

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Avaliação da ozonização aquosa para sanitização de
morangos minimamente processados**

Caroline Corrêa de Souza Coelho

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA OZONIZAÇÃO AQUOSA PARA SANITIZAÇÃO DE
MORANGOS MINIMAMENTE PROCESSADOS**

CAROLINE CORRÊA DE SOUZA COELHO

Sob a orientação da professora
Lourdes Maria Correa Cabral

e Co-orientação do Professor
Otniel Freitas-Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ
Março de 2015

664.80475

C672a

T

Coelho, Caroline Corrêa de Souza, 1989-

Avaliação da ozonização aquosa para sanitização de morangos minimamente processados / Caroline Corrêa de Souza Coelho. - 2015.

69 f.: il.

Orientador: Lourdes Maria Correa Cabral.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2015.

Bibliografia: f. 56-69.

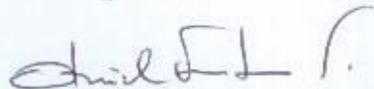
1. Morango - Conservação - Teses. 2. Morango - Qualidade - Teses. 3. Morango - Microbiologia - Teses. 4. Ozonização - Teses. 5. Tecnologia de alimentos - Teses. I. Cabral, Lourdes Maria Correa, 1957- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

CAROLINE CORRÊA DE SOUZA COELHO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em ciências, no programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência de Alimentos.

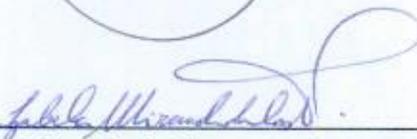
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 05/03/2015



Dr. Otniel Freitas-Silva. D.Sc. EMBRAPA
(Coorientador)



Regina Celi Cavestré Coneglian. D.Sc. UFRRJ



Izabela Miranda de Castro. D.Sc. EMBRAPA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais Airton Coelho e Cristina Coelho, por todo esforço prestado a mim, ao meu irmão Raphael Coelho pelo apoio, a meus avós (Donina Moura, José Coelho e Maria do Carmo Coelho (in memória)) pelo carinho durante toda minha vida e ao meu noivo David Macedo pela paciência, apoio e carinho durante meu mestrado.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Embrapa Agroindústria de alimentos pela oportunidade de realização do projeto de mestrado.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

A professora Dra. Lourdes Maria Corrêa Cabral, pela orientação e apoio prestado.

Ao Dr. Otniel Freitas Silva pela coorientação, pela parceria, pelos conselhos, ensinamentos, paciência, apoio prestado e pela confiança a mim designada.

Ao amigo Rodrigo da Silveira Campos, pela ajuda na obtenção dos morangos, pela amizade e conselhos dados.

À amiga Maristela Martinelli pela paciência, boa vontade e por toda ajuda com finalização dos resultados.

Aos amigos Ivan Alcântara e Miguel Pereira, pela ajuda na realização das análises, e pela amizade.

As companheiras de laboratório Patrícia Souza e Bruna Pereira, pela amizade durante o mestrado, por toda ajuda, cumplicidade no laboratório e conselhos.

A todos os funcionários do laboratório de fisiologia pós-colheita, Diagnóstico Molecular e Micologia por todo apoio durante a condução deste trabalho.

A todos os funcionários do laboratório de microbiologia por todo apoio durante a realização das análises microbiológicas.

As amigas do curso de Agronomia Bruna Gomes Pereira, Nubia Mezzavilla e Ana Lígia que por mais distante que estivemos sempre me deram força em todos os momentos.

As minhas amigas Nina Rafaela, Tamiris Albuquerque e Rosana Coelho pelo entendimento da minha ausência e por toda cumplicidade durante esses anos de amizade.

Aos meus familiares e ao meu noivo David Cabral Macedo, por todo carinho, confiança, sempre me auxiliando para que todos meus objetivos possam ser alcançados.

Aos membros da banca examinadora da dissertação: Dr. Otniel Freitas-Silva; Prof. Dra. Regina Celi Cavestré Coneglian; Dra. Izabela Miranda de Castro. E aos suplentes Dra. Janine Passos Lima da Silva e Dra. Mônica Marques Pagani.

A todos que, de alguma forma, me ajudaram na realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

COELHO, Caroline Corrêa de Souza. **Avaliação da ozonização aquosa para sanitização de morangos minimamente processados**. 2015. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia de alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ozonização em meio aquoso para sanitização de morangos cv. Camino Real minimamente processados, verificando-se o efeito da aplicação da técnica na qualidade e conservação pós-colheita dos frutos. Os morangos colhidos em Nova Fiburgo, RJ foram submetidos as etapas de seleção, lavagem, corte, sanitização, drenagem, embalagem e armazenamento. Os tratamentos consistiram em imersão dos frutos em água ozonizada a 0,2 (T1), 0,5 (T2) e 1,0 mg L⁻¹ (T3), resfriada a 10°C por 5 min., imersão dos frutos em solução de cloro Sumaveg[®] a 150 mg L⁻¹ (T4) e posterior enxágue com 5 mg L⁻¹ com água resfriada a 10 °C, por 10 min. Como tratamento controle, os morangos foram lavados com água corrente (T5). Após a drenagem, os frutos foram embalados em bandeja de Polipropileno (PP) e armazenados por 12 dias sob refrigeração a 5 °C e UR 90%. Foram realizadas análises físicas, físico-químicas, bioquímicas, microbiológicas e % de incidência de doenças, com a finalidade de avaliar os parâmetros de qualidade pós-colheita. As análises físicas, físico-químicas e bioquímicas mostraram que houve manutenção da qualidade dos frutos tratados por ozonização em todas as concentrações de ozônio estudadas. Os frutos submetidos aos tratamentos 0,2 mg.L⁻¹ e cloração (T1 e T4) encontravam-se comercialmente aceitáveis no 12º dia de armazenamento, por apresentar perda de massa inferior a 6%. Os tratamentos referentes à sanitização com água ozonizada (0,2; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) apresentaram firmeza superior aos frutos submetidos a cloração (T4) e ao controle (T5). Para os demais parâmetros, os períodos de armazenamento foram os responsáveis pelas diferenças observadas. As soluções de ozonização avaliadas mostraram desempenho superior a cloração na redução de fitopatógenos pós-colheita do morango, e evidenciaram grande potencial para ser adotada em processo de sanitização para morangos cv. Camino Real, por apresentar menor % de incidência de doenças em relação às demais. Todos os métodos de sanitização estudados foram eficazes no controle das bactérias indicadoras das condições higiênico-sanitárias.

Palavras-chave: Ozônio, fitopatógenos, qualidade pós-colheita.

ABSTRACT

COELHO, Caroline Corrêa de Souza. **Evaluation of aqueous ozonation for sanitization of fresh cut strawberries.** 2015. 69p. Dissertation (MSc in Food Science and Technology). Institute of Food Technology. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

This study aimed to evaluate aqueous ozonation technology on sanitization of strawberries cv. Camino Real minimally processed, verifying the technical application of the effect on the quality and its quality and postharvest conservation. Fruits from Nova Friburgo, RJ underwent the steps of selection, washing, cutting, sanitation, drainage, packaging and storage. The treatments consisted of immersion of fruits in ozonated water at 0.2 (T1), 0.5 (T2) and 1.0 mg L⁻¹ (T3), cooled to 10 ° C for 5 min., immersion of fruits in chlorine Sumaveg[®] 150 mg L⁻¹ (T4) and subsequent rinsing with 5 mg L⁻¹ with chilled water at 10 ° C for 10 min. To the control, fruits were washed under running water (T5). After draining, the fruits were packed in polypropylene (PP) and stored for 12 days under refrigeration at 5 ° C and RH 90%. The physical, physical-chemical and biochemical showed that there was quality maintenance with ozonation concentration. The physical, physico-chemical and biochemical showed that there was maintaining the quality of fruits treated by ozonation in all ozone concentration. The fruits of 0.2mg.L⁻¹ and chlorination (T1 and T4) are commercially acceptable found on the 12th day of storage, due to its mass loss of less than 6%. The treatments related to sanitation with ozonated water (0.2; 0.5 and 1.0 mg.L⁻¹) had higher firmness compared to chlorination (T4) and control (T5). Tested ozonation solutions presented superior performance than chlorination in reducing postharvest strawberry plant pathogens, with higher potential to be adopted in sanitizing process for strawberries cv. Camino Real, since it reduced the postharvest diseases in relation to the other ones. All sanitization methods studied controlled indicator bacteria of sanitary conditions.

Key words: Ozone, plant pathogens, post-harvest quality.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Perda de massa fresca (%) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 29
- Tabela 2.** Cor Instrumental (°Hue) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 31
- Tabela 3.** Cor Instrumental (L*) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 32
- Tabela 4.** Firmeza (N) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 34
- Tabela 5.** Teor de ATT (g ácido cítrico. 100g⁻¹) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 37
- Tabela 6.** Teor de SST (°Brix) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 38
- Tabela 7.** Relação SST/ATT de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 40
- Tabela 8.** Vitamina C (mg.100g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 43
- Tabela 9.** Compostos fenólicos Totais (mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 45
- Tabela 10.** Análises microbiológicas de Salmonella sp., Coliformes a 45° C (NMP/g), Staphylococcus Coagulase Positiva (UFC/g) e Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras (UFC/g) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização 52
- Tabela 11.** Incidência de patógeno (I%) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais propriedades físico-químicas do O ₃	9
Quadro 2. Comparação das características dos processos de cloração e de ozonização	11
Quadro 3. Efeito do ozônio sobre os parâmetros de qualidade sensorial e nutricional de frutos	12
Quadro 4. Calibração do ozonizador para produção de diferentes concentrações de ozônio (mg.L ⁻¹); fluxo de produção aproximada de O ₃ (mg.L ⁻¹) a partir da variação de O ₂ (L.min ⁻¹)	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características estruturais do morango	4
Figura 2. Fluxograma do processamento mínimo de morango, para o experimento de avaliação da sanitização	16
Figura 3. Morangos, cv. Camino Real na colheita	17
Figura 4. Morangos, cv. Camino Real após seleção	17
Figura 5. Morangos, cv. Camino Real submetidos a lavagem em água corrente	18
Figura 6. Etapa de corte dos pseudofrutos com retirada da sépala e pedicelo	18
Figura 7. Adaptação de recipiente de polietileno para ozonização aquosa dos morangos	19
Figura 8. Gerador de Ozônio Modelo O&L3.0 RM	20
Figura 9. Analisador de ozônio, kit analítico fotométrico (K-7423) (a) em conjunto com o Fotômetro (SAM Ozônio I-2019) (b)	21
Figura 10. Procedimentos para realização da quantificação da concentração de água ozonizada na amostra	22
Figura 11. Processo de ozonização dos morangos minimamente processados	22
Figura 12. Processo de Cloração dos morangos minimamente processados	23
Figura 13. Etapa de drenagem dos morangos minimamente processados	23
Figura 14. Morangos acondicionados em bandejas de polipropileno, no armazenamento em câmara fria. Embrapa Agroindústria de alimentos, Rio de Janeiro, RJ, 2014	24
Figura 15. Morangos minimamente processados submetidos a avaliação da atividade respiratória	27
Figura 16. Perda de massa fresca (%) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR	30
Figura 17. Cor instrumental (Ângulo Hue) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR	31
Figura 18. Médias gerais dos valores de a* de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR	33

- Figura 19.** Perda de Firmeza (N) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR. 35
- Figura 20.** Médias gerais de pH de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 36
- Figura 21.** Médias gerais da ATT (ácido cítrico) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 37
- Figura 22.** Teor de SST (°Brix) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 39
- Figura 23.** Relação SST/ATT de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 40
- Figura 24.** Médias gerais de Frutose, Glicose e Sacarose ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 41
- Figura 25.** Médias gerais de Antocianinas ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 42
- Figura 26.** Teor de vitamina C ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 44
- Figura 27.** Compostos fenólicos Totais (mg de ácido gálico. 100 g^{-1} de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 46
- Figura 28.** Médias gerais dos valores de Felilalaninaamiliase ($\text{UAE}\cdot \text{min}^{-1}\cdot \text{g}^{-1}$ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 47
- Figura 29.** Médias gerais dos valores de Polifenoloxidase ($\text{UAE}\cdot \text{min}^{-1}\cdot \text{g}^{-1}$ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 48
- Figura 30.** Médias gerais dos valores de Peroxidase ($\text{UAE}\cdot \text{min}^{-1}\cdot \text{g}^{-1}$ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 49
- Figura 31.** Médias gerais da produção de CO_2 ($\text{mg}\cdot \text{kg}\cdot \text{h}^{-1}$) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR 50

Figura 32. Valores de Incidência de patógenos (%) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ATT	Acidez Total Titulável
ANOVA	Analysis of Variance
CO ₂	Dióxido de Carbono
Cv.	Cultivar
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
I	Incidência de patógenos (%)
I ₂	Iodo
KI	Iodeto de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
MIN.	Minuto
NFC	Número de frutos doentes
NTF	Número total de frutos
PMP	Produto minimamente processado
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
SST	Sólidos Solúveis Totais
UR	Umidade Relativa
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA	Food and Drug Administration
GRAS	Generally Recognized as Safe

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Produção do Morango	3
2.2	Aspectos Gerais do Morango	4
2.3	Processamento Mínimo	6
2.4	O Ozônio	8
2.4.1	Propriedades do ozônio	8
2.4.2	O ozônio como agente sanitizante alternativo ao cloro	10
2.4.3	Aplicação de ozônio na pós-colheita	11
2.4.4	Implantação do sistema de ozonização	13
2.4.5	Segurança da aplicação e regulamentação de O ₃ na agroindústria	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1	Material Vegetal	15
3.2	Processamento Mínimo	15
3.2.1	Colheita, transporte e acondicionamento refrigerado da matéria prima	16
3.2.2	Seleção	17
3.2.3	Lavagem em água corrente	17
3.2.4	Corte	18
3.2.5	Sanitização	18
3.2.6	Drenagem	23
3.2.7	Embalagem e armazenamento refrigerado	23
3.3	Avaliações Físicas, Químicas, Físico-químicas e Bioquímicas	24
3.3.1	Perda de massa fresca	24
3.3.2	Cor instrumental	24
3.3.3	Firmeza	24
3.3.4	pH	25
3.3.5	Acidez total titulável (ATT)	25
3.3.6	Sólidos solúveis totais (SST)	25
3.3.7	Relação SST/ATT	25

3.3.8	Açúcares totais	25
3.3.9	Antocianinas totais	25
3.3.10	Ácido ascórbico (Vitamina C)	25
3.3.11	Compostos fenólicos totais	25
3.3.12	Atividade enzimática	25
3.3.13	Atividade respiratória	26
3.4	Análises Microbiológicas	27
3.5	Incidências de Patógenos	27
3.6	Delineamento Experimental e Análise Estatística	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Perda de Massa	29
4.2	Cor Instrumental	30
4.3	Firmeza	34
4.4	pH	35
4.5	Acidez Total Titulável (ATT)	36
4.6	Sólidos Solúveis Totais (SST)	38
4.7	Relação SST/AT	39
4.8	Açúcares Totais (Frutose, Glicose e Sacarose)	41
4.9	Antocianinas Totais	42
4.10	Ácido Ascórbico (Vitamina C)	43
4.11	Compostos Fenólicos Totais	44
4.12	Atividade Enzimática	47
4.13	Atividade respiratória	49
4.14	Análises microbiológicas	51
4.15	Incidência de patógenos	53
5	CONCLUSÃO	55
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1 INTRODUÇÃO

Frutas e hortaliças são importantes fontes de nutrientes, especialmente de vitaminas e minerais. Dentre as frutas mais apreciadas e consumidas mundialmente destaca-se o morango (*Fragaria ananassa*), por ser atrativo ao consumidor pelo seu sabor e aroma. Entretanto, estes frutos são altamente perecíveis devido à elevada incidências de doenças e ao alto teor de água em sua composição.

À medida que o fruto amadurece as doenças pós-colheita vão se manifestando e causando perdas consideráveis durante a sua comercialização. Estas perdas podem ser qualitativas e quantitativas, o que traz prejuízos para toda a cadeia produtiva. Para que o tempo de conservação seja maximizado e ocorra redução das perdas pós-colheita, mantendo os frutos conservados por maior tempo, é importante que se conheça e utilize as práticas adequadas de manuseio durante as fases de colheita, pós-colheita, armazenamento, transporte, distribuição, comercialização e consumo, pois em qualquer uma destas etapas pode ocorrer contaminação microbiológica.

Em razão da susceptibilidade à deterioração, principalmente por fungos, o morango requer utilização de tecnologia adequada para melhor conservação. O processamento mínimo surge como uma alternativa para a sua comercialização, este processo pode estar associado a outras tecnologias, como o armazenamento refrigerado, para garantir a qualidade do produto e, possivelmente, estender sua vida útil.

O processamento mínimo de alimentos é uma tecnologia aparentemente simples que consiste em um conjunto de práticas que tem como finalidade manter as características sensoriais, agregar valor, inovar, além de conferir conveniência ao produto. No entanto, há uma série de cuidados para que estes produtos apresentem o frescor esperado, sejam seguros para a saúde e tenham vida útil comercialmente viável. Desta forma, é necessário que cada etapa do processamento seja adequada de modo específico para cada produto.

A etapa de sanitização é crucial para garantir qualidade microbiológica de alimentos minimamente processados, visto que sanitizações realizadas de forma imprópria, com sanitizantes inadequados ou água de má qualidade, contribuem para o aumento da população de microrganismos nos frutos, o que pode acarretar em surtos de doenças transmitidas por alimentos e pela deterioração das propriedades fisiológicas e químicas dos produtos minimamente processados.

Dentre os sanitizantes mais usados na indústria de alimentos para fins de higienização destacam-se os compostos clorados. No entanto, a redução da eficiência dos compostos clorados aliada à toxicidade potencial dos subprodutos da cloração, vem tornando este processo cada vez menos atrativo. Consumidores cada vez mais conscientes estão exigindo produtos mais seguros e com menor impacto ao meio ambiente e à saúde humana. Entretanto, apesar da cloração diminuir a propagação de doenças infecciosas transmitidas por alimentos, o efeito dos compostos clorados no meio ambiente é de grande preocupação. Lançamentos de compostos clorados para o meio ambiente pode resultar na formação de Tri-halometanos em rios, e deste modo, o potencial de água potável pode ser afetado juntamente com espécies aquáticas e terrestres nativas. Por estas razões, diversas técnicas de descontaminação têm sido estudadas como alternativas para substituir o uso dos compostos clorados na sanitização de frutas e hortaliças.

Com isto, torna-se crescente a busca por sanitizantes alternativos que não gerem resíduos, surgindo a opção da utilização de ozônio como sanitizante de alimentos. O ozônio é um produto seguro, não deixa resíduos nos alimentos e é um agente microbicida. Sua atuação sobre uma grande variedade de microrganismos, na forma de células vegetativas ou esporos,

em ambientes industriais e também nos alimentos, têm despertado atenção especial de pesquisadores em todo o mundo.

Diante de novas tecnologias no controle de patógenos, o uso da ozonização pode tornar-se uma alternativa técnica e economicamente viável no âmbito da manutenção e preservação da qualidade dos produtos de origem vegetal, além de ecologicamente correta. No entanto, o ozônio não pode ser considerado universalmente benéfico aos alimentos, devido ao seu forte efeito oxidativo, que pode afetar a qualidade nutricional e sensorial dos produtos submetidos a esta tecnologia. A ação do ozônio deve ser estudada caso a caso, visto que estas alterações dependem da composição química do alimento, da dosagem de ozônio, e das condições do tratamento utilizado.

O objetivo deste projeto foi avaliar a técnica de ozonização aquosa, em substituição à cloração na sanitização de morangos minimamente processados. Especificamente,

- Verificar a eficiência das concentrações de água ozonizada na sanitização de morangos minimamente processados;
- Comparar a eficiência da sanitização de frutos de morango pelos processos de cloração e ozonização;
- Avaliar as alterações físico-químicas, bem como, a vida útil dos frutos, submetidos ao tratamento com ozônio aquoso e armazenados sob refrigeração;
- Verificar a ação do sanitizante *in vivo* em relação a alterações microbiológicas de morangos submetidos ao tratamento com água ozonizada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção do Morango

O Brasil aparece no mercado mundial como terceiro maior produtor de frutas, permanecendo atrás da China e da Índia. O Brasil obteve produção recorde em 2011, com o montante de 44,955 milhões de toneladas, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (Anuário Brasileiro de Fruticultura, 2014).

O morango tem se destacado devido ao grande interesse do mercado consumidor interno e externo, por possuir sabor e cor atraentes, elevado valor agregado e a ampla possibilidade de industrialização (DUARTE FILHO et al., 2001; ANTONIOLLI et al., 2011). Mundialmente a área cultivada com morangos no ano de 2011 foi superior a 244 mil ha, com produção de mais de 4,5 milhões de toneladas da fruta (FAO, 2012). No Brasil, a produção de morango ocorre durante quase o ano inteiro. A partir da década de 60 o cultivo do morango foi impulsionado pela introdução de novas técnicas e cultivares melhoradas (DUARTE FILHO et al., 1999).

Atualmente, o morangueiro é cultivado principalmente nas regiões Sul e Sudeste, onde a cultura desempenha um importante papel sócio econômico, tanto para o consumo *in natura* quanto para a indústria alimentícia (SILVA, 2007). A produção brasileira de morango cultivada em 3500 ha, alcança um volume anual superior a 90 mil toneladas, sendo os principais estados produtores Minas Gerais, Rio Grande do Sul e São Paulo, os quais produzem cerca de 80 % do morango no país. Os Estados do Paraná, Espírito Santo, Santa Catarina, Distrito Federal, Goiás e Rio de Janeiro são responsáveis pelos 20 % da produção restante. A produtividade média da cultura no Brasil até 2006 era de 24 t ha⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2006). Já em 2013, dados fornecidos pela EMATER-MG indicam que a produção se aproximou de 145 mil toneladas (ANTUNES et al., 2013).

A produtividade do morangueiro é influenciada por diversos fatores, como: fotoperíodo, temperatura, umidade relativa do ar, pragas, doenças, nutrição, polinização, entre outros. Por esse motivo, cultivares de morangueiro diferem pela adaptação a diferentes condições ambientais, fazendo com que uma cultivar que se desenvolve satisfatoriamente em uma região pode não apresentar o mesmo desempenho em outra com condições distintas (UENO, 2004).

As cultivares mais utilizadas no Brasil procedem dos programas de melhoramento genético da Universidade da Califórnia (Aromas, Camarosa, Camino Real, Diamante, Oso Grande, Ventana, Albion, San Andreas, Monterey e Portola) e da Universidade da Flórida (Dover, Sweet Charlie e Florida Festival) (OLIVEIRA et al., 2007).

A cultivar Camino Real, foi desenvolvida na Universidade da Califórnia, em 2001, e, posteriormente, introduzida no Brasil (SHAW & LARSON 2007 *apud* OLIVEIRA et al., 2008). É uma cultivar de dias curtos, apresentando alta capacidade de produção. A planta é relativamente pequena, ereta e compacta, com frutos de sabor agradável, grandes, firmes, com epiderme e polpa vermelha-escura, sendo recomendados para o mercado de frutas frescas e industrialização. Entretanto, esta cultivar é suscetível ao oídio, relativamente resistente à antracnose e resistente à verticilose e às podridões do colo e do rizoma (SANTOS, 2013b).

Consumidores cada vez mais conscientes e exigentes diante dos alimentos que consomem preocupam-se com a origem e qualidade dos alimentos *in natura*. Desta forma, a procura por frutas e hortaliças oriundas de produção orgânica ou de cultivos com uso racional de defensivos, vem crescendo (COSTA, 2009).

São vários os métodos de cultivo desenvolvidos para a produção de morango, que interfere diretamente na produtividade e na qualidade dos frutos colhidos (SANHUEZA, 2005). Segundo Nienow et al. (2005), o cultivo do morangueiro em ambientes protegidos, geralmente, apresentam índices de produtividade superiores dos plantios convencionais, no qual o fruto fica exposto às condições climáticas. A produção suspensa hidropônica, quando bem manejada, apresenta baixas taxas de doenças, quando comparados com sistemas convencionais onde a planta fica em contato com o solo utilizando-se de pouca aplicação de agrotóxicos (COSTA & FILHO, 1999; FERNANDES JÚNIOR et al., 2002; BORDIGNON JÚNIOR, 2008).

A produção de morango está altamente associada com uma agricultura de elevado aporte de agrotóxicos. Uma vez que há uma grande utilização de produtos fitossanitários durante a sua produção, sendo aplicados sem critérios. Entretanto, segundo Sautter (2008), na legislação brasileira, há restrição ao uso de fungicidas após a colheita, visto que tais resíduos oferecem risco de intoxicação ao consumidor.

Desta forma, a tendência atual é a substituição dos agrotóxicos convencionais por tratamentos alternativos que coliguem segurança alimentar com sustentabilidade da agricultura (BOWER, 2007) e do ambiente. Contudo, novas medidas de controle vêm sendo desenvolvidas com o intuito de minimizar o uso destes produtos e conseqüentemente os resíduos deixados por eles, que com o passar do tempo tornam-se negativos para a sociedade e para o meio ambiente, seja em decorrência da poluição causada pelos resíduos, ou pelo surgimento de patógenos resistentes aos ingredientes ativos dos mesmos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

2.2 Aspectos Gerais do Morango

Segundo o sistema de Classificação Vegetal de Cronquist (1988), o morangueiro pertence à Divisão Magnoliophyta (Angiospermae), Classe Magnoliopsida (Dicotiledoneae), Subclasse Rosidae, Ordem Rosales, Família Rosaceae, Gênero *Fragaria* L. e Espécie *Fragaria x ananassa* Duch.

O morangueiro é uma planta herbácea, rasteira de pequeno porte. Apesar da característica de perene, a cultura comercial deve ser renovada anualmente, pois o acúmulo de patógenos de um ciclo para o outro pode reduzir a produtividade (FERNANDES, 2013). Segundo Duarte Filho et al. (1999) & Reis et al. (2008) a parte do morango considerada popularmente como semente constitui, na realidade, os verdadeiros frutos, botanicamente denominados de aquênios. O receptáculo é a polpa comestível, um pseudofruto, suculento e de cor e sabor atrativo (Figura 1).

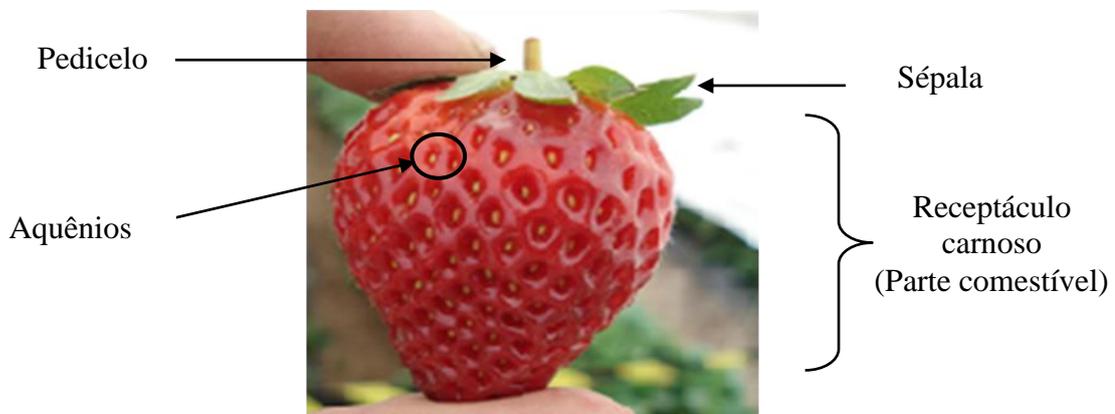


Figura 1: Características estruturais do morango

De acordo com Chitarra & Chitarra (2005) o morango apresenta padrão de respiração não-climatérico. Neste modelo de respiração, ocorre uma diminuição gradual na respiração e não há produção de etileno endógeno, não ocorrendo o amadurecimento e as alterações das características sensoriais após a colheita.

O pseudofruto é muito apreciados mundialmente, não só pela sua coloração, aroma e sabor agradável, mas também pelo seu valor nutritivo (CALEGARO et al., 2002; ZAICOVSKI et al., 2006). Apresenta benefícios potenciais para a saúde humana, pois é rico em vitaminas, principalmente a C (KAFKAS et al., 2007) e em compostos fenólicos, destacando-se as antocianinas, os principais determinantes de sua coloração, além de apresentarem potentes propriedades antioxidantes (KLOPOTEK et al., 2005). O sabor é resultado de uma mistura complexa de compostos voláteis, açúcares e ácidos orgânicos (ZHANG et al., 2011; BRAGA, 2012).

Segundo Chitarra (1999) aspectos como aparência (cor, tamanho, forma, ausência de defeitos), firmeza, sabor (sólidos solúveis, acidez titulável e compostos voláteis), valor nutritivo (vitaminas e minerais) e segurança (ausência de resíduos químicos e contaminação microbiana) são levados em consideração diante da avaliação da qualidade de frutos de morango. Contudo, grande parte desses atributos sofrem modificações físico-químicas e bioquímicas durante a fase de pós-colheita.

O teor de sólidos solúveis (SS) é um dos parâmetros mais importantes associados com a aceitabilidade do consumidor (ADAY & CANER, 2014) indicando a quantidade de sólidos dissolvidos no suco ou na polpa das frutas, sendo constituído principalmente por açúcares. Seus resultados são expressos em °Brix e normalmente aumenta com o avanço da maturação. Sua medição é feita com o auxílio de um refratômetro (CHITARRA; CHITARRA, 2005). De acordo com o que foi preconizado por Cordenunsi et al. (2003) o limite para a comercialização de morangos quanto aos níveis de SST é de 7%. Os açúcares são os principais compostos solúveis em morangos maduros, sendo que a glicose, a frutose e a sacarose representam 99% do conteúdo total destes, havendo predominância dos primeiros sobre a sacarose (CORDENUNSI et al., 2002).

A acidez titulável total (ATT) é determinada por titulometria ou por potenciometria, sendo expressa em porcentagem do ácido predominante na fruta, no caso do morango, ácido cítrico. Com o amadurecimento as frutas podem perder ou apresentar pequeno aumento no teor de acidez (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Segundo Cordenunsi et al. (2003) o nível de ATT em morangos pode variar na faixa entre 0,6 e 2,3% de ácido cítrico, sendo que os morangos com baixa acidez são mais saborosos e mais agradáveis sensorialmente.

A relação entre os valores de sólidos solúveis e acidez titulável (ratio) é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do sabor, sendo mais representativo que a medição isolada de teores de açúcares ou da acidez, uma vez que demonstra o equilíbrio entre o doce e o ácido (KADER, 1991; CHITARRA & CHITARRA, 2005). Segundo Cordenunsi et al. (2003) morangos com sabor aceitável devem apresentar um rático ideal de 8,75.

A textura pode ser definida como um atributo de qualidade resultante dos constituintes estruturais do produto. Geralmente a textura é definida pela maciez ou firmeza da polpa. Como consequência da maturação ocorre a perda progressiva da firmeza, envolvendo mecanismos como a perda de turgor celular, diminuição dos polímeros das paredes celulares, ação de enzimas hidrolíticas e outros mecanismos não enzimáticos (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

A cor vermelha é um importante componente na aparência de morangos, sendo um atrativo aos consumidores (AABY et al., 2005). Essa coloração intensa é atribuída, principalmente, à pelargonidina-3-glicosídeo, que compreende 80% do conteúdo total de antocianinas nesses pseudofrutos, seguida pela cianidina-3-O-glicosídeo e pelargonidina-3-O-

rutinosídeo, sendo que estas três estruturas compreendem mais de 95% da totalidade das antocianinas (BAKKER et al., 1994; DA SILVA et al., 2007).

O morango proporciona grande teor de vitamina C, apresentando um conteúdo médio de ácido ascórbico de 60 mg.100g⁻¹ (CORDENUNSI et al., 2002). Em geral, o alto nível de atividade antioxidante atribuído aos morangos, está ligada aos teores de compostos fenólicos presentes nos frutos (MEYERS et al., 2003). Os polifenóis são compostos fenólicos bioativos encontrados em frutos e hortaliças e podem ser agrupados em várias classes, incluindo antocianinas, flavonas, flavan-3-óis, flavanonas, flavonóis e taninos. Além de estarem intimamente associados com os atributos sensoriais dos frutos, os flavonoides e os ácidos fenólicos têm recebido atenção crescente devido à sua potencial ação antioxidante, a qual pode exercer efeitos cardioprotetores em humanos (CORDENUNSI et al., 2002).

Apesar das excelentes características nutricionais e sensoriais, o morango é muito perecível, possui limitada vida útil pós-colheita, apresenta alta taxa respiratória e suscetibilidade ao desenvolvimento de agentes patogênicos (REIS et al., 2008). Na pós-colheita, os fungos são a principal preocupação relativa à sanidade vegetal, comprometendo a comercialização em função dos danos causados. O mofo-cinzento (*Botrytis cinerea*), a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e a podridão de *Rhizopus* (*Rhizopus stolonifer*) são as doenças fúngicas mais comuns em morango, durante o armazenamento (DIAS, 1999; BOWER, 2007; ANTONIOLLI et al., 2011). Os sintomas de doenças são um dos primeiros parâmetros que o consumidor observa para atribuir a qualidade do morango (HERTOG et al., 1999), desta forma, manter as frutas com aparência de frescas e sem sinais de contaminação fúngica é indispensável para o sucesso da comercialização.

Devido ao grande número de doenças que atinge o morango em pós-colheita, espera-se que a busca por tratamentos alternativos de controle aos fitopatógenos, possa contribuir na manutenção das características do fruto por um tempo maior, e no aumento de sua vida útil. Recentemente, a aplicação de ozônio tem emergido como um potencial agente antimicrobiano no tratamento pós-colheita de frutas e hortaliças (OZKAN et al., 2011), com alta reatividade e penetrabilidade e espontânea decomposição de produto não tóxico.

2.3 Processamento Mínimo

Frutas minimamente processadas surgem como uma alternativa de mercado que oferece qualidade do produto fresco, apresentam grande facilidade no seu consumo, e agrega valor ao produto, contribuindo para sua valorização (CARVALHO & LIMA, 2002). A demanda por este tipo de produto vem se tornando cada vez mais crescentes entre os consumidores, devido às características de frescor e conveniência proporcionada (PINHEIRO et al., 2005).

Em 2011, frutos minimamente processados apresentaram um aumento de 7% na oferta de novos produtos (FRESHCUT, 2015), nota-se que este segmento é crescente no mercado de alimentos, no entanto, o processamento mínimo ainda necessita de estudos para superar as dificuldades tecnológicas para manter a boa qualidade sanitária, sensorial, nutricional e funcional desses produtos.

Segundo Cenci (2011) um dos principais problemas enfrentados pelos processadores de alimentos dificultando a expansão da comercialização está relacionado com a baixa qualidade microbiológica e sensorial (problemas de aparência, sabor e aroma), bem como a curta vida útil das frutas e hortaliças minimamente processadas quando não armazenadas adequadamente, trazendo prejuízos ao processador e gerando desconfiança e insatisfação do consumidor.

Diversos conceitos são apresentados sobre PMP, entretanto, segundo a *International fresh-cut produce association* (IFPA, 2001) os vegetais minimamente processados são definidos como qualquer fruta ou hortaliça ou a ainda, a combinação delas, alterada fisicamente a partir da

sua forma original, porém que mantenha seu estado fresco. Independentemente da matéria prima, ela deve ser selecionada, lavada, descascada, cortada, sanitizada e posteriormente o produto deve ser embalado e refrigerado, de modo a obter-se um produto fresco e sem necessidade de preparo subsequente. Como regra geral, o produto obtido por processamento mínimo requer condições específicas de acondicionamento e armazenamento, principalmente quanto ao controle da temperatura, ou seja, devem ser conservados a uma temperatura mais baixa do que os produtos *in natura* (SEBRAE, 2008).

Os PMP são mais perecíveis do que os produtos que lhes deram origem, principalmente pelo fato de que o processo de corte dos produtos frescos causa grande ruptura de tecidos e a libertação de enzimas que interagem com os substratos associados com o tecido dos frutos. A injúria causada no tecido aumenta a produção de etileno e estimula atividade metabólica. A Fenilalanina amônia-liase (FAL), uma enzima estimulada pela produção de etileno, esta, catalisa a formação de compostos fenólicos, os quais servem como substratos para enzimas polifenoloxidase (PPO). Em consequência de danos sofridos pelos frutos durante a colheita, conservação ou mesmo, no processamento mínimo, os compostos fenólicos e a PPO entram em contato, e na presença de oxigênio, eventualmente podem levar a um escurecimento, consequentemente a formação de melaninas (MORAES et al., 2008; JAMES, et al., 2010).

A enzima peroxidase (POD) também participa do escurecimento em hortaliças minimamente processadas e está relacionada com processos de cicatrização, como, por exemplo, a lignificação (LÓPEZ-SERRANO & ROSBARCELÓ, 1995; CANTOS et al., 2002). Sua ação promove a oxidação de compostos fenólicos na presença de peróxido de hidrogênio (DUNDFORD & STILLMAN, 1976).

O corte dos PMP causa destruição das células e membranas celulares nas superfícies do corte e desta forma, ocorre alterações no metabolismo celular. Tais modificações no metabolismo incluem aumento na respiração que pode resultar em perda de água (perda de turgescência) e uma redução nos níveis de carboidratos, vitaminas e ácidos orgânicos, com um impacto negativo no sabor e aroma do produto. Ao mesmo tempo, o crescimento microbiano na superfície de corte, também aumenta à medida que os açúcares se tornam disponíveis, acelerando assim a oportunidade para a contaminação microbiológica, que promove alterações nas características sensoriais e nutritivas dos produtos (JAMES et al., 2010; YEOH et al., 2014).

O morango é um pseudofruto pequeno, desta forma, seu processamento mínimo consiste apenas na eliminação do pedicelo e sépalas e como opção, os frutos também podem sofrer cortes em pedaços (CENCI, 2008). Apesar de o processamento mínimo consistir de uma tecnologia aparentemente simples, existem cuidados que devem ser tomados para que os PMP apresentem o frescor esperado, sejam seguros para a saúde e tenham uma vida útil comercialmente viável. Desta forma, o preparo adequado é extremamente importante para garantir qualidade microbiológica dos PMP. O manuseio pós-colheita excessivo, a higienização imprópria dos frutos, com sanitizantes inadequados, água de má qualidade e a sanitização imprópria de equipamentos contribuem para o aumento da população de microrganismos no produto final, aumentando os riscos de patógenos e deterioradores nos mesmos (BOLIN et al., 1997; FANTUZZI et al., 2004). Isso pode acarretar em surtos de doenças transmitidas por estes alimentos e a alteração das propriedades fisiológicas e químicas destes produtos (YEOH et al., 2014).

Segundo Lund et al. (2005) em PMP, têm-se detectado elevada carga de microrganismos indicadores de más condições higiênicas (coliformes totais e fecais). O autor cita que duas hipóteses podem explicar esse fato, são elas: as condições de sanitização e seu monitoramento não estão sendo suficientes para reduzir a carga microbiana, e/ou, está havendo recontaminação do produto após a sanitização. Abadias et al. (2008) demonstraram

que PMP, como frutas, hortaliças e brotos, poderiam abrigar alta contagens de bactérias patogênicas, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* e *Escherichia coli* O157:H7, durante a comercialização.

A sanitização é uma etapa crucial para garantir a qualidade microbiológica de PMP, objetivando a redução significativa da presença de patógenos nestes produtos. Contudo, além de uma atividade microbicida eficaz, é importante que o sanitizante seja seguro ao consumidor, do ponto de vista toxicológico (FREITAS-SILVA et al., 2013). Dentre os sanitizantes mais usados na indústria de alimentos para fins de higienização destacam-se os compostos clorados. No entanto, a redução da eficiência dos compostos clorados frente aos microrganismos, aliada á toxicidade potencial dos subprodutos da cloração, vem tornando este processo cada vez menos atrativo (SILVA et al., 2011).

Apesar de a cloração diminuir a propagação de doenças infecciosas transmitidas por alimentos, o efeito dos compostos clorados no meio ambiente é de grande preocupação. Lançamentos de compostos clorados para o meio ambiente pode resultar na formação de Trihalometanos em rios, e deste modo, o potencial de água potável pode ser afetado juntamente com espécies aquáticas e terrestres nativas. Por estas razões, diversas metodologias de descontaminação têm sido estudadas como alternativas para substituir o uso dos compostos clorados na sanitização de frutas e hortaliças (GUZEL-SEYDIM et al., 2004).

Com isto torna-se crescente a busca por sanitizantes alternativos que não gerem resíduos, surgindo a opção da utilização de ozônio (O_3), tornando-se uma alternativa ecologicamente correta e economicamente viável no âmbito da manutenção e preservação da qualidade dos produtos de origem vegetal (ROZADO et al., 2008). No entanto, o ozônio não pode ser considerado universalmente benéfico aos alimentos, pois em altas concentrações pode afetar a qualidade nutricional e sensorial, alterando o sabor e a coloração do produto alimentício. Contudo, estas alterações dependem da composição química do alimento, da dosagem de ozônio, e das condições do tratamento utilizado (KIM et al., 1999).

2.4 O Ozônio

2.4.1 Propriedades do ozônio

O gás ozônio (O_3) foi descoberto pelo químico suíço Christian Friedrich Schönbein em meados do século XIX. Em 1848, Hunt concluiu que o ozônio era a forma alotrópica do oxigênio, sendo que uma década depois ficou claramente identificada sua composição triatômica O_3 (SILVA et al., 2011).

O nome ozônio atribuído a esse gás vem da palavra grega para cheiro - “ozein”. O significado do nome reflete o forte odor que exala quando em alta concentração, esta característica foi observada pela primeira vez em 1790, por Van Mauren, próximo a uma descarga elétrica (JÁNNUZZI, 2013). Entretanto, o O_3 possui odor penetrante e é facilmente detectável em concentrações muito baixas (0,01 a 0,05 ppm) (LAPOLLI et al., 2003; RICE et al., 1981). Em temperatura ambiente e em baixas concentrações, apresenta-se como um gás incolor, já em altas concentrações adquire uma coloração azulada (FREITAS-SILVA et al., 2013a).

A ação germicida do O_3 já é conhecida desde o final do século XIX, quando este gás começou a ser utilizado como desinfetante no tratamento de água na França (LAPOLLI et al., 2003; RICE et al., 1981). Desde então, tem sido estudado e aplicado intensamente na purificação e desinfecção de água (RICE et al., 1981), principalmente na Europa. As técnicas de ozonização foram desenvolvidas mais significativamente nos últimos 40 anos, particularmente na França, na Alemanha Ocidental e na Suíça (LAPOLLI et al., 2003).

O O₃ foi utilizado pela primeira vez como agente conservante de alimentos em 1909, em câmaras frias de estocagem de carnes. Entretanto, naquela época, sua utilização como desinfetante não atingiu maiores proporções na indústria de alimentos, principalmente devido ao seu custo em relação a outras substâncias como, por exemplo, o cloro, que, por ser barato e eficiente, passou a ser o agente primordial na indústria mundial para este fim (CHIATTONE et al., 2008).

Somente em 1982 o O₃ foi declarado como uma substância reconhecidamente segura (GRAS – “Generally Recognized as Safe”), pelo FDA (*Food and Drug Administration*) com uso permitido apenas como sanificante para água engarrafada. Alguns anos mais tarde, sua utilização foi estendida aos alimentos (KIM et al., 1999; FREITAS-SILVA & VENÂNCIO, 2010).

A partir deste momento, houve um crescente interesse na aplicação de O₃ no processamento de alimentos e a utilização de sua forma gasosa na sanitização surgiu como um interesse alternativo ao tradicional tratamento à base de cloro, devido a sua eficácia em baixas concentrações, pouco tempo de contato e sua decomposição em produtos não tóxicos.

No Brasil, essa técnica começou a ser utilizada a partir de 1983 como alternativa aos métodos convencionais de pré-cloração e pré-aeração no tratamento de águas superficiais (LAPOLLI et al., 2003).

Quando comparado a outros agentes oxidantes, o O₃ se destaca por ser o sanitizante com elevado potencial de oxidação que pode entrar em contato com alimento (2,07 mV), sendo o segundo mais poderoso agente oxidante, perdendo apenas para o flúor (3,06 mV) (SILVA et al., 2011; LAPOLLI et al., 2003; RUSSEL et al., 1999). Deste modo, o alto poder de oxidação do O₃ lhe imprime elevada capacidade de desinfecção e esterilização, permitindo que a ação sanitizante aconteça em menor tempo de contato e concentração (SILVA et al., 2011). No Quadro 1, encontram-se as principais propriedades físico-químicas do gás ozônio.

Quadro 1. Principais propriedades físico-químicas do O₃

Massa molar	48 Da
Massa específica (0 °C e 101,3 kPa)	2,154 kg/m ³
Ponto de ebulição	-111,9 ± 0,3°C
Ponto de fusão	-192,5 ± 0,3°C
Solubilidade em água a 0 °C	20 g/m ³
Solubilidade em água a 30 °C	1,5 g/m ³
Temperatura crítica	-12,1 °C
Pressão crítica	5,53 MPa

Fonte: Adaptado de Silva (2011) *apud* (Guzel-Seydim; Greene e Seydim, 2004)

Em ambientes que apresentam níveis de pH elevados, há o favorecimento da decomposição do O₃ e a conseqüente formação de diferentes tipos de compostos oxidantes com distintas reatividades, como por exemplo, os radicais livres hidroxila que se caracterizam pelo seu elevado poder de oxidação (DI BERNARDO & DANTAS, 2005).

Quando o pH alcança o valor 8, praticamente a metade do O₃ introduzido é decomposto em várias formas intermediárias de oxigênio, em um período de 10 minutos. Além do pH, a temperatura, a radiação ultravioleta ou a presença de catalisadores à base de paládio, manganês e óxido de níquel, metais, óxidos de metais, hidróxidos e peróxidos também contribuem para uma decomposição acelerada do O₃ (WYSOK et al., 2006).

O O₃ é um gás parcialmente solúvel em água e, assim como a maioria dos gases, aumenta a sua solubilidade à medida que a temperatura decresce, tornando-se mais estável, (Lei de Henry) (LANGLAIS et al., 1991; WYSOK et al., 2006; SILVA et al., 2011). Entretanto, esta solubilidade, em meio aquoso, depende do conteúdo de matéria orgânica, sendo que quanto menor a concentração de matéria orgânica presente no meio, maior será o tempo de meia vida do O₃ em água (GRAHAM, 1997; WYSOK et al., 2006) e maior a eficiência do tratamento.

2.4.2 O ozônio como agente sanitizante alternativo ao cloro

A etapa de sanitização é de suma importância para a qualidade microbiológica de frutas e vegetais, objetivando a redução significativa da presença de patógenos nos produtos *in natura* e minimamente processados. Mas, além de uma atividade microbocida eficaz, é importante que o sanitizante seja seguro ao consumidor, do ponto de vista toxicológico (FREITAS-SILVA et al., 2013b).

No mercado, encontram-se disponíveis diversos tipos de sanitizantes, entretanto, a eficácia de cada produto depende de variáveis como o tipo e a fisiologia dos microrganismos alvos, as características intrínsecas do alimento a ser sanitizado (textura e a natureza hidrofóbica da cutícula cerosa de vegetais que funcionam como barreira protegendo os microrganismos da exposição aos agentes sanitizantes), tempo de exposição, pH, temperatura e concentração do sanitizante (FREITAS-SILVA et al., 2013b).

O processo de sanitização nas indústrias normalmente é realizado com o uso de cloro, visto que este é um sanitizante relativamente fácil de aplicar e monitorar, além de apresentar um custo relativamente baixo, possuir amplo espectro de ação microbocida passando a ser o agente primordial para este fim (FREITAS-SILVA et al., 2013b). Todavia, desde 1975, compostos clorados vêm sofrendo restrições quanto à sua utilização, devido à formação de subprodutos altamente tóxicos e cancerígenos como os compostos organoclorados, trihalometanos (THMs) e ácidos haloacéticos, quando aplicados em materiais orgânicos (CHIATTONE et al., 2008).

Outras características mostram as desvantagens da utilização do cloro, como a redução da sua efetividade caso haja contato do produto com matéria orgânica, metais, exposição a altas temperaturas e luz, assim como uma elevada dependência ao pH do meio. É considerado corrosivo para alguns materiais constituintes dos equipamentos, mas por outro lado, esporos bacterianos e oocistos de protozoários demonstram alguma resistência ao ataque do cloro (SILVA et al., 2011).

Em razão destes fatores, aliados à possibilidade de uma contaminação ambiental e ocupacional e com o avanço das pesquisas, é cada vez mais notória a busca por sanitizantes alternativos ao cloro. Consequentemente, o interesse no O₃ como alternativa ao cloro e outros desinfetantes químicos é baseado nas suas características positivas como alta eficácia sanitizante, largo espectro de ação, ausência de subprodutos deletérios ao meio ambiente e tóxicos ao consumidor e a possibilidade de se gerá-lo no local de utilização, sem necessidade de armazená-lo (FREITAS-SILVA et al., 2013b).

O Quadro 2 compara as características dos processos de desinfecção com cloro e com ozônio, em relação à segurança, a remoção de microrganismos, ao residual tóxico, a formação de subprodutos, aos custos operacionais e de investimentos.

Quadro 2. Comparação das características dos processos de cloração e de ozonização

Características	Cloração	Ozonização
Segurança	+	++
Remoção de bactérias	++	++
Remoção de vírus	+	++
Remoção de protozoários	-	++
Residual tóxico	+++	+
Subprodutos	+++	+
Custos operacionais	+	++
Custos de investimento	++	+++

-, nenhum; +, baixo; ++, médio; +++, alto; ¹análise in vitro de *Cryptosporidium* spp.

Fonte: Adaptado de Silva et al. (2011)

Alexopoulos et al. (2013) avaliaram o uso do O₃ em comparação ao cloro na higienização de alface (*Lactuca sativa*) e pimentão (*Capsicum annuum*) e relataram que a sanitização com ozonização contínua com concentração de 0,5 mg L⁻¹, por 15 e 30 min mostrou-se mais eficiente do que a sanitização em água clorada. Ao final do período de análise, nos grupos tratados por O₃ observou-se uma redução da carga microbiana, em média, de 2 ciclos logarítmicos nos primeiros 15 min e 3,5 ciclos logarítmicos após 30 min de exposição, enquanto que a sanitização com cloro resultou em uma diminuição 1 ciclo logarítmico da contagem microbiana total nos primeiros 15 min.

Segundo Sharpe et al. (2009) e Khadre et al. (2001) a ozonização, torna-se uma técnica promissora para sanitização de frutas e vegetais, por inativar os microrganismos que reagem com enzimas intracelulares, ácidos nucleicos e lipídios insaturados. Contudo, essa técnica, é importante alternativa no combate a podridões na substituição dos defensivos químicos (KHADRE et al., 2001; SAUTTER et al., 2011).

2.4.3 Aplicação de ozônio na pós-colheita

Com o avanço de novas tecnologias, a utilização do O₃ tem-se expandido de forma considerável, nacional ou internacionalmente, em diferentes áreas de aplicação, como no tratamento de efluentes domésticos e industriais, processos de branqueamento de celulose, tratamento de água potável, entre outros. Entretanto, novos segmentos de aplicações de ozônio são desenvolvidos, principalmente nas áreas de processamento de alimentos e agricultura (ROZADO et al., 2008).

Muitos processos da indústria de alimentos são promissores ao emprego do ozônio, sendo utilizado na manipulação e processamento de frutas, carnes, frangos, lavagem e esterilização de alimentos vegetais e laticínios, tanto para garantir a higiene do processo como para manutenção da cor, odor e aspecto visual destes produtos evitando o uso de agentes químicos que podem deixar resíduos e provocar reações secundárias prejudiciais à saúde (FREITAS-SILVA et al., 2013a). O ozônio pode ainda, ser utilizado em silos, depósitos de alimentos e câmaras frigoríficas através da injeção direta do gás, com a finalidade de manter o ambiente limpo e esterilizado, mesmo quando há altos índices de calor e umidade, o que assegura maior tempo de armazenamento e vida útil dos alimentos (CHIATTONE, 2008).

A aprovação para seu uso em alimentos nos Estados Unidos, pela FDA (*Food and Drug Administration*), classificou-o como um produto GRAS (“Generally Recognized as Safe”), bem como no Canadá, Japão e Europa (O’DONNELL et al., 2012). No Brasil, a

portaria da ANVISA n. 25/76 publicada no Diário Oficial da União em 09/11/1977 regulamenta o uso do O₃ (GIORDANO, 2009).

Por outro lado, dependendo da concentração do O₃, utilizada para além de sua ação sanitizante, esta aplicação pode promover perdas de nutrientes ou alterar a qualidade sensorial dos alimentos, pois se esta concentração for elevada pode causar danos oxidativos, resultando na produção de odor desagradável e alteração na coloração do alimento (Kim et al., 1999; Silva et al., 2011) (Quadro 3).

Quadro 3. Efeito do ozônio sobre os parâmetros de qualidade sensorial e nutricional de frutos.

Alimento	Forma de aplicação do O ₃	População microbiana alvo	Atributos de qualidade sensorial e nutricional	Referências
Pêssegos	0,6 g m ⁻³ O ₃ gasosos por 4 semanas; condições de armazenagem de 5 °C e 90% de umidade relativa	Redução do crescimento de micélio e esporulação de fungos	Aumento da perda de água após 5 semanas de armazenagem; nenhuma alteração na respiração e nas taxas de produção de etileno, sem lesões fitotóxicas	Palou et al. (2002)
Morango	1,5 µL L ⁻¹ O ₃ gasoso, armazenadas durante 3 dias a 2 °C	Redução da incidência de podridões por <i>Botrytis cinérea</i>	Redução da perda de peso, e amolecimento dos frutos tratados, resultando em perda de aroma de fruta	Nadas et al. (2003)
Uva de mesa	10.000 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 2h ; 2.500 ou 5.000 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 1 h	Redução da contaminação por <i>Botrytis cinerea</i>	Redução em resíduos de fenhexamida, ciprodinila, pirimetanila e piraclostrobina; não alterou resíduos de iprodione e boscalida	Mlikota-Gabler et al. (2010)
Tomates fatiados	Aplicação de 0,4 mg L ⁻¹ O ₃ aquoso armazenados a 5 °C	Redução da contagem microbiana	Melhoria da firmeza, manutenção dos parâmetros de qualidade sensorial. Redução da vida de prateleira de 14 para 10 dias a 5 °C	Aguayo et al. (2013)
Banana	Imersão em 0,36 mg L ⁻¹ O ₃ aquoso por 10 min	Redução da contagem microbiana	Melhoria da qualidade, com referência aos parâmetros microbiológico, físico-químico e sensorial	Alencar et al. (2013)
Mamão	9.2 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 10, 20 e 30 min	Redução da contagem microbiana	Exposição prolongada reduz a concentração de vitamina C, não afeta a atividade antioxidante	Yeoh et al. (2014)

Fonte: Adaptado de Freitas-Silva et al. (2013b)

Há evidências da eficácia do processo de ozonização, isolado ou associado a outras técnicas sanitizantes, para o controle de diversas espécies de fungos, das quais se destacam ozônio e termoterapia. Kechinski et al. (2012) ao associarem o uso de ozônio aquoso na concentração de 4 ppm à termoterapia em mamão “Golden”, não observaram alteração da superfície cuticular do fruto, nem formação de cristais, mas houve redução dos fungos causadores de podridões pedunculares. Entretanto, para que esta substituição ocorra de forma segura, sob o ponto de vista microbiológico, econômico e de saúde, são necessários estudos adicionais.

Cada processo de sanitização possui vantagens e limitações em sua aplicação, podendo causar alterações significativas ou não nos produtos de origem vegetal, e conseqüentemente promover mudanças nas suas características nutricionais e sensoriais. Desta forma, na escolha da tecnologia de conservação mais adequada ao produto, deve-se considerar,

primordialmente, a matéria prima, o tempo e a concentração do elemento sanitizante que será empregado no processo de sanitização.

2.4.4 Implantação do sistema de ozonização

O O_3 pode ser produzido por três diferentes técnicas: exposição do O_2 à luz ultravioleta, eletrólise do ácido perclórico e descarga eletroquímica. Dentre estes processos, o que utiliza descarga elétrica (também conhecido por efeito corona) é o mais utilizado pela maioria dos ozonizadores comerciais, principalmente pelo fato de se obter maior taxa de conversão do oxigênio em ozônio com menor custo (RUSSEL et al., 1999; USEPA, 1999; Almeida et al., 2004).

Um gerador de O_3 que utiliza o processo denominado efeito corona é constituído por dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 1000 V). O gás O_3 é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos. Quando os elétrons possuem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, começam a ocorrer colisões, que causam a dissociação do oxigênio e a conseqüente formação do ozônio (USEPA, 1999).

O processo corona pode converter oxigênio molecular em O_3 a concentrações de até 4% em massa para geração a partir de ar e de até 14% para geração a partir do oxigênio puro (RICE, 1996 *apud* KUNZ et al., 1999). Para a geração a partir do ar geralmente é necessário seu pré-tratamento, que inclui etapas de filtração, compressão, resfriamento e desumidificação. Já a geração a partir do oxigênio é realizada alimentando o gerador de O_3 a partir de um tanque de oxigênio líquido precedido de um evaporador. As vantagens de utilizar um ozonizador alimentado com oxigênio são o menor custo de manutenção, devido à maior simplicidade do equipamento e maior rendimento no processo de transformação de oxigênio em ozônio. Porém, a desvantagem é o alto custo do oxigênio (LAPOLLI et al., 2003).

Em outra técnica implementada para produzir o ozônio, o sistema produz O_3 a concentrações que são de três a quatro vezes mais altas (10 a 18% de ozônio na produção da mistura gasosa) que os níveis atingíveis através das descargas geradas pelo processo efeito corona. Nesta técnica, o O_3 é produzido por método eletroquímico, no qual a água é convertida em hidrogênio e os átomos de oxigênio em ozônio através de eletrólise. As moléculas de hidrogênio são separadas do gás e da água e os átomos de oxigênio se combinam para formar ozônio e oxigênio diatômico. (LYNNTECH, 1998 *apud* KIM et al., 1999).

O custo de um gerador de O_3 pode levantar preocupações para pequenas empresas, porém podem ser minimizados a longo prazo, pela economicidade alcançada com a sua aquisição (MOORE et al., 2000). Além disso, há economias de transporte e os custos de armazenamento quando comparado a outros desinfetantes, visto que o ozônio deve ser produzido no local de utilização.

De acordo com Vera (2008), na desinfecção da água, o processo de ozonização custa aproximadamente duas vezes a cloração, sendo que a energia elétrica é um dos itens que contribuem para a elevação deste custo.

2.4.5 Segurança da aplicação e regulamentação de O_3 na agroindústria

O uso seguro do O_3 é de fundamental importância para aplicação e operação na indústria alimentícia, visto que o O_3 se torna um gás tóxico acima de certas concentrações. Com isso, limites máximos de exposição são definidos para as pessoas que atuam em plantas de ozonização e os trabalhadores devem ser submetidos a revisões médicas regulares (FREITAS-SILVA, et al., 2013).

Atualmente, existe no comércio uma variedade de sensores de O₃ para monitorar os níveis em ambientes de trabalho. Geralmente são analisadores UV, equipados com uma célula que mede as concentrações de 0,1 até 100 ppm, que ativa um alarme assim que a concentração do ozônio passa de 0,1 ppm (PIRANI, 2011 *apud* SANTOS, 2013a). A instalação de sistemas de detecção e eliminação de O₃ residual é fundamental para a segurança das pessoas que trabalham neste ambiente (ROZADO, 2013).

O O₃ pode afetar o sistema respiratório e causar sintomas de toxicidade, como dor de cabeça, tontura, sensação de queimação na região dos olhos, irritação da garganta e tosse sendo que o grau dependerá do conteúdo inalado e do tempo de exposição ao O₃. O gás não provoca sinais de toxicidade, quando presente em baixas concentrações, mas em altas concentrações pode ser fatal aos humanos (CHIATTONE et al., 2008).

As concentrações de gás ozônio de 0,02 a 0,04 mg L⁻¹ podem ser detectadas pelo ser humano e que a exposição prolongada a concentrações iguais ou superiores a 1,0 ppm pode causar a morte. Uma exposição de uma hora a concentrações de 2, 4, 15 e 95 mg L⁻¹ pode causar efeitos sintomáticos, irritantes, tóxicos e letais, respectivamente. Os efeitos tóxicos do O₃ pela inalação são manifestados nos pulmões, além de uma variedade de danos extrapulmonares que também podem ser resultado da ação do O₃ e de seus produtos (KIM et al., 1999).

No Brasil, a exposição ao gás ozônio segue a determinação do Ministério do trabalho e Emprego, por meio da Norma Regulamentadora N° 15, aprovada e com relação dada pela Portaria N° 3.214/78, que dispõe sobre os limites de tolerância do O₃ em atividade ou operações nas quais os trabalhadores ficam expostos. O limite do gás para trabalhos de até 48 h semanais é de 0,08 ppm (SANTOS, 2008).

Os níveis máximos de exposição ao O₃, segundo a Associação Americana de Higiene Industrial (AIHA) e a Administração de Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA), são de 0,1 ppm por 8 horas ou 0,3 ppm durante 10 minutos. No entanto, um indivíduo pode detectar o cheiro característico do O₃ em concentrações de 0,01 a 0,05 ppm (CHIATTONE, 2008). A legislação Européia regulamenta que o limite de exposição do ser humano ao gás ozônio seja de 0,06 ppm por até 8 h diárias (WHO, 2000).

Bassani (2003) relata que, para baixas concentrações em O₃, até 5 ppm, o uso de uma máscara filtrante é suficiente para a segurança do operador. As máscaras empregadas devem ser feitas com materiais resistentes ao gás, à base de hypalon. Elas devem cobrir toda a face, a fim de proteger os olhos da ação irritante do O₃ e os cartuchos filtrantes devem ser de modelos próprios para o gás. Para medidas de precaução, o emprego das máscaras filtrantes deve ser previsto para usos de curta duração da ordem de 30 minutos. Para teores maiores que 5 ppm de O₃, ou para intervenções em grandes tempos, é preciso empregar aparelhos respiratórios autônomos, nos quais a máscara é alimentada por oxigênio comprimido (FREITAS-SILVA et al., 2013a).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

Morangos, cultivar Camino Real, oriundos de uma propriedade tradicional na produção de morangos, localizada em Nova Friburgo, Rio de Janeiro, região serrana fluminense (22°15'55,3'' S; 38 42°36'27,3'' O; 1108m), foram colhidos pela manhã, no estágio de maturação comercial (¾ da superfície de cor vermelho-brilhante), posteriormente transportados para o laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita de Frutas e Hortaliças da Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizada em Guaratiba, Rio de Janeiro, onde foram armazenadas em câmara fria a 5° C por 24 h, até o início do experimento. Os frutos foram submetidos a uma seleção visual, buscando uniformizar os lotes quanto ao tamanho e coloração, descartando-se frutos com lesões, deformados, danificados e doentes.

3.2 Processamento Mínimo

O processamento mínimo dos morangos foi realizado na sala de Processamento Mínimo da Planta Piloto de Pós-Colheita, na Embrapa Agroindústria de Alimentos, adotando-se as condições higiênicas necessárias dos balcões e utensílios, que foram previamente lavado com detergente neutro e sanificado com solução de hipoclorito de sódio a 200 mg.L⁻¹. A sala de processamento encontrava-se climatizada com temperatura de 15 ±3°C. Os manipuladores usaram aventais, toucas, máscaras e luvas descartáveis, sempre higienizando as mãos com álcool 70% (v/v).

O processo consistiu das seguintes etapas: Colheita e acondicionamento da matéria prima, transporte, armazenamento refrigerado, seleção, lavagem em água corrente, corte (remoção do cálice), sanitização (cloração ou ozonização), drenagem, embalagem e armazenamento refrigerado (Figura 2).

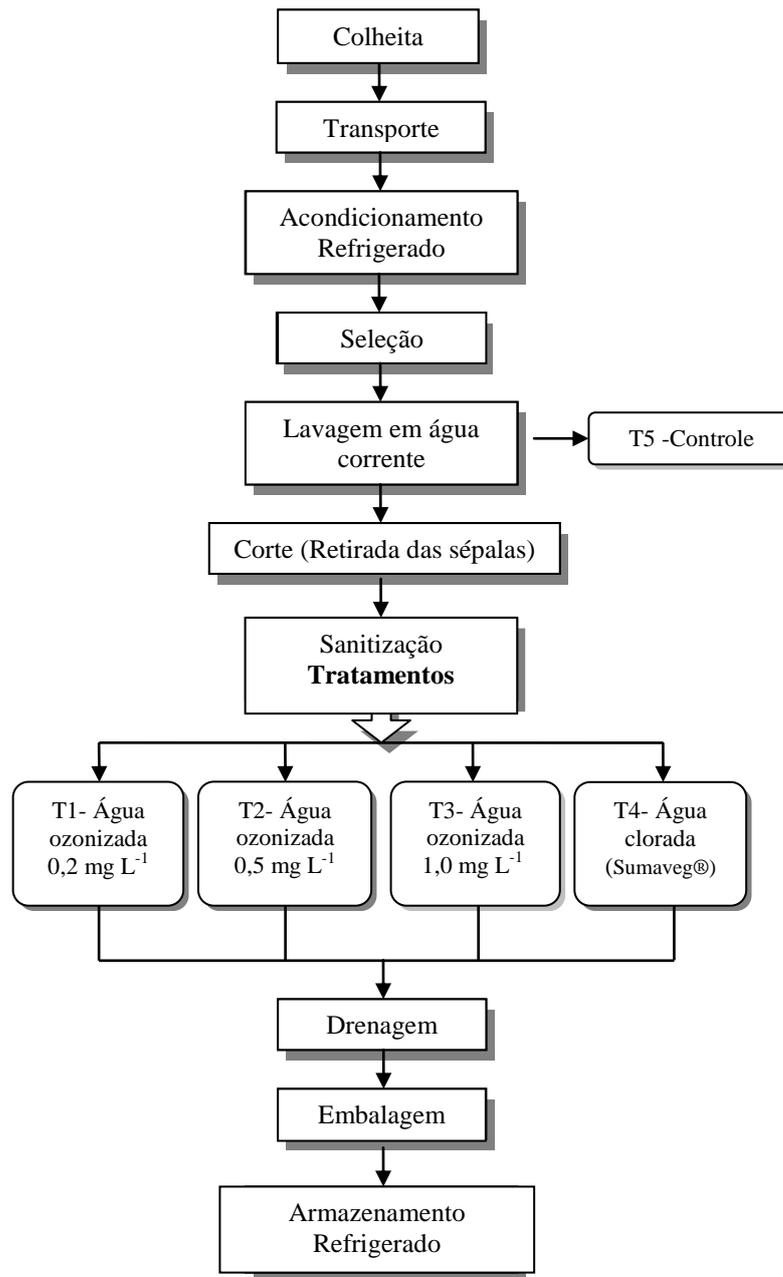


Figura 2. Fluxograma do processamento mínimo de morango, para o experimento de avaliação da sanitização

3.2.1 Colheita, transporte e acondicionamento refrigerado da matéria prima

Os morangos, foram colhidos pela manhã, no estágio de maturação comercial ($\frac{3}{4}$ da superfície de cor vermelho-brilhante) (Figura 3). Posteriormente os frutos foram transportados para a Embrapa Agroindústria de Alimentos e armazenados em câmara fria a 5 °C por 24h, para que se tornassem mais firmes na realização do processamento e com menor taxa respiratória, pois a temperatura é um fator de extrema importância, diminui o metabolismo do fruto, permitindo o controle das atividades enzimáticas, da respiração e transpiração (SILVA et al., 2006).



Figura 3. Morangos, cv. Camino Real na colheita

3.2.2 Seleção

Os morangos foram retirados das embalagens originais (caixa plástica) e colocados em bandejas de polietileno. Os pseudofrutos foram selecionados visualmente a fim de uniformizar os lotes quanto à coloração e tamanho, descartando-se frutos com lesões, deformados, danificados e doentes (Figura 4).



Figura 4. Morangos, cv. Camino Real após seleção

3.2.3 Lavagem em água corrente

Após o processo de seleção, foi realizada a lavagem em água corrente, a fim de remover o excesso das sujidades superficiais (Figura 5).



Figura 5. Morangos, cv. Camino Real submetidos a lavagem em água corrente

3.2.4 Corte

Na etapa de corte dos pseudofrutos foi realizada a retirada da sépala e pedicelo, fontes de contaminação devido à sua alta carga microbiana. Foram utilizadas facas afiadas com lâmina de aço inoxidável (Figura 6) sanitizadas frequentemente para evitar a recontaminação. Dessa forma evita-se que o tecido vegetal seja demasiadamente danificado e minimiza-se a liberação de enzimas que degradam a parede celular, o que contribui para o desenvolvimento de micro-organismos (GOMES et al., 2005).



Figura 6. Etapa de corte dos pseudofrutos com retirada da sépala e pedicelo

3.2.5 Sanitização

Em seguida, os morangos minimamente processados foram divididos em cinco lotes, correspondendo a cada um dos seguintes tratamentos:

- T₁- Sanitização com água ozonizada a 0,2 mg.L⁻¹;
- T₂- Sanitização com água ozonizada a 0,5 mg.L⁻¹;

- T₃- Sanitização com água ozonizada a 1,0 mg.L⁻¹;
- T₄- Morangos sanitizados com água clorada;
- T₅- Morangos apenas lavados em água corrente.

A etapa de sanitização foi realizada pelos métodos de ozonização ou de cloração. Como controle, foram utilizados morangos lavados em água corrente.

O tratamento de ozonização dos morangos foi conduzido em recipientes de polietileno retangular, de 14,7 x 17,7 x 26,2 cm. Dotado de tampa também em polietileno, com fechamento hermético e borrachas na junção da caixa com a tampa para melhor vedação, previamente sanitizados com álcool a 70%. Os recipientes foram adaptados com dois orifícios na tampa, em cada um deles foi adaptada uma mangueira de silicone, para entrada do O₃ e a outra para a exaustão do gás (Figura 7).



Figura 7. Adaptação de recipiente de polietileno para ozonização aquosa dos morangos

O gás ozônio foi obtido por meio do gerador de ozônio O&LM, desenvolvido pela empresa Ozone & Life[®], São José dos Campos, SP, o qual possui capacidade de produção de 3,0 g.O₃.h⁻¹, sendo a concentração regulável manualmente através do dosador de frequência contendo 10 posições e regulador de fluxo de oxigênio, conforme apresentado no Quadro 4.

Quadro 4. Calibração do ozonizador para produção de diferentes concentrações de ozônio (mg.L^{-1}); fluxo de produção aproximada de O_3 (mg.L^{-1}) a partir da variação de O_2 (L.min^{-1})

Posição do Dosador	$\text{O}_2 = 2$ L.min^{-1}	$\text{O}_2 \text{ a } 1$ L.min^{-1}	$\text{O}_2 = 3/4$ L.min^{-1}	$\text{O}_2 \text{ a } 1/2$ L.min^{-1}	$\text{O}_2 \text{ a } 1/4$ L.min^{-1}	$\text{O}_2 \text{ a } 1/8$ L.min^{-1}
0	1,2	2,3	3,4	4,2	7,5	10,7
1	1,6	3,4	4,8	6,6	10,8	15,6
2	2,5	5,6	7,5	9,7	17,9	24,3
3	3,6	7,3	9,7	12,4	20,3	29,7
4	4,5	9,2	12,3	15,5	27,0	36,7
5	5,4	10,2	13,3	16,7	30,9	37,8
6	7,3	13,4	17,8	22,3	36,8	47,2
7	9,0	15,7	20,6	24,8	37,9	49,9
8	10,1	18,3	23,7	29,1	45,4	59,3
9	14,4	23,8	29,9	35,2	51,9	65,7
10	17,4	28,5	36,0	42,5	62,2	77,0

*Dados obtidos do fabricante

Para estabelecer as concentrações de trabalho, foi utilizado um fluxo de $3,4 \text{ mg.L}^{-1}$ (posição do dosador: 1 / posição do O_2 : 1) por 2 minutos para atingir a concentração de trabalho a $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de água ozonizada; O fluxo de $3,6 \text{ mg.L}^{-1}$ (posição do dosador: 3 / posição do O_2 : 2) por 2 minutos para atingir a concentração de trabalho a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de água ozonizada; O fluxo de $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ (posição do dosador: 4 / posição do O_2 : 2) por 8 minutos para atingir a concentração de trabalho a $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de água ozonizada.

Para o processo de geração do gás, foi utilizado como insumo o oxigênio ultra puro. Este oxigênio, no gerador passou por um reator refrigerado, no qual ocorreu uma descarga por barreira dielétrica (DBD). Esta descarga foi produzida ao aplicar uma alta voltagem entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. Neste espaço livre, foi produzida uma descarga em forma de filamentos, onde foram gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio.

O gerador de O_3 O&LM (Figura 8) possui duas saídas, uma por onde sai o O_3 gerado e outra por onde sai o ar atmosférico obtido por um compressor de ar acoplado ao equipamento.

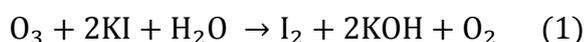


Figura 8. Gerador de Ozônio Modelo O&L3.0 RM

O ozônio produzido no gerador foi incorporado na água, através de uma mangueira de silicone a qual ligava o equipamento ao difusor poroso fixado no fundo da caixa, onde o gás era expelido através dos microfuros presentes em toda extensão do difusor por meio de microbolhas, para melhorar a transferência de massa da fase gasosa para a fase líquida, fazendo com que a água contida no interior da caixa fosse borbulhada uniformemente, então microbolhas percorriam do fundo para a superfície da água.

Segundo Santos (2013a), o ozônio dissolvido em água para ser utilizado como desinfetante é acompanhado por excesso de gás (O_3) não dissolvido, como qualquer sistema de transferência de ozônio que não tem 100% de eficiência. Consequentemente, o excesso de ozônio deve ser destruído ou convertido novamente em oxigênio antes de ser liberado para a atmosfera (PIRANI, 2011 *apud* SANTOS, 2013a).

Desta forma, o ar contendo o O_3 residual foi retirado pela abertura de exaustão, sendo encaminhado até um frasco contendo Iodeto de potássio (KI) (2%). Na reação, o íon de iodeto se oxida a iodo através da ação do ozônio em uma solução de iodeto de potássio. O oxigênio atômico liberado a molécula de ozônio se reverte em oxigênio molecular (SILVA, et al., 2011). A reação de oxidação de iodeto de potássio pelo ozônio é dada pela equação 1.



Para determinação das concentrações de trabalho foi utilizado um analisador de O_3 , kit analítico fotométrico (K-7423) em conjunto com o Fotômetro (SAM Ozônio I-2019) (Figura 9).

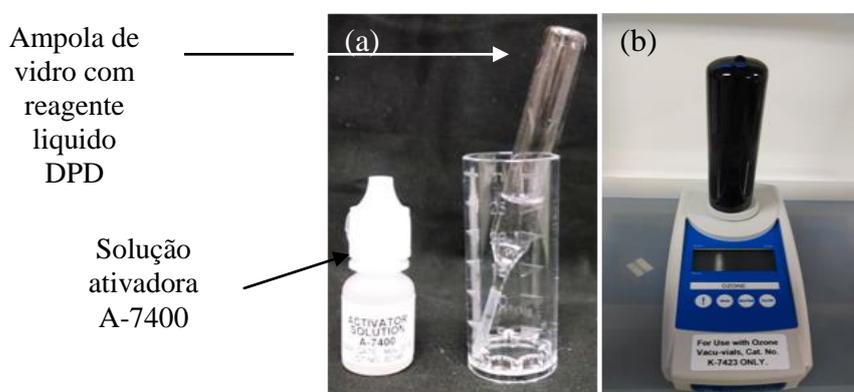


Figura 9. Analisador de ozônio, kit analítico fotométrico (K-7423) (a) em conjunto com o Fotômetro (SAM Ozônio I-2019) (b)

A quantificação da concentração de trabalho da água ozonizada foi realizada de acordo com os procedimentos prescritos pela empresa Precision Labs, através do kit de medição de ozônio desenvolvido e comercializado pela CHEMetrics, Inc, pelo método colorimétrico. O método colorimétrico dos kits emprega o DPD (N,N-dietil-p-fenilenediamina). A solução ativadora A-7400 (iodeto de potássio) é adicionada em excesso na amostra previamente ao teste. Amostra de água ozonizada (25 ml) foi retirada do recipiente de polietileno, a solução ativadora A-7400 (Iodeto de potássio) foi adicionada a amostra (5 gotas). Posteriormente, uma ampola de vidro selada a vácuo contendo reagente líquido no seu interior (DPD) foi imerso dentro do frasco com a amostra. O líquido foi automaticamente sugado para o interior da ampola e misturada ao reagente quando a ponta da ampola é quebrada abaixo da superfície

da amostra. O ozônio oxida o iodeto liberando iodo. O iodo, por sua vez, reage com o DPD formando um complexo róseo de intensidade de cor em proporção direta com a concentração de ozônio. A quantificação é feita por fotometria a 258 nm, e os resultados são expressos como ppm ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Figura 10). Devido à rápida decomposição do O_3 , a quantificação da sua concentração na água foi feita imediatamente após a ozonização por um tempo pré-estabelecido.

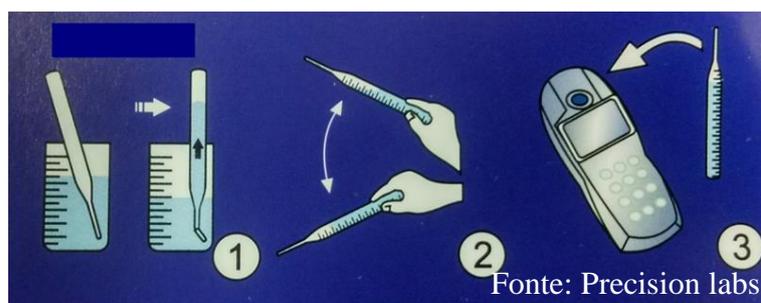


Figura 10. Procedimentos para realização da quantificação da concentração de água ozonizada na amostra

Desta forma, a sanitização com ozônio aquoso consistiu na imersão dos morangos minimamente processados em água ozonizada sob fluxo contínuo. Foram ozonizados aproximadamente 400 g de morangos para cada 2 L de água (Figura 11). O período de exposição adotado foi de 5 minutos. Todos tratamentos foram realizados com em triplicata. Após cada etapa de ozonização, água ozonizada era descartada.



Figura 11. Processo de ozonização dos morangos minimamente processados

A sanitização por cloração foi realizada pela imersão dos frutos em solução aquosa de cloro orgânico (Sumaveg®) com concentração de 150 mg L^{-1} à $5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, por 10 minutos e posteriormente um enxague a 5 mg L^{-1} , nas mesmas condições (Figura 12). Foram sanitizados cerca de 400 g de morangos para cada 2 L de água clorada.



Figura 12. Processo de Cloração dos morangos minimamente processados

3.2.6 Drenagem

Após a sanitização, os morangos minimamente processados foram retirados da solução sanificante com auxílio de peneiras plásticas e colocadas em uma bandeja de poliestireno expandido coberto com papel toalha. Ficaram expostos ao ar, em temperatura refrigerada de processamento, 15 ± 2 °C e 90 ± 5 % UR, por ± 40 minutos, até a completa secagem (Figura 13).



Figura 13. Etapa de drenagem dos morangos minimamente processados

3.2.7 Embalagem e armazenamento refrigerado

Os morangos foram acondicionados em bandeja retangular de polipropileno (PP) com tampa e dimensões de 16,2 x 11,8 x 5,0 cm. A unidade experimental foi constituída de uma bandeja com 8 frutos, armazenados sob refrigeração em câmara (5 ± 1 °C) e 90 ± 5 % UR (Figura 14), por um período de 12 dias.



Figura 14. Morangos acondicionados em bandejas de polipropileno, no armazenamento em câmara fria. Embrapa Agroindústria de alimentos, Rio de Janeiro, RJ, 2014

3.3 Avaliações Físicas, Químicas, Físico-químicas e Bioquímicas

Os morangos minimamente processados foram avaliados aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de armazenamento para as características descritas a seguir:

3.3.1 Perda de massa fresca: Os frutos foram pesados no primeiro dia e durante o armazenamento, permitindo o cálculo da perda de massa fresca em porcentagem. O cálculo foi obtido pela fórmula $PM (\%) = ((P_i - P_p) / P_i) \times 100$, onde: PM = perda de massa (%), P_i = peso inicial dos frutos (g), P_p = peso no período (g);

3.3.2 Cor instrumental: A análise instrumental de cor foi procedida através de colorímetro digital Minolta (CR-400) em sistema tridimensional $L^* a^* b^*$, onde L^* indica a luminosidade que varia entre valor 0 (para uma amostra preta; mínima refletância) e 100 (amostra branca; máxima refletância), a^* consiste no eixo que vai do vermelho (valores positivos) ao verde (valores negativos) e o b^* que vai do amarelo (valores positivos) ao azul (valores negativos). Com resultados expressos em ângulo Hue (ângulo da intensidade da cor (h)). Foram realizadas duas leituras em pontos opostos de cada fruto (5 frutos por repetição).

3.3.3 Firmeza: Determinada por punctura, utilizando-se penetrômetro de bancada TA. XT.plus – Texture analyses, ponteira 2 mm, sendo realizadas duas leituras em pontos opostos de cada fruto (5 frutos por repetição), e o valor obtido para se determinar a textura em Newtons (N), é definido como a força máxima requerida para que uma parte do ponteiro penetre na polpa dos produtos;

As análises descritas a seguir foram efetuadas diante do processamento de cada unidade experimental (bandeja), a cada dia de avaliação (0, 3, 6, 9 e 12), os morangos minimamente processados foram triturados com auxílio de um microprocessador de alimentos Eletrolux® e congeladas em nitrogênio líquido e a polpa posteriormente utilizadas para a realização das seguintes análises de pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), relação SST/ATT, açúcares redutores, antocianinas totais, ácido ascórbico (Vitamina C), fenólicos totais, fenilalanina amônia-liase (FAL), peroxidase (POD) e polifenoxidase (PPO).

3.3.4 pH: Obtido por potenciometria utilizando-se titulador automático 794 Basic Titrino – Metrhom, segundo a ISO 1842 (ISO, 1991);

3.3.5 Acidez total titulável (ATT): determinada pelo titulador automático 794 Basic Titrino – Metrhom, com NaOH, até pH 8,1. Os resultados foram expressos em g. ácido cítrico. 100g⁻¹ de amostra (ISO 750, 1998), assumindo ser o ácido orgânico presente em maior quantidade no morango;

3.3.6 Sólidos solúveis totais (SST): Obtido por refratometria, utilizando-se um Refrômetro digital Pal-1, da Atago com resultados expressos em °Brix (ISO 2173, 1978);

3.3.7 Relação SST/ATT: O quociente entre estas duas características (CHITARRA & CHITARRA, 2005);

3.3.8 Açúcares totais: Determinados segundo Macrae (1998), com injeção em HPLC. A extração se deu em ultrassom e com acetonitrila, com resultados expressos em g.100g⁻¹ de amostra;

3.3.9 Antocianinas totais: Determinado por colorimetria, através de extração do pigmento com solução EtOH-HCl, concentração 90:10 v/v (etanol 95% acidificado com 1,5 N HCl, pH da solução extratora igual a 1,0) e leitura em Espectrofotômetro de UV-Visível SPECORD 205, no comprimento de onda de 520 nm, segundo método de Spayd & Morris (1981) e Sistrunk & Morris (1978), baseados no método de Fuleki & Francis (1968), sendo os resultados expressos em mg pelargonidina 3-glicosídeo x 100 g⁻¹ de amostra.

3.3.10 Ácido ascórbico (Vitamina C): Utilizou-se a metodologia descrita por Rosa (2007), com injeção em HPLC. A extração se deu em ultrassom e com ácido sulfúrico 0,05M, com resultados expressos em mg de ácido cítrico.100⁻¹g de amostra;

3.3.11 Compostos fenólicos totais: Para a quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada uma extração prévia em acetona 70% por 20 minutos em ultrassom e centrifuga a 4.000rpm por 20 minutos. A mistura foi filtrada em papel de filtro de rápida filtração e este seguiu para a quantificação realizada de acordo com o método espectrofotométrico proposto por Singleton & Rossi (1965) modificado por Georgé et al. (2005). Adicionou-se 2,5 ml de solução de Folin-Ciocalteu a 10%, em 0,5 ml do extrato filtrado, e, após 2 minutos, adicionou-se 2 ml de solução de carbonato de sódio 7,5%. Após agitação em vortex, levou-se ao banho-maria a 50°C, por 18 minutos, e, a seguir, a mistura foi imersa em banho de gelo, por 30 segundos. A absorbância foi determinada utilizando-se espectrofotômetro regulado a um comprimento de onda de 760 nm. Em paralelo, uma curva padrão de ácido gálico (GAE) foi elaborada com as seguintes concentrações: 20 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹, 80 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹, sendo que todos os pontos da curva passaram pelas mesmas etapas descritas para os extratos. Os resultados foram expressos mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra.

3.3.12 Atividade enzimática

- Fenilalanina amônia-liase (FAL): A atividade da FAL foi realizada a partir da homogeneização de 1,0 g de morango e 6,0 mL do tampão de extração (preparado com uma mistura de 22,2 g de Tris; 0,37 g de EDTA; 85,5 g de sacarose; 10 g de PVP e completou-se o volume para 1000 mL de água destilada, após ajustar o pH para 8,0 com ácido clorídrico 2,0 N) a 4 °C, por 3 min. e em seguida centrifugado a 6000 g por

10 min. a 4 °C. O sobrenadante foi diluído antes da análise da atividade enzimática, pipetando-se 200 µl do mesmo e acrescentando-se 5 ml do tampão de extração.

A atividade da FAL foi avaliada com base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (HYODO et al., 1978). Para isto, pipetou-se para tubos de ensaio 1,5 mL de cada extrato enzimático, acrescentou-se 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina (49,6 mg/mL) ou água destilada na prova em “branco”. A mistura foi incubada a 40 °C por 60 min., interrompendo-se a reação com banho de gelo e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm e expressa em unidade por minuto, por grama de tecido fresco ($\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ da matéria fresca) (RODRIGUES et al., 2006).

- **Peroxidase (POD):** A atividade da POD foi determinada segundo Matsuno & Uritani (1972) e modificado por Campos & Silveira (2003). A extração foi realizada a partir de 4,0 g de morango, os quais foram homogeneizados acrescentando-se tampão Fosfato 0,05M (pH 7,0) por 3 min., o material foi filtrado em papel de filtro e em seguida centrifugado a 10.000 rpm por 10 min. a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para determinar a atividade da PPO. Todo procedimento de extração foi realizado sob banho de gelo.

A atividade da POD foi determinada a partir da reação de 1,5 mL de extrato enzimático, 2,5 mL de tampão fosfato-citrato 0,1M (pH 5,0), 0,25 mL de guaiacol 0,5% e 0,25 mL de peróxido de hidrogênio 3%, em tubo de ensaio. Após a agitação, os tubos foram deixados no banho a 30°C por 15 min, interrompendo-se a reação com banho de gelo. Posteriormente foi adicionado 0,25 mL de metabissulfito de sódio 2%. As leituras foram feitas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 470 nm e a atividade expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco ($\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

- **Polifenoloxidase (PPO):** A atividade da PPO foi determinada segundo Matsuno & Uritani (1972). A extração foi realizada a partir de 6,0 g de morango, os quais foram homogeneizados acrescentando-se tampão Fosfato 0,05M (pH 7,0) por 3 minutos, o material foi filtrado em papel de filtro e em seguida centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para determinar a atividade da PPO. Todo procedimento de extração foi realizado sob banho de gelo.

A atividade da PPO foi determinada a partir da reação de 1 mL de extrato enzimático, 3,6 ml de tampão fosfato 0,1M (pH 7,0) e 1,0 mL de catecol 0,1M, em tubo de ensaio. Após a agitação, os tubos foram deixados no banho a 30°C por 30 minutos, interrompendo-se a reação com banho de gelo. Posteriormente foi adicionado 0,8 mL de Ácido perclórico 2N. As leituras foram feitas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 395 nm e a atividade expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco ($\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$), segundo método proposto por Teisson (1979).

Os morangos minimamente processados foram avaliados quanto à atividade respiratória aos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias de armazenamento.

3.3.13 Atividade respiratória: A metodologia adaptada foi a de Fonseca et al., (2006). Os frutos foram colocados em recipientes de vidro (3265mL), apoiados por uma bandeja de poliestireno expandido, cujas tampas foram adaptadas com válvulas de entrada e saída, para medições de % O₂ e % CO₂ (aparelho PIB – Dansensor) (Figura 15). Os recipientes foram fechados e lacrados com uma fita isolante. As leituras foram feitas no momento do fechamento e 1, 2, 3 e 4 horas depois do fechamento dos recipientes. Após as leituras, os recipientes foram novamente abertos. As leituras foram realizadas a cada 2 dias, até o 12º dia

de armazenamento e os recipientes de vidro for armazenados sob refrigeração em câmara ($5 \pm 1^\circ\text{C}$), sendo retirados apenas no momento da leitura.



Figura 15. Morangos minimamente processados submetidos a avaliação da atividade respiratória

3.4 Análises Microbiológicas

Com a finalidade de se verificar a eficiência dos dois métodos de sanitização na redução da contaminação inicial e ao longo do armazenamento dos morangos minimamente processados, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de microbiologia da Embrapa Agroindústria de alimentos e submetidos a análises microbiológicas no dia do processamento, após 6 e 12 dias de armazenamento refrigerado em câmara a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Além dos tratamentos reportados anteriormente, também foram realizadas análises microbiológicas em morango *in natura* (T_6).

As metodologias de análise adotadas seguiram o *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, da *American Public Health Association* (APHA 2001), sendo verificado se havia a presença dos seguintes microrganismos: *Salmonella* spp., Estafilococos coagulase positiva, contagem de coliformes a 45° por NMP e contagem total de fungos filamentosos e leveduras.

Conforme determina a legislação, a pesquisa de *Salmonella* spp. foi feita de forma qualitativa, sendo o resultado expresso como presença ou ausência do microrganismo em 25 g de alimento. Segundo a legislação vigente, a presença desse microrganismo em 25 g de alimento torna o produto impróprio para consumo humano (Brasil, 2001). Os outros microrganismos foram analisados de forma quantitativa, sendo os resultados expressos em Número Mais Provável por grama (NMP/g), para contagem de coliformes a 45° ou Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g), para os demais.

3.5 Incidências de Patógenos

A verificação da incidência de patógenos foi realizada durante o armazenamento em B.O.D. à 5°C , através da contagem de lesões nos frutos. Estes frutos foram avaliados visualmente, de 2 em 2 dias, quanto ao aparecimento de lesões, determinando-se o índice de contaminação expresso em % (Equação 2).

$$I = \frac{NFD}{NTF} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

I= Incidência de patógenos (%)

NFC=Número de frutos doentes

NTF= Número total de frutos

A análise foi finalizada no 10º dia, quando a incidência de fitopatógenos chegou a 100%, ou seja, todos os frutos apresentaram lesões características de doenças pós-colheita; provavelmente tal fato deve-se ao excesso de manipulação dos frutos, diminuindo, assim, sua vida útil.

Para se obter isolados dos fitopatógenos, morangos minimamente processados com lesões bem desenvolvidas foram acondicionados individualmente em B.O.D. à 25°C, para favorecer o crescimento das lesões. Os frutos com lesões bem desenvolvidas foram levados a câmara de fluxo laminar onde os fitopatógenos foram isolados através da raspagem de estrutura fúngica. Esta estrutura foi transferida com o auxílio de uma alça para as placas de Petri de 90 mm, contendo meio de cultura batata dextrose-agar (BDA). Os microrganismos isolados, utilizados nos ensaios, foram acondicionados em BOD a 25°C até o aparecimento de estruturas fúngicas caracterizadas por uma massa de esporos, com aproximadamente 7 dias; posteriormente os fungos responsáveis pela contaminação foram identificados por meio da observação de características morfológicas, como cor do micélio, cor dos conídios e característica das estruturas de reprodução, através de características culturais e microscópicas (Leica DMLS).

3.6 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e três repetições por tratamento, onde cada repetição foi representada por uma bandeja contendo 8 frutos. Para as avaliações das características físicas de coloração e firmeza foram utilizados 15 frutos por tratamento em cada dia de análise, sendo 5 frutos por repetição. Para a avaliação de perda de massa fresca, foram utilizados 24 frutos, sendo 8 frutos por repetição. Para as físico-químicas, foram utilizados 3 repetições com 8 frutos, totalizando 24 frutos por tratamento, para cada dia de avaliação.

A avaliação de incidências de patógenos composta por cinco tratamentos, quatro repetições por tratamento, com 8 frutos por repetição, perfazendo um total de 32 frutos.

A ANOVA dos dados foi realizada em esquema parcela subdividida, utilizando-se o programa estatístico SPSS 17. Para determinação de diferenças entre tratamentos, foram utilizados o teste Tukey à nível de 5% de probabilidade. A análise de regressão foi realizada para estudar o efeito dos tratamentos sobre as variáveis ao longo do tempo.

Modelos matemáticos de regressão foram aceitos sempre com os coeficientes de regressão (R^2) indicassem, no mínimo 0,51; desde que possibilitassem explicar os fenômenos biológicos estudados. Este critério foi adotado, pois nos estudos de fisiologia pós-colheita, utilizam-se repetições compostas por diferentes frutos que, por mais criteriosa e uniforme seja a seleção inicial dos frutos que irão compor o experimento, o amadurecimento ocorre de maneira distinta e individual, gerando valores discrepantes entre as repetições.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Perda de Massa

A perda de massa fresca de morangos cv. ‘Camino Real’ minimamente processados no 12º dia de armazenamento foi de aproximadamente 6,87%, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos durante este período (Tabela 1).

Tabela 1. Perda de massa fresca (%) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias de armazenamento				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	0,00 a	0,78 a	0,78 a	4,15 a	5,98 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	0,00 a	0,74 a	2,18 a	5,20 a	7,45 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	0,00 a	2,87 a	3,33 a	5,16 a	7,02 a
Água clorada	0,00 a	0,78 a	1,83 a	3,40 a	5,50 a
Controle	0,00 a	0,84 a	2,24 a	5,89 a	8,43 a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), perdas entre 5 a 10% são suficientes para reduzir a qualidade da maioria das frutas e hortaliças. Entretanto, segundo Ronque (1998), a percentagem máxima de perda de massa aceitável para a comercialização do morango é de 6% de seu peso na colheita, ainda segundo o autor, acima deste patamar, o morango torna-se inaceitável para a comercialização. Sendo assim, verificou-se neste experimento que, apesar de somente os frutos sanitizados com água ozonizada a 0,2 mg.L⁻¹ e água clorada, apresentarem perda de massa fresca abaixo do limite comercial aceitável proposto por Ronque (1998), os resultados não apresentaram diferença estatística aos demais tratamentos no 12º dia de armazenamento. Desta forma, o processamento mínimo de morango associado à ozonização pode ser uma alternativa potencial, sem haver perdas drásticas na qualidade sensorial.

Houve interação significativa entre tratamentos X dias de armazenamento, em que todos os tratamentos apresentaram ajuste de modelo quadrático, com aumento da perda de massa fresca ao longo do armazenamento (Figura 16). A literatura relata diferentes valores de perda de massa fresca em diferentes variedades de morango submetidos a algum tipo de tratamento pós-colheita. Segundo Moraes et al. (2008), morangos minimamente processados, sanitizados pelo processo de cloração e armazenados a temperatura de 5°C apresentaram 6,6% de perda de massa até o 7º dia de armazenamento, enquanto que Cunha et al. (2012) verificaram perda de massa abaixo de 1,5% em morangos armazenados em atmosfera controlada por 8 dias a 10°C.

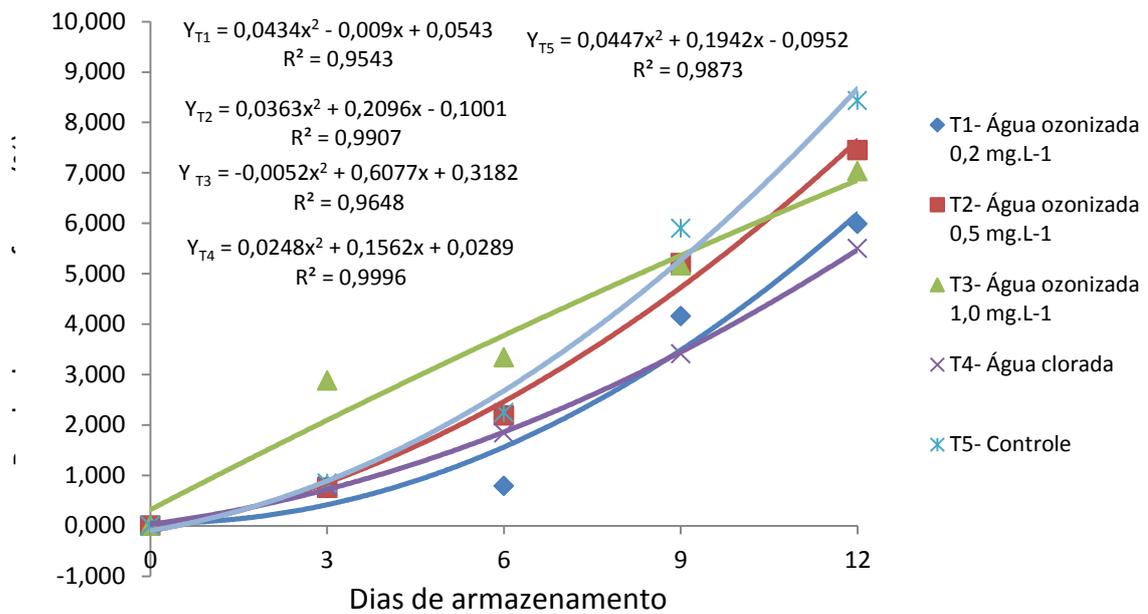


Figura 16. Perda de massa fresca (%) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Diferente dos resultados expostos, o efeito do O_3 em reduzir a perda de massa fresca em morangos foi encontrado por pesquisadores quando estudados sob a forma gasosa. Nadas et al. (2003) verificaram menor perda de massa fresca em morangos tratados com O_3 gasoso ($1,5 \mu L.L^{-1}$) e armazenados a $2^\circ C$ por três dias, em relação a morangos não tratados. Os autores consideraram que provavelmente, o O_3 reduziu a perda de massa fresca pela redução na taxa de respiração dos morangos durante o armazenamento refrigerado, o que também não foi verificado no presente estudo. Entretanto, segundo os autores, quando os morangos foram armazenados em condições ambientais, não obtiveram os mesmos resultados. Holtz (2006) analisou a perda de massa fresca em morangos sanitizados com O_3 gasoso ($50 mg.L^{-1}$) por 60 min, armazenados a $5^\circ C$ por 13 dias. O autor relatou que os frutos ozonizados apresentaram perda de massa fresca inferior aos morangos sanitizados em solução clorada.

4.2 Cor Instrumental

A cor é um fator importante na percepção da qualidade do morango, sendo um dos atributos mais importantes em relação a aceitabilidade do produto por parte dos consumidores (HERNANDEZ-MUÑOZ et al., 2008; ADAY & CANER, 2014). A alteração da cor ocorre durante a senescência, fazendo com que os frutos se tornem mais vermelhos e mais escuros ao longo do tempo de armazenamento (HOLCROFT & KADER, 1999; VICENZI, 2014).

- Ângulo Hue ($^\circ H$)

Neste trabalho, a média geral de $^\circ H$ ao longo do armazenamento nos morangos minimamente processados ficou em torno de 12,98, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos durante o armazenamento (Tabela 2).

Tabela 2. Cor Instrumental (°Hue) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	14,96 a	15,11 a	11,02 a	11,57 a	11,54 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	14,96 a	14,80 a	13,97 a	12,00 a	13,46 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	14,96 a	14,44 a	14,41 a	12,56 a	10,90 a
Água clorada	14,96 a	10,51 a	10,68 a	11,30 a	11,91 a
Controle	14,96 a	12,05 a	11,24 a	12,77 a	13,57 a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05)

O °H indica o valor em graus correspondente ao diagrama tridimensional de cores, sendo, 0° - vermelho, 90° - amarelo, 180° - verde e 270° - azul (SILVA et al., 2011; CHITARRA & CHITARRA, 2005). Portanto, podemos notar que os morangos minimamente processados apresentaram-se mais próximos ao ângulo de 0°, ou seja, valores próximos do vermelho.

Houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento. No decorrer do armazenamento, houve um aumento na coloração vermelha do morango, indicada pelo decréscimo do °H também (Figura 17). Apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos, os frutos oriundos dos tratamentos com água clorada e controle apresentaram menor valor de °H no 3° dia de armazenamento, ou seja, encontravam-se mais vermelhos, o que pode ser explicado pelo teor elevado de antocianinas presentes no 3° dia de armazenamento, conforme será relatado.

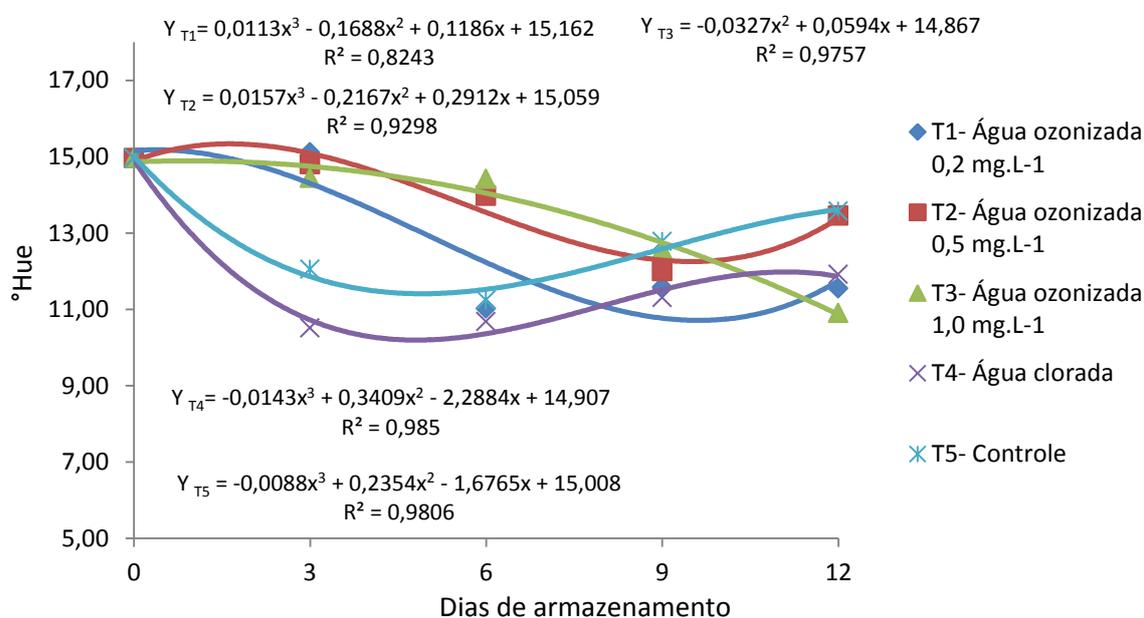


Figura 17. Cor instrumental (Ângulo Hue) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Aumento na coloração vermelha do morango, indicada pelo menor $^{\circ}H$ também foi encontrado por Ávila et al. (2012), segundo os autores, os valores de $^{\circ}H$ encontravam-se significativamente menores em morangos após 8 dias de armazenamento a 1°C, com valores de $^{\circ}H$ variando de 37,28 a 31,93. Para os consumidores, os frutos de cor forte e brilhante são os preferidos, embora a cor, na maioria dos casos, não contribua para um aumento efetivo no valor nutritivo ou qualidade comestível do produto (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

- Luminosidade (L^*)

Os valores médios referentes à avaliação da coordenada L^* ficaram entre 34,02 e 29,02. Durante o armazenamento dos morangos minimamente processados não houve diferença significativa entre tratamentos (Tabela 3), bem como não houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento.

Tabela 3. Cor Instrumental (L^*) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	31,59 a	30,22 a	32,50 a	31,89 a	29,33 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	31,59 a	30,30 a	32,96 a	31,78 a	30,79 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	31,59 a	29,24 a	34,02 a	32,24 a	31,07 a
Água clorada	31,59 a	30,78 a	33,66 a	32,50 a	29,02 a
Controle	31,59 a	29,28 a	33,27 a	32,73 a	31,62 a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O valor da coordenada L^* é um indicador de escurecimento dos frutos ao longo do armazenamento, que pode ser causado tanto por reações oxidativas quanto pelo aumento da concentração de pigmentos (VICENZI, 2014). De uma forma geral, podemos notar que o parâmetro L^* não apresentou variação no decorrer do armazenamento, apresentando uma média geral de 31,48. Ao final do armazenamento, não foi notado mudanças na cor dos frutos, que se mostraram vermelhos durante todo o armazenamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Aday & Caner (2014) os autores observaram valores médios de 30,14 L^* em morangos sanitizados com ozônio aquoso. Reis et al. (2008) observaram valores médios de 29,71 L^* em morangos cv. Oso Grande, tratados com diferentes sanitificantes, armazenados 9°C e U.R. 90%, por um período de 12 dias.

Segundo Sautter et al. (2011) a ozonização encontra-se associada ao escurecimento da epiderme. Provavelmente a causa deste escurecimento seja a morte das células da epiderme provocada pelo O_3 , visto que ele está envolvido na resposta de hipersensibilidade (RH) que ocorre quando a célula sofre um estresse biótico ou abiótico; por exemplo, após o ataque por patógeno ocorre morte celular das células infectadas e das células adjacentes a elas (LANGEBARTELS et al., 2002). Para que isso ocorra, são formadas espécies reativas de oxigênio (EROs), como H_2O_2 e OH . As EROs provocam a morte da célula por causarem peroxidação de lipídios, danos no DNA e oxidação de proteínas (GILLE & SIGLER, 1995).

O efeito fitotóxico do O_3 foi reportado por Sautter et al. (2011) em pêssegos, Salvador et al. (2006) em caqui, Nadas et al. (2003) em morangos e Forney et al. (2007) em cenouras. Os últimos autores afirmam que os efeitos deletérios encontrados em cenouras estão relacionados ao estresse oxidativo causado por esse elicitador.

No presente trabalho, não houve efeito fitotóxico, visto que os resultados referentes ao escurecimento da epiderme (L^*) não apresentaram diferença entre a ozonização e o controle, provavelmente, as baixas doses de ozônio aquoso utilizadas foram fundamentais na prevenção de tal dano. Desta forma, é de suma importância a condução de trabalhos visando obter a dosagem adequada de O_3 para cada fruto estudado.

- Parâmetro a^*

Os valores médios referentes à avaliação do parâmetro a^* ao longo do armazenamento de morangos minimamente processados submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados a baixa temperatura ficaram entre 23,12 e 28,10. Tais valores foram significativos somente para o fator dias de armazenamento e a curva apresentou ajuste de modelo quadrático (Figura 18).

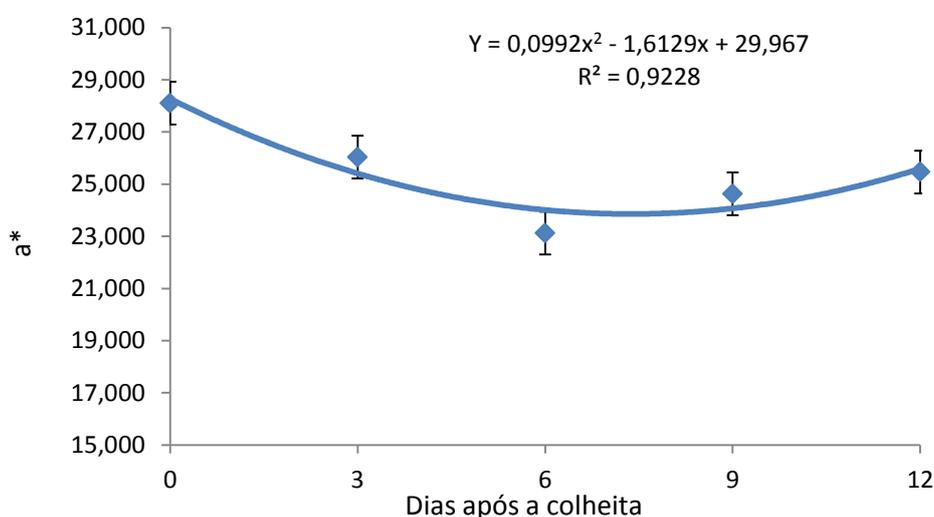


Figura 18. Médias gerais dos valores de a^* de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

O parâmetro a^* varia entre o vermelho e o verde, onde os valores positivos correspondem ao vermelho, o 0 (zero) ao cinza e os negativos, à cor verde, ou seja, quanto maior for o valor de a^* mais próximo do vermelho está a superfície analisada. Comportamento semelhante em morangos foi encontrado por Reis et al. (2008), onde os valores oscilaram durante o armazenamento, apresentando um decréscimo, seguido de um aumento. Tal oscilação provavelmente está associada com grau de maturação diferente dos frutos ao longo do armazenamento.

Aday & Caner (2014) observaram valores médios de a^* de 31,29 em morangos submetidos a ozonização aquosa ($0,075 \text{ mg.L}^{-1}$) por 5 minutos e armazenado a 4°C, e notaram que os valores de a^* diminuíram com o passar do tempo de armazenamento nos morangos tratados ou não tratados. Segundo estes autores, este resultado depende de reações de escurecimento e diminuição da estabilidade das antocianinas nos frutos.

4.3 Firmeza

A firmeza pode ser definida como o parâmetro relacionado com a resistência da parede celular e adesão intercelular (TOIVONEN & BRUMMEL, 2008). Nesta avaliação foi observada diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento. De um modo geral, os valores de firmeza mostraram uma tendência decrescente durante o armazenamento em todos os tratamentos. Pelos resultados apresentados na Tabela 4, é possível observar, no 6º dia de armazenamento, os frutos oriundos da sanitização com água ozonizada a 0,2 mg.L⁻¹ apresentaram firmeza significativamente superior em relação aos tratamentos com água ozonizada a 1,0 mg.L⁻¹, água clorada e controle.

Entretanto, no 12º dia de armazenamento os frutos oriundos da sanitização com água ozonizada a 1,0 mg.L⁻¹ apresentaram firmeza significativamente superior aos frutos provenientes da sanitização com água clorada, porém não apresentaram diferença significativa em relação aos demais tratamentos. Contudo, apesar de não ter apresentado diferença significativa na maioria dos dias de avaliação, pode-se notar que os tratamentos referentes à sanitização com água ozonizada (0,2, 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) apresentaram tendência de valores mais altos de firmeza em relação aos tratamentos com água clorada e o controle.

Tabela 4. Firmeza (N) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	2,21 a	1,61 a	2,41 a	1,91 a	1,60 ab
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	2,21 a	2,08 a	1,81 ab	2,10 a	1,73 ab
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	2,21 a	2,00 a	1,67 b	1,89 a	1,96 a
Água clorada	2,21 a	1,70 a	1,58 b	1,73 a	0,64 b
Controle	2,21 a	1,82 a	1,56 b	1,63 a	0,77 ab

*Médias acompanhadas por letra diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$).

Estudo realizado por Alexandre et al. (2012) apresentou comportamento semelhante ao do presente trabalho, já que segundo os autores, morangos sanitizados em água ozonizada (0,3 mg.L⁻¹) por 2 minutos, apresentaram perda de firmeza inferior durante o armazenamento a 4°C por 13 dias em relação aos morangos sanitizados em água destilada. Aday & Caner (2014) também verificaram o efeito positivo da ozonização aquosa sob o parâmetro de firmeza em morangos. Rodoni et al. (2010) relataram que tomates tratados com ozônio gasoso (10 µL L⁻¹ por 10 min) foram conservados por maior tempo, reduzindo danos no fruto e amolecimento excessivo, dois dos principais fatores que limitam a vida pós-colheita.

Houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento, com ajuste de modelo cúbico para os tratamentos com água ozonizada a 0,2; 0,5 mg.L⁻¹; água clorada e controle; e com ajuste de modelo quadrático para o tratamento com água ozonizada a 1,0 mg.L⁻¹ (Figura 19). Valores de firmeza em geral, mostraram uma oscilação durante o armazenamento.

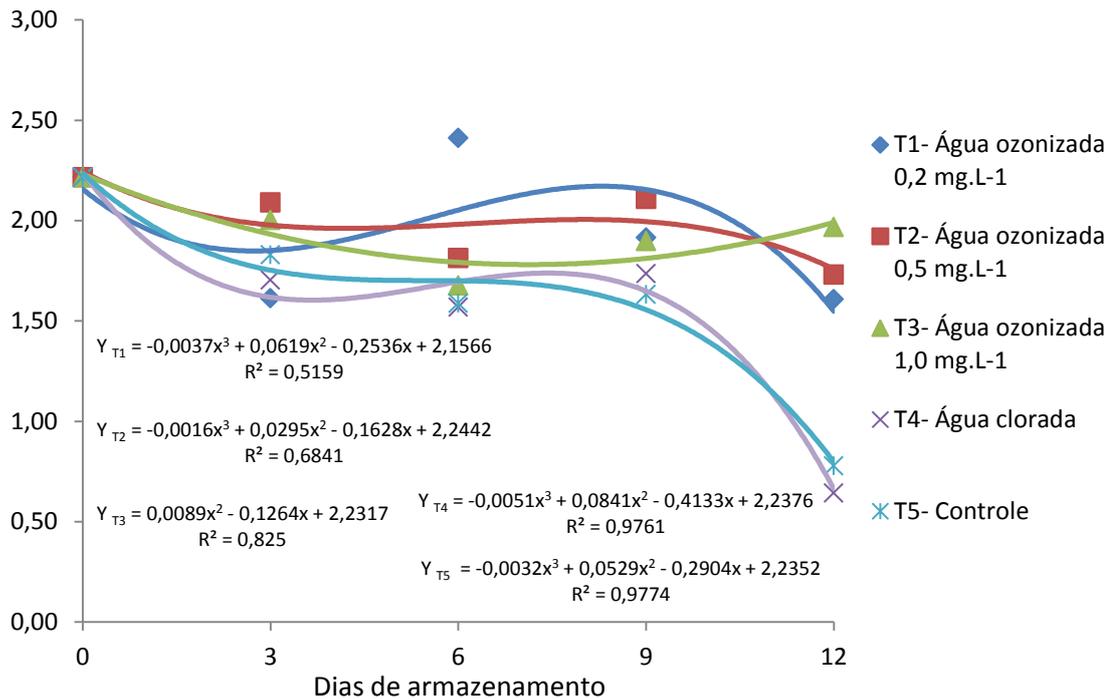


Figura 19. Perda de Firmeza (N) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

A perda de firmeza natural nos pseudofrutos pode ser atribuída à degradação de componentes da parede celular, principalmente a pectina, em função da ação de enzimas específicas como a pectinametilesterase e poligalacturonase (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Logo, a manutenção da firmeza da polpa dos morangos é importante para o prolongamento de sua vida útil.

Os frutos oriundos da sanitização com água ozonizada, apesar de não apresentar diferença significativa aos demais tratamentos em todos os dias de avaliação, apresentaram valores superiores de firmeza ao longo do armazenamento. Desta forma, a atividade das enzimas associadas à degradação da pectina em morangos pode ter sido retardada pela ozonização, e assim, minimizado o amolecimento; entretanto, ainda não é sabido como o O₃ age sobre estas enzimas.

4.4 pH

Os valores de pH variaram de 3,55 a 3,59. Não houve diferenças entre os tratamentos e nem interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Alexandre et al. (2012), Holtz (2006) e Aday & Caner (2014) em morangos ozonizados, obtendo um valor de pH em média 3,88, 3,55 e 3,50 respectivamente.

O fator tempo mostrou-se significativo, e a curva apresentou ajuste de modelo quadrático. Houve uma tendência dos resultados se manterem constantes em relação aos valores de pH até o 12º dia de armazenamento. Resultados deferentes foram encontrados por Holtz (2006), pois o autor observou decréscimo no valor de pH de morangos ozonizados no 13º dia de armazenamento a 5°C. Reis et al. (2008), notaram instabilidade nos valores de pH

de morangos cv. Oso Grande, tratados com diferentes sanitizantes e armazenados a 9°C por um período de 12 dias.

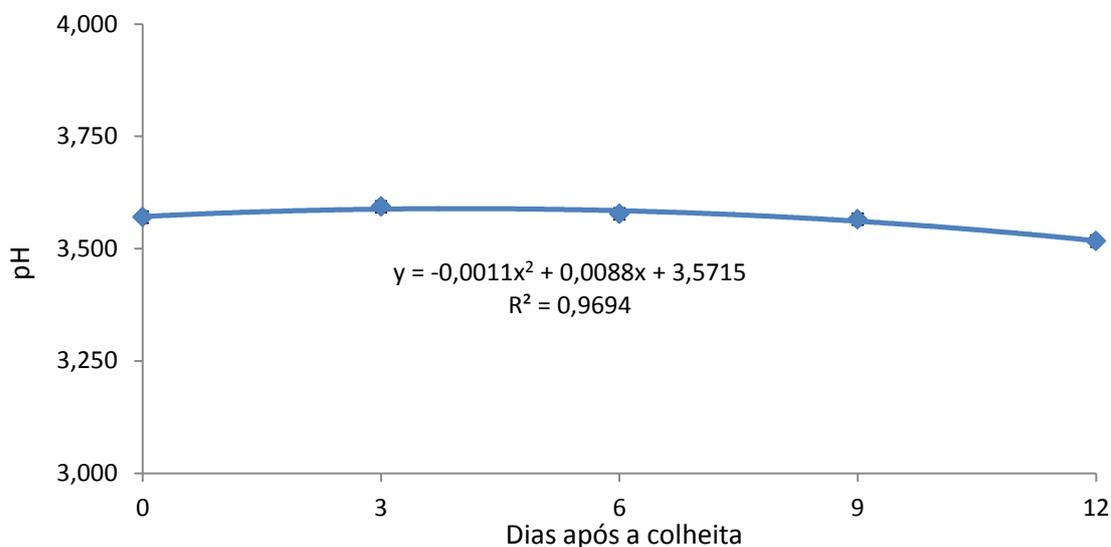


Figura 20. Médias gerais de pH de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Resultados divergentes foram encontrado por Tsormpatsidis et al. (2011), em pesquisa pós-colheita de morangos, apontando um aumento de pH ao longo do armazenamento. Este comportamento pode estar relacionado à degradação de ácidos orgânicos, como cítrico, málico e ácido ascórbico, que ocorre no processo natural de senescência dos frutos (GARCÍA, 1998).

Na célula, os ácidos orgânicos encontram-se associados com seus sais de potássio constituindo sistemas tampões, tendo grande importância, particularmente, na regulação da atividade enzimática (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Segundo Braga (2012) o pH do morango é ácido e variável de acordo com o estágio de desenvolvimento do fruto. Os frutos verdes possuem pH de 3,5 a 4,6, que reduz até 3,1 a 3,3 quando os frutos atingem o estágio “branco”, provavelmente como resultado do aumento da síntese de ácidos orgânicos, porém quando os frutos amadurecem e os ácidos orgânicos são metabolizados ou diluídos, pelo aumento do volume celular, o pH aumenta para 3,5 a 3,7.

4.5 Acidez Total Titulável (ATT)

A média geral de ATT nos morangos minimamente processados ficou em 0,75 g. 100g⁻¹. Não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 5) e nem interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento.

Tabela 5. Teor de ATT (g ácido cítrico. 100g⁻¹) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	0,75 a	0,74a	0,75 a	0,7 a	0,83 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	0,75 a	0,75 a	0,79 a	0,77a	0,81 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	0,75 a	0,7 a	0,76 a	0,78 a	0,82 a
Água clorada	0,75 a	0,74 a	0,73 a	0,73 a	0,72 a
Controle	0,75 a	0,72 a	0,74 a	0,76 a	0,77 a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05)

Segundo Cordenunsi et al. (2003) o nível de ATT em morangos pode variar na faixa entre 0,6 e 2,3% de ácido cítrico, sendo que os morangos com baixa acidez são mais saborosos e mais agradáveis sensorialmente. Assim, pode-se notar no presente trabalho, que os morangos minimamente processados apresentaram valores de ATT favoráveis a comercialização até o 12º dia de armazenamento, mantendo a baixa acidez ao longo do armazenamento.

Valores superiores ao presente estudo foram relatados por Reis et al. (2008) (1,19% a 1,62%), os autores observaram grandes variações de ATT no decorrer do armazenamento. Os resultados obtidos neste trabalho estão próximos resultados descritos por Moraes et al. (2004) (0,82 a 0,86%) para morangos minimamente processados.

O fator tempo mostrou-se significativo, e a curva apresentou ajuste de modelo quadrático. Os teores de acidez total titulável apresentaram variações mínimas no decorrer do armazenamento (Figura 21).

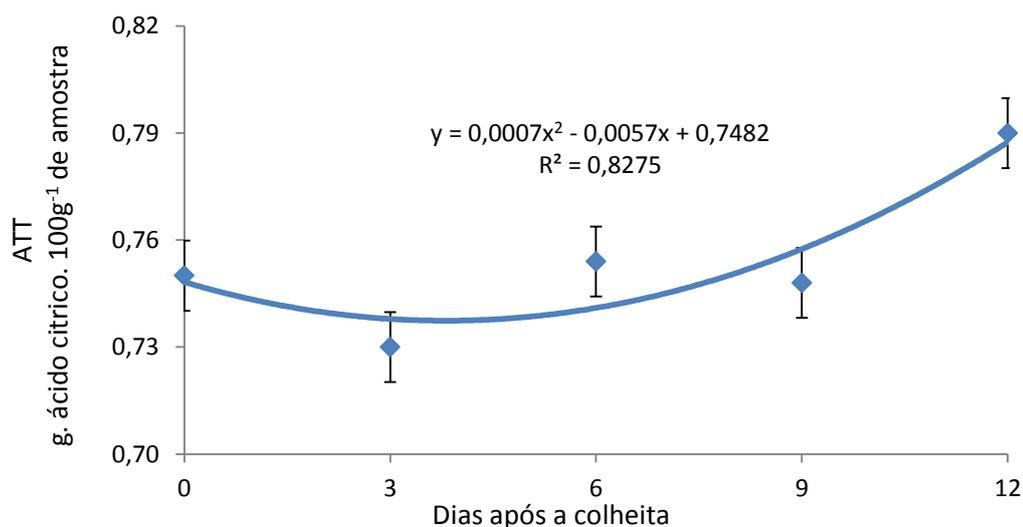


Figura 21. Médias gerais da ATT (ácido cítrico) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Em geral, após a colheita e durante o armazenamento, ocorre um declínio na concentração de ácidos orgânicos nos frutos, uma vez que esses ácidos são utilizados com substrato da respiração ou da sua transformação em açúcares, (CHITARRA e CHITARRA, 2005). No entanto, esse comportamento pode ser diferenciado em algumas situações, em que, pode haver aumento nos valores com o avanço da maturação, já que as transformações variam com o tipo de tecido, cultivar, grau de maturação, condições de armazenamento, entre outros (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Sob o ponto de vista microbiológico, a acidez, em produtos minimamente processados, é benéfica, pois inibe o crescimento de patógenos nocivos à saúde humana, de tal forma que não comprometa a qualidade sensorial deste mesmo produto (MATTIUZ et al., 2004).

4.6 Sólidos Solúveis Totais (SST)

A Tabela 6 apresenta o teor de sólidos solúveis totais dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos durante o armazenamento. A média geral de SST nos morangos minimamente processados ficou em torno de 7,90° Brix. As análises estatísticas revelaram que não houve diferenças entre os tratamentos ao longo do armazenamento.

Tabela 6. Teor de SST (°Brix) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	8,3a	8,56a	7,96a	7,4a	7,4a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	8,3a	8,06a	8,26a	7,76a	7,35a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	8,3a	8,11a	8,23a	7,4a	7,33a
Água clorada	8,3a	8,33a	7,76a	7,36a	7,5a
Controle	8,3a	7,46a	7,7a	7,5a	7,13a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

Resultados semelhantes foram encontrados por Nadas et al. (2003), em morangos armazenados a 2°C por três dias em câmara com ozônio gasoso (1,5 µL.L⁻¹), os autores obtiveram resultados de 7,3° Brix. Resultados inferiores foram encontrados por Aday & Caner (2014), em morangos submetidos a ozonização aquosa (0,075 mg.L⁻¹) por 5 minutos e armazenado a 4°C, obtendo um valor de SST em média 5,43° Brix.

A interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento, apresentou ajuste de modelo cúbico (Figura 22). O Teor de SST da fruta é um dos parâmetros mais importantes associados com a textura e aceitabilidade do consumidor (ADAY & CANER, 2014), desta forma, segundo Cordenunsi et al. (2003) o limite para a comercialização de morangos quanto aos níveis de SST é de 7%, assim, todos os morangos provenientes de todos os tratamentos mantiveram-se comercialmente aptos até o 12° dia de armazenamento.

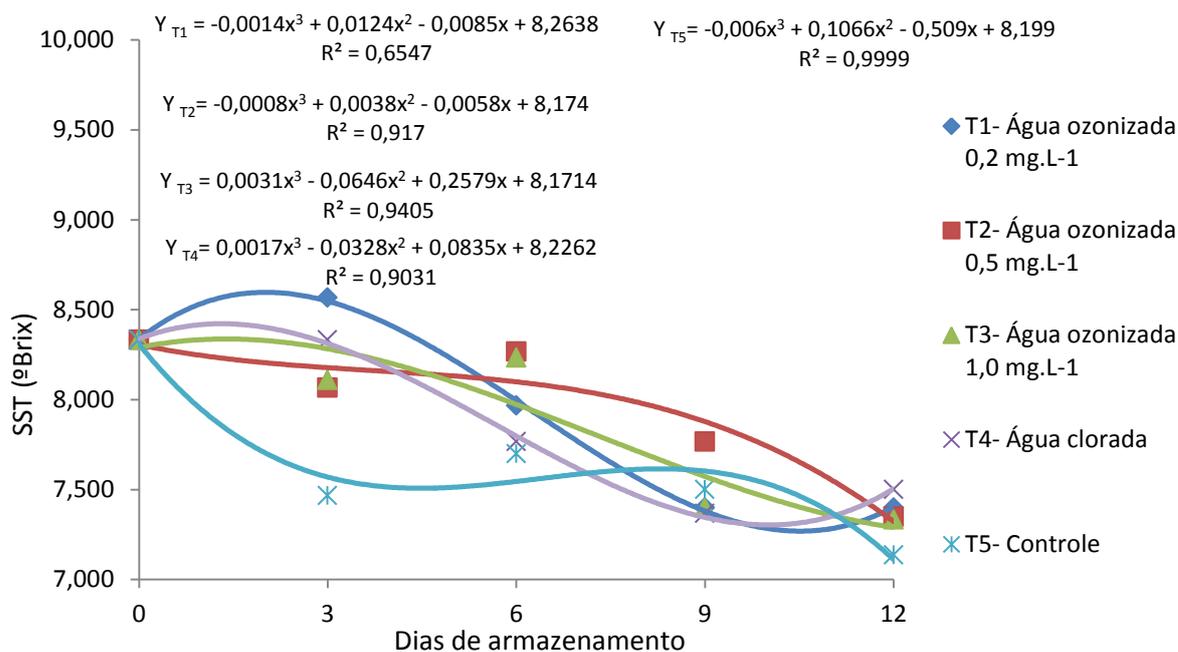


Figura 22. Teor de SST (°Brix) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Com o decorrer do tempo de armazenamento pode-se notar que houve uma diminuição do teor de SST. Tal redução pode ser atribuída, em parte, a mobilização de sólidos solúveis no metabolismo respiratório dos frutos, constituídos, principalmente, pelos açúcares (glicose, frutose e sacarose), ácidos orgânicos e pectinas solúveis (FAN, 1992; CHITARRA e CHITARRA, 2005). Comportamento semelhante foi encontrado por Aday et al. (2013) e Yamashita et al. (2006) em morangos.

4.7 Relação SST/AT

Como observado na Tabela 7, os valores da razão SST/ATT variaram de 11,06 para 8,91 do início até o final do armazenamento dos frutos. Os frutos provenientes dos tratamentos T1 e T3 apresentaram menor razão de SST/ATT no último dia de armazenamento apresentando diferença significativa em relação ao tratamento T4 (8,91; 8,93 e 10,42 respectivamente), entretanto, não diferiram significativamente dos demais tratamentos. Em média, diferentes valores de SST/ATT foram encontrados na literatura: 8 a 8,9 em morangos (CANTILLANO et al., 2008); 3,7 a 8,4 em cerejas (GUNDUZ et al., 2013).

Tabela 7. Relação SST/ATT de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	11,06 a	11,56 a	10,61 a	10,57 a	8,91 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	11,06 a	10,74 a	10,45 a	10,07 a	9,07 ab
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	11,06 a	11,58 a	10,82 a	9,48 a	8,93 a
Água clorada	11,06 a	11,25 a	10,63 a	10,08 a	10,42 b
Controle	11,06 a	10,36 a	10,40 a	9,86 a	9,25 ab

* Médias acompanhadas por letra diferente na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (p≥0,05).

Interação significativa foi observada entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento, com ajuste de modelo quadrático para as equações referentes ao tratamento T1 e T2 e com ajuste de modelo cúbico para as equações referentes aos demais tratamentos (Figura 23). Podemos notar um decréscimo na relação SST/ATT embora pequenas oscilações tenham ocorrido.

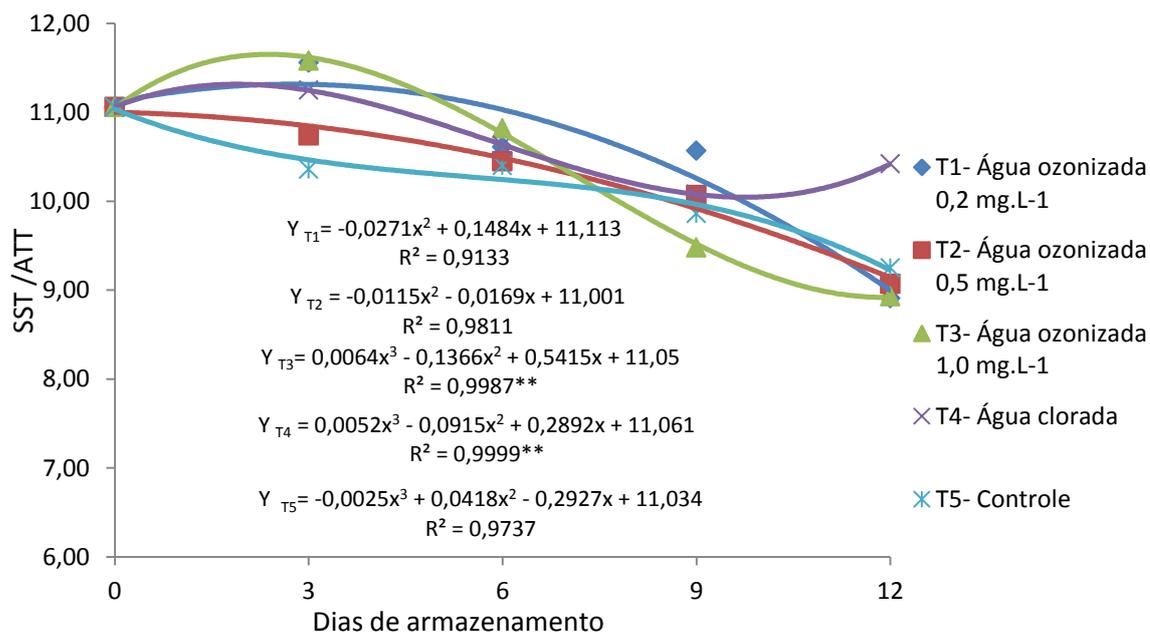


Figura 23. Relação SST/ATT de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Segundo, CHITARRA e CHITARRA (2005), a relação SST/ATT aumenta com o amadurecimento devido ao decréscimo na acidez fato que permite uma relação elevada, entretanto, no presente trabalho a ATT permaneceu constante ao longo do armazenamento, e o teor de SST decresceu. Desta forma, a tendência observada na relação SST/ATT pode ser atribuída ao decréscimo de SST. Este parâmetro é um importante atributo qualitativo, uma vez

que indica o gosto inerente ao produto, o qual é resultado da contribuição dos componentes responsáveis pela acidez e doçura (MATTIUZ, 2002).

4.8 Açúcares Totais (Frutose, Glicose e Sacarose)

A média geral dos valores de Frutose, Glicose e Sacarose em morangos minimamente processados ficou em torno de 3,06, 2,80 e 0,66 g.100g⁻¹ respectivamente, ao longo do armazenamento. Os diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas quanto aos açúcares totais detectados nos frutos, assim como não houve interação significativa entre tratamentos X dias estudados. O fator tempo mostrou-se significativo, e a curva apresentou ajuste de modelo quadrático para a variável glicose e frutose, com aumento até o 3º dia após a colheita, vindo a decrescer durante o armazenamento (Figura 24). Para a variável sacarose, apresentou ajuste de modelo cúbico, com redução até o 12º dia de armazenamento.

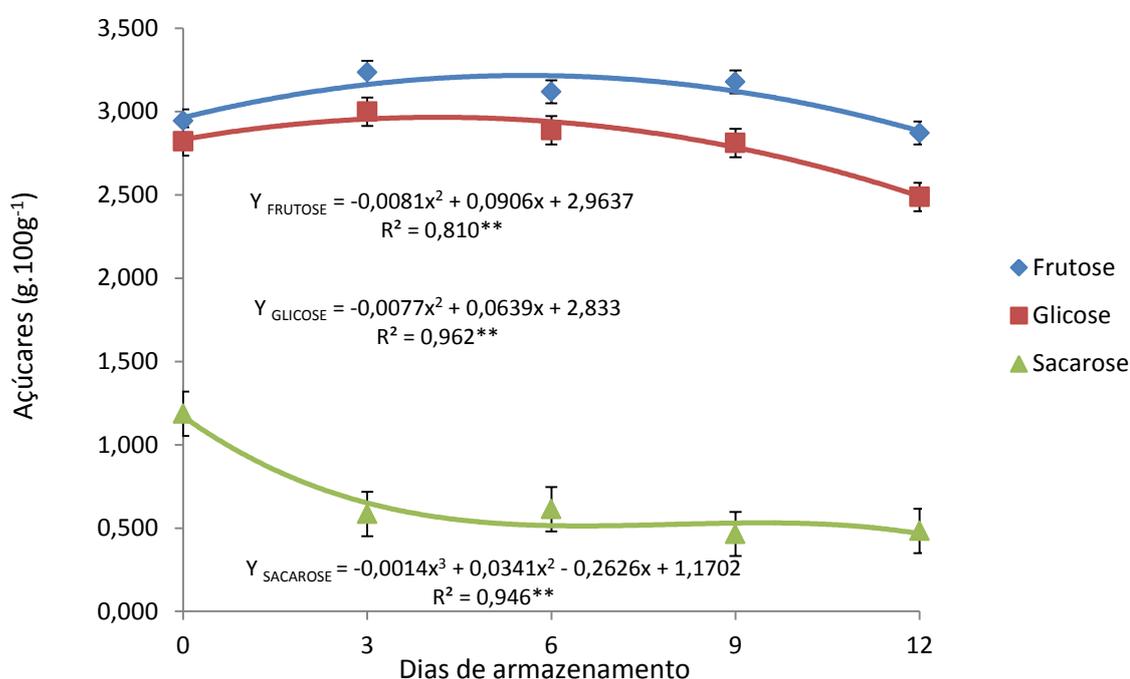


Figura 24. Médias gerais de Frutose, Glicose e Sacarose (g.100g⁻¹) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

As mudanças físico-químicas de morango durante armazenamento refrigerado (6 °C) foram avaliadas por Cordenunsi et al. (2003). Segundo os autores, no 2º dia de armazenamento a sacarose desapareceu em todas as cultivares. Os mesmos propõem que a alta atividade metabólica dos frutos pode ter contribuído para o consumo de sacarose pelo tecido, já que o desaparecimento da sacarose não resultou em aumento nos teores de glicose e frutose.

No presente trabalho a redução da sacarose parece ter coincidido com o aumento da frutose e glicose, até o 6º dia de armazenamento. Diferente do encontrado neste estudo, Pelayo et al. (2003) não observaram reduções significativas nos teores de glicose e de frutose ao longo do armazenamento de morangos.

Pérez et al. (1999) notaram uma tendência decrescente no teor de sacarose concomitantemente ao teor de glicose e frutose imediatamente após o tratamento de morangos com O₃. Os autores consideraram que tal fato poderia ter ocorrido em razão da inativação de outras vias de degradação da sacarose em resposta ao estresse oxidativo causado pelo O₃. Entretanto, este fato não pode ser afirmado no presente trabalho, pois todos os tratamentos apresentaram a mesma tendência ao longo do armazenamento, provavelmente devido à baixa concentração de O₃ a qual os morangos foram submetidos.

4.9 Antocianinas Totais

A média geral da concentração de antocianinas nos morangos minimamente processados foi de 21,11 mg.100g⁻¹ de amostra. Os tratamentos não diferiram significativamente entre si, bem como, não houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento em relação a antocianinas. O fator tempo mostrou-se significativo, e a curva apresentou ajuste de modelo quadrático, com aumento no 3º dia após a colheita, e voltando aos valores iniciais no 9º dia, apresentando um pequeno decréscimo no 12º dia (Figura 25).

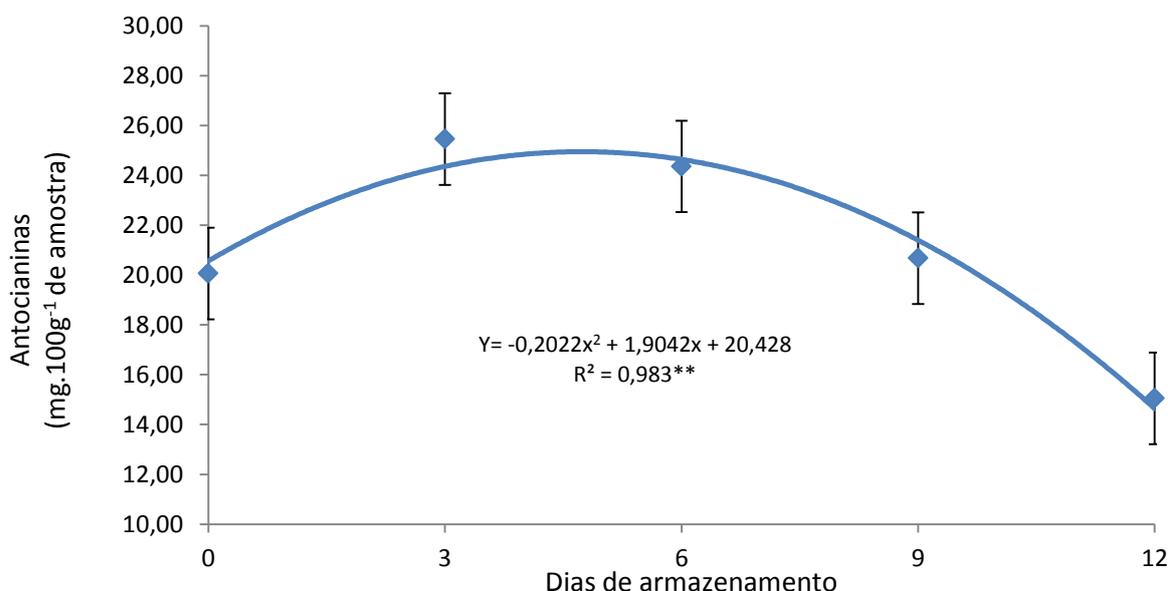


Figura 25. Médias gerais de Antocianinas (mg.100g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

O conteúdo de antocianinas totais em morango ‘Camino Real’ do presente trabalho foi maior que o reportado por Chaves (2014) e Cantillano et al. (2012) que foi 15,16 e 16,57 mg.100g⁻¹ de amostra, respectivamente. Porém, inferior ao valor reportado por Pinelli et al. (2011) que encontraram teores na faixa de 29,2 mg.100 g⁻¹ de antocianinas totais para a mesma cultivar. Copetti et al. (2012), em análise de frutos do cultivar Albion, detectaram a presença de antocianinas totais na concentração de 22,27 mg.100 g⁻¹, resultado próximo ao descrito no presente trabalho.

Segundo Pérez et al., (1999), a alteração na cor de morangos tratados com O₃ possivelmente ocorre pela oxidação de pigmentos que conferem cor vermelha, tais como antocianinas. Esses autores observaram uma redução no teor de antocianinas em morangos

mantidos sob ozonização em atmosfera controlada a 2°C. Tiwari et al. (2009) obtiveram reduções significativas no teor de antocianinas (98,2%) em suco de morango diretamente ozonizado. Os autores também notaram que a redução seria proporcional a concentração aplicada e ao tempo do tratamento, ou seja, quanto maior a concentração e o tempo, maior seria a degradação de antocianina.

Apesar de notarmos um decréscimo no 12º dia de armazenamento, os frutos oriundos da sanitização com cloro e os frutos controle apresentaram a mesma tendência dos frutos ozonizados, ou seja, não podemos afirmar que a ozonização causou a oxidação da antocianina no presente estudo. Segundo Moraes et al. (2008) alterações no pH dos frutos, também podem influenciar o metabolismo e a estabilidade desses pigmentos, ocasionando perdas significativas de cor. A degradação da antocianina também pode ser resultado da oxidação desse pigmento em contato com o ar e também da degradação enzimática, através da polifenoloxidase (BERNO, 2013).

Apesar da degradação de antocianinas, a redução da intensidade da cor foi considerada leve, mesmo ao final do período de conservação. Desse modo, embora a degradação esteja ocorrendo, esse fator não prejudicou potencial de comercialização do produto do ponto de vista visual.

4.10 Ácido Ascórbico (Vitamina C)

A média geral do conteúdo de vitamina C nos morangos minimamente processados foi igual a 31,39 mg.100g⁻¹ de amostra ao longo do armazenamento. O resultado não diferiu entre os morangos minimamente processados nos cinco tratamentos (Tabela 8) e variou pouco até o 9º dia de armazenamento. Assim como não apresentaram significância entre a interação tratamentos X dias de armazenamento.

Tabela 8. Vitamina C (mg.100g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	35,3a	32,55a	40,65a	38,74a	23,65a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	35,37a	29,94a	39,20a	32,30a	23,68a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	35,37a	31,02a	40,34a	38,17a	18,86a
Água clorada	35,37a	34,15a	37,47a	33,16a	11,97a
Controle	35,37a	34,33a	37,32a	39,35a	20,80a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

Os valores médios de Vitamina C foram significativos somente para o fator tempo e a curva apresentou ajuste de modelo cúbico (Figura 26). O decréscimo acentuado no teor de Vitamina C a partir do 9º dia pode estar relacionado com a degradação de ácidos orgânicos, dentre os quais o ácido ascórbico, durante o processo natural de maturação e senescência (HOLTZ, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Glowacz, et al. (2015) em pimentas vermelhas, armazenadas por 14 dias a 14°C em câmara com gás ozônio nas concentrações de 0,1 e 0,3 mol mol⁻¹, os autores não observaram diferença significativa entre os tratamentos estudados e relataram um decréscimo no teor de Vitamina C no último dia de armazenamento.

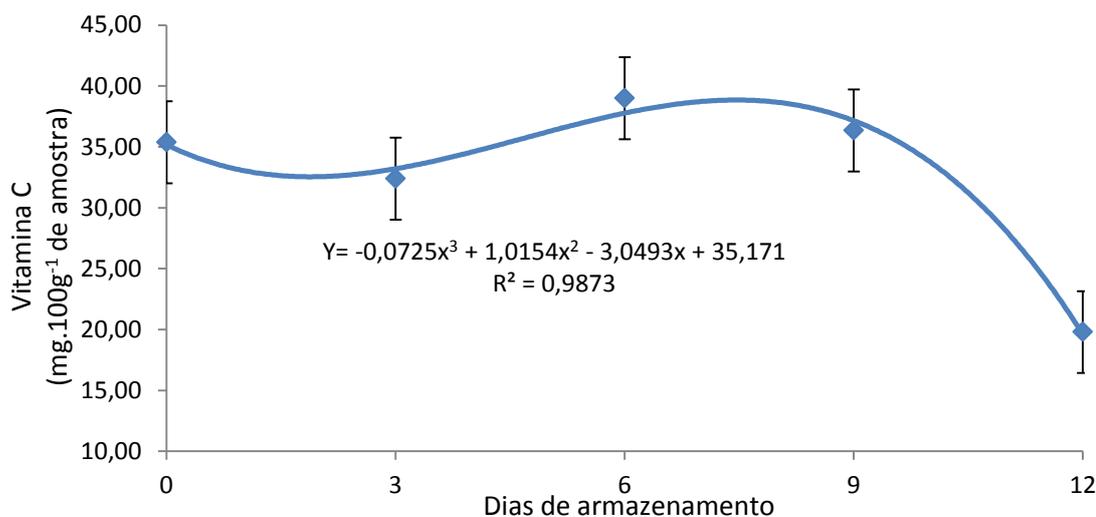


Figura 26. Teor de vitamina C (mg.100g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

A vitamina C em morangos predomina sob a forma de ácido ascórbico com teor médio de 60 mg 100 g⁻¹ e pode variar com o cultivar, com estágio de maturação e com a época de colheita (Lima, 1999; Cordenunsi et al., 2002).

No processamento mínimo do morango, a vitamina C pode funcionar como ótimo indicador de qualidade, uma vez que os tecidos são expostos na etapa de corte, e a vitamina C pode ser perdida por ser lábil e suscetível a degradação na presença de luz e oxigênio. A oxidação do ascorbato pela ascorbato oxidase aumenta em condições de estresse, como exposição a patógenos, altas temperaturas, íons metálicos, danos físicos ou químicos, e como a exposição de produtos que contenham halogênios em sua molécula, como sais de hipoclorito usados na sanitização (Lee & kader, 2000).

Segundo Kechinski (2007), a sanitização com água ozonizada (2 e 4 mg.L⁻¹) influenciou o teor de Vitamina C em amostras de mamão armazenados onde e como no 15º dia de armazenamento, observando-se perda de mais de 40% ao se usar concentrações maiores de O₃ (4 mg.L⁻¹). Weber et al., (1998) observaram o potencial antioxidante da Vitamina C frente a sua exposição ao O₃ com concentrações de 1, 5 e 10 mg.L⁻¹ por 2 h.

No presente trabalho, o potencial antioxidante da Vitamina C frente a sua exposição ao O₃ não foi observado devido à baixa concentração de O₃ e ao baixo tempo de contato utilizado para a sanitização. Os resultados deste estudo sugerem que existe um limiar em relação à dose de O₃ e tempo de exposição, ou seja, em elevada concentração ou a exposição prolongada, a qualidade nutricional de frutos e hortaliças pode ser reduzida, o que não foi verificado no presente trabalho. Isso reforça a ideia de que o processamento mínimo de morango associado à sanitização por ozonização com concentrações e tempo adequados, pode ser uma alternativa para minimizar perdas na qualidade dos produtos.

4.11 Compostos Fenólicos Totais

Os tratamentos resultaram em efeitos significativamente diferentes entre si para o conteúdo de compostos fenólicos totais nos morangos minimamente processados. Pelos

resultados apresentados na Tabela 9, é possível observar que, no 3º dia, os morangos do controle apresentaram um conteúdo de fenóis totais superior aos demais tratamentos (137,77 mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra), entretanto, ao longo do armazenamento esta superioridade não se manteve. Tal fato pode ser atribuído ao amadurecimento distinto e individual de cada fruto.

No 6º dia após tratamento, os tratamentos com água ozonizada a 0,2 e 1,0 mg.L⁻¹ apresentaram valores superiores aos demais tratamentos (113,01 e 105,34 mg.100 g⁻¹, respectivamente). No 12º dia após tratamento, os frutos submetidos aos tratamentos com água ozonizada (0,2, 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) apresentaram um conteúdo de fenóis totais em quantidade significativamente superior aos frutos do tratamento com água clorada (97,52, 96,20, 88,60 e 64,06 mg.100 g⁻¹ respectivamente).

Tabela 9. Compostos fenólicos Totais (mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos				
	0	3	6	9	12
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	107,42 a	109,56 b	113,01 a	83,29 a	97,52 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	107,42 a	112,27 b	97,62 c	88,87 a	96,20 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	107,42 a	102,63 b	105,34 b	84,86 a	88,60 ab
Água clorada	107,42 a	109,37 b	93,63 c	92,06 a	64,06 c
Controle	107,42 a	137,77 a	96,30 c	93,34 a	78,55 b

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

O conteúdo de fenóis totais em morango ‘Camino Real’ do presente trabalho foi menor que o reportado por Chaves (2014) e Pineli et al. (2011), que foi 188,0 e 174,0 mg 100 g⁻¹ de fruto fresco, respectivamente, porém, aproximado do valor reportado por Cantillano et al. (2012), 118,0 mg 100 g⁻¹ de fruto fresco. Estudos realizados por Costa (2009) observaram conteúdos de compostos fenólicos estimados em morango minimamente processado “Camarosa” e “Dover” cerca de 95 e 80 mg 100 g⁻¹, respectivamente, resultados próximos ao encontrado no presente trabalho para morangos “Camino Real”.

Interação significativa foi observada entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento, com ajuste de modelo quadrático para as equações referentes ao tratamento T3 e T4 e com ajuste de modelo cúbico para as equações referentes aos demais tratamentos (Figura 27).

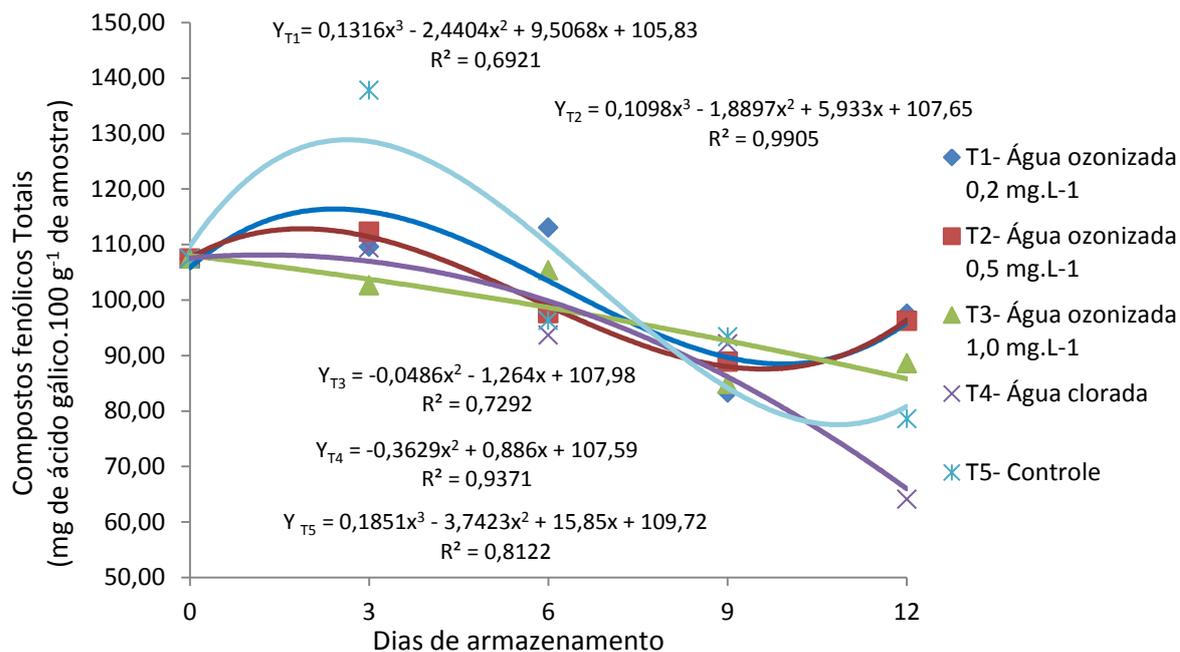


Figura 27. Compostos fenólicos Totais (mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Segundo Chitarra & Chitarra (2005), a concentração de compostos fenólicos totais está correlacionada com a capacidade antioxidante, e sua determinação pode ser utilizada para o acompanhamento de perda de qualidade do produto na fase pós-colheita. No presente estudo, pôde-se notar um decréscimo na relação aos fenóis totais ao longo do armazenamento, embora pequenas oscilações tenham ocorrido. Resultados semelhantes foram encontrados por Allende et al. (2007), que verificaram um decréscimo nos valores de compostos fenólicos totais, durante 12 dias de armazenamento a 2 °C em morangos submetidos a diferentes tratamentos pós-colheita, dentre eles, ozonização gasosa e UV-C, contudo os resultados apresentados não foram diferentes em relação as amostras controle. O declínio no conteúdo de fenólicos totais, durante a maturação, pode ser devido à oxidação desses compostos pela ação da enzima polifenoloxidase (SHWARTZ et al., 2009).

Resultados divergentes, provenientes do estudo com O₃, foram encontrado por Yeoh et al. (2014). Segundo os autores, após a exposição de mamão minimamente processado ao ozônio gasoso (9.2 ± 0.2 µl/L) durante 10 ou 20 min, o conteúdo de fenólicos totais aumentou significativamente em 8,3% e 10,3%, respectivamente. Entretanto, ao expor a amostra por 30 min houve uma redução total dos compostos fenólicos de 1,2%.

De acordo com An et al. (2007) o aumento do conteúdo de fenólicos totais em frutas tratadas com O₃ pode ser devido à ativação da FAL, segundo o autor, esta enzima pode ser estimulada por stress abióticos, além do “ferimento” causado pelo corte. Estudos têm sugerido que a hiper-reatividade do O₃ pode contribuir para a inibição de várias enzimas, tais como polifenoloxidase (POP) e peroxidase (POD), visto que estas, muitas vezes, provocam a oxidação de compostos fenólicos em frutas e vegetais quando cortados (YEOH et al., 2014). A inibição da atividade da POP e POD foram detectadas por Chauhan et al. (2011) em cenoura minimamente processadas quando sanitizadas com O₃ aquoso e armazenadas em atmosfera controlada.

A diminuição do conteúdo de fenólicos totais com o tempo de exposição ao O₃ prolongado, pode ser devido à auto decomposição do O₃, o que leva à produção de radicais livres. Desta forma, devido à capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é possível iniciar as suas funções protetoras de eliminação de radicais livres ou reagir diretamente com O₃ e, portanto, resulta na diminuição do conteúdo de polifenóis nas amostras (ALOTHMAN et al., 2010). Contudo, no presente trabalho não podemos associar a degradação de compostos fenólicos a ozonização, visto que esta tendência foi verificada em todos os tratamentos.

4.12 Atividade Enzimática

- Fenilalanina amônia liase (FAL)

A atividade da fenilalanina amônia liase (FAL) apresentou um leve aumento até a final do armazenamento (5,75 a 6,18 UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca) e foi influenciada apenas pelo fator tempo, não tendo sido afetada pelos tratamentos aplicados, não houve diferença significativa entre tratamentos, seja isolado ou interativamente. O fator tempo se mostrou significativo, com uma curva com ajuste de modelo cúbico, com uma tendência de aumento da atividade da FAL a partir do 6º dia após tratamentos (Figura 28).

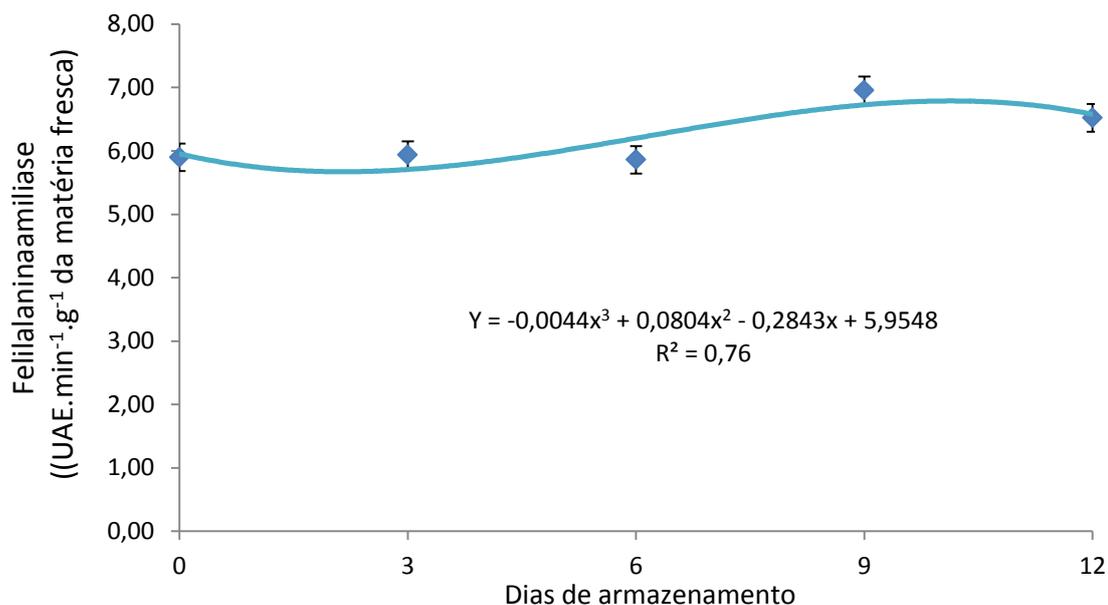


Figura 28. Médias gerais dos valores de Fenilalaninaamiliase (UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Os compostos fenólicos de vegetais são biossintetizados de várias maneiras; nas plantas superiores a maioria dos fenóis é derivada, pelo menos em parte, da fenilalanina, o que indica que o teor de fenólicos aumenta de acordo com a FAL (JAMES et al., 2010; BRAGA, 2012), porém tal afirmativa não foi constatada no presente trabalho, pois a medida em que a atividade da FAL aumentou, os compostos fenólicos totais tenderam a diminuir sua concentração. Este fato provavelmente está associado a atividade da enzima polifenoloxidase,

que utilizam os compostos fenólicos como substrato, na presença de oxigênio, levando a um possível escurecimento. O aumento da atividade da FAL e a diminuição de compostos fenólicos também foi observado por Braga, (2012) em morangos tratados com óleos essenciais.

A indução da resposta de defesa no fruto ocorre pela geração de radicais livres no fruto que, por sua vez, induz o metabolismo secundário pela ativação da FAL (SAUTTER et al., 2011). Desta forma, a infecção por fungos pode ter induzido o mecanismo de defesa, consequentemente, estimular a síntese de FAL.

- Polifenoloxidase (PPO)

Verificou-se que em relação à atividade da PPO, não houve diferença significativa entre os tratamentos, assim como não houve interação significativa entre tratamentos X dias de armazenamento, mas, o fator tempo se mostrou significativo, com uma curva com ajuste de modelo cúbico. Quanto à atividade enzimática, a PPO diminuiu desde o primeiro até o 12º dia, variando de 37,99 a 27,98 UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca ao longo do armazenamento, provavelmente devido ao menor acesso de oxigênio no interior da embalagem, limitando a atividade da enzima (Figura 29).

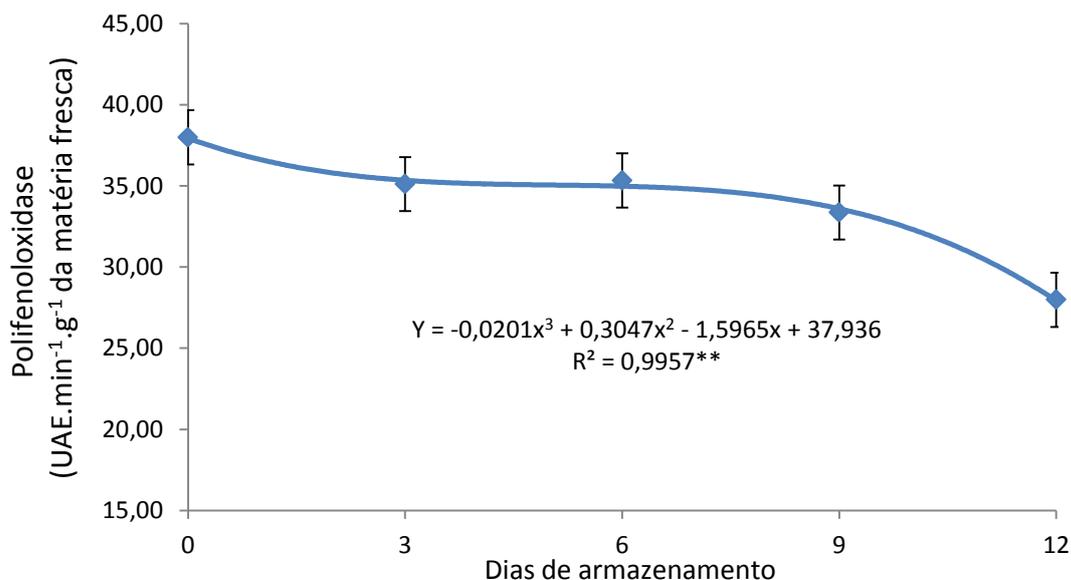


Figura 29. Médias gerais dos valores de Polifenoloxidase (UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Uma baixa taxa de atividade enzimática em produtos minimamente processados implica em menor potencial de deterioração das características sensoriais do tecido, não afetando atributos de qualidade (cor e firmeza) e prolongando sua vida útil (COSTA, 2009). Fatos estes que foram notados no presente estudo.

- Peroxidase (POD)

Não houve diferença significativa entre os tratamentos, assim como não houve interação significativa entre tratamentos X dias de armazenamento, mas, o fator tempo se mostrou significativo, com uma curva com ajuste de modelo cúbico. A atividade POD apresentou variações ao longo do armazenamento, o maior incremento ocorreu do primeiro para o terceiro dia, quando a atividade aumentou de 14,54 a 16,08 UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca com posterior decréscimo, voltando a aumentar no final do armazenamento (14,25 UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca) (Figura 30).

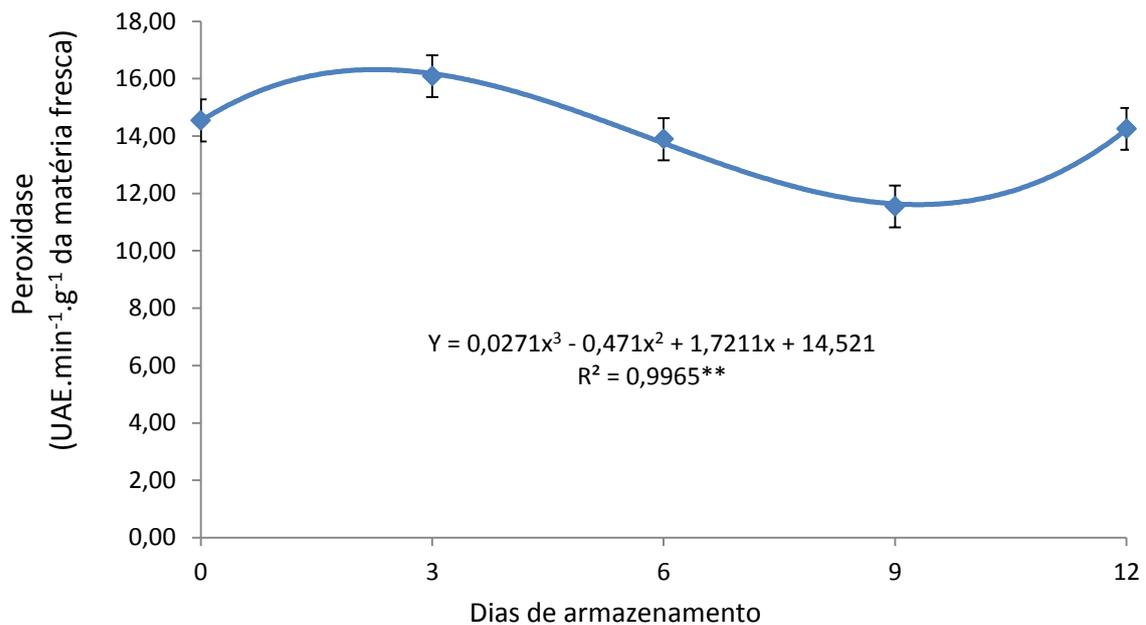


Figura 30. Médias gerais dos valores de Peroxidase (UAE.min⁻¹.g⁻¹ da matéria fresca) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

O maior incremento da atividade da POD no 3º dia de armazenamento, provavelmente ocorreu devido à resposta ao corte realizado no preparo dos morangos minimamente processados. A consequente morte do tecido ao redor do local onde foi realizado o corte, as células vizinhas podem ter sido capazes de responder ao dano, o que resultou no aumento da atividade de peroxidases para o reparo do tecido lesionado. O aumento da atividade no 12º dia de armazenamento pode ser atribuído ao amadurecimento distinto e individual de cada fruto.

Em síntese, os resultados obtidos sugerem que a manutenção da integridade celular nos frutos se reflete numa menor atividade das enzimas oxidativas (peroxidase e polifenoloxidase), resultando em menor índice de escurecimento, o que pode ser, em parte, atribuído à menor possibilidade de contato das enzimas com substratos e menor disponibilidade de fenólicos.

4.13 Atividade respiratória

A atividade metabólica mais elevada do produto manifesta-se por um aumento da taxa de respiração. Assim, a relação direta entre o taxa de respiração e a taxa de deterioração do produto sujeito aos tratamentos foi avaliada. A média geral dos valores de produção de CO₂

variou de 42,39 a 106,16 mg.kg.h⁻¹ do início até o final do armazenamento. Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à concentração de CO₂, assim como não houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento. Para o fator tempo, houve ajuste de modelo quadrático para a concentração de CO₂ liberado pelos frutos, com tendência a um aumento após o 4º dia de armazenamento independente dos tratamentos (Figura 31). Esta tendência crescente da taxa de respiração deve-se ao fato do processamento mínimo realizado nos frutos. Resultados semelhantes foram encontrados por Allende et al. (2007), os autores não verificaram diferença, em relação a intensidade da atividade respiratória, entre morangos submetidos a diferentes doses de ozônio gasoso durante os 6 dias de armazenados a 2 °C, quando comparado com a fruta não tratada.

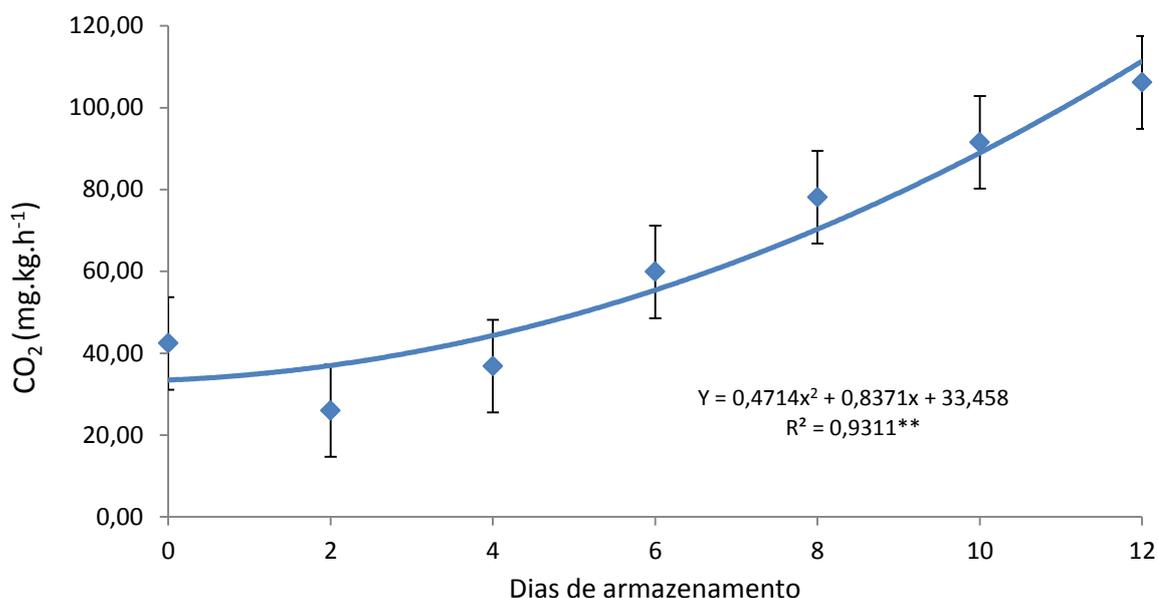


Figura 31. Médias gerais da produção de CO₂ (mg.kg.h⁻¹) de morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

A respiração é um processo metabólico que fornece energia para os processos bioquímicos das plantas e a taxa respiratória dos produtos frescos pode ser expressa como a taxa de consumo de O₂ e/ou taxa de produção de CO₂. O morango apresenta padrão de respiração não-climatérico. De acordo com este modelo de respiração, ocorre uma diminuição gradual na respiração e não há produção de etileno endógeno, não ocorrendo amadurecimento e alterações das características sensoriais após a colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Contudo, quando tecidos vegetais são naturalmente ou artificialmente danificados, a atividade respiratória aumenta, desta forma, diversos estudos revelaram que o corte durante a preparação provoca um aumento da taxa de respiração 3 a 5 vezes maior do que o produto que lhe deu origem tornando os minimamente processados muito perecíveis (VASCONCELOS, 2005; VICENZI, 2014). Além do processamento, segundo Aday & Caner, (2014), a respiração também pode ser afetada por tratamentos pós-colheita, como a ozonização, Cloração e ultra-som.

A intensidade respiratória constitui um bom indicador da atividade fisiológica do hortofrutícola (MARTINS et al., 2000). Segundo Barry-Ryan et al. (2001) os produtos

hortícolas podem ser classificados segundo a sua taxa respiratória em 5 classes: baixa, média, alta, muito alta e extremamente alta, sendo o morango classificado com Taxa de respiração alta (produção de 20-40 CO₂ ml Kg⁻¹ h⁻¹). Costa et al. (2011) verificaram um aumento na respiração dos morangos quando estes foram submetidos ao processamento mínimo em relação aos frutos inteiros não processados.

Aday & Caner, (2014) analisaram a modificação da atmosfera dentro da embalagem pela respiração do fruto, segundo os autores, morangos tratado com ultra-som mais ozônio (O₃) e dióxido de cloro (ClO₂), apresentaram acúmulo de CO₂ nos pacotes mais lentamente do que os tratamentos individuais com O₃ e ClO₂ e o grupo controle, verificando que os tratamentos combinados de ultra-som com sanitizantes químicos abrandou a taxa de respiração de morangos quando comparado com os tratamentos individuais (O₃ e ClO₂), os autores também verificaram que não houve diferença destes tratamentos com o grupo controle.

4.14 Análises microbiológicas

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 10, não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas e a contagem de coliformes termotolerantes ficou abaixo do limite de detecção. Estes resultados atendem à Legislação Brasileira, ANVISA - Resolução RDC N^o12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Para produtos minimamente processados ainda não existem padrões específicos. Assim, adotam-se padrões estabelecidos para o grupo de alimentos designados como: "frutas frescas, in natura, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto". A tolerância máxima para esse tipo de produto é de 5 x 10² NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de coliformes a 45 °C e ausência de *Salmonella* sp. em 25g. Portanto, os resultados microbiológicos obtidos neste trabalho apresentaram valores inferiores aos citados na legislação, caracterizando-os como um produto seguro para o consumo alimentar.

Em relação a análise de *Staphylococcus coagulase*, foi observada a presença desta bactéria apenas nos frutos que compõem o tratamento com água clorada, no dia do processamento (Tempo 0) (Tabela 10), este fato provavelmente ocorreu devido a problemas de falta de higiene do manipulador, durante o processamento, após a sanitização do fruto, desta forma, não podemos atribuir um efeito negativo a cloração. Embora no processamento mínimo de frutos ocorra intensa manipulação, nos demais dias de análise e nos demais tratamentos não foi observada a presença de *Staphylococcus coagulase*, nas amostras analisadas. Provavelmente, as condições intrínsecas dos frutos e as condições higiênico-sanitárias adotadas não favoreceram o estabelecimento dessas bactérias.

No entanto, quanto à contagem de fungos filamentosos e leveduras verifica-se que os tratamentos com água ozonizada a 0,5, 1,0 mg.L⁻¹ e água clorada foram importantes para inibir seu crescimento até o último dia de armazenamento (Tabela 10). Não há padrões específicos para fungos filamentosos e leveduras, mas, segundo Rosa (2002), recomendações são feitas para que os produtos vegetais apresentem índices <10² desses microrganismos. Nesse contexto, todas as amostras de morango minimamente processados avaliados excederam o limite de <10² para fungos filamentosos e leveduras. Contudo, as amostras controle e *in natura* apresentaram maiores contagens no 14^o dia (3,7 x 10⁵ e 2,4 x 10⁵ UFC/g respectivamente). Segundo Reis et al. (2008) a presença de fungos em número elevado é indesejável, quanto à qualidade microbiológica, porque são capazes de produzir grandes variedades de enzimas, que provocam a deterioração de frutos. Além disso, muitos bolores podem produzir metabólicos tóxicos quando estão se desenvolvendo nos alimentos.

Tabela 10. Análises microbiológicas de *Salmonella* sp., Coliformes a 45° C (NMP/g), *Staphylococcus* Coagulase Positiva (UFC/g) e Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras (UFC/g) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização

Tratamentos	Tempo (dias)	<i>Salmonella</i> sp. (ausência em 25g)	Coliformes a 45° C (NMP/g)	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva* (UFC/g)	Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras (UFC/g)
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	0	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	3,4 x 10 ⁴
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	>1,5 x 10 ⁶ estimado
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	2,9 x 10 ⁴
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	0	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	8,5 x 10 ³
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	2,4 x 10 ⁴
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	1,2 x 10 ⁴
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	0	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	3,4 x 10 ⁴
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	8,4 x 10 ³
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	2,9 x 10 ⁴
Água clorada	0	Ausência	<3	2,6 x 10 ³	2,1 x 10 ³
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	1,0 x 10 ⁴
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	3,9 x 10 ⁴
Controle	0	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	1,9 x 10 ⁴
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	7,0 x 10 ⁴ estimado
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	3,7 x 10 ⁵
<i>In natura</i>	0	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	9,2 x 10 ⁴
	7	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	4,5 x 10 ⁵
	14	Ausência	<3	<1,0 x 10 ¹ estimado	2,4 x 10 ⁵

Os limites estabelecidos são: * entre 25 e 250 UFC/g

Durante a elaboração de frutos minimamente processados, a superfície do alimento, a água, os equipamentos, os utensílios, as embalagens e o manipulador podem ser fontes de contaminação. Caso houvesse o isolamento de bactérias do grupo coliformes e *Salmonella* sp seria um indicativo de que as condições de armazenamento não foram eficientes (PINHEIRO et al., 2005). Conforme ICMSF (1996), o crescimento da maioria das espécies de *Salmonella* é impedido à temperatura < 5 °C e, segundo Jay (1996), os coliformes em alimentos se desenvolvem muito lentamente em temperaturas < 5 °C, embora haja registro de crescimento em temperaturas de 3-6 °C.

Resultados semelhantes foram encontrado por Reis et al. (2008), ao estudarem o efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morangos minimamente processados, houve ausência de *Salmonella* sp. e coliformes em todos os tratamentos, inclusive o controle. Os autores atribuem esse fato aos cuidados higiênico-sanitários, tomados durante o processamento do produto, os quais são de fundamental importância e podem contribuir para que o mesmo apresente baixa contagem microbiana.

Karaca et al. (2014) avaliaram o efeito do ozônio aquoso (12 mg L⁻¹), ozônio gasoso (950 L L⁻¹) e cloração (100 mg L⁻¹) por 20 min., em alface, espinafre e salsa minimamente processadas, com objetivo de determinar a inativação de *E. coli* e *L. monocytogenes*. Os resultados deste estudo indicaram que os tratamentos com agentes sanitizantes (cloro e ozônio) resultaram em maior redução microbiana em comparação com o tratamento de água

destilada. Entretanto, as maiores reduções foram observadas após tratamentos de água clorada.

Ölmez (2010) comparou dois métodos de ozonização aquosa para a redução da população de *E. coli* na alface inoculadas artificialmente. O autor relatou uma redução de cerca de 2 log UFC g⁻¹ quando a ozonização foi realizada com borbulhagem contínua do O₃ na água, enquanto apenas 1 log UFC g⁻¹ de redução foi obtido por meio de imersão em água pré ozonizada durante 2 min. Este fato evidencia a utilização do ozônio aquoso, solubilizado em água de forma contínua, como utilizado no presente trabalho. Alexopoulos et al. (2013) também observaram a eficiência da ozonização contínua de O₃ na sanitização de alface (*Lactuca sativa*) e pimentão (*Capsicum annuum*) minimamente processados.

Esses achados têm sido atribuídos à sensibilidade inerente de cada microrganismo que é um dos principais parâmetros que regem a eficácia do O₃ (CULLEN et al., 2010). A eficácia antimicrobiana do O₃ também depende de fatores associado com a sua solubilidade, estabilidade e decomposição (FREITAS-SILVA et al., 2013b).

4.15 Incidência de patógenos

Para esta avaliação, considerou-se, apenas as doenças causadas por fungos durante os 10 dias de armazenamento. Nos dias 0 e 2 após os tratamentos, não foram observadas lesões nos frutos. Como verificado na Tabela 11, os frutos submetidos aos diferentes tratamentos apresentaram diferenças significativas quanto à incidência de patógenos. As sanitizações com ozônio aquoso em todas as concentrações estudadas (0,2; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) foram eficazes em retardar o crescimento visível de fungos nos frutos armazenados até o 8º dia, apresentando % de incidência de patógenos significativamente menores em relação ao controle (25, 25, 15,6 e 46,87% respectivamente). Entretanto, pode-se notar que a sanitizações dos morangos minimamente processados realizadas foram eficientes em retardar o aparecimento de fungos até o 4º dia de armazenamento, apesar de estatisticamente não haver diferença significativa, no 4º dia, apenas o tratamento controle apresentou incidência de doenças (3,1%). Este experimento teve duração até o 10º dia de armazenamento, onde os frutos atingiram 100% de incidência de patógenos, possivelmente devido à manipulação excessiva dos frutos ao longo do período experimental.

Tabela 11. Incidência de patógeno (I%) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

Tratamentos	Dias após tratamentos					
	0	2	4	6	8	10
Água ozonizada 0,2 mg.L ⁻¹	0,0 a	0,0 a	0,0 a	6,3 a	25 ab	100,0 a
Água ozonizada 0,5 mg.L ⁻¹	0,0 a	0,0 a	0,0 a	6,3 a	25 ab	100,0 a
Água ozonizada 1,0 mg.L ⁻¹	0,0 a	0,0 a	0,0 a	6,3 a	15,6 a	100,0 a
Água clorada	0,0 a	0,0 a	0,0 a	12,5 ab	31,2 b	100,0 a
Controle	0,0 a	0,0 a	3,1 a	18,7 b	46,87 c	100,0 a

*Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

A ação do O₃ no controle do crescimento da lesão causada pelo fungo pode ter ocorrido pelo efeito direto do O₃ no fungo, inativando os microrganismos pela reação desse com enzimas intracelulares, ácidos nucléicos e lipídios insaturados do fungo (KHADRE et al., 2001)

Na literatura há muitos trabalhos que reportam o efeito do O₃ no controle de doenças pós-colheita. A redução de *Botrytis cinerea* em morangos após sanitização com ozônio aquoso foi reportada por Aday & Caner (2014); Costa et al. (2011) também relataram a redução do crescimento micelial de *B. cinerea* em morangos após tratamento com ozônio aquoso (1,5 µL L⁻¹ de O₃) armazenados a 2°C por 3 dias e posteriormente mantido a 20 °C. Sautter et al. (2011) verificaram o controle do aumento da lesão em pêssegos causado por *Monilinia fructícola*, após a aplicação de ozônio gasoso (0,03 µL L⁻¹ de O₃) durante a estocagem dos frutos por 30 dias.

A redução de *Colletotrichum musae* em bananas cv Nanicão foi demonstrada em experimentos feitos por Alencar et al. (2013), onde o tratamento com ozônio aquoso foi mais eficiente que o gasoso, não só na redução do fungo, como na preservação das características pós-colheita e sensoriais dos frutos analisados. Alexandre et al (2012) constataram que as lavagens com água ozonizada combinados com tratamentos de branqueamento tiveram efeito antagônico contra microorganismos em pimentão vermelho, morangos e agrião.

Houve interação significativa entre os fatores tratamentos X dias de armazenamento, apresentando aumento crescente no número de frutos contaminados até o final do período experimental (Figura 32). No decorrer do armazenamento pode-se notar uma tendência crescente de incidência de patógenos, porém os tratamentos com água ozonizada a 0,2; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹ apresentaram menores valores em relação a este parâmetro, diferente do controle. Os microrganismos isolados foram identificados em lâminas quanto ao gênero pelas características microscópicas das colônias. Os principais fungos identificados, responsáveis por causarem podridões pós-colheita em morango foram: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rizopus* e *Botritis*.

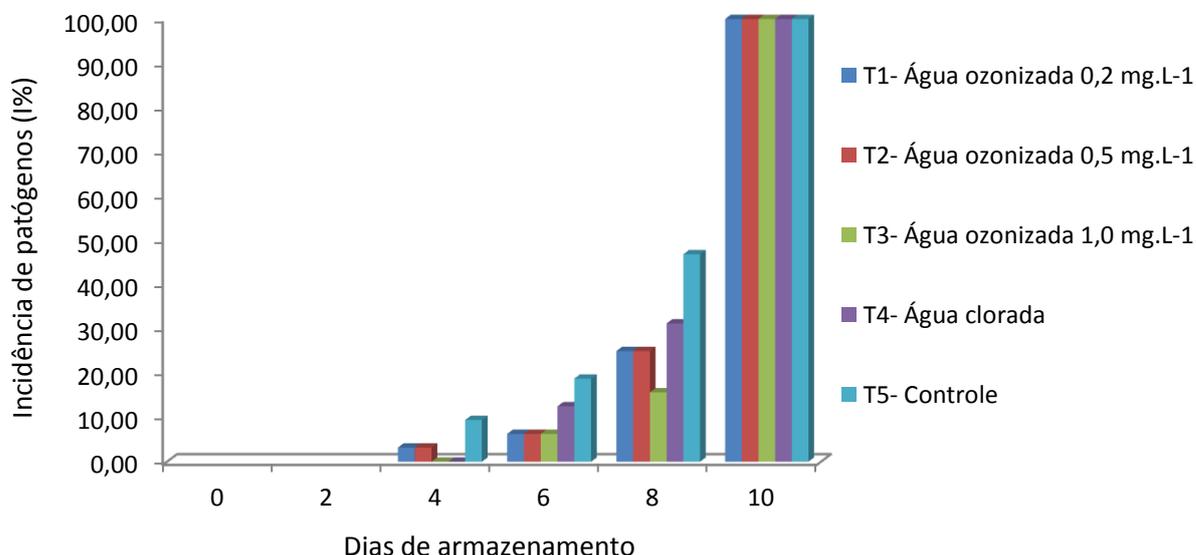


Figura 32. Valores de Incidência de patógenos (%) em morangos minimamente processados, submetidos a diferentes métodos de sanitização e armazenados por 12 dias em câmara a 5 °C e 90% UR

5 CONCLUSÃO

As avaliações físicas, físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas foram suficientes para demonstrar a qualidade de morangos minimamente processados, cv. Camino Real durante o armazenamento refrigerado a 5° C e UR 90%.

Todas as sanitizações estudadas foram eficientes em manter os parâmetros de qualidade de morangos minimamente processados cv. Camino Real. Desta forma, no presente trabalho, podemos notar que frutos oriundos dos diferentes tratamentos com ozônio aquoso nas condições estudadas não apresentaram diferenças em relação a qualidade, quando comparada a cloração.

Os resultados deste estudo sugerem que existe um limiar em relação à dose de O₃ e tempo de exposição, ou seja, em elevada concentração ou a exposição prolongada, a qualidade nutricional de frutos e hortaliças pode ser reduzida. Desta forma, as concentrações utilizadas e o tempo de exposição aos tratamentos, não ocasionaram perdas sob qualidade do produto. Isso reforça a ideia de que o processamento mínimo de morango associado à ozonização pode ser uma alternativa potencial, sem haver perdas drásticas na qualidade nutricional.

Nas condições deste estudo, o tratamento com ozonização aquosa em morangos minimamente processados foram eficientes em reduzir a % de incidência de patógenos até o 8° dia de armazenamento refrigerado, e pode ser adotado em substituição à lavagem em água e a sanitização com solução de clorado orgânico. A redução no tempo de sanitização proporcionada pela ozonização aquosa se torna um atrativo para as indústrias que buscam otimizar o tempo na linha de produção, tendo em vista maior produtividade.

As soluções com maiores concentrações estudadas (0,5 e 1,0 mg L⁻¹) foram eficientes em reduzir a Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras até 14° dias de armazenamento. A contaminação por *Salmonella* sp. e coliformes termotolerantes não foram observadas nesse estudo. Quanto à *E. coli*, todos os tratamentos aplicados mostraram-se igualmente eficientes, não havendo crescimento populacional expressivo. Tais resultados evidenciam que as boas práticas de fabricação (BPF) adotadas no processamento contribuem para a prevenção da contaminação e do crescimento microbiano em produtos minimamente processados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, K.; SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E. Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4032-404, 2005.

ABADIAS, M.; USALL, J.; ANGUERA, M.; SOLSONA, C. VIÑAS, I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal Food Microbiol**, v. 123, n. 1-2, p. 121-129, 2008.

ADAY M., S.; TEMIZKAN, R.; BÜYÜKCAN, M. B.; CANER, C. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. **Food Science and Technology**, v. 52, p. 93-101, 2013.

ADAY, M.S.; CANER, C. Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life. **Food Science and Technology**, v. 57, p. 344-351, 2014.

AGUAYO, E.; ESCALONA, V. H.; SILVEIRA, A. C.; ARTE'S, F. Quality of tomato slices disinfected with ozonated water. **Food Science and Technology International**, v. 0, p. 1-9, 2013.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D. A.; PINTO, M. S.; COSTA, A. R.; SILVA, T. A. Postharvest quality of ozonized “nanição” cv. Bananas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 107-114, 2013.

ALEXANDRE, E. M. C.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Efficacy of nonthermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. **Journal Food Engineering**, v. 108, p. 417-426, 2012.

ALEXOPOULOS, A.; PLESSAS, S.; CECIU, S.; LAZAR, V.; MANTZOURANI, I. VOIDAROU, C.; STAVROPOULOU, E.; BEZIRTZOGLU, E. Evaluation of ozone efficacy on the reduction of microbial population of fresh cut lettuce (*Lactuca sativa*) and green bell pepper (*Capsicum annuum*), **Food Control**, v. 30, p. 491-496, 2013.

ALLENDE, A.; MARIN, A.; BUENDIA, B.; TOMAS-BARBERAN, F.; GIL, M.I. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p. 201-211, 2007.

ALMEIDA, E.; ASSALIN, M. R.; ROSA, M. A. Tratamento de Efluentes Industriais por Processos Oxidativos. *Química Nova*, v. 27, p. 818-824, 2004.

ALOTHMAN, M.; KAUR, B.; FAZILAH, A.; BHAT, R.; KARIM. A.A. Ozoned induced changes of antioxidant of fresh-cut tropical fruits. *Innov. Food Science Emerg. Technology*, v. 11, p. 666-671, 2010.

AN, J.; ZHANG, M.; LU, Q. Changes in some quality indexes in fresh-cut green asparagus pretreated with aqueous ozone and subsequent modified atmosphere packaging. **Journal of Food Engineering**, v.78, n.1, p. 340–344, 2007.

ANTONIOLLI, L. R.; SILVA, G. A. da; ALVES, S. A. M.; MORO L. Controle alternativo de podridões pós-colheita de framboesas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 46, p. 979-984, 2011.

ANTUNES, L. E. C.; VIGNOLO, G. K.; GONÇALVES, M. A. **Morango: Novas tecnologias incrementam setor**. Anuário HF 2013, Uberlândia, p. 56-58, 2013.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do sul: Editora gazeta, Santa Cruz, 2014. 140p. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/editora/anuarios/show/4333.html>. Acesso em: 05 de fev. de 2015.

ÁVILA, J. M. M.; TORALLES, R. P.; CANTILLANO, R. F. F.; PERALBA, M. C. R.; PIZZOLATO, T. M. Influência do sistema de produção e do armazenamento refrigerado nas características físico-químicas e no desenvolvimento de compostos voláteis em morangos. **Ciencia Rural**, Santa Maria, [Online] v. 42, n. 12, Dec. 2012 Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782012001200026&lng=en&nrm=iso Acesso em: 25 de agosto de 2014.

BAKKER, J.; BRIDLE, P.; BELLOWORTHY, S. J. Strawberry juice color: a study of the quantitative and qualitative pigment composition os juice from 39 genotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 64, p. 31-37, 1994.

BARRY-RYAN, C.; O'BEIRNE, D. Minimal processing of fruits and vegetables. In: DRIS, R.; NISKANEN, R.; JAIN, S., editores. Crop Management and postharvest handling of horticultural products, [sine loco]; 2001. v. 1, p. 346-358

BASSANI, L. **Desinfecção de efluente sanitário por ozônio: parâmetros operacionais e avaliação econômica**. 2003. 95p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; MOURA-GUEDES, M. C.; FERREIRA-PINTO, M. M.; EMPIS, J. & MOLDÃO-MARTINS, M. Alternative sanitizing methods to ensure safety and quality of fresh-cut kiwifruit. **Journal of food processing and preservation**, v. 38, p. 1-10, 2014.

BERNO, N. D. **Processamento mínimo de cebola roxa: aspectos bioquímicos, fisiológicos e microbiológicos**. 2013. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tcnologia de Alimentos) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

BOLIN, H. R.; STAFFORD, A, E.; KING, Jr. A. D.; HUXSOLL, C. C. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. **Journal of food Science**, v. 42, n. 5, p.1319-1321, 1977.

BORDIGNON JÚNIOR. C.L. **Análise química de cultivares de morango em diferentes sistemas de cultivo e épocas de colheita**. 2008. 132p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade de Passo Fundo, Passo fundo, RS, 2008.

BOWER, C. Postharvest handling, storage, and treatment of fresh market berries. *apud*: ZHAO, Y. Berry fruit: value-added products for health promotion. **Boca Raton**: CRC, p.262-288, 2007.

BRAGA, D. O. **Qualidade pós-colheita de morangos orgânicos tratados com óleos essenciais na pré-colheita**. 2012, 74p. Dissertação (Mestrado em ciências dos alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2001a. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: ANVISA, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: Ago, 2014.

CALEGARO, J.M.; PEZZI, E.; BENDER, R.J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.1049-1055, 2002.

CAMPOS, A.D.; SILVEIRA, E.M. da L. **Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 3p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 87).

CANTILLANO, R. F. F. CASTAÑEDA L. M. F.; TREPTOW, R. O.; SCHUNEMANN, A. P. P. **Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008, 29p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de desenvolvimento, 75).

CANTILLANO, R. F. F.; ÁVILA, J. M. M.; PERALBA, M. C. R.; PIZZOLATO, T. M.; TORALLES, R. P. Antioxidant activity, phenolic compounds and ascorbic acid content in strawberries from two crop production systems. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 620-626, 2012.

CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPÍN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3015-3023, 2002.

CARVALHO A. V.; LIMA L. C. O. Qualidade de kiwis minimamente processados e submetidos a tratamento com ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.5, p: 679-690, 2002.

CENCI, S. A.; **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: Tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Embrapa Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro, RJ. 144p. 2011.

CENCI, S. A.; SILVA, O. F.; VAZ, S. G.; ROCHA, G.O.; REGIS, S.A.; CUNHA, F.Q. **Etapas do processamento mínimo do morango**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de alimentos, 2008. (Comunicado Técnico, 110).

CHAVES, V. C. **Teor de antocianinas, compostos fenólicos e capacidade de captação de radicais livres de frutos de cultivares de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.)**.

2014. 91p. Dissertação (Mestrado em farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Application of ozone in industry of food. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p.341-349, 2008.

CHITARRA, A. B. **Armazenamento de frutos e hortaliças por refrigeração**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 20 p. Texto acadêmico manutenção e qualidade.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.

CHAUHAN, O. P.; RAJU, P. S.; RAVI, N.; SINGH, A.; BAWA, A.S. Effectiveness of ozone in combination with controlled atmosphere on quality characteristics including lignification of carrot sticks. **Journal of Food Engineering**, v.102, n.1, p.43–48, 2011.

COPETTI, C.; BORGES, G. S.; BARCELOS-OLIVEIRA, J. L.; GONZAGA, L. V.; FETT, R.; BERTOLDI, F. C. Antioxidant activity and productivity of different strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) produced in a hydroponic system. **Acta Horticulturae**, v. 947, p. 369-374, 2012.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; GENOVESE, M. I; LAJOLO, F. M. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 163-173, 2002.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. Physicochemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. **Food Chemistry**, v. 83, p. 167-173. 2003.

COSTA, F. B. **Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados**. 2009. 114p. Dissertação (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.

COSTA, F. B.; DUARTE, P. S.; PUSCHMANN, R.; FINGER, F. L. Quality of fresh-cut strawberry. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p.477-84, 2011.

COSTA, P. C.& FILHO, H. G. Cultivo hidropônico do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 65-68, 1999.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. 2 ed New York: The New York Botanical Garden, 1988. 5p

CULLEN, P. J., VALDRAMIDIS, B. K., TIWARI, B. K., PATIL, S., BOURKE, P., & O'DONNELL, C. P. Ozone processing for food preservation: an overview on fruit juice treatments. **Ozone: Science & Technology**, v. 32, p. 166-179, 2010.

CUNHA L. C.; JACOMINO, A.P.; OGASSAVARA, F. O.; TREVISAN, M. J; PARISI, M. C. M. Armazenamento refrigerado de morango submetido a altas concentrações de CO₂. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p 688-694, 2012 .

DA SILVA, F. L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; PÉREZ ALONSO, J. J.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. **LWT, Food Science and Technology**, v. 40, p. 374-382, 2007.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. Métodos e técnicas de tratamento de água. 2.ed. São Carlos: RiMa, 2005. 1565p.

DIAS, M.S.C. Doenças do morangueiro. **Informe Agropecuário**, v.20, p.69-74. 1999.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L. E. C.; ROUDEILLAC, P. Le Brésil ramène as fraise. *Culture Légumière*, Paris, n. 62, p. 20-26, 2001.

DUARTE FILHO, J.; CUNHA, R. J. P.; ALVARENGA, D. A.; PEREIRA, G. E.; ANTUNES, L. E. C. Aspectos do florescimento e técnicas empregadas objetivando a produção precoce em morangueiro. **Informe Agropecuário**, v. 20, p. 30-35, 1999.

DUNDFORD, H. B.; STILLMAN, J. S. Function and mechanism of action of peroxidases. **Coordination of Chemistry Reviews**, v. 19, p. 187-251, 1976.

FAN, X. **Maturity and Storage of Fuji Apples**. 1992. Dissertação (Master of Science in Horticulture) Washington State University, 1992.

FANTUZZI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 207-211, 2004.

FAO. Food and Agriculture Organization of The United Nations. FAOSTAT database, 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 13 jun. 2013.

FDA-United states food and drug administration. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption, final rule. **Federal Register**, v. 66, p. 33829-33830, 2001.

FERNANDES JÚNIOR, F.; FURLANI, P. R.; RIBEIRO, I. J. A.; CARVALHO, C. R. L. Produção de frutos e estolhos do morangueiro em diferentes sistemas de cultivo em ambiente protegido. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 1, p.25-34, 2002.

FERNANDES, R. G. **Sanitizantes alternativos na qualidade microbiológica, física e química de morangos (Fragaria x Ananassa Duch) minimamente processados**. 2013. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

FONSECA, M.J.O.; LEAL, N.R.; CENCI, S.A.; CECON, P.R.; BRESSAN-SMITH, R.E.; SOARES, A.G. Emissão de etileno e de CO₂ em mamão ‘Sunrise solo’ e ‘Golden’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 322-324, 2006.

FORNEY, C. F.; SONG, J.; HILDEBRAND, P. D.; FAN, L.; MCRAE, K. B. Interactive effects of ozone and 1-methylcyclopropene on decay resistance and quality of stored carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, p. 341-348, 2007.

FREITAS-SILVA, O ; SOUZA, A. M. ; OLIVEIRA, E. M. M. **Potencial da ozonização no controle de fitopatógenos em pós-colheita**. In: Wilmar Corio da Luz. (Org.). Revisão Anual

de Patologia de Plantas. 1ed. Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, v. 21, p. 96-130. 2013^a

FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENÂNCIO, A. Potential of Aqueous Ozone to Control Aflatoxigenic Fungi in Brazil. *Nuts. ISRN Biotechnology*, v. 2013, Article ID 909830, 6 pages, doi:10.5402/2013/909830. 2013b

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. *Drug Metabolism Reviews*, v.42, p. 612–620, 2010.

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Brazil nuts: benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. *Food Research International*, vol. 44, pp. 1434-1440, 2011.

FRESHCUT: Disponível em: <http://freshcut.com/index.php/magazine/article/state-of-the-fresh-cut> Acesso em: 10 jan. 2015.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanins in cranberries. *Journal of Food Science*, v.33, p. 72-77, 1968.

GARCÍA, J. M.; MEDINA, R. J.; OLÍAS, J. M. Quality of strawberries automatically packed in different plastic films. *Journal of Food Science*, v. 63, p.1037-1041, 1998.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamina C in plant-derived product. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p.1370-1373, 2005.

GILLE, G.; SIGLER, K. Oxidative stress and living cells. *Folia microbial*, v. 40, p. 131-152, 1995.

GIORDANO, B. N. E. **Efeito do ozônio sobre a micoflora e aflatoxinas durante a armazenagem de castanha-do-brasil com casca (*Bertholletia excelsa* H. B. K.)**. 2009. 193p. Dissertação (mestrado em ciência dos alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

GLOWACZ, M.; COLGAN, R.; REES, D. Influence of continuous exposure to gaseous ozone on the quality of red bell peppers, cucumbers and zucchini. *Postharvest Biology and Technology*, v. 99, p. 1–8, 2015.

GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; FREIREJUNIOR, M.; CENCI, S. A. **Hortaliças minimamente processadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 34 p. (Coleção Agroindústria Familiar).

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. *Food Technology*, v.5 1, p. 72–75, 1997.

GUNDUZ, K.; SARACOGLU, O.; ÖZGEN, M.; SERC, S. Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) at different stages of ripeness. *Acta Scientiarum Polonorum- Hortorum Cultus*, v. 12, p. 59-66, 2013.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 37, p. 453-460, 2004.

HERNANDEZ-MUÑOZ, P.; ALMENAR, E.; DEL-VALLE, V.; VELEZ, D.; GAVARA, R. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.110, p. 428-435, 2008.

HERTOG, M. L. A. T. M.; BOERRIGTER, H. A. M.; VAN DEN BOOGAARD, G. J. P. M; et al. Predicting keeping quality of strawberries (cv. „Elsanta) packed under modified atmospheres: an integrated model approach. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, p.1-12, 1999.

HOLCROFT, D.M. & KADER, A.A. Controlled atmosphere – induced changes in pH and organic acid metabolism may effect color of stored strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, p.19-32, 1999.

HOLTZ, S. G. **Aplicação de ozônio gasoso e de revestimentos comestíveis em morangos (*Fragaria ananassa* Duch.) minimamente processados**. 2006, 73p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, 2006.

HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S. F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, v. 62, p.31-35, 1978.

ICMSF – International Commission on Microbiological. **Specifications for foods, microorganisms in foods microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackie academic & Professional, 1996. v.5. 513p.

IFPA - INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION. **Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry**. 4. Ed. Washington, DC, 2001. 213p.

INTERNATIONAL STANDAR ISO 1842:1991 (E) segunda edição. **Fruit and vegetable products**. Determination of pH, 1991.

INTERNATIONAL STANDAR ISO 750:1998 (E) segunda edição. **Fruit and vegetable products**. Determenation of titrable acidity, 1998.

INTERNATIONAL STANDARD ISO 2173:1978 (E) primeira edição. **Fruit and vegetable products** Determenation of soluble solids content – Refractometric method, 1978.

JAMES, J. B.; NGARMSAK, T. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A technical guide, 2010.

JÁNNUZZI, Hernán, ABC do Ozônio. Disponível em: <http://fgingenieria.com.ar/downloads/publicaciones/pt/el-abc-ozono.pdf>. Acesso em Agosto de 2013.

KAFKAS, E.; KOSAR, M.; PAYDAS, S.; KAFKAS, S.; BASER, K.H.C. Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1229-1236, 2007.

KARACA, H.; VELIOGLU, Y.S. Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. **Postharvest Biology and Technology**, v.88, p.46–53, 2014.

KECHINSKI, C. P.; MONTERO, C. R. S.; GUIMARÃES, P. V. R.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; BENDER, R. J. Effects of ozonized water and heat treatment on the papaya fruit epidermis. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 118-122, 2012.

KECHINSKI, C.P. **Avaliação do uso de ozônio e de outros tratamentos alternativos para a conservação do mamão papaia (Carica papaya L.)**. 2007, 125 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KHADRE, M. A, YOUSEF, A. E.; KIM J. G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 1242–1252, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection, Des Moines**, v. 62, p. 1071-1087, 1999.

KLOPOTEK, Y.; OTTO, K.; BOHM, V. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry, Los Angeles**, v.53, p.5640-5646, 2005.

KUNZ, A.; FREIRE, R.S.; ROHWEDDER, J.J.R.; DURAN, N.; MANSILLA, H. RODRIGUEZ, J. 1999. **Construção e otimização de um sistema para produção a aplicação de ozônio em escala de laboratório**. Química Nova 22: 425-428

LANGEBARTELS, C.; WOHLGEMUTH, H.; KSCHIESCHAN, S.; GRÜN, S.; SANDERMANN, H. Oxidative burst and cell death in ozone exposed plants. **Plant physiology Biochemistry**, v. 40, p. 567–575, 2002.

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

LAPOLLI, F.R.; SANTOS, L.F.; HÁSSEMER, M.E.N.; AISSE, M.M. & PIVELI, R.P. 2003. **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização**. In. GONÇALVES, R. F. (Coord.). **Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica**. Vitória: PROSAB, p. 169-208

LEE, S. K.& KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LIMA, L. C. O. Qualidade, colheita e manuseio pós-colheita de frutos de morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, p. 80-83, 1999.

LÓPEZ-SERRANO, M.; ROS-BARCELÓ, A. Peroxidase in unripe and processing ripe strawberries. **Food Chemistry**, v. 52, p. 157- 160, 1995.

LUND, D. G.; PETRINI, L. A.; ALEIXO, J. A. G.; ROMBALDI, C. V. Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. **Ciência Rural**;v. 35, n. 6, p. 1431-1435, 2005.

MARTINS, M. M.; EMPIS, J. **Processamentos mínimos: Produtos hortofrutícolas frescos ou minimamente processados**. Porto; Sociedade Portuguesa de Inovação; 99p. 2000.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.13, p. 1091-1101, 1972.

MATTIUZ, B. H.; MIGUEL, A. C. A.; NACHTIGAL, J. C.; DURIGAN, J. F.; CAMARGO, U. A. Processamento mínimo de uvas de mesa sem semente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 226-224, 2004.

MATTIUZ, B.H. **Efeitos de injúrias mecânicas e do processamento mínimo na fisiologia pós-colheita de goiabas**. 2002. 120p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MEYERS, K. J.; WATKINS, C. B.; PRITTS, M. P.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6887-6892, 2003.

MLIKOTA-GABLER, F.; SMILANICK, J. L.; MANSOUR, M. F.; KARACA, H. Influence of fumigation with high concentrations of ozone gas on postharvest gray mold and fungicide residues on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v.55, p.85-90, 2010.

MOORE, G.; GRIFFITH, C.; PETERS, A. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. **Journal of Food Protection**, v.63, p.1100-1106, 2000.

MORAES, I. V. M. de; MAMEDE, A. M. G. N.; CENCI, S. A.; SOARES, A. G.; BENEDETTI, B. C.; GODOY, R. L. de O. Influência do tempo de armazenamento e da cultivar na qualidade de morango (*Fragaria x ananassa* Duch) minimamente processado. In: Congresso brasileiro de fruticultura, 18. 2004, Florianópolis. Anais... Florianópolis: UFSC, 2004. CD-ROM.

MORAES, I. V. M.; CENCI, S. A.; BENEDETTI, B. C.; MAMEDE, A.M.G.N.; SOARES, A.G.; BARBOZA, H.T.G. Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 274-281, 2008.

MORETTI C. L, ARAÚJO, A.; L.; MAROUELLI, W. A.; SILVA, W. L. C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 497-500, 2002.

NADAS, A.; OLOMO, M.; GARCIA, J.M. Growth of *Botrytis cinerea* and Strawberry Quality in Ozone enriched Atmospheres. **Journal of Food Science: Food Microbiology and Safety**, Chicago, v.68, p.1798-1802, 2003.

NIENOW, A. A.; CALVETE, E.O.; ROCHA, H. C.; ANTUNES, O. T. **Morangueiro polinizado pela abelha jataí em ambiente protegido**. Passo Fundo: UPF, 2005, 53p.

O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; RICE, R. G. **Ozone in food processing**. 1.ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012. 298p.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 520-522, 2006.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; CASTRO, L. A. S. **Novas Cultivares de Morangueiro para a Região de Pelotas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 23 p.

OLIVEIRA, R.P.; SCIVITTARO, W. B.; FINKENAUER, D. Produção de morangueiro da cv. Camino Real em sistema de túnel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 681-684, 2008.

ÖLMEZ, H. Effect of different sanitizing methods and incubation time and temperature on inactivation of *Escherichia coli* on lettuce. **J. Food Safety**, v. 30, p. 288–299, 2010.

OZKAN, R.; SMILANICK, J. L.; KARABULUT, O. A., Toxicity of ozone gas to conidia of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea* and control of gray mold on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, p. 47–51, 2011.

PALOU, L; CRISOSTO, C. H.; SMILANICK, J. L.; ADASKAVEG, J. E.; ZOFFOLI, J. P. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p.39-48, 2002.

PELAYO, C.; EBELER, S. E.; KADER, A. A. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air + 20 KPa CO₂. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 171-183, 2003.

PÉREZ, A.G.; SANZ, C.; RÍOS, J.J.; OLÍAS, R.; OLÍAS, J.M. Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.47, p. 1652-1656, 1999.

PINELI, L. D. L. D. O.; MORETTI, C. L.; DOS SANTOS, M. S.; CAMPOS, A. B.; BRASILEIRO, A. V.; CÓRDOVA, A. C.; CHIARELLO, M. D. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 11-16, 2011.

PINHEIRO, N. M. S.; FIGUEIREDO, E. A. T.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, p. 153-156, 2005.

REIS, K.C.; SIQUEIRA, H.H.; ALVES, A.P.; SILVA, J.D.; LIMA, L.C.O. Efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morango cv. Oso Grande. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.32, p. 196-202, 2008.

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**, v. 73, p. 44-47, 1981.

RODONI, L.; CASADEI, N.; CONCELLÓN, A.; ALICIA ARC & VICENTE AR Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. **Journal of agricultural food chemistry**, v.58, p.594-599, 2010.

RODRIGUES, A. A. C.; BEZERRA, N, E.; COELHO, R. S. B. indução de resistência a *Fuzarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492-499, 2006.

RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro**. Curitiba: EMATER-PR, 1998. p. 183-202.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R. S.; MATTA, V. M.; FREIRE, C. A. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos** [ONLINE], v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n4/25.pdf>> Acesso em: 06 de jul 2014.

ROSA, O. O. **Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados em supermercados**. 2002. 202p. Tese. (Doutorado em Ciências dos Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

ROZADO, A. F.; FARONI, L. R. A.; URRUCHI, W. M. I.; GUEDES, R. N. C.; PAES, J. L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p.282-285, 2008.

ROZADO, A.F. **Distribuição do gás ozônio em milho armazenado em silo metálico usando sistema de aeração**. 2013, 75p. Tese (Doutorado em Engenharia agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. 3. ed. Oxford: **Blackwell Science**, 1999. 826p.

SALVADOR, A.; ABAD I; ARNAL L & MARTINEZ-JAVEGA J.M. Effect of ozone on postharvest quality of persimmon. **Journal of food science**, v. 71, p.443-446, 2006.

SANHUEZA, R.M.V. **Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do nordeste**. Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção, 6 versão eletrônica, 2005. Disponível em: <www.embrapa.gov.br> Acessado em: 29 de set 2014.

SANTOS, A. J. P. **Avaliação da utilização de ozônio como método de beneficiamento de leite**. 2013, 46p. Monografia (Grau em medicina veterinária), Universidade de Brasília, Brasília, 2013a.

SANTOS, J. E. **Difusão e cinética de decomposição do ozônio no processo de fumigação de grãos de milho (*Zea mays*)**. 2008, 49p. Tese (Doutorado em Engenharia agrícola), Universidade Federal Viçosa, Minas Gerais, 2008.

SANTOS, P. E. T. Características básicas das principais cultivares de morango plantadas no Brasil. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap02.htm> > Acessado em: 15 de out 2013b.

SAUTTER, C. K.; BRACKMANN, A.; ANESE, R. O.; WEBER, A.; RIZZATTI, M. R.; PAVANELLO, E. P. Controle da podridão-parda e características físico-químicas de pêssegos 'Magnum' submetidos a tratamentos pós-colheita com elicitores abióticos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, p. 172-177, 2011.

SAUTTER, C. K.; STORCK, L.; RIZZATTI, M. R.; MALLMANN, C. A.; BRACKMANN, A. Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1097-1103, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, p. 129-137, 2000.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, Estudos de mercado do SEBARE/ESPM. **Hortaliças minimamente processadas**, 2008.

SHARPE, D.; FAN, L.; MCRAE, K.; WALKER, B.; MACKAY, R.; DOUCETTE, C. Effects of ozone treatment on *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* in relation to horticultural product quality. **Journal of food science**, v. 74, p. 250-257, 2009.

SHAW, D.V. Response to selection and associated changes in genetic variance for soluble solids and titratable acids contents in strawberries. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 115, n. 5, p. 839-843, 1990.

SHWARTZ, E.; GLAZER, I.; BAR-YA'AKOV, I.; MATITYAHU, I.; BAR-ILAN, I.; HOLLAND, D.; AMIR, R. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 965- 973, 2009.

SILVA, E. O.; BASTOS, M. S. R.; ALVES, R. E.; SOARES, N. F. F.; PUSCHMANN, R. **Segurança microbiológica em frutas e hortaliças minimamente processadas**. In: Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 4.; Simpósio ibero-americano de vegetais frescos cortados, 1., 2006, São Pedro, SP. Anais... Piracicaba: USP/ESALQ; CYTED, 2006.

SILVA, R.F. **Avaliação da condição nutricional das plantas de morangueiro (*Fragaria x ananassa* duch) em relação a suscetibilidade a pragas e doenças sob diferentes condições de manejo e salinidade**. 2007, p.41. Monografia (Grau em Agronomia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SILVA, S. B.; LUVIELMO, M. M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

SINGLETON, V. L. & ROSSI Jr. J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and viticulture**, v. 16, n. 3, p.144-168, 1965.

SISTRUNK, W. A.; MORRIS, J. R. Storage stability of strawberry products manufactured from mechanically-harvest strawberries. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 103, n. 5, p. 616-620, 1978.

SPAYD, S. E. & MORRIS, J. R. Effects of immature fruit and holding on strawberry puree quality and color stability. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 2, p. 211-216, 1981.

TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas: I-historique; II-materiel et methodes. **Fruits**, Paris, v. 34, n. 4, p. 245-281, 1979.

TIWARI, B.K.; O'DONNELL, C.P.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; CULLEN, P.J. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 113. n. 4. p. 1119-1126, 2009.

TOIVONEN, P. M. A.; BRUMMELL, D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 1-14, 2008.

TSORMPATSIDIS, E.; ORDIDGE, M.; HENBEST, R.G.C.; WAGSTAFFE, A.; BATTEY, N.H.; HADLEY, P. Harvesting fruit of equivalent chronological age and fruit position shows individual effects of UV radiation on aspects of the strawberry ripening process. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, p. 178-185, 2011.

UENO, B. **Manejo integrado de doenças do morango**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2, Pelotas, 2004. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 69-77, 2004.

USEPA-United States Environmental Protection Agency. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov/OGWDW/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf> Acesso em: 13 de Junho de 2013.

VASCONCELOS, E. J. P. **Produtos Minimamente Processados**. 2005, 86p. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição e Alimentação) Universidade do Porto, 2005.

VERA, Y. M. **Simulação da degradação de atrazina com ozônio gerado eletroquimicamente in situ para remediação de águas subterrâneas**. 2008, 126p. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais e Metalurgia) Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2008.

VICENZI, R. **Processamento mínimo de morangos (*Fragaria x ananassa*, Duch) tratados com radiação UV-C durante o cultivo**. 2014, 106p. Tese (Doutorado em ciência e tecnologia de alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

WEBER, S. U. THIELE, J. J.; PACKER, L. Ozone depletes vitamin C, urate and glutathione in murine stratum corneum. **Free Radical Biology and Medicine**, v, 25, n. 1, p. 100, 1998.

WHO, World Health Organization. **Air Quality Guidelines for Europe**. Regional Publications, European Series, N°91, Second Edition, 273p. 2000.

WYSOK, B.; URADZIŃSKI, J.; GOMÓKA-PAWLICKA, M. Ozone as an alternative disinfectant: A Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 15/56, n. 1, p. 3-8, 2006.

YAMASHITA, F.; VEIGA, G. F.; BENASSI, M. T.; ROBERTO, S. R. Morangos embalados com filme de policloreto de Vinila (PVC). **Ciências agrárias**, v. 27, p. 429-436, 2006.

YEOH, W. K.; ALI, A.; FORNEY, C. F. Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v.89, p.56-58, 2014.

ZAICOVSKI, C.B.; TIBOLA, C. S.; MALGARIM, M. B.; FERRI, V. C.; PEGORARO, C.; CERO, J. D.; SILVA, P. R. Resveratrol na qualidade pós-colheita de morangos “camarosa”. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 443-446, 2006.

ZHANG, J.; WANG, X.; YU, O.; TANG, J.; GU, X.; WAN, X.; FANG, C. Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) during fruit development and maturation. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n.3, p. 1103-1118, 2011.

ZHAO, Y. Berry fruit: value-added products for health promotion. Boca Raton: CRC, 2007. 430p.