, v. 10, n. 1, p. e12097-e12097, 2023. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/nutrivisa/article/view/12097/10401>. Acesso em: 18 mar. 2024.

EMBRAPA. **Couve-manteiga.** [S. l.], 09 2009. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/782570/1/digitalizar0195.pdf#:~:text=Essas%20possuem%20folhas%20verdeclaro%2C%20tenras%2C%20lisas%20ou%20pouco,de%20couve-manteiga%20s%C3%A3o%20comercializadas%20na%20forma%20de%20ma%C3%A7o>. Acesso em: 17 nov. 2024.

EMBRAPA. **Radiação ultravioleta C no controle de *Aspergillus flavus* Link e de outros contaminantes da castanha-do-brasil.** Embrapa Meio Ambiente, 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/201110/1/boletim-82-daniel.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2024.

FDA, **Secondary Direct Food Additives Permitted in Food for Human Consumption**, Federal Register 66(123):33829-33830, 2001. Disponível em: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2001-0626/pdf/01-15747.pdf#page=2>. Acesso em 21 mar. 2024.

FILHO, Clóvis Antônio Balbinot; BORGES, Caroline Dellinghausen. **Efeitos da radiação UV-C em alface e maçã minimamente processadas: uma revisão.** *Brazilian Journal of food technology*, [S. l.], v. 23, p. 1-13, 8 jun. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/mrM7c4RYQ6PZb5MRmHg94yQ/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 30 maio 2024.

GIESE, Arthur C.; CHRISTENSEN, Eleanor. **Effects of ozone on organisms.** *Physiological Zoology*, v. 27, n. 2, p. 101-115, 1954. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/physzool.27.2.30154518>. Acesso em: 24 out. 2024.

GROSSO, Camilla; DE MONTE, Chiara; CORAZZA, Michela; FALSETTI, Paola; PESCE, Massimiliano; SANTINELLO, Massimo. **Antimicrobial activity of sodium hypochlorite in medical and environmental applications.** *Biosurface and Biotribology*, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 42-56, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1749461321000440>. Acesso em: 14 nov. 2024.

ICMSF, Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microrganisms in Foods 7: Microbiological testing in food safety management.** New York: Kluwer Academic, 2002.

KIM, J.-G.; Yousef, A.E.; Chism, G.W. **Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce.** *J. Food Safety* 19:17-34, 1999. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1745-4565.1999.tb00231.x>. Acesso em: 10 set. 2024.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. **Ozone in water treatment: application and engineering.** Chelsea: AWWARF and Lewis Publishers, 1991. 568 p.

LANITA, C. S.; SILVA, S. B. **Uso de ozônio em câmara industrial para controle de bolores e leveduras durante a maturação de queijo tipo parmesão.** *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, n. 3, p. 182-189, jul./set. 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/256088560\\_Uso\\_de\\_ozonio\\_em\\_camara\\_industrial\\_para\\_controle\\_de\\_bolores\\_e\\_leveduras\\_durante\\_a\\_maturacao\\_de\\_queijo\\_tipo\\_parmesao](https://www.researchgate.net/publication/256088560_Uso_de_ozonio_em_camara_industrial_para_controle_de_bolores_e_leveduras_durante_a_maturacao_de_queijo_tipo_parmesao). Acesso em: 13 set. 2024.

LAPOLLI, Flávio Rubens et al. **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. Desinfecção de Efluentes Sanitários.** Tradução. Rio de Janeiro: ABES, 2003. Disponível em:

<https://repositorio.usp.br/directbitstream/060d3863-61cc-4b78-8000-61d05747a17b/Piveli-2003-Desinfeccao.pdf>. Acesso em: 02 dez. 2024.

MADEIRA, Nuno Rodrigo; SILVA, Paula Cristina; BOTREL, Neide; MENDONÇA, José Lindorico de; SILVEIRA, Georgeton Soares Ribeiro; PEDROSA, Marinalva Woods. **Manual de produção de hortaliças tradicionais**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 156 p.

O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K; CULLEN, P.J.; RICE, R.G. **Ozone in Food Processing**, Ed. Blackwell Publishing Ltd. 1.ed., 2012.

PANDOLFI, I. A., Moreira, L. Q., & Teixeira, E. M. B. (2020). **Segurança alimentar e serviços de alimentação - revisão de literatura**. Brazilian Journal of Development, 6(7), 42237-42246. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12477>. Acesso em: 12 de mai. de 2024.

PRADO, Maíra do; FIGUEIREDO, João Paulo de Oliveira; PIRES, Dilson Coimbra de Almeida; CORRÊA, Ana Carolina Pimentel; ARAÚJO, Marcos Cesar Pimenta de. **Efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento na estabilidade química de soluções de hipoclorito de sódio**. Revista de Odontologia da UNESP, v. 41, n. 4, p. 242-246, 2012. Disponível em: <https://revodontolunesp.com.br/article/5880192c7f8c9d0a098b5006/pdf/rou-41-4-242.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2024.

RAMOS CC, ROQUE JL, SARMIENTO DB, SUAREZ LE, SUNIO JT, TABUNGAR KI, et al. **Use of ultraviolet-C in environmental sterilization in hospitals: a systematic review on efficacy and safety**. Int J Health Sci (Qassim). 2020;14(6):52–65. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7644456/pdf/IJHS-14-52.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2024.

RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W.; HILL, A. B. **Uses of ozone in drinking water treatment**. Journal of the American Water Works Association, Denver, v. 73, n. 1, p. 44-47, 1981.

SILVA, B. S. **Potencialidade do uso do ozônio no processamento de alimentos**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 2, p. 659-682, abr/jun. 2011. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744101026.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2024.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. São Paulo: Varela editora e livraria ltda. 6 ed. 2008.

SILVA, A. L.; SERRA, E. F.; RIPOLL, M. K.; WALLER, S. B.; OSÓRIO, L. DA G.; GOMES, A. DOS R.; FARIA, R. O. DE; MEIRELES, M. C. A. **Luz ultravioleta na inibição do crescimento de leveduras**. Science and Animal Health, v. 5, n. 2, p. 101-111, 6 nov. 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/index.php/veterinaria/article/view/10051>. Acesso em: 22 nov. 2024.

SILVA, Marcia Joaquim da. **Água ozonizada em sistema com microbolha na qualidade microbiológica e físico-química de alface**. 2023. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/31729/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2024.

SILVA, Natielly Candido da; BUENO, Silvia Messias. **Alimentos minimamente processados: tendência de mercado no século XXI**. Revista Científica UNILAGO, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1-12, 14 jan. 2022. Disponível em: <https://revistas.unilago.edu.br/index.php/revistacientifica/article/view/643>. Acesso em: 12 maio 2024.

SITOE, E. DA P. E.; PACHECO, F. C.; CHILALA, F. D. **Advances in Ozone Technology for Preservation of Grains and End Products: Application Techniques, Control of Microbial Contaminants, Mitigation of Mycotoxins**. Impact on Quality, and Regulatory Approvals. Compr Rev Food Sci Food Saf, v. 24, n. 3, 2025. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70173>

TRAORE MB, Sun A, Gan Z, et al. **Assessing the impact of the combined application of ultrasound and ozone on microbial quality and bioactive compounds with antioxidant attributes of cabbage (Brassica Oleracea L. Var. Capitata)**. WILEY - Journal of Food Processing and Preservation, [S. l.], p. 1-11, 2p6 jun. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.14779>. Acesso em: 16 nov. 2024.