

Ozônio em morangos minimamente processados, uma alternativa ao uso do cloro na segurança de alimentos

Ozone application on ready-to-eat strawberries a food safety alternative to the chlorine use

Caroline Corrêa de Souza Coelho¹

Otniel Freitas-Silva^{1,*}

Ivan Alcantara¹

Janine Passos Lima da Silva¹

Lourdes Maria Correa Cabral¹

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da sanitização por ozonização aquosa e da cloração na redução da carga microbiana de morangos submetidos ao processamento mínimo. Morangos foram selecionados, lavados em água corrente e submetidos aos tratamentos: T1) Imersão em água ozonizada a 0,2 mg L⁻¹ por 5 min; T2) Imersão em água ozonizada a 0,5 mg L⁻¹ por 5 min; T3) Imersão em água ozonizada a 1,0 mg L⁻¹ por 5 min; T4) Cloração; T5) Controle; T6) Morangos *in natura*. Posteriormente, os frutos foram processados, drenados, embalados e armazenados em câmara de refrigeração a 5°C ± 1°C, por seis dias. As análises microbiológicas para Coliformes a 35°C (NMP g⁻¹) e Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras (UFC g⁻¹) foram realizadas no dia do processamento. Enquanto que as análises microbiológicas de Enumeração de estafilococos coagulase positiva, Coliformes a 45°C (NMP g⁻¹), e detecção de *Salmonella* sp. foram realizadas no dia do processamento e após 6 dias de armazenamento. A carga microbiana de Coliformes totais foi constatada apenas em T6. Os tratamentos com a água ozonizada foram mais eficientes do que o cloro na remoção de fungos filamentosos e Leveduras. A contaminação por *Salmonella* sp., *E. coli*, e coliformes 45°C não foram observada em nenhuma das avaliações.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos Minimamente Processados; Segurança Alimentar; Sanitizantes

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficacy of the sanitization process using aqueous ozone and chlorination in reducing the microbial load on strawberries subjected to minimal processing. Strawberries were selected, washed in tap water, and sanitized using the following treatments: T1) Immersion in aqueous ozone at 0.2 mg/L for 5 min; T2) Immersion in aqueous ozone at 0.5 mg/L for 5 min; T3) Immersion in aqueous ozone at 1.0 mg/L for 5 min; T4) Chlorination; T5) Control; or T6) Strawberries without sanitization (natural). After sanitization, the fruits were processed, drained, packaged, and stored under refrigeration at 5°C ± 1°C for 6 days. Microbiological analyses for coliforms at 35°C (MPN/g) and counts of filamentous fungi and yeasts (CFU/g) were performed on the day of processing. Microbiological enumeration of coagulase-positive staphylococci, coliforms at 45°C (MPN/g), and detection of *Salmonella* spp. were performed on the day of processing and again after 6 days of storage. The microbial count of total coliforms was observed only in T6. Treatments with aqueous ozone were more effective than treatment with chlorine in removing filamentous fungi and yeasts. Contamination by *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and coliforms at 45°C was not observed in the analyzed samples.

KEYWORDS: Minimally Processed Foods; Food Safety; Sanitizants

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ/IT), Seropédica, RJ, Brasil

¹¹ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: otniel.freitas@embrapa.br



INTRODUÇÃO

A demanda por vegetais frescos minimamente processados tem se tornado cada vez mais crescentes entre os consumidores, devido às suas características de frescor e conveniência¹. Entretanto, a vida útil desses produtos, em geral, é limitada pela multiplicação de micro-organismos, que promove alterações nas suas características sensoriais e nutritivas².

O processamento mínimo de morango além de facilitar a vida do consumidor surge como uma alternativa para aumentar o prazo de vida útil do fruto *in natura*, com adoção de etapas que possam garantir um produto que atenda à demanda do mercado consumidor atual, com tendência de consumo crescente de alimentos saudáveis, frescos e de alta qualidade³.

Produtos minimamente processados devem apresentar qualidade microbiológica assegurada pela redução dos micro-organismos patogênicos e deteriorantes e são dependentes da microbiota presente na matéria-prima, da contaminação em cada etapa do processo e das condições de manutenção do produto, que podem permitir a multiplicação microbiana. Isso favorece o aumento da vida útil do produto, uma vez que tais micro-organismos, em concentrações elevadas, prejudicam a saúde e a aceitação do produto⁴.

A Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde⁵, estabelece apenas os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Para produtos para os frutos minimamente processados ainda não existe padrões específicos. Esses podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “frutas frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”. A tolerância máxima para este tipo de produto é de 5×10^2 NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de coliformes a 45° C e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g.

O preparo adequado é crucial para garantir qualidade microbiológica de alimentos minimamente processados. O manuseio pós-colheita excessivo, a higienização imprópria dos frutos, com sanitizantes inadequados ou água de má qualidade e os equipamentos não sanitizados contribuem para o aumento da população de microrganismos nos frutos e hortaliças, aumentando os riscos de patógenos e deterioradores nesses produtos^{6,7}. O que pode acarretar em surtos de doenças transmitidas por alimentos e pela deterioração das propriedades fisiológicas e químicas dos produtos minimamente processados².

Segundo Loud et al. (2005)⁸, têm-se detectado elevada carga de micro-organismos indicadores de más condições higiênicas (coliformes totais e fecais) nos produtos minimamente processados. 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; ou está havendo recontaminação do produto após a sanitização.

Abadias et al. (2008)⁹ demonstraram que produtos minimamente processados, como frutas, hortaliças e brotos poderiam abrigar alta contagens de bactérias patogênicas, como *Salmonella*,

Listeria monocytogenes, *Aeromonas hydrophila* e *Escherichia coli* O157:H7. Assim, a higienização da produção irá desempenhar um papel importante para garantir a qualidade e segurança para o consumo humano.

A etapa de sanitização é de suma importância para a qualidade microbiológica de produtos minimamente processados, com o objetivo de redução significativa da presença de patógenos nesses produtos. Contudo, além de uma atividade microbica eficaz, é importante que o sanitizante seja seguro ao consumidor, do ponto de vista toxicológico¹⁰.

Dentre os sanitizantes mais usados na indústria de alimentos para fins de higienização, incluem-se os compostos clorados¹¹. Todavia, estes produtos 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 orgânicos¹². Dentre outras preocupações, o aumento da temperatura da água de lavagem durante a sanitização possibilita a liberação do cloro gasoso (Cl₂), que é tóxico. Além disso, o cloro 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 cloro¹¹.

No entanto, a redução da eficiência microbiológica aliada à alteração sensorial e eventual formação de compostos clorados cancerígenos apontaram a necessidade de metodologias de descontaminação alternativas ao cloro. Além disso, os consumidores cada vez mais conscientes estão exigindo produtos mais seguros e com menor impacto ao meio ambiente e à saúde humana¹³.

Com isso, é cada vez mais notória a busca por sanitizantes alternativos, surgindo a opção da utilização de ozônio aquoso. O ozônio é um produto seguro, apresenta capacidade de autodecomposição, não gerando resíduos tóxicos, não deixa resíduos nos alimentos e é um agente microbicida²². Assim, investigações de sua atuação sobre uma grande variedade de micro-organismos, na forma de células vegetativas ou esporos, em ambientes industriais e também nos alimentos, têm despertado atenção de sua aplicação em todo o mundo¹².

O ozônio é o sanitizante com maior potencial de oxidação que pode entrar em contato com o alimento¹¹. Os produtos oriundos da sua decomposição (radicais OH·, O₂· e HO₂·) agem potencializando seu efeito oxidante, assim, aliado ao seu alto potencial de oxidação, contribui para torná-lo eficaz contra inúmeras espécies de micro-organismos patogênicos e deteriorantes a baixas concentrações e tempo de contato reduzido quando comparado aos sanitizantes utilizados comercialmente. Consequentemente, a redução no tempo de sanitização torna este processo um atrativo para as indústrias processadoras e casas de embalagem que buscam otimizar o tempo na linha de produção, tendo em vista uma maior produtividade¹⁰.



No entanto, a aplicação do ozônio não pode ser considerada totalmente benéfica aos alimentos, pois, em concentrações altas, a qualidade nutricional e sensorial pode ser afetada 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^{14,22}.

Diferentemente do processo de cloração, na ozonização não há a formação de compostos orgânicos halogenados quando usado como desinfetante de água contendo matéria orgânica natural, entretanto, é capaz de causar a formação de outros subprodutos orgânicos e inorgânicos. Há relatos^{15,11} de que águas com níveis de íon brometo elevados podem acarretar a formação de subprodutos bromados, que são carcinógenos potenciais durante os processos de cloração e também da ozonização. Entretanto, se a condição da ozonização for devidamente aplicada, com tempo de exposição e concentração de ozônio adequados, e a água a ser tratada não apresentar níveis demasiadamente elevados de bromo, a geração de subprodutos da ozonólise pode ser minimizada¹¹.

Apesar do ozônio e outros sanitizantes como peróxido de hidrogênio e o ácido peroxiacético terem sido testados em alimentos minimamente processados, o uso de produtos à base de cloro ainda é majoritário¹⁶. Tendo em vista que este é um sanitizante relativamente fácil de aplicar, monitorar e apresenta um custo relativamente baixo.

Considerando a importância da etapa de sanitização durante o processamento mínimo e a necessidade de métodos de desinfecção que assegurem aos consumidores maior segurança de produtos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da sanitização por ozonização aquosa e cloração na redução da carga microbiana de morangos minimamente processados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo das amostras

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; 42° 36' 27,3" O; 1.108m), foram colhidos no estágio de maturação comercial (¾ da superfície de cor vermelho-brilhante) e posteriormente transportados para o laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita de Frutas e Hortaliças da Embrapa Agroindústria de Alimentos, onde foram armazenadas em câmara fria a 5°C por 24 horas, 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.

Após a seleção, os frutos foram lavados em água corrente, a fim de remover o excesso de sujidades e posteriormente submetidos aos tratamentos: T1) Imersão em água ozonizada a 0,2 mg L⁻¹ por 5 min; T2) Imersão em água ozonizada a 0,5 mg L⁻¹ por 5 min; T3) Imersão em água ozonizada a 1,0 mg L⁻¹ por 5 min; nos tratamentos com água ozonizada, os frutos foram submersos em água a 10° ± 1°C. T4) Imersão em solução de Sumaveg® a 150 mg L⁻¹ e posterior enxágue com 5 mg L⁻¹, ambos com água resfriada a 10°C,

por 10 minutos; T5) Controle, lavagem em água corrente; O T6) Consistiu de morangos que não passaram pelos processos de corte e sanitização, os mesmos foram denominados como *in natura*.

O ozônio aquoso foi produzido por processo eletroquímico (Ozone & Life 3.0 RM) utilizando oxigênio ultra puro, sendo dissolvido em água a 10°C, através de um difusor, de forma contínua até atingir as concentrações de trabalho. Tais concentrações foram monitoradas utilizando-se de um analisador de ozônio, Fotômetro (SAM Ozônio I-2019) em conjunto com o kit analítico fotométrico (K-7423).

Após passar pelos diferentes processos de sanitização, os frutos foram então processados minimamente em sala com ar refrigerado com temperatura em torno de 15° ± 2°C. Primeiramente, foi realizada a operação de corte do cálice e do pedúnculo, utilizando-se facas amoladas, com lâmina de aço inoxidável, esta operação foi feita manualmente, o que aumenta a possibilidade de contaminação desses alimentos por micro-organismos patogênicos que oferecem risco à saúde do consumidor e, no mínimo, reduzem a vida útil do produto. Posteriormente os frutos foram colocados em bandejas de poliestireno expandido (isopor), com papel toalha para a drenagem da água em excesso. Em seguida, os frutos processados minimamente foram acondicionados em embalagens de polietileno tereftalato (PET), contendo cada uma aproximadamente 200 g de morangos processados minimamente, em camada única e armazenados em câmara de refrigeração (5° ± 1 °C), por um período de seis dias (Figura).

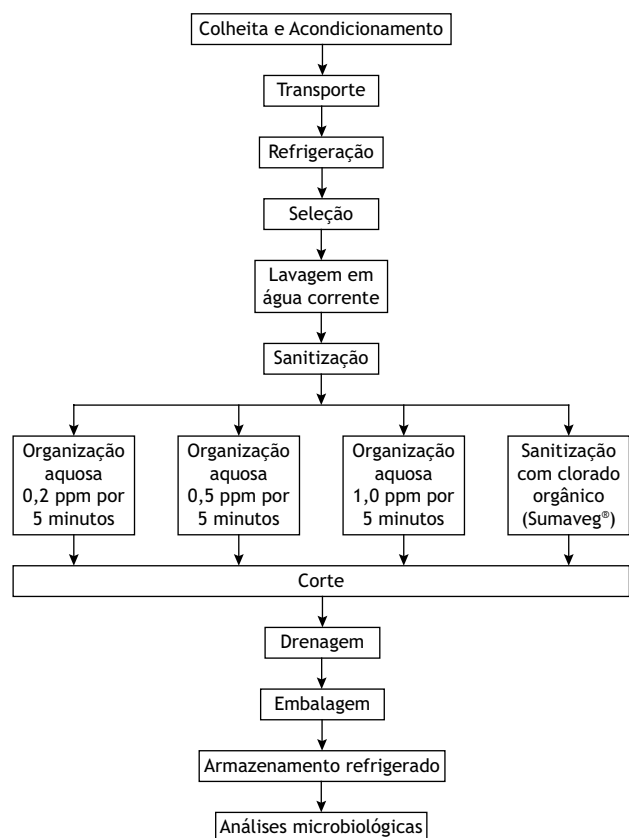


Figura. Fluxograma do processamento mínimo de morango, para o experimento de eficiência da sanitização.



O delineamento foi o inteiramente casualizado, utilizando-se, para cada dia de análise, oito frutos por tratamento.

Análise microbiológica.

Para comparar a eficiência dos dois métodos de higienização na redução da contaminação inicial dos morangos minimamente processados, os frutos foram avaliados microbiologicamente quanto à presença de coliformes a 35°C (totais) por NMP e contagem total de fungos filamentosos e leveduras apenas no dia do processamento e de *Salmonella* spp., enumeração de Estafilococos coagulase positiva e contagem de coliformes a 45° por NMP, no mesmo dia do processamento e após 6 dias de armazenamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser observado na Tabela 1, a matéria prima utilizada mostrou elevada contaminação inicial por coliformes totais, uma vez que populações no nível de 3,6 NMP g⁻¹ de produto foram encontradas nos morangos sem lavagem alguma. Os tratamentos de ozonização aquosa e cloração foram eficientes na sanitização do fruto, apresentando resultados < 3 NMP g⁻¹ de produto. Apesar de não existir na legislação brasileira vigente, padrões para coliformes totais, no que se refere à quantidade de microrganismos em um alimento, pode-se afirmar que quantidades elevadas (> 10⁵ UFC g⁻¹) são totalmente indesejáveis, pois há o risco do alimento estar estragado, haver perda real ou

Tabela 1. Coliformes a 35°C (NMP g⁻¹) e unidades formadoras de colônias (UFC) de bolores e leveduras por grama (g) e em morango minimamente processado no dia de processamento.

Treatamentos	Coliformes a 35°C (NMP g ⁻¹)	Contagem de fungos filamentosos e Leveduras ** (UFC g ⁻¹)
T1	< 3	3,8 x 10 ⁵
T2	< 3	8,2 x 10 ⁴
T3	< 3	6,4 x 10 ⁵
T4	< 3	> 1,5 x 10 ⁶ estimado
T5	< 3	2,0 x 10 ⁵
T6	3,6	1,9 x 10 ⁵

Valores estimados referem-se a contagens abaixo ou acima dos limites estabelecidos pela metodologia. Os limites estabelecidos são: * entre 25 e 250 UFC g⁻¹; ** entre 15 e 150 UFC g⁻¹.

Tabela 2. Coliformes a 35°C (NMP g⁻¹), Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp. em morango minimamente processado aos 0 e 6 dias de armazenamento a 5°C.

Treatamentos	Coliformes a 45°C (NMP g ⁻¹)		<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva* (UFC g ⁻¹)		<i>Salmonella</i> sp. (ausência em 25 g)	
	DIA 0	DIA 6	DIA 0	DIA 6	DIA 0	DIA 6
T1	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência
T2	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência
T3	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência
T4	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência
T5	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência
T6	< 3	< 3	< 1,0 x 10 ¹ estimado	< 1,0 x 10 ¹ estimado	Ausência	Ausência

Valores estimados referem-se a contagens abaixo ou acima dos limites estabelecidos pela metodologia. Os limites estabelecidos são: * entre 25 e 250 UFC g⁻¹; ** entre 15 e 150 UFC g⁻¹.

potencial das qualidades organolépticas, comprometimento da aparência do alimento e presença de micro-organismos patogênicos e/ou deterioradores¹⁷.

Ainda, os dados da Tabela 1 evidenciam que a redução da contagem inicial de fungos filamentosos e de leveduras obtidos nesse trabalho com a ozonização aquosa dos morangos foi satisfatória. Dentre os três tratamentos realizados com ozonização aquosa, todos foram menores do que o resultado obtido com o tratamento padrão (imersão em solução de Sumaveg® a 150 mg L⁻¹ por 10 minutos). Ao utilizar a Imersão em água ozonizada a 0,5 mg L⁻¹ por 5 min foi verificado uma redução de aproximadamente 2 log (UFC g⁻¹) na contagem de fungos filamentosos e Leveduras em comparação com a cloração.

Costa et al. (2011)¹⁸ avaliaram a qualidade de morangos minimamente processados e observaram que a sanitização por imersão em solução de cloro retardou o crescimento de fungos e levedura. Neste trabalho, os autores observaram que o processamento mínimo não afetou a qualidade visual e nutricional dos morangos como aparência, microbiota, vitamina C, antocianinas e compostos fenólicos e consideraram uma alternativa potencial de mercado e economicamente viável.

Em tratamentos com ozônio aquoso o crescimento micelial de *B. cinerea* foi reduzido em morangos tratados com 1,5 µL L⁻¹ de O₃ em solução a 2°C por três dias e mantidos a 20°C¹⁹. Segundo Alexandre et al. (2012)²⁰, a utilização de água ozonizada na concentração de 0,3 ppm para sanitização de morangos foi um dos tratamentos mais eficientes no controle do crescimento da contaminação microbiana, com melhor retenção de cor em morangos armazenados durante 14 dias a 4°C.

Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em nenhum dos tratamentos analisados durante o armazenamento (Tabela 2). Tais resultados colocam as amostras analisadas em acordo com a Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, que estabelece para morangos frescos e similares, “in natura”, inteiras, selecionadas ou não, a ausência de *Samonella* sp. (em 25 g de produto) visando a preservação da saúde pública⁵. Em nenhuma das amostras de morango houve detecção de coliformes fecais. Quanto ao controle da população de *E. coli*, verificou-se pela análise dos dados da Tabela 2 que, de modo geral, os



resultados estão dentro da legislação, independente do agente sanitizante utilizado. Com isto pode-se dizer que a manipulação do processamento foi realizada de forma adequada.

No presente estudo, após 6 dias de estocagem a 5°C, as amostras de morango minimamente processadas apresentaram características visíveis de deterioração e não foram submetidas às análises microbiológicas posteriores.

Apesar da eficiência do processo de ozonização como uma alternativa a sanitização de alimentos minimamente processados, a segurança da manipulação adequada do ozônio é de fundamental importância para a prevenção de intoxicações e de doenças ocupacionais no ambiente da indústria alimentícia, visto que o ozônio é um gás tóxico e pode se tornar perigoso se os cuidados de operação e aplicação não forem tomados. A aspiração direta do ozônio 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 ozônio. Em baixas concentrações, o ozônio não provoca sinais de toxicidade, mas em altas concentrações pode ser fatal aos humanos¹². No entanto, a ingestão por intermédio de água ozonizada não apresenta perigo sério, pois a meia vida do ozônio dissolvido na água é relativamente curta¹¹.

As regulamentações governamentais dos níveis do gás ozônio no ambiente variam. No Brasil, a exposição ao gás ozônio segue a determinação do Ministério do trabalho e Emprego, por meio da Norma Regulamentadora nº 15, aprovada e com relação dada pela Portaria nº 3.214/78, que dispõe sobre os limites de

tolerância do ozônio 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 ou 0,16 mg.m⁻³²¹.

CONCLUSÃO

As soluções de lavagem foram eficientes quanto à presença de coliformes totais visto que a carga microbiana foi constatada apenas em morangos *in natura*. Os tratamentos com água ozonizada avaliados foram mais eficientes do que o cloro na remoção de fungos filamentosos e leveduras, enquanto a ozonização aquosa a 0,5 mg L⁻¹ por 5 min mostrou ter potencial para ser adotada como processo sanitizante para morangos minimamente processados.

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, com contagens baixas, ao redor de 1 log UFC g⁻¹. 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.

Desta forma, o ozônio torna-se uma opção viável para sanitização de frutas, sem geração de resíduos nem compostos tóxicos. Contudo, é necessário estudar as concentrações e tempo de exposição ao ozônio para diferentes tipos de alimentos, não podendo deixar de considerar os limites de exposição em ambientes de trabalho devido à sua toxicidade, sendo pertinente a abordagem dos desafios de segurança.

REFERÊNCIAS

1. Pinheiro NMS, Figueiredo EAT, Figueiredo RW, Maia GA, Souza PHM. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. *Rev Bras Frutic.* 2005;27(1):153-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452005000100040>
2. Yeoh WK, Ali A, Forney CF. Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. *Postharvest Biol Technol.* 2014;89(0):56-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.11.006>
3. Ponce AR, Bastiani MID, Minim VP, Vanetti MCD. Características físico-químicas e microbiológicas de morango minimamente processado. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2010;30(1):113-8. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010005000016>
4. Silva EO, Bastos MSR, Alves RE, Soares NFF, Puschmann R. Segurança microbiológica em frutas e hortaliças minimamente processadas. In: González Aguilar GA, Navarro FC, Jacomino AP, Kluge RA, Silva EO, organizadores. *Aseguramiento de la calidad microbiológica.* Hermisillo: CIAD; 2006. p. 37-46.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC N° 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União.* 10 jan 2001.
6. Bolin HR, Stafford AE, King Jr AD, Huxsoll CC. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *J Food Sci.* 1977;42(5):1319-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb14487.x>
7. Fantuzzi E, Puschmann R, Vanetti MCD. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2004;24(2):207-11. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000200008>
8. Lund DG, Petrini LA, Aleixo JAG, Rombaldi CV. Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. *Ciênc Rural.* 2005;35(6):1431-5. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000600032>
9. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Viñas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol.* 2008;123(1-2):121-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
10. Freitas-Silva O, Souza AM, Oliveira EMM. Potencial da ozonização no controle de fitopatógenos em pós-colheita. *Rev Anual Patol Plantas.* 2013;21:96-130.



11. Silva SB, Luvielmo MM, Geyer M.C, Prá I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. *Semina: Ciênc Agrár.* 2011;32(2):659-82. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p659>
12. Chiattonne PV, Torres LM, Zambiasi RC. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. *Alim Nutr.* 2008;19(3):341-9.
13. Beirão-da-Costa S, Moura-Guedes MC, Ferreira-Pinto MM, Empis J, Moldão-Martins M. Alternative sanitizing methods to ensure safety and quality of fresh-cut kiwifruit. *J Food Process Preserv.* 2014;38(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00730.x>
14. Kim JG, Yousef AE, Dave S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot.* 1999;62(9):1071-87.
15. Di Bernardo L, Dantas ADB. Métodos e técnicas de tratamento de água. 2a ed. São Carlos: RiMa; 2005.
16. Sant'Ana A, Azeredo DP, Costa M, Macedo V. Análise de perigos no processamento mínimo de vegetais. *Hig Aliment.* 2002;16(101):80-4.
17. Caruso JGB, Camargo R. Microbiologia de alimentos. In: Camargo R, editor. *Tecnologia dos produtos agropecuários-alimentos.* São Paulo: Nobel; 1984. p. 35-49.
18. Costa FB, Duarte PS, Puschmann R, Finger FL. Quality of fresh-cut strawberry. *Hortic Bras.* 2011;29(4):477-84. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000400006>
19. Nadas A, Olomo M, Garcia JM. Growth of *Botrytis cinérea* and strawberry quality in ozone-enriched atmospheres. *J Food Sci.* 2003;68(5):1798-802. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12332.x>
20. Alexandre EMC, Brandão TRS, Silva CLM. Efficacy of nonthermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. *J Food Eng.* 2012;108(3):417-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.002>
21. Santos JE. Difusão e cinética de decomposição do ozônio no processo de fumigação de grãos de milho (*Zea mays*) [tese]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2008.
22. Freitas-Silva O, Venâncio A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. *Drug Metab Rev.* 2010;42(4):612-20. <http://dx.doi.org/10.3109/03602532.2010.484461>

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior - CAPES -, pela concessão da bolsa de Mestrado; À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelos recursos destinados à esta pesquisa.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.