

GISLENE REGINA FERNANDES

**SANITIZANTES ALTERNATIVOS NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, FÍSICA E QUÍMICA DE MORANGOS
(*Fragaria x Ananassa* Duch) MINIMAMENTE PROCESSADOS**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos, para obtenção
do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F363s
2013

Fernandes, Gislene Regina, 1977-

Sanitizantes alternativos na qualidade microbiológica, física e química de morangos (*Fragaria X Ananassa* Duch) minimamente processados / Gislene Regina Fernandes. – Viçosa, MG, 2013.

77f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Nélcio José de Andrade

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 63-77

1. Morango - Processamento. 2. Desinfecção e desinfetantes. 3. Ultrassom. 4. Ácidos orgânicos. 5. Microbiologia. 6. Alimentos - Qualidade. 7. Tecnologia de alimentos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.80475

GISLENE REGINA FERNANDES

**SANITIZANTES ALTERNATIVOS NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, FÍSICA E QUÍMICA DE MORANGOS
(*Fragaria x Ananassa Duch*) MINIMAMENTE PROCESSADOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 12 de abril de 2013

Prof. Luiz Carlos de Oliveira Lima

Prof. Wilmer Edgard Luera Peña

Prof. José Benício Paes Chaves
(Coorientador)

Prof. Sandra Maria O. Morais Veiga
(Coorientador)

Prof. Nélio José de Andrade
(Orientador)

À família Fernandes e ao Gustavo, com todo amor.
Aos pequenos produtores rurais, com muito respeito.

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”
Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo amparo diante de todos os desafios e proteção por essas estradas ...

Aos meus pais, fontes de amor incondicional em todos os momentos e a base da fortaleza “Fernandes”.

Às minhas irmãs, exemplos de coragem e determinação, pelo apoio e incentivo para que cada etapa fosse “realizável”....

Aos meus irmãos pelo apoio constante e amizade.

Aos meus queridos sobrinhos “grandes” e “pequenos”, por me receberem sempre com tanto carinho, em especial aos que sempre me animavam e à Bia que com sorrisos e seu jeitinho de dizer “dindinhaa” deu-me imensas alegrias em meio a momentos de cansaço.

Ao Gustavo pela paciência, carinho, companheirismo e incentivo nessa reta final.

Aos amigos que, de perto ou de longe, me incentivaram, compartilharam ideias, angústias e alegrias e ajudaram de diversas formas, em especial a Sarinha, Christiane, Ludmilla, Izabel, Eveline, Maria Teresa, Elaine Viana, Mariuza Gagno, Mauro e Angelita, Luiz e Mileny.

À Jackeline Brilhante, Patrícia Bernardes, Edney da Vitória e Ana Lúcia Moraes pela colaboração, assistência e boa vontade nos momentos necessários.

À Helena e sua família, pela acolhida e carinho de sempre.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, por meio do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização desse curso.

À Universidade Federal de Alfenas, pela concessão de horário especial para servidor estudante.

Aos colegas da FANUT pelo apoio à conclusão desse trabalho, em especial às professoras da área de Alimentos, Eveline, Flávia e Letícia.

À FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

Ao Sr. Zezinho e família pelo apoio e confiança na venda dos morangos, em Estiva, MG.

À EMATER pela assistência e intercessão junto ao produtor de morangos, em especial ao Engenheiro Agrônomo Antônio Augusto de Alvarenga Carvalho, pela presteza e alegria com que sempre me recebeu.

A todos os colaboradores na realização do experimento, em especial à Jaqueline de Lima Germano, Josidel Conceição Oliver, Rodrigo Teodoro Monteiro, Taciane Maíra Magalhães Hipólito, Patrícia Lunardelli Negreiros de Carvalho e Thais de Oliveira Estevam.

Ao professor Luiz Carlos de Oliveira Lima pela participação e valiosas contribuições.

Ao professor Afonso Mota Ramos pelos ensinamentos e apoio.

Ao professor Wilmer Edgard Luera Peña pelas contribuições à melhoria do trabalho.

À professora Sandra Maria de Oliveira Moraes Veiga pela confiança, incentivo, paciência e presteza.

Ao professor José Benício Paes Chaves pelas orientações, confiança, atenção, apoio e incentivo à conclusão desse trabalho.

Ao professor Nélcio José de Andrade pela confiança, orientações, paciência e encorajamento em todos os momentos.

A Geralda e Pollyana pela paciência e tantos esclarecimentos.

A todos que colaboraram de alguma forma para a concretização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 Introdução	1
2 Objetivos.....	4
Geral	4
Específicos.....	4
3 Referencial Teórico	5
3.1 O Morango (<i>Fragaria x ananassa Duch</i>).....	5
3.2 Processamento mínimo de alimentos	9
3.3 Sanitização de alimentos	15
3.3.1 Uso de sanitizantes e métodos alternativos	16
3.3.1.1 Ultrassom como sanitizante	21
3.3.1.2 Ácidos orgânicos como sanitizante.....	24
4 Material e métodos	26
4.1 Matéria-Prima	26
4.2 Avaliação da matéria-prima	27
4.2.1 Caracterização microbiológica dos morangos Oso Grande.....	27
4.2.2 Caracterização física e química dos morangos Oso Grande	29
4.2.3 Delineamento experimental e análises dos resultados	30
4.3 Eficiência da sanitização de morangos aderidos intencionalmente com <i>Escherichia coli</i>	30
4.3.1 Delineamento experimental e análises dos resultados	33
4.4. Estabilidade e qualidade dos morangos minimamente processados	34
4.4.1 Processamento mínimo do morango	34
4.4.2 Análise da qualidade microbiológica dos morangos minimamente processados	36

4.4.3 Análise da qualidade física e química dos morangos minimamente processados	36
4.4.4 Delineamento experimental e análise dos resultados	36
5 Resultados e Discussão	37
5.1 Caracterização da matéria-prima.....	37
5.1.1 Aspectos microbiológicos da matéria-prima.....	37
5.1.2 Aspectos físico e químico da matéria-prima	38
5.2 Eficiência da sanitização de morangos aderidos intencionalmente com <i>Escherichia coli</i>	40
5.3 Estabilidade e qualidade dos morangos minimamente processados	43
5.3.1 Qualidade microbiológica dos morangos minimamente processados	43
5.3.2 Estabilidade e qualidade física e química dos morangos minimamente processados	49
6 Considerações Finais	61
7 Conclusões	62
8 Bibliografia.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados da produção mundial de morangos, por valor (US\$) e quantidade produzido (toneladas), segundo Divisão de Estatística da Food and Agriculture Organization (FAOSTAT), 2011	6
Tabela 2 - Produção média de morango, por estado, no Brasil em 2006/2007	7
Tabela 3 - Composição nutricional média do morango (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch) (g/100g)	8
Tabela 4 Tratamentos realizados para teste de desafio do sanitizante	32
Tabela 5- Caracterização microbiológica dos morangos Oso Grande utilizados para processamento mínimo, 2013.....	37
Tabela 6 - Caracterização física e química dos morangos Oso Grande utilizados para processamento mínimo.....	38
Tabela 7 - Média da redução decimal da contagem de <i>E. coli</i> após a utilização de diferentes sanitizantes (Log UFC.g ⁻¹).....	40
Tabela 8 - Redução decimal média da contagem de micro-organismos após a sanitização, utilizando diferentes sanitizantes (Log UFC.g ⁻¹).....	43
Tabela 9 - Resumo da ANOVA de mesófilos aeróbios, psicrotróficos e fungos filamentosos e leveduras avaliados no processamento mínimo de morangos Oso Grande.	44
Tabela 10 - Média e desvio padrão da contagem de mesófilos aeróbios em morangos minimamente processados, em relação aos tratamentos com uso de diferentes sanitizantes, durante armazenamento por 9 dias, a 5 °C	45
Tabela 11 - Média e desvio padrão do logaritmo da contagem de mesófilos aeróbios por grama de morangos minimamente processados, com uso de diferentes sanitizantes, armazenados por 9 dias, a 5°C.	45
Tabela 12 - Resumo da ANOVA dos sólidos solúveis (SS), acidez total titulável (ATT), razão SS/ATT e firmeza, avaliados no processamento mínimo de morangos Oso Grande.....	50
Tabela 13 - Média e desvio padrão dos valores de sólidos solúveis (SS), acidez total titulável (ATT), razão SS/ATT e firmeza dos morangos	

minimamente processados com uso de diferentes sanitizantes, armazenados por 9 dias, a 5 °C.	51
Tabela 14 - Média e desvio padrão do pH dos morangos minimamente processados, em relação aos tratamentos com uso de diferentes sanitizantes, durante armazenamento por 9 dias, a 5 °C.....	53
Tabela 15 - Resumo da ANOVA das variáveis relacionadas à cor no processamento mínimo de morangos Oso Grande	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ondas ultrassônicas e o fenômeno de cavitação	21
Figura 2 - Mapa do Brasil, com destaque para Estado de Minas Gerais e a Cidade de Estiva, na qual foi produzido o morango.....	26
Figura 3 - Esquema básico de avaliação da eficiência dos sanitizantes sobre <i>Escherichia coli</i> aderidas ao morango	31
Figura 4 - Esquema básico do processamento mínimo dos morangos Oso Grande.....	35
Figura 5 - Disposição dos morangos na cuba de ultrassom para sanitização	42
Figura 6 - Contagem média e desvio padrão, em Log UFC.g ⁻¹ , de fungos filamentosos e leveduras (A, B e C) e de psicotróficos (D, E e F) presentes nos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.....	47
Figura 7 - Valores médios do pH dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (■); ultrassom com ácido láctico 1 % (US + AL) (▲) e armazenados a 5 °C, por 9 dias.	54
Figura 8 - Valores médios da perda de massa dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (US + AL) (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C	55
Figura 9 - Valores médios da coordenada L* e do croma, dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.....	58
Figura 10 - Valores médios do ângulo Hue dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.	59

RESUMO

FERNANDES, Gislene Regina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2013. **Sanitizantes alternativos na qualidade microbiológica, química e física de morangos (*Fragaria x ananassa* Duch) minimamente processados.** Orientador: Nélcio José de Andrade. Coorientadores: José Benício Paes Chaves e Sandra Maria de Oliveira Morais Veiga.

O morango é um pseudofruto de consumo bastante difundido no mundo. Porém, sua fragilidade demanda cuidados desde a colheita até a comercialização. O processamento mínimo pode representar uma alternativa para aproveitamento da produção no campo e possibilitar a extensão da vida útil no mercado. A sanitização é determinante para a segurança microbiológica e pode impactar sobre a qualidade sensorial e nutricional. Os objetivos deste trabalho foram verificar a eficiência do ultrassom e do ácido láctico na redução de *Escherichia coli* aderida à superfície de morangos cv Oso Grande, e avaliar a qualidade microbiológica, física e química de morangos minimamente processados. Os morangos foram contaminados com *E. coli* e tratados com: 1) Controle (água potável), 2) Ultrassom 40 kHz (US), 3) US + Dicloroisocianurato de sódio (DCIS) 100 mg.L⁻¹, 4) US + DCIS 50 mg.L⁻¹, 5) US + Ácido Láctico (AL) 1 % 6) US + AL 2%, 7) DCIS 100 mg.L⁻¹, 8) DCIS 50 mg.L⁻¹, 9) AL 1% e 10) AL 2%. Os melhores tratamentos na redução das colônias de *E. coli*, identificados pela comparação de médias do Teste de Duncan ($p=0,05$), ao nível de 5% de probabilidade, foram usados para o processamento mínimo. Realizou-se a caracterização da matéria-prima com análises microbiológicas, físicas e químicas. No processamento mínimo utilizou-se AL e sua combinação com o US, sendo os frutos armazenados por 9 dias, a 5 °C, e a cada 3 dias avaliada qualidade microbiológica, física e química. O AL e sua combinação com o US mostrou melhores resultados na redução de *E. coli*. No processamento mínimo, o tratamento com AL 1 % foi mais efetivo ($p<0,05$), para redução de mesófilos aeróbios após a sanitização e menor contagem desse micro-organismo ao final dos 9 d. O valor de pH dos morangos sanitizados com US+AL foi mais elevado, 3,67. O tempo teve influência significativa ($p<0,05$) na contagem de

psicrotróficos e de fungos filamentosos e leveduras, sendo as contagens da ordem de 10^4 UFC ao fim dos 9 dias. O tempo também teve efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o pH; a perda de massa, com aumento linear; e em relação às coordenadas de cor dos morangos, com aumento da luminosidade e redução do °Hue e da cromaticidade. O teor médio de sólidos solúveis de 7,3 °Brix, acidez total titulável de 0,95 % de ácido cítrico e firmeza de 1,96 N, não apresentaram efeitos decorrentes dos tratamentos de sanitização ou do tempo de armazenamento ou da interação entre essas fontes de variação. A baixa contagem microbiana, ausência de *salmonella* e manutenção da maioria das características físicas e químicas analisadas nos morangos indicaram que o processamento mínimo com uso do AL 1 % e do US (40 kHz) + AL 1 %, sob as condições de armazenamento, foram adequadas para manutenção da qualidade e segurança dos produtos. Destaca-se a necessidade de avaliar aspectos sensoriais e nutricionais desse processamento.

ABSTRACT

FERNANDES, Gislene Regina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2013. **Alternative sanitizers on the microbiological, physical and chemical quality of minimally processed strawberries.** Adviser: Nélío José de Andrade. Co-Advisers: José Benício Paes Chaves and Sandra Maria de Oliveira Morais Veiga.

Strawberry is a pseudofruit highly consumed worldwide. However, its fragility demands special care from harvesting to marketing. Minimal processing may represent an alternative to extend the product's shelf life. The sanitization is crucial to assure the microbiological safety and may impact on the sensory and nutritional quality of the final product. The objective of this study was to assess the efficacy of the ultrasound technique (US) coupled with the use of lactic acid in reducing *Escherichia coli* artificially added on strawberries cv Oso Grande. Additionally, assess the microbiological, physical and chemical properties of minimally processed strawberries were also evaluated. The strawberries were contaminated with *E. coli* and treated with 1) tap water (control), 2) 40 kHz Ultrasound (US), 3) US + dichloroisocyanurate (DCIS) 100 mg.L⁻¹, 4) US + DCIS 50 mg.L⁻¹, 5) US + Lactic Acid (LA) 1% 6) US + LA 2% 7) DCIS 100 mg.L⁻¹, 8) DCIS 50 mg.L⁻¹, 9) LA 1% and 10) LA 2%. The treatments that presented the best efficiency in reducing the microbial count (*E. coli*) were identified by using the Duncan multiple comparison test ($p < 0.05$) and submitted to minimal processing. These samples were stored at 5 °C for 9 days and were analyzed for microbial counts, physical and chemical properties every 3 days. Samples treated with the combination of LA and US presented a higher reduction of *E. coli*. The LA treatment was more effective ($p < 0.05$) in reducing the aerobic mesophilic count after the sanitization process, and a lower microbial count after 9 days of storage. The pH of samples sanitized with US + LA was slightly higher, 3.67 ($p < 0.05$). Storage time presented a significant ($p < 0.05$) influence on the counts of psychrotrophic bacteria and filamentous fungi and yeast, and the microbial counting was about 10⁴ CFU after 9 days of storage. Storage time also presented a significant ($p < 0.05$) effect on pH and weight loss, and for the

instrumental color of strawberries, with increased the brightness and decreased °Hue and chromaticity. The mean content of soluble solids was 7.3 °Brix, titratable acidity 0.95 % of citric acid and firmness of 1.96 N did not present any significant changes in response to the sanitization procedure, storage period or due to the interaction between storage period and sanitization. Once a low microbial count, absence of *Salmonella* and non-significant changes on the physical and chemical properties of strawberries were attained, it is possible to assume that the minimal processing conditions used in this study were adequate for maintaining the quality and safety of strawberries. Further studies should assess the effect of this type of minimal processing on the sensory and nutritional properties of strawberries.

1 Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch) é um pseudofruto muito apreciado tanto pelo mercado nacional como internacional. Sua fragilidade demanda cuidados desde a colheita e implica em perdas durante o manuseio, armazenamento e transporte, provocados por danos mecânicos, por ação microbiológica e aumento da atividade metabólica (CAO et al., 2010).

Com isso, o processamento do morango constitui uma alternativa para melhor aproveitamento da produção, com possibilidade de redução das perdas, além de oferecer produtos diferenciados e com maior valor agregado. Para o mercado consumidor os benefícios incluem a ampliação de opções de produtos pré-preparados ou prontos para o consumo.

Entre as diversas formas de processamento do morango, destaca-se o aprimoramento de técnicas de processamento mínimo, que mantém o produto em seu estado fresco e pronto para consumo.

Os hábitos alimentares da população têm-se modificado intensamente nas últimas décadas, com necessidade de maior praticidade e agilidade no preparo e consumo dos alimentos, sem perder em qualidade sensorial, nutricional e segurança sanitária. Com isso, tem ocorrido um aumento da procura por produtos práticos e de rápido preparo (se não prontos), saborosos, atrativos, saudáveis, de qualidade sanitária confiável e preço acessível (ARTÉS et al., 2009).

A escolha de métodos e técnicas específicas de processamento mínimo do morango faz-se necessário para que o produto final apresente características compatíveis a um produto fresco, com alterações sensoriais e nutricionais mínimas e maior vida de prateleira, atendendo à demanda do mercado e sob um custo operacional competitivo.

O processo de sanitização desses alimentos constitui uma etapa crucial na eliminação ou redução dos contaminantes microbiológicos presentes e, de certa maneira, contribuem para extensão do período de validade dos produtos (LÓPEZ-GALVÉZ et al., 2010).

A utilização de produtos a base de cloro são mais frequentes em decorrência do amplo espectro de ação. Contudo, é comprovadamente verificado que produtos clorados, sob condições de pH, temperatura e de alguns tipos de ácidos resultantes da decomposição de matéria orgânica podem formar substâncias tóxicas indesejáveis, como os organoclorados, triclorometanos e ácidos cloroacéticos (ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009; RICO et al., 2007). Além disso, há a desvantagem de deixar sabor residual no alimento (MAISTRO, 2001; OLIVEIRA; VALLE, 2000).

A utilização de outros produtos em substituição ao cloro e seus derivados que confirmam segurança e qualidade microbiológica é pertinente. Muitos estudos têm comprovado a eficácia de agentes sanitizantes em substituição ao cloro, como ultrassom, ácidos orgânicos, ozônio, peróxido de hidrogênio irradiação, entre outros (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2010; PRESTES, 2007; HOLTZ, 2006).

A disponibilização de tecnologia de processamento mínimo de morangos que utilizem sanitizantes alternativos ao uso de produtos clorados pode representar opção de interesse para o mercado. Para isso devem manter as características físicas, químicas e sensoriais atrativas ao consumidor, além de seguros e eficientes em termos microbiológicos (NASCIMENTO; SILVA, 2010; GIL, 2009; ROSS et al., 2003).

O uso do ultrassom e de ácidos orgânicos, como sanitizantes, em substituição ao cloro, têm mostrado resultados promissores, sendo efetivos na redução da contagem microbiana, inclusive de bactérias patogênicas, como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, entre outros.

Outra vantagem é a ação sinérgica associada ao uso do ultrassom e dos ácidos orgânicos em combinação com outros sanitizantes, além de serem considerados seguros para uso em alimentos e poderem ser utilizados à temperatura ambiente (ADAY et al., 2012; HUNG et al., 2010; RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2009; AKBAS; ÖLMEZ, 2007a).

Contudo, faz-se necessário, mais estudos elucidativos sobre a melhor dosagem e tempo de aplicação, além de outros fatores intervenientes para estabelecer condições mais efetivas e seguras, pois os efeitos desses

agentes sanitizantes podem afetar aspectos sensoriais e nutritivos de maneira indesejável (ARTÉS et al., 2009).

Surge, assim, a preocupação com a garantia da qualidade e segurança do produto, que interferirá na sua aceitação e valorização de mercado (RICO et al., 2007).

A adequação às condições de produção, por parte dos produtores, para obtenção de produtos de qualidade, seguros e que resultem de uma exploração controlada do ambiente são desafios que contribuem para conformidade de produção. Isso se reflete em condições necessárias e coadjuvantes para um desenvolvimento sustentável, que busca, em última instância, maior estabilidade socioeconômica do país (FERNANDES, 2005).

2 Objetivos

Geral

- ❖ Investigar a ação sanitizante do ultrassom e do ácido láctico para o processamento mínimo de morangos cv. Oso Grande e o efeito sobre sua conservação.

Específicos

- ❖ Avaliar a efetividade dos sanitizantes (ultrassom, ácido láctico e dicloroisocianurato de sódio) na inativação de *E.coli* ATCC 11229 inoculada na superfície de morangos;
- ❖ Investigar a vida útil de morangos minimamente processados, sanitizados com ácido láctico isolado e em combinação com ultrassom;
- ❖ Determinar a contagem microbiana de morangos minimamente processados durante o período de armazenamento;
- ❖ Avaliar qualidade física e química dos morangos minimamente processados durante o período de armazenamento.

3 Referencial Teórico

3.1 O Morango (*Fragaria x ananassa* Duch)

O morangueiro, pertencente à família das Rosáceas, gênero e espécie *Fragaria x ananassa* Duch, é um híbrido obtido do cruzamento de duas espécies de *Fragaria*, a *Fragaria chiloensis*, de origem no continente americano e a *Fragaria virginiana*, originária do continente europeu, planta herbácea, rasteira e de pequeno porte (BORDIGNON JÚNIOR, 2008; CASTRO, 2002).

É um pseudofruto, sobre os quais se tem os aquênios, que se são os frutos verdadeiros e confundidos como sementes (REIS et al., 2008; ALVES, 2009). Apresenta epiderme muito delicada, cor vermelha brilhante, textura macia e sabor levemente acidificado (MORAES et al., 2008; FERREIRA et al., 2008; AZEVEDO, 2007).

Sua produção é máxima entre os períodos de maio a agosto nas regiões sudeste e sul do Brasil, mas pode-se encontrar morangos durante quase todo o ano, especialmente com a introdução nos últimos anos, de cultivares de dias neutros. Estes cultivares mantêm a produção de frutos independente do foto-período, desde que as temperaturas estejam compreendidas entre 10 °C e 28 °C (BORDIGNON JÚNIOR, 2008; SANHUEZA, et al., 2005).

Os morangos apresentam pouca resistência, pela epiderme delgada, alto conteúdo de água e alto metabolismo, sendo sensível aos fatores climáticos, como temperaturas extremas e fotoperíodo, às doenças e pragas, ao manuseio e ao transporte. Com isso, sua produtividade e uniformidade de características de interesse comercial são objetivos principais para o melhoramento genético e de cultivo (PÁDUA, 2009; ANTUNES et al., 2007; BALBINO, 2004; SIMÕES; DIAS; CASTRO, 2002).

Desde 1995, algumas cultivares melhoradas geneticamente têm sido importadas dos Estados Unidos (VIDAL, 2008). Nos últimos anos, há

disponíveis muitas cultivares de morango, adaptadas de regiões específicas, resultando em melhor desempenho produtivo. Como é o caso das cultivares Oso Grande e Camarosa no Sul de Minas Gerais, região que concentra a maior produção do estado (EMATER, 2010).

Contudo, a produtividade ainda é baixa no Brasil, em especial pelos problemas fitossanitários, as condições de cultivo e o manuseio excessivo na colheita e no pós-colheita. O estabelecimento da Instrução Normativa de Produção Integrada do morango, IN 14, de 01 de abril de 2008, apesar de relativamente recente, propõe-se a melhorar as condições de manejo da cultura e controle fitossanitário. Com isso, pode-se favorecer não só a produtividade, mas a qualidade e segurança dos frutos que chegam ao mercado consumidor (BRASIL, 2008; ANTUNES et al., 2007).

A produção de morangos movimentam mercados de diversos países, com destaque para os Estados Unidos, país que responde por uma produção quatro vezes maior que a da Espanha, segundo maior país produtor, de acordo com dados da *Food and Agriculture Organization* - FAO (FAOSTAT, 2011). Na Tabela 1 podem-se verificar dados da produção mundial de morangos por valores, em dólares, e quantidade, por mil toneladas.

Tabela 1 - Dados da produção mundial de morangos, por valor (US\$) e quantidade produzido (toneladas), segundo Divisão de Estatística da *Food and Agriculture Organization* (FAOSTAT), 2011

Ordem	País	Valor da Produção (US\$1000)	Produção (Toneladas)
1	Estados Unidos	1 782 053*	1 312 960
2	Espanha	697 678*	514 027
3	Turquia	410 462*	302 416
4	Egito	326 132*	240 284
5	México	310 681*	228 900
6	Rússia	249 739*	184 000*
7	Japão	247 148*	182 091
8	Coréia do Sul	232 799*	171 519
9	Polônia	225 524*	166 159
10	Alemanha	209 588*	154 418

*: Valor não oficial

O Brasil não é um grande produtor de morangos. Os registros na literatura indicam que maior expansão do cultivo no país ocorreu por volta da década de 1950 (SPECHT; BLUME, 2009). A produção concentra-se nas Regiões Sul e Sudeste do país. Apesar dos dados não serem precisos e atualizados, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul são os maiores produtores, conforme pode se observar na Tabela 2 (MADAIL, 2008). O Espírito Santo também tem aumentado sua produção na Região Centro-Serrana (BALBINO, 2004). A expectativa é que essa produção nos últimos anos tenha superado essa apresentada, considerando o constante aprimoramento das técnicas e a crescente demanda dos consumidores e das indústrias.

Tabela 2 - Produção média de morango, por estado, no Brasil em 2006/2007

Estado	Produção (Toneladas)
Minas Gerais	33 000
São Paulo	31 000
Rio Grande do Sul	16 000
Paraná	9 000
Espírito Santo	7 000
Santa Catarina	1 370
Goiás	950
Rio de Janeiro	800
Outros	880
TOTAL	100 000

Fonte: Embrapa Clima Temperado (MANDAIL, 2008)

Ainda que a produção de morango no Brasil não seja de destaque internacional, representa importância econômica regional na medida em que o cultivo caracteriza-se pela intensa necessidade de mão de obra e também de produção familiar (CAMARGO FILHO; CAMARGO, 2009; BORDIGNON JÚNIOR, 2008).

O valor nutricional do morango destaca-se pelo teor de vitamina C e de antocianinas e derivadas (pelargonidina e cianidina), além da presença

de outros compostos fenólicos, como ácido elágico, associadas às propriedades antioxidantes (Tabela 3) (ARES et al., 2009; REIS et al., 2008)

Tabela 3 - Composição nutricional média do morango (*Fragaria x ananassa* Duch) (g/100g)

Nutriente / componente	Teor em 100g/matéria fresca
Energia (kcal)	32
Carboidratos (g)	7,4
Vitamina C (mg)	64
Minerais (g)	0,4
Fibras (g)	1,7
Antocianinas (mg)	15 a 60
Água (g)	92

Adaptado de: Sanhueza et al., 2005

Além dos aspectos nutricionais e funcionais, o morango tem características sensoriais peculiares e atrativas aos consumidores, que valorizam o produto, sendo seu consumo *in natura* ou por meio de produtos industrializados (ARES et al., 2009).

No Sul de Minas, concentra-se a maior produção de morangos. Os municípios de Estiva, Pouso Alegre, Tocos do Mogi e Bom Repouso são os maiores produtores.

De acordo com dados da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais (EMATER-MG), a safra de morango em Estiva, em 2010, foi de 17500 toneladas, provindas de 320 ha plantados, ocupando uma mão de obra de 2560 trabalhadores e movimentando R\$ 34 milhões.

A cultivar Oso Grande representa 90% da área plantada no município de Estiva, cuja finalidade na sua maioria é para consumo *in natura*. Sua origem é californiana, mas adaptada ao solo da região. A cultura do morango corresponde à principal economia do município.

Assim como nas demais cidades do Sul de Minas, a produtividade do morango tem aumentado, contudo as perdas são elevadas. Limitações e dificuldades decorrentes da colheita manual, das condições necessárias de armazenamento frio e o escoamento da produção até o consumidor,

associada a alta perecibilidade dos morangos são fatores que favorecem a perdas qualitativas e quantitativas e prejuízos para os produtores de morango, além dos comerciantes e consumidores (PINELI, 2009; CANTILLANO, 2005).

Alternativas para reduzir essas perdas têm sido buscadas pelos produtores e empresas de assistência técnica e extensão rural como EMATER e EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), a citar: a capacitação dos produtores, o incentivo ao associativismo, a adoção da IN nº14, de 2008, de produção integrada, o uso de mudas sadias e melhor adaptadas ao clima da região, o controle fitossanitário e o uso da cadeia do frio, entre outras medidas.

Nesse contexto, o beneficiamento dos morangos ainda nas propriedades ou em associação pode representar melhor aproveitamento da colheita, além de conferir maior valor aos produtos elaborados, como no caso de morangos minimamente processados.

3.2 Processamento mínimo de alimentos

A história dos alimentos minimamente processados no Brasil ainda é incipiente, mas vem apresentando um crescimento importante no mercado, seguindo a tendência internacional de popularização e diversificação desses produtos (SEBRAE, 2008).

O processamento mínimo de hortaliças e frutas consiste em uma sequência de operações, como descascamento, corte e, ou torneamento, sanitização, entre outras, que provocam alterações físicas, mas que mantêm os alimentos metabolicamente ativos e em estado fresco (MORETTI, 2007; BARCELOS; FERRUA, 2003; IFPA, 2001).

Nesse processamento podem incluir operações que eliminam as partes não comestíveis convencionalmente, tais como cascas, talos e sementes (OLIVEIRA et al., 2006b). Outras denominações comuns a esses produtos, além de minimamente processados, são: *fresh-cut*, pré-cortado, pré-preparado, preparado cortado, de conveniência e fresco cortado (MORETTI, 2007).

Considera-se, ainda, que tais processos interferem nos fatores físicos, químicos e biológicos responsáveis pela deterioração do produto, por causa dos danos causados aos tecidos e ao aumento da superfície exposta (ALLENDE; TOMÁS-BARBERÁN; GIL, 2006). Tanto que, as hortaliças e frutas minimamente processados são mais perecíveis que os similares frescos e demonstram perda da qualidade pós-colheita, mesmo sob condições de estocagem às temperaturas de refrigeração (SEBRAE, 2008).

A remoção da casca e o corte, por exemplo, resultam na perda da integridade do vegetal, acelerando alterações fisiológicas, liberando exsudados ricos em nutrientes, além de aumentar a área superficial de exposição ao ambiente. Com isso, temperatura, umidade, teor de gases atmosféricos e microbiota presente são fatores que regulam a manutenção da qualidade dos produtos (OLIVEIRA et al., 2006a; WATADA; MINOTT, 1996)

O processamento mínimo ocasiona uma série de respostas fisiológicas às hortaliças e frutas, com repercussão sobre a produção de etileno. Essa condição favorece à: elevação da atividade respiratória, indução da produção de compostos fenólicos, degradação de lipídeos de membrana e perda da compartimentalização entre substratos e enzimas, que ocasiona oxidação de compostos fenólicos e degradação da clorofila (RICO et al., 2007; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A modificação na textura dos produtos minimamente processados é comum e decorrente da dissociação dos componentes da parede celular, em especial a pectina, da perda de água e turgor, sendo um dos principais problemas relacionados à qualidade (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008).

No caso das hortaliças e frutas minimamente processadas, as injúrias mecânicas, decorrentes dos cortes ou de efeitos do transporte e, ou da manipulação são geralmente acompanhadas por elevado número de respostas fisiológicas. Quando os tecidos vegetais são lesionados, ocorre elevação na atividade respiratória e na produção de etileno, hormônio que acelera a deterioração e a senescência dos tecidos, levando à distinção na idade fisiológica entre os tecidos intactos e os feridos (RICO et al., 2007; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Como consequência dessas alterações fisiológicas decorrentes da aceleração da atividade respiratória e metabólica das hortaliças e frutas algumas modificações sensoriais são nítidas, como escurecimento dos produtos, amarelamento, murchamento, entre outros (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008; MORETTI, 2007).

Outras alterações são relacionadas à microbiota presente nos produtos. A realização das operações de descascamento, corte e fatiamento podem favorecer a contaminação dos produtos minimamente processados, nos quais patógenos presentes na superfície da matéria-prima ou nas mãos dos manipuladores passam para o produto (ARTÉS et al., 2009).

O corte nos produtos pode favorecer a maior presença de micro-organismos, pois durante o processamento, as injúrias promovidas contra o tecido foliar favorecem a utilização do líquido intersticial extravasado. Além disso, pode contribuir para o “alojamento” desses micro-organismos em regiões em que os agentes sanitizantes não atingem (GIL et al., 2009; SANCHES; DURIGAN; SANTOS, 2007).

As operações unitárias necessárias para o processamento mínimo de alimentos devem cumprir procedimentos não somente para aperfeiçoar a produtividade, mas também para garantir a segurança dos produtos oferecidos ao mercado (FONSECA et al., 2006).

As etapas de processamento mínimo de hortaliças e frutas podem apresentar variações, decorrentes de particularidades de cada produto. Mas quaisquer que sejam as etapas envolvidas, a aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) é obrigatória, desde limpeza e sanitização, higiene pessoal e do ambiente fabril, projeto higiênico-sanitário da planta operacional e, até mesmo, manutenção preventiva (MORETTI, 2007; CRUZ; CENCI; MAIA, 2006).

De acordo com Fonseca et al. (2006), os principais grupos de matérias-primas utilizadas no processamento mínimo são folhosos (alface, rúcula, couve, repolho e agrião, entre outros); raízes (como por exemplo: cenoura, beterraba, mandioquinha-salsa, batata-doce); frutos, (entre os quais citam-se: pepinos, feijão-vagem e pimentão.); e inflorescências (como couve-flor e brócolis). Mas em decorrência da expansão do mercado, uma diversidade ainda maior de produtos minimamente processados tem sido

testada e disponibilizada para o consumidor, tanto doméstico, quanto industrial e institucional (SEBRAE, 2008).

A aquisição da matéria-prima deve ser pautada na sua qualidade, que em grande parte, é resultante dos cuidados antecedentes à recepção na Unidade Processadora. A adoção das Boas Práticas Agrícolas (BPA) associada ao cuidado com o transporte e armazenamento pós-colheita dos alimentos possibilita melhor produtividade, na medida em que poucas frutas e hortaliças serão danificadas e deterioradas nesse período. Além disso, pode favorecer a menor contagem microbiana, quesito fundamental para a qualidade do produto final, considerando as etapas críticas subsequentes (MORETTI, 2007; CRUZ; CENCI; MAIA, 2006).

A recepção da matéria-prima na Unidade Processadora deve acontecer em local arejado e sombreado para evitar possível contaminação provinda do campo ou da área de armazenamento inicial e aumento indesejável da temperatura. Com isso, a refrigeração dessa matéria-prima deve ocorrer o quanto antes, especialmente se não for processada imediatamente (FONSECA et al., 2006).

Para obtenção de uniformidade de forma, peso, tamanho e, ou, cor e integridade da matéria-prima é preciso estabelecer critérios para seleção, descartando aquelas que apresentarem injúrias, podridões, grau de maturação insuficiente ou outro parâmetro inadequado para a obtenção de um produto de qualidade (BASTOS, 2006).

A lavagem e desinfecção iniciais compreendem etapas essenciais na obtenção dos produtos minimamente processados com segurança sanitária. Além disso, considerando que a perda na qualidade é também influenciada pela condição sensorial, espera-se que o processamento para redução da contagem microbiana e caracterização do produto não altere a firmeza, aparência de frescor e cor das hortaliças e frutas (ALLENDE; TOMÁS-BARBERÁN; GIL., 2006).

A implementação de um sistema de garantia de qualidade por Unidades que processam os alimentos minimamente torna-se compulsória, por utilizar matéria-prima de origem vegetal, que está sujeita a diversas fontes de contaminação microbiana durante seu cultivo e processamento,

como água de irrigação, manipuladores, solo, equipamentos e utensílios e água (CRUZ; CENCI; MAIA., 2006)

No início do processamento, a lavagem e desinfecção devem ser realizadas com a utilização de água potável para remoção de impurezas, insetos e outras sujidades que podem estar aderidas à matéria-prima. Comumente se utiliza produtos à base de cloro ativo para a desinfecção, em concentrações que dependem do vegetal a ser processado e da contagem microbiana presente (ANDRADE; ANTUNES, 2006).

A etapa de corte das hortaliças e frutas deve ser tal que provoque o menor dano possível na estrutura do vegetal, considerando as diversas alterações fisiológicas que desencadeia (VILAS BOAS et al., 2006; GLEESON; O'BEIRNE, 2005). Após o corte ou fatiamento é recomendado realizar a sanitização das hortaliças ou frutas, como medida de controle microbiológico (BASTOS, 2006).

No processamento de algumas hortaliças e frutas, há o uso de aditivos, cuja finalidade inclui ação antimicrobiana e antioxidante, com minimização ou retardo da deterioração dos produtos e manutenção da qualidade em cor, aroma, textura e valor nutritivo (CHITARRA, 2002).

Podem-se utilizar como aditivos: acidulantes, como os ácidos orgânicos, para redução do pH; antioxidantes, como ácido cítrico, ácido ascórbico; EDTA, entre outros compostos para preservar principalmente compostos fenólicos, envolvidos com a cor e o aroma das hortaliças e frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Há também os agentes quelantes, que se ligam aos metais e apresentam ação sinergista com os antioxidantes, evitando reações oxidativas; e os antimicrobianos, como ácido propiônico e propionatos, ácido sórbico e sorbatos, ácido láctico, ácido benzóico e benzoatos, entre outros. Entretanto, a ação desses agentes depende das condições do meio, como pH, umidade relativa, temperatura e número inicial de micro-organismos (RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2009).

A drenagem ou centrifugação das frutas ou hortaliças minimamente processados objetiva retirar o excesso de líquido, sem que cause danos à integridade do produto cortado. O excesso de umidade dentro da embalagem do produto é indesejável, pois pode favorecer o

desenvolvimento microbiano e a atividade das enzimas presentes nos vegetais (FONSECA et al., 2006).

No armazenamento das hortaliças e frutas minimamente processadas, a escolha da embalagem depende da combinação entre conservação do produto e seu custo, de maneira a aumentar a vida de prateleira (SOARES; 2002).

A permeabilidade das embalagens ao oxigênio (O₂) é determinante. A presença de O₂ pode favorecer ao escurecimento enzimático, mas a anaerobiose pode influir na predominância de determinada microbiota deteriorante e, ou patogênica, como o *Clostridium botulinum*. O maior conteúdo em CO₂ e reduzido em O₂ pode favorecer a redução da taxa respiratória do vegetal e, com isso, as alterações bioquímicas e metabólicas ocorrem mais lentamente (MORETTI, 2007; WATADA; MINOTT, 1996).

Portanto, o conhecimento do tipo de atmosfera que é benéfica ao produto pode auxiliar na escolha da melhor embalagem, do grau de permeabilidade a determinados gases e, até mesmo, no caso de atmosferas modificadas, qual a melhor composição em gases para prolongar a manutenção da qualidade dos alimentos (ROJAS-GRAÜ et al., 2009).

Nem sempre a utilização de atmosfera modificada é suficiente para evitar alterações de cor e conservar o produto, sendo necessária a combinação de embalagem com outras ações, como aplicação de aditivos para obtenção de resultados satisfatórios (RICO et al., 2007).

De acordo com Zheng et al. (2007), o uso de atmosfera modificada com teores de oxigênio maior que 60 kPa para armazenamento de morangos, a 5 °C por até 7 dias promoveu aumento da capacidade antioxidante, dos compostos fenólicos e antocianinas totais, sem afetar teor de sólidos solúveis, acidez total titulável e a cor dos frutos ($p < 0,05$).

A refrigeração dos produtos minimamente processados é praticamente obrigatória para preservar suas características de frescor e prolongar sua vida de prateleira, sendo as temperaturas próximas a 5 °C e umidade relativa apropriada a cada hortaliça e fruta, em geral de 96,4% e 99,8% (ANDRADE et al., 2007; BASTOS, 2006).

A cadeia do frio representa um sistema eficiente para retardar a taxa respiratória e, conseqüentemente a senescência do produto minimamente

processado. Contudo, o fator determinante, para cada produto, além dos cuidados durante o processamento, é o estabelecimento da temperatura mais apropriada, combinada com a embalagem que oferecerá durabilidade mais prolongada ao alimento minimamente processado (HODGES; TOIVONEN, 2008).

3.3 Sanitização de alimentos

As frutas e hortaliças apresentam contaminantes em sua superfície, sendo as espécies e quantidade dependentes do alimento e das condições de cultivo, colheita, manuseio, transporte e armazenamento. Podem ocorrer contaminações provenientes do uso de água contaminada na irrigação, na deposição dos alimentos diretamente no solo durante ou após a colheita, utilização de esterco não curtido, que podem ser fontes de micro-organismos patogênicos como *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, entre outros (VANETTI, 2007).

Nesse sentido, a aplicação de Boas Práticas Agrícolas, bem como Boas Práticas de Produção e do Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle é essencial para prevenir a contaminação ou reduzir a microbiota presente na matéria-prima. Sua importância decorre da limitada taxa de destruição dos agentes desinfetantes, que reduzem em torno de 100 vezes a contaminação microbiana inicial (CENCI, 2006).

Esses cuidados são imprescindíveis em toda a cadeia produtiva, desde a colheita, o armazenamento, transporte, recepção e processamento, e de maneira integrada, pois a perda de qualidade pode ocorrer de modo cumulativo (KOKKINAKIS; FRAGKIADAKIS, 2007).

Além disso, no caso dos alimentos minimamente processados, após a etapa de higienização não há aplicação de nenhum outro tratamento posterior que assegure a inativação e, ou eliminação ou redução no número de micro-organismos presente na matéria-prima ou incorporados durante o processamento (MORETTI, 2007).

A higienização corresponde a duas etapas básicas: 1) limpeza, que consiste na operação de remoção de terra, resíduos de alimentos e, ou

equipamentos e ambiente, sujidades e ou outras substâncias indesejáveis; e, 2) desinfecção ou sanitização, correspondente a operação de redução, por método físico e, ou agente químico, do número de micro-organismos a um nível que não comprometa a segurança do alimento (BRASIL, 2002).

A qualidade da matéria-prima não pode ser melhorada no decorrer do processamento das frutas e hortaliças, contudo, pode ser preservada, à medida que se utilizam técnicas, meios e condições que minimizem ou retardem as transformações fisiológicas naturais que ocorrem (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A sanitização dos alimentos possibilita a redução e, ou eliminação da contagem microbiana presente e potencialmente nociva, seja deterioradora e, ou patogênica. Assim, tem-se importante contribuição para aumento da vida de prateleira do produto.

Há diversos fatores que interferem na ação dos sanitizantes sobre as reduções de micro-organismos, entre os quais pode-se atribuir principalmente às características topográficas da superfície do vegetal processado ou com injúrias que fornecem proteção bacteriana contra a ação dos sanitizantes, assim como as características dos micro-organismos favoráveis para adesão às superfícies, além do número de micro-organismos inicial (GIL et al., 2009; VELÁZQUEZ et al., 2009).

No caso de frutas e hortaliças minimamente processadas, essa etapa tem como finalidade minimização da deterioração e da proliferação de patógenos, além da contribuição para manutenção da qualidade do produto (ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009), uma vez que, as etapas seguintes no processamento são ineficientes para redução e, ou eliminação dos micro-organismos presentes (OIE et al., 2008).

3.3.1 Uso de sanitizantes e métodos alternativos

Os agentes sanitizantes de uso em alimentos devem ser capazes de reduzir e, ou, eliminar a contagem inicial de micro-organismos presentes, sem, contudo, representar risco de toxicidade para manipuladores e consumidores e nem comprometer aspectos sensoriais do produto.

Ainda hoje, a legislação brasileira orienta o uso apenas de produtos clorados para sanitização de alimentos, apesar de em outros países alguns produtos serem reconhecidos como seguros, *GRAS (Generally Recognized as Safe)*, e utilizados para esse fim (SREBERNICH, 2007; SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 1997).

A eficiência na etapa de limpeza é essencial para que a sanitização cumpra com seu objetivo, pois auxilia na redução de contaminantes. Inclusive, alguns detergentes podem penetrar nas membranas e contribuir no rompimento das paredes celulares dos micro-organismos (CHITARRA, 2002).

A contaminação das hortaliças e frutas por micro-organismos deteriorantes e patogênicos pode acontecer desde a colheita até o pós-processamento, a depender das condições higiênico-sanitárias aplicadas. Entre as bactérias patogênicas que podem estar presentes, incluem-se *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* e *Salmonella* spp., entre outras (NASCIMENTO et al., 2005; CHITARRA, 2002; BRASIL, 2001).

As principais características que aumentam as probabilidades de contaminação microbiológica das frutas e hortaliças minimamente processadas incluem (1) a presença de superfícies cortadas e aumento do teor de umidade; (2), extravasamento de fluidos ricos em nutrientes; (3) a esterilidade ou a estabilidade microbiana desses produtos não pode ser assegurada; (4) o tecido vegetal é metabolicamente ativo e, (5) armazenamento do produto sob uma determinada atmosfera na embalagem (ARTÉS et al., 2009).

Um sanitizante ideal para aplicação em alimentos deve ter poder de eliminar, em tempo razoável, os organismos patogênicos sob as condições do meio; não ser tóxico para homem e animais domésticos; não deve causar cheiro ou odor à água; ser de baixo custo; de fácil determinação da concentração do princípio ativo em solução (ANDRADE; PINTO; ROSADO, 2008; MEYER, 1994).

A sanitização pode ocorrer por métodos físicos ou agentes químicos. Entre os métodos físicos tem-se destaque para aplicação de calor. Porém, para o processamento mínimo de alimentos, a aplicação desse método

compromete a qualidade nutricional, sensorial e a característica predominante de frescor do produto, com perdas de vitaminas e de minerais, formação de polímeros, alteração de textura e aroma, entre outros efeitos; não sendo, portanto, apropriado (RICO et al., 2007).

Outros métodos físicos, como uso da radiação ultravioleta, aplicação de alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsado de alta intensidade, ultrassom, entre outros, tem sido investigados e testada a eficiência, conferindo a vantagem de não provocar o aquecimento dos alimentos (GIL et al., 2009; FELOWS, 2006; CARDOSO et al., 2003).

O cloro e seus compostos, como o dicloroisocianurato de sódio (DCIS) são fortes agentes oxidantes com alto poder de desinfecção, sob condições de pH e temperatura ideais. Dependem, ainda, do tempo de aplicação, da concentração do produto e de sua ação mecânica. Usualmente, aplicam-se concentrações de 50 a 200 mg.L⁻¹ de cloro residual livre, por tempo inferior a 5 minutos em produtos frescos. Valores de pH ligeiramente ácidos (6,0 – 6,5 para ácido hipocloroso) apresentam ação mais efetiva; contudo, é tradicional o uso de soluções de cloro a pH entre 6 e 7,5 para minimizar efeito corrosivo em equipamentos (RICO et al., 2007).

Os produtos mais comuns são à base de hipoclorito de sódio e dicloroisocianurato de sódio, com atuação sobre micro-organismos em geral, inclusive esporos. Ambos em solução formam ácido hipocloroso, ácido fraco e predominante em meio com pH próximo de 5, que controla a ação desinfetante e oxidante do cloro (CHITARRA, 2002).

De acordo com Parish et al. (2003), concentrações inferiores a 200 mg.L⁻¹ de cloro residual livre parece não ser efetivo para redução da microbiota de alfaces, ainda que com maior tempo de contato e redução do pH. Assim, a concentração efetiva do produto depende além do tempo, pH, temperatura, também do número e do tipo de micro-organismo e das características estruturais e apresentação do alimento.

A maior eficiência de desinfecção do ácido hipocloroso em relação a outras formas de cloro é atribuída a sua forte capacidade oxidante, pois libera oxigênio nascente, o qual combina com componentes do protoplasma da célula. O pequeno tamanho de sua molécula e a sua neutralidade elétrica permitem uma rápida penetração nas células e combinação com as

proteínas e, com isso, alteram o metabolismo microbiano (NASCIMENTO et al., 2005). A ação sobre os micro-organismos envolve a inibição da síntese protéica, descarboxilação oxidativa de aminas a nitrilas e aldeídos, além de reações com ácidos nucleicos, purinas e pirimidinas (MORETTI, 2007).

O DCIS tem-se apresentado como uma alternativa viável para a desinfecção de água e alimentos, pois é menos reativo com substâncias húmicas, resultando em baixos níveis de formação de triclorometanos (TCM) (KUZNOSOF, 2004).

Geralmente, os derivados clorados de origem orgânica são comercializados sob a forma de pó ou comprimidos efervescentes e apresentam maior estabilidade durante o armazenamento que os compostos clorados inorgânicos.

Esses compostos também são mais estáveis em solução aquosa, o que implica numa liberação mais lenta de ácido hipocloroso e, conseqüentemente, os mesmos permanecem efetivos por períodos de tempo maiores, ainda que em presença de matéria orgânica (OLIVEIRA; VALLE, 2000).

Muitos estudos têm demonstrado que o dióxido de cloro apresenta capacidade oxidativa superior ao do cloro, e atividade antimicrobiana, inclusive para *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* Typhimurium (LOPÉZ-GÁLVEZ et al., 2010; SREBERNICH, 2007; RICO et al., 2007).

O excesso de cloro pode provocar descoloração do alimento, perda da qualidade, aumento na corrosão de equipamentos, irritações cutâneas em manipuladores, entre outros problemas (MORETTI, 2007; PARISH et al., 2003). Destaca-se ainda a formação de compostos organoclorados, trihalometanos (THM) e ácidos haloacéticos a partir do contato do cloro com matéria orgânica em decomposição (SILVEIRA et al., 2008; ARTÉS, 2009; GIL et al., 2009). Em alguns países europeus, como Alemanha, Holanda, Suíça e Bélgica o uso de produtos clorados para sanitização de alimentos minimamente processados está proibido (ÖLMEZ, KRETZCHMAR, 2009).

O cloro e seus derivados são amplamente utilizados para a sanitização de frutas e hortaliças, inclusive daquelas minimamente processadas. Contudo, além de estudos que associam a formação de

subprodutos químicos mutagênicos, tóxicos e carcinogênicos em água, em alimentos ou em superfícies de contato (SILVA et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2005; SILVEIRA et al., 2008), há também indicações de que algumas cepas de micro-organismos patogênicos têm apresentado certo grau de resistência à ação do cloro, como de *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Cryptosporidium parvum* e *Listeria monocytogenes* (NASCIMENTO et al., 2005; ZHANG et al., 2005; PARISH et al., 2003).

Os THM mais comuns são os compostos formados com cloro e, ou bromo, sendo o clorofórmio o de mais fácil detecção. Sua formação é favorecida por algumas variáveis, como: maior tempo de contato dos reagentes; o aumento da temperatura; elevação do pH; pela concentração de brometos e iodetos; maior concentração do cloro e dos precursores, ácidos húmicos e fúlvicos, provenientes da decomposição de matéria orgânica (ARTÉS et al., 2009; GIL et al., 2009; MEYER, 1994).

Diversos estudos têm evidenciado associações positivas entre a concentração dos THM e a morbidade e mortalidade por câncer. Com base nos resultados encontrados têm sido propostos limites máximos de tolerância para a presença destes compostos em água, por meio de legislações específicas (BRASIL, 2011; SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 1997).

Considerando que a segurança sanitária e o prolongamento da vida de prateleira dos produtos minimamente processados são dependentes da operação de sanitização, a busca de alternativas ou métodos combinados em substituição ao uso do cloro ou de seus derivados para sanitização de alimentos torna-se prioritária.

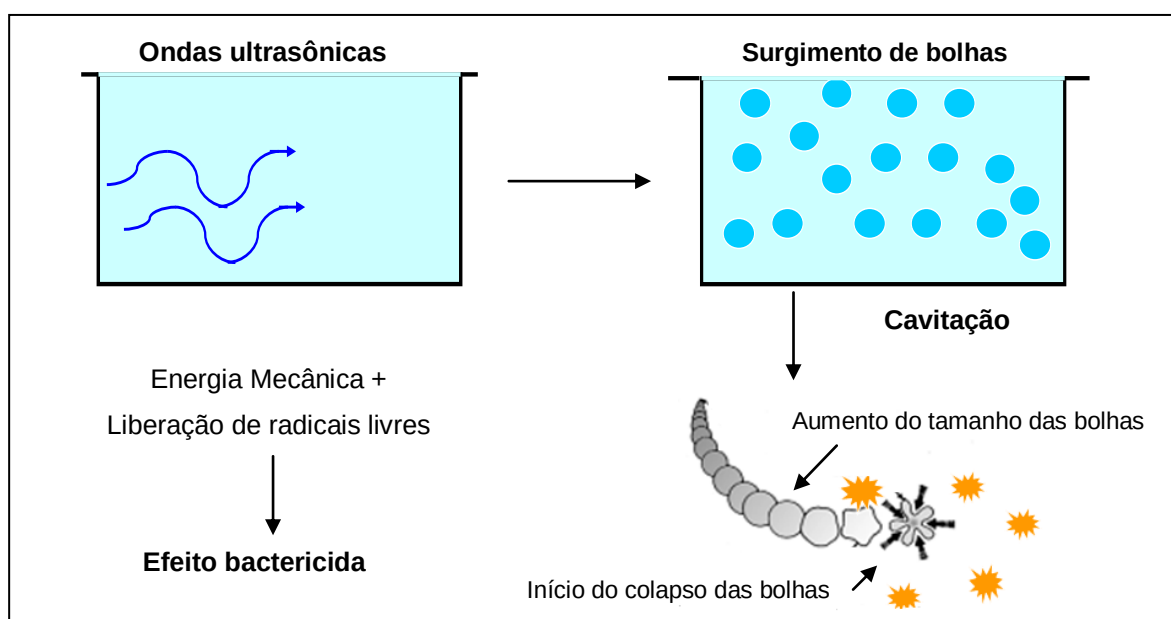
Uma variedade de estudos com antioxidantes, irradiação, ozônio, ácidos orgânicos, embalagem com atmosfera modificada e, ou, controlada, ultrassom, entre outros tem demonstrado resultados diversos. Assim, a determinação de condições de eficácia equivalente ou melhorada, em relação àquelas proporcionadas pela sanitização clorada, é necessária (ARTÉS, 2009; RICO et al., 2007).

Entre as alternativas de sanitização ao uso do cloro, destaca-se o potencial do ultrassom e dos ácidos orgânicos.

3.3.1.1 Ultrassom como sanitizante

O ultrassom, assim como utilizado na área de saúde e da indústria de eletrônicos, tem um potencial de aplicação na indústria de alimentos (DOLATOWSKI; STANDNIK; STASIAK, 2007). É usado em frequências na faixa de 20-100 kHz e intensidade acima de $1\text{W}/\text{cm}^2$, sendo requerida a presença de um meio líquido, com propriedades elásticas, para transmissão de energia (PATIL et al., 2009; JIRANEK et al., 2008; MARTINES; DAVOLOS; JAFELICCI JUNIOR, 2000).

Campos ultrassônicos consistem de ondas de alta amplitude, que se propagam e movimentam as moléculas ao redor, formando ciclos de compressão e expansão, que implicam na formação de bolhas de gás, produzindo fenômeno chamado de cavitação, como esquematizado na Figura 1 (PIYASENA; MOHARED; McKELLAR, 2003).



Fonte: SÃO JOSÉ, 2009

Figura 1 - Ondas ultrassônicas e o fenômeno de cavitação

Nesse fenômeno ocorre o crescimento, oscilação e colapso destas bolhas, que geram aumento localizado de temperatura e pressão que resultam em inativação microbiana. Desse modo, confere propriedade

sanitizante e de prolongamento da vida de prateleira dos produtos (MIZRACH, 2008; NASCIMENTO et al., 2005).

O mecanismo de ação sanitizante envolve o afinamento e ruptura das membranas celulares e provoca danos ao DNA, desnaturação enzimática, modificação do metabolismo das células e formação de radicais livres a partir de íons hidroxila, de peróxido de hidrogênio e do íon hidrogênio (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

Além desses efeitos físicos e químicos sobre a célula microbiana, o intenso movimento das moléculas provocado pela cavitação favorece a remoção de células aderidas à superfície do alimento, realizando espécie de “varredura” microbiana (JIRANEK et al., 2008).

A utilização do ultrassom na conservação de alimentos iniciou por volta da década de 1960, mas ainda requer mais estudos. Apesar da ação de inativação sobre os micro-organismos, em alguns casos, são percebidos efeitos adversos sobre a qualidade final, advindos de tratamentos de alta intensidade necessária para inativar os organismos mais resistentes (JIRANEK et al., 2008; SEYMOUR et al., 2002).

Há relatos da maior efetividade do ultrassom sobre células gram-negativas, como citado por Nascimento et al. (2005), destacando o trabalho de Lillard (2004) com inativação de células gram-negativas entéricas por ultrassom, quando aplicado em alimentos de origem animal.

Piyasena, Mohareb e McKellar (2003) também revisaram vários trabalhos que corroboram essa sensibilidade, mas destacaram que essa maior resistência das bactérias gram-positivas, como *S. aureus* e *B. subtilis*, não pode ser atribuída apenas à presença de camada de peptidoglicano mais espessa e firmemente aderida, diferente daquelas gram-negativas, pois a ação do ultrassom parece estar mais relacionada a danos citoplasmáticos.

A efetividade de inativação microbiana por ultrassom é dependente do tipo de micro-organismo alvo, do tempo de contato, da frequência e amplitude das ondas de ultrassom, da temperatura e do pH do meio, da composição e volume do alimento em questão.

A FAO propõe o uso do ultrassom em combinação com outras técnicas/processos, como calor, pressão, pH extremos e cloração, por ser mais efetivo para inativação de micro-organismos presentes em alimentos

(DOLATOWSKI et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2005; FAO, 2004; PIYASENA; MOHAREB; McKELLAR, 2003).

Zhou et al. (2009) constataram maior eficiência do ultrassom em combinação com outros sanitizantes na redução de populações de *E. coli* O157:H7 inoculadas em espinafre. Apesar da maior dificuldade de remoção da *E. coli* O157:H7 inoculada na face inferior das folhas de espinafre (lado mais rugoso), pode-se verificar maior eficiência do ultrassom com o aumento do tempo de contato (0 a 4 min).

Diferentemente, em uma avaliação da ação do ultrassom na descontaminação de alfaces minimamente processadas inoculadas com *S. Typhimurium* e *E. coli*, os resultados indicaram maior eficiência do cloro, tanto em pequena como grande escala, em relação ao ultrassom (SEYMOUR et al., 2002).

A ineficiência relatada por alguns autores pode estar associada à distribuição heterogênea do ultrassom nos banhos proveniente da formação permanente de ondas e bloqueio na propagação do ultrassom produzido pelas frutas e hortaliças, como folhas, no líquido de lavagem (ZHOU et al., 2009; SEYMOUR et al., 2002). Salleh-Mack e Roberts (2007) verificaram que a presença de maiores teores de sólidos solúveis em sucos de frutas teve efeito protetor aos micro-organismos na pasteurização de sucos de maçã com o ultrassom.

Apesar da disponibilidade de muitos trabalhos com uso do ultrassom como agente de inibição e, ou inativação microbiana, as comparações são difíceis de fazer. Há variações nas condições e metodologia adotada nos experimentos, tais como frequência do ultrassom, nível de potência, o tamanho e a forma do banho ultrassônico, a profundidade, volume, temperatura e natureza do líquido, e o tempo de tratamento (ZHOU et al., 2009; MIZRACH, 2008). Assim, há uma necessidade de mais pesquisas sobre a eficiência do ultrassom, sozinho e em combinação com outros sanitizantes, para a descontaminação de hortaliças e frutas frescas.

3.3.1.2 Ácidos orgânicos como sanitizante

Alguns ácidos orgânicos, como cítrico, láctico, acético e málico, dentre outros, e seus sais têm sido investigados como agentes antimicrobianos naturais e considerados na categoria de GRAS de aditivos alimentares (OMS-OLIU et al., 2010).

A propriedade antimicrobiana atribuída aos ácidos orgânicos deve-se ao aumento da concentração de prótons no meio e sua difusão nas células microbianas. Com isso, ocorre redução do pH celular, alterações de permeabilidade de membranas, transporte de nutrientes e inibição de enzimas (BJORNSDOTTIR et al., 2006; PARISH et al., 2003).

O ácido láctico ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) tem-se mostrado interessante opção para uso como antimicrobiano. Numa avaliação da cinética de inativação de *Yersinia enterocolítica*, o ácido láctico mostrou-se mais efetivo do que o ácido cítrico, independente da concentração utilizada (VIRTO et al., 2005).

Concentrações de 0,5 % de ácido láctico ou de 0,5 % de ácido cítrico (por 2 min) mostraram-se tão efetivas quanto uso de solução clorada a 100 mg.L^{-1} para redução da população de *E. coli* e *L. monocytogenes* inoculadas em alfaces minimamente processadas (AKBAS; ÖLMEZ, 2007a).

Em outro trabalho com alfaces minimamente processadas, o uso do ácido láctico (5 mL.L^{-1}) e do ácido cítrico (5 g.L^{-1}) para sanitização foram mais efetivos em relação à água ozonizada (4 mg.L^{-1}) e à solução clorada (100 mg.L^{-1}) (AKBAS; ÖLMEZ, 2007b).

A eficiência desse efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos é dependente da concentração do ácido, fatores ambientais, como temperatura e pH do meio, e do tipo de micro-organismo (RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2009).

Em alguns casos, a combinação dos ácidos orgânicos entre si ou com outros componentes ou processos de sanitização tem mostrado efeito sinérgico efetivo (PARISH et al., 2003).

Rahman; Jin e Oh (2011) verificaram efeito sinérgico positivo do ácido cítrico (1 %) em combinação com uso água alcalina eletrolisada como sanitizantes para inativação da população de *E. coli* e *L. monocytogenes*

inoculadas em cenouras minimamente processadas, sem afetar as características sensoriais e com aumento na sua vida de prateleira.

Sagong et al. (2011) também constataram efeito sinérgico no uso dos ácidos láctico (2 %), cítrico (2 %) e málico (2 %) combinados com ultrassom (40 kHz), por 5 min, na inativação de *E. coli* O7:H157, *S. Typhimurium* e *L. monocytogenes* inoculadas em alface orgânica, sem afetar significativamente a cor e textura.

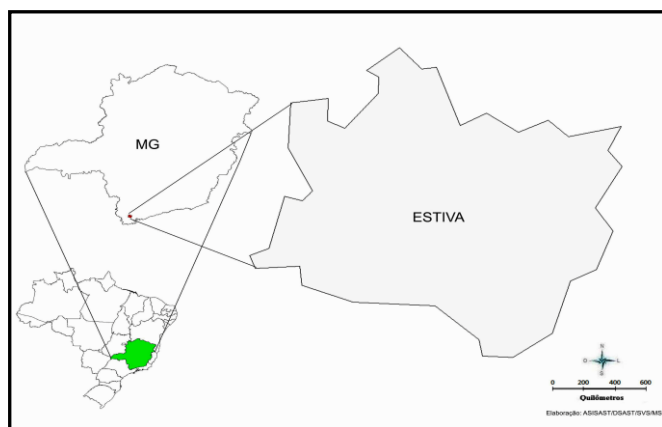
O uso do ácido láctico, a 20 mg.L⁻¹ para sanitização de um tipo de mostarda mostrou-se efetivo para inativação da microbiota durante a vida útil do produto, contudo acarretou prejuízos à qualidade sensorial das folhas (MARTÍNEZ-SÁNCHEZ et al., 2006).

Concentrações acima de 5 % de ácido acético demonstraram efeitos indesejáveis de descoloração e alteração do sabor (SAGONG et al., 2011). Como ressaltado por Ölmez e Kretzchmar (2009), alguns ácidos orgânicos podem afetar negativamente a qualidade sensorial do produto sanitizado. Sendo necessário, assim, para cada produto, ponderar entre a sua eficiência e os efeitos indesejáveis, em uma dada concentração.

4 Material e métodos

4.1 Matéria-Prima

Os morangos da variedade Oso Grande foram adquiridos no período de junho a julho de 2012, em Estiva, cidade do Sul de Minas Gerais, MG (Figura 2), situada a 965 m de altitude, nas coordenadas geográficas 22°27'59" latitude Sul e 46°01'01" longitude Oeste. Está localizada a 409 km de Belo Horizonte, MG e a 165 km da cidade de São Paulo. A temperatura média anual é de 18,2 °C, com média máxima anual de 24,2 °C e média mínima anual de 12,9 °C (IBGE, 2011).



Fonte: IBGE (2011)

Figura 2 - Mapa do Brasil, com destaque para Estado de Minas Gerais e a Cidade de Estiva, na qual foi produzido o morango.

Os morangos colhidos em propriedade assistida pela EMATER-MG foram acondicionados em bandejas de polietileno tereftalato (PET), de dimensões 177 mm x 122 mm x 40 mm e capacidade 300 g, mantidas em recipiente isotérmico e transportadas até o Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alfenas

(LTD/FANUT/UNIFAL-MG) para subsequente armazenamento a $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o processamento.

Foram realizadas 6 colheitas de morango, em 6 semanas diferentes, do início de junho a meados de julho de 2012, época da safra do morango. Para realizar a avaliação da matéria prima e testar a eficiência dos sanitizantes utilizaram-se 5 kg de morango a cada colheita, em três repetições. Na sequência, colheram-se 10 kg de morango para o processamento mínimo, em três repetições.

4.2 Avaliação da matéria-prima

4.2.1 Caracterização microbiológica dos morangos Oso Grande

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNIFAL-MG (LMA/FCF/UNIFAL-MG)

A partir de 300 g de morangos, 50 g foram pesados em balança semianalítica (Bel Engineering, Modelo s423) e adicionados a 450 mL de solução salina peptonada tamponada e homogeneizados em *shaker* (Ethik Technology, Modelo 109-1) por 5 min, a 350 rpm. Do homogenato foi retirado, assepticamente, 1 mL para preparação de diluições decimais seriadas e o plaqueamento adequado. Os seguintes micro-organismos foram pesquisados:

a) Mesófilos Aeróbios: metodologia da Contagem Total de Aeróbios Mesófilos (*American Public Health Association*, APHA, 2001) foi utilizada. Preparadas as diluições a 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , realizou-se o plaqueamento em profundidade em ágar para contagem total (PCA) (HMEDIA Laboratories), em duplicata. Fez-se a incubação das placas invertidas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por $48\text{ h} \pm 2\text{ h}$. Determinou-se o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de morango e os resultados foram expressos em logaritmo dessa contagem ($\log\text{ UFC.g}^{-1}$).

b) Fungos Filamentosos e Leveduras: utilizou-se o Método da Contagem Total de Fungos Filamentosos e Leveduras (TOURNAS et al., 2001). Foi realizado o plaqueamento em superfície, com auxílio de alça de Drigalski, em Ágar Batata Dextrose (BDA) (HMEDIA Laboratories) acidificado com ácido tartárico 10 % (pH 3,5), em duplicata. Depois de secas, as placas de Petri foram incubadas a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 dias. Com a leitura das placas, determinou-se o número de UFC.g⁻¹ e os resultados foram expressos em log UFC.g⁻¹

c) Psicrotróficos: foi utilizada a Contagem Total em Placas de psicrotróficos (APHA, 2001), seguindo-se do plaqueamento em superfície em Ágar para Contagem (PCA), (HMEDIA Laboratories), em duplicata, com incubação das placas a $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 7 a 10 dias. A contagem destes micro-organismos foi expressa em número de UFC.g⁻¹ de amostra e os resultados expressos em log UFC.g⁻¹.

d) *Salmonella* spp.: utilizou-se a metodologia de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e plaqueamento diferencial, conforme APHA (2001) com modificações. Para pré-enriquecimento, 50 g da amostra foram diluídas em 450 mL de solução salina peptonada tamponada e incubada a $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 h. Após agitação em agitador de tubos, tipo vortex (Marca Biomixer, modelo QL-901), esse meio foi transferido em alíquotas de 1 mL para tubo contendo 9 mL de Caldo Tetrationato (TT), (Isofar Micromed), e 0,1 mL em 9,9 mL do Caldo Rapaport-Vassilidis (RV), (HMEDIA Laboratories). Incubados a $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 h, para enriquecimento seletivo. Desses tubos, foram retirados 0,1 mL para plaqueamento diferencial em Agar Rambach (Merck®), incubado a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 h. Dos tubos com aspecto característico, as colônias foram estriadas em placas com Ágar Salmonella-Shigela (SS) (colônias incolores com ou sem centro preto em meio amarelo pardo), Ágar Hecktoen Entérico (HK) (colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto) e Ágar *Salmonella* Diferencial Modificado - RajHans (RJ) (colônias vermelhas) e, posteriormente, incubadas em estufa a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h.

Os resultados foram expressos por presença/ausência em 25 g de morango.

4.2.2 Caracterização física e química dos morangos Oso Grande

As análises físicas e químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição da UNIFAL-MG.

As seguintes análises foram realizadas nos morangos, com três repetições:

a) Sólidos Solúveis (SS): obtida em refratômetro digital Atago PR-100 (ATAGO Co. Ltd, Tokyo, Japão), sendo cinco leituras realizadas a partir da amostra triturada, em cada repetição e os resultados expressos em ° Brix.

b) Acidez Total Titulável (ATT): determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N, padronizado, usando potenciometria, com viragem ao alcançar-se pH de 8,1 (IAL, 2008), em triplicata para cada amostra. Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico.

Pesaram-se 10 g de amostra triturada e adicionaram-se 100 mL água recém-destilada. Manteve-se a agitação com agitador magnético durante titulação com NaOH 0,1 N até alcançar pH 8,1, medido por potenciometria.

c) Relação SST/ATT: Relação obtida a partir do quociente da divisão entre sólidos solúveis e acidez total titulável, para indicar índice de qualidade relacionada à maturidade e sabor dos morangos, em triplicata.

d) Potencial Hidrogeniônico (pH) : determinado por eletrometria, com uso do potenciômetro digital Gehaka Modelo PG1800, segundo técnica da AOAC (1997).

Pesaram-se 10 g amostra triturada e adicionaram-se 100 mL água recém destilada. Usou-se agitação para que as partículas ficassem uniformemente suspensas e determinou-se o pH, com o aparelho previamente calibrado, em triplicata.

e) Textura: medida com texturômetro TA – XT *Express Stable Micro Systems* com probe cilíndrico P75, na região equatorial do morango. Seguiram-se as seguintes condições de operação: medida de compressão com velocidade pré-teste de 1,5 mm.s⁻¹; velocidade teste de 1,5 mm.s⁻¹; e de pós teste de 10 mm.s⁻¹ e distância de 10 mm. Foram utilizados 10 frutos de cada repetição.

f) Cor: A avaliação da cor foi realizada por meio de colorímetro Color Reader CR-10 (Konica Minolta®), no Sistema da *Commision Internationale L'Eclairage* (CIE) L*, a* e b*, calibrado previamente. As leituras foram realizadas em 2 pontos opostos da região equatorial de 10 amostras de cada repetição. A partir das coordenadas a* e b* determinou-se o ângulo Hue (°H) e croma (C) por meio das seguintes fórmulas:

$$\text{Hue} = ^\circ\text{H} = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

$$\text{Croma} = C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

4.2.3 Delineamento experimental e análises dos resultados

Para caracterização dos morangos, usou-se o delineamento inteiramente casualizado, em três repetições.

Os resultados das contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, fungos filamentosos e leveduras e *salmonella* corresponderam à média obtida das análises em cada repetição.

O mesmo procedimento foi realizado para os resultados de SS, ATT, razão SS/ATT, pH.

As médias obtidas foram comparadas com resultados de outros trabalhos, disponibilizados na literatura, relacionados à morangos Oso Grande.

4.3 Eficiência da sanitização de morangos aderidos intencionalmente com *Escherichia coli*

Realizou-se o teste desafio com ultrassom, ácido láctico e dicloroisocianurato de sódio e suas combinações para inativar *Escherichia coli* ATCC 11229 inoculadas na superfície de morangos Oso Grande.

Este teste constou da avaliação do potencial do sanitizante para inativar *Escherichia coli* ATCC 11229, obtida no Laboratório de Higiene e Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (LHMA/DTA/UFV), e inoculada intencionalmente nos morangos *in natura* (Figura 3).

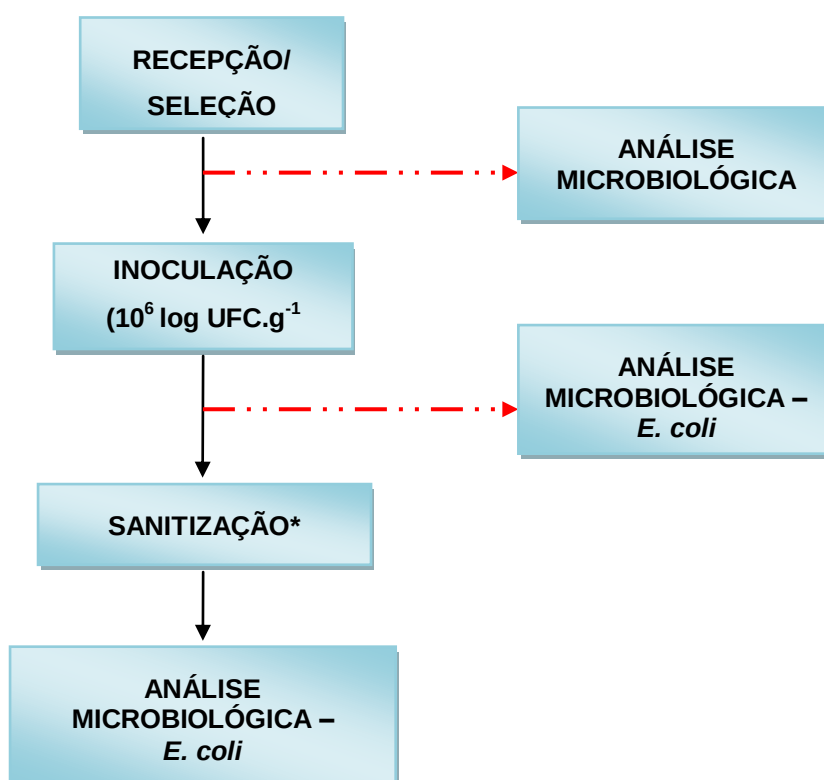


Figura 3 - Esquema básico de avaliação da eficiência dos sanitizantes sobre *Escherichia coli* aderidas ao morango

Foram estabelecidos dez tratamentos para avaliar a eficiência do ultrassom e do ácido láctico como sanitizantes de morangos Oso Grande, usados isoladamente ou em combinação entre si, além do dicloroisocianurato de sódio e a água de potável (Tabela 4).

A partir da suspensão desse micro-organismo em Agar BHI, em fase logarítmica de crescimento fez-se uma suspensão em 9 mL de solução salina esterilizada, de forma a obter com turvação igual ao tubo 10 da Escala de McFarland, cuja concentração estimada é, aproximadamente, de $3,0 \times 10^9$ bactérias.mL⁻¹ (PELOSO et. al., 2010).

Para a adesão bacteriana, 10 mL da suspensão de bactérias foram acrescidos a 1 L de solução salina 0,85 % esterilizadas, seguindo-se de agitação em *shaker* (Ethik Technology, Modelo 109-1) por 5 min a 100 rpm. Na sequência, 1000 g morangos foram colocados nessa solução, assepticamente, e realizada novamente a agitação por 10 min a 150 rpm. Os morangos permaneceram imersos nessa solução a 20 °C, por 2 h. Após esse período, os morangos foram drenados, acondicionados em sacos plásticos esterilizados e mantidos sob temperatura de 10 °C por 6 h.

Tabela 4 Tratamentos realizados para teste de desafio do sanitizante

Tratamento	Sanitizante 1	Sanitizante 2
1	US* (40kHz)	0
2	US (40 kHz)	DCIS** (100 mg.L ⁻¹ cloro residual livre e pH = 6,0)
3	US (40 kHz)	DCIS (50 mg.L ⁻¹ cloro residual livre e pH = 6,0)
4	0	DCIS (100 mg.L ⁻¹ , cloro residual livre e pH = 6,0)
5	0	DCIS (50 mg.L ⁻¹ cloro residual livre e pH = 6,0)
6	US (40 kHz)	Ácido Lático 2 %
7	US (40 kHz)	Ácido Lático 1 %
8	0	Ácido Lático 2 %
9	0	Ácido Lático 1 %
10	Controle (água potável)	0

*US = Ultrassom; **DCIS = dicloroisocianurato de sódio

Após o período para adesão, os morangos foram sanitizados, conforme os tratamentos propostos, por 10 min, sendo a água de

imersão/banho ou diluição resfriada (12 – 14 °C) e isenta de cloro, exceto a potável (Tratamento 10).

A contagem inicial de micro-organismos foi determinada utilizando a técnica da lavagem superficial (50 g de morango para 450 mL de solução salina 0,85 %, com agitação em *shaker*, Ethik Technology, Modelo 109-1, por 5 min, a 350 rpm). Usando 1 mL do homogenato foram preparadas soluções decimais seriadas em solução salina 0,85% esterilizada (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}). Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram plaqueadas em duplicata em Placas Petrifilm™ para *E. coli* e incubadas por 48 h $\pm$ 2 h a 35 °C $\pm$ 1 °C, de acordo com Método 991.14 da AOAC (2000), com três repetições. Em cada tratamento, os morangos foram previamente inoculados por imersão em uma suspensão com aproximadamente 10^6 UFC.mL⁻¹ de *E.coli* ATCC 11229.

O tratamento com ultrassom foi aplicado em uma cuba retangular com água resfriada na frequência de 40 kHz, potência de 120 W, com capacidade de 6 L (Soniclean Sabders).

O dicloroisocianurato de sódio (DCIS), Hidrosan Plus®, com concentração de 51 %, foi dissolvido em água resfriada conforme orientação do fabricante para a obtenção das concentrações de 100 mg.L⁻¹ e de 50 mg.L⁻¹ de cloro residual livre, confirmadas por titulação com tiosulfato de sódio, e pH de 6,0.

O ácido láctico (VETEC®) 85 % pureza foi diluído em água sem cloro nas concentrações de 1 % e 2 %.

Para todos os tratamentos utilizou-se água proveniente de um resfriador com filtro de carvão ativado para remoção do cloro, com exceção da água potável.

A dosagem de cloro residual livre da água potável indicou 0,1 mg.L⁻¹, por meio do uso do kit Chlor-Test, Método colorimétrico, DPD 0,1 a 2 mg.L⁻¹ Cl₂, Microquantitativo (Merck®).

4.3.1 Delineamento experimental e análises dos resultados

Para a avaliação da eficiência dos sanitizantes, usou-se o delineamento inteiramente casualizado com dez tratamentos (Quadro 1), em

três repetições. Os resultados da redução decimal de *Escherichia coli* por grama de morango foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas estatisticamente pelo Teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Utilizou-se o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., North Carolina, USA, 1989) versão 9.1 licenciado para a Universidade Federal de Viçosa.

4.4. Estabilidade e qualidade dos morangos minimamente processados

Após a determinação da eficiência dos sanitizantes testados em sua menor concentração efetiva, investigou-se a estabilidade e qualidade física, química e microbiológica dos morangos minimamente processados, armazenados sob refrigeração a 5 °C, por até 9 dias.

4.4.1 Processamento mínimo do morango

O esquema do processamento mínimo dos morangos está resumido na Figura 4.

Os morangos selecionados manualmente com base no grau de maturação (3/4 e 4/4 vermelhos) e sem injúrias tiveram o pedúnculo e cálice removidos com auxílio de faca de aço inoxidável.

Após essas etapas, os morangos foram sanitizados por 10 min com os melhores tratamentos verificados previamente: a) ácido láctico 1 % (pH=1; temperatura média de 14 °C) ou b) ácido láctico 1 % associado com ultrassom 40 Hz (pH=1; temperatura média de 14 °C). Utilizou-se como controle a água potável (pH=6; temperatura média de 22 °C; teor médio de cloro livre = 0,1 mg.L⁻¹).

Para os banhos de ácido láctico com ou sem ultrassom utilizou-se água sem cloro, proveniente de um resfriador com filtro de carvão ativado para remoção do cloro.

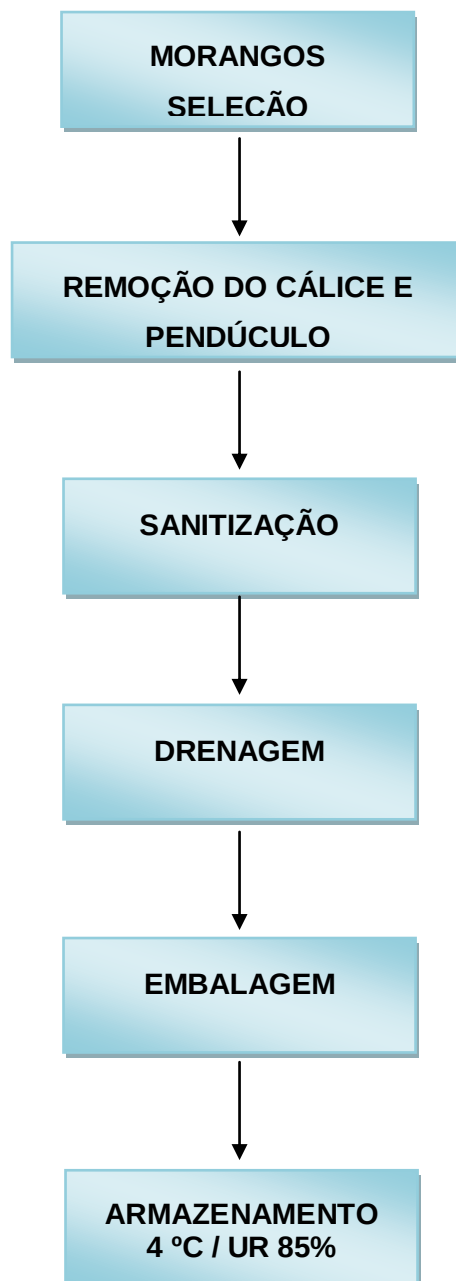


Figura 4 - Esquema básico do processamento mínimo dos morangos Oso Grande

Após a sanitização, os morangos foram drenados por 10 min, com auxílio de papel toalha esterilizado. Na etapa seguinte, acondicionaram-se os pseudofrutos, em embalagens de polietileno tereftalato (PET) recobertas com filme flexível de policloreto de vinila (PVC), 12 μm , mantidas sob refrigeração a 5 °C e umidade de 85 %, por até 9 dias.

As avaliações da qualidade microbiológica, física e química foram realizadas nos tempos: zero, 3, 6 e 9 dias consecutivos ao processamento, para todas as características avaliadas.

4.4.2 Análise da qualidade microbiológica dos morangos minimamente processados

As análises microbiológicas realizadas foram aquelas mesmas descritas no item 4.2.1 “Caracterização microbiológica”

4.4.3 Análise da qualidade física e química dos morangos minimamente processados

Além das análises descritas no item 4.2.2 “Caracterização física e química dos morangos Oso Grande”, realizou-se também:

- Perda de Massa: obtida por meio da diferença entre as pesagens das embalagens contendo o produto, em cada intervalo de tempo em relação ao peso inicial, em balança digital analítica eletrônica Radwag Modelo AS 220/C/2, com capacidade de 200 g e precisão de 0,001 g. Os resultados foram expressos em porcentagem de perda de massa.

4.4.4 Delineamento experimental e análise dos resultados

O efeito da sanitização sobre a contagem dos micro-organismos foi testado pela análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo Teste de Duncan, com significância de 95%.

Para qualidade microbiológica, física e química dos morangos minimamente processados utilizou-se um delineamento em parcela subdividida, com tratamentos de sanitizantes (ácido láctico; ultrassom + ácido láctico; água potável), inteiramente ao acaso, nas parcelas e o tempo de armazenamento, a 5 °C, nas subparcelas (tempos zero, três, seis e nove dias), com três repetições. Os resultados relativos aos sanitizantes foram analisados ANOVA e ao tempo por meio de regressão. Quando necessário, as médias foram comparadas pelo Teste de amplitudes múltiplas de Duncan, a 5% de probabilidade.

5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização da matéria-prima

Os morangos apresentaram padrão de qualidade adequado para o processamento mínimo, conforme caracterização microbiológica, física e química realizada.

5.1.1 Aspectos microbiológicos da matéria-prima

A contagem de alguns micro-organismos presentes nos morangos utilizados para processamento mínimo é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5- Caracterização microbiológica dos morangos Oso Grande utilizados para processamento mínimo, 2013.

Variável	Resposta (média $\pm$ desvio padrão)*
Mesófilos aeróbios	3,5 $\pm$ 0,75 Log UFC.g ⁻¹
Psicrotróficos	3,4 $\pm$ 0,10 Log UFC.g ⁻¹
Fungos filamentosos e leveduras	3,5 $\pm$ 0,45 Log UFC.g ⁻¹
Salmonella ssp.	Ausência em 25 g

*Média de três repetições

A presença dessa microbiota pode ser originária de fontes relacionadas ao cultivo, envolvendo condição fitossanitária das mudas, o contato com o solo, o uso de fungicidas e a qualidade da água de irrigação. Inclui ainda as condições de colheita, como uso de cestos de madeira, higiene das mãos dos produtores, contato com o solo e com frutos doentes; de acondicionamento e de transporte (MATTOS; ANTUNES, 2007; SANHUEZA et al., 2005). A adoção das Boas Práticas Agrícolas e das Boas

Práticas na manipulação desses frutos é primordial para obtenção de frutos de melhor qualidade sanitária (MORETTI, 2008).

Abadias et al. (2008), ao avaliarem a qualidade microbiológica de frutas minimamente processadas adquiridas do comércio da região de Catalunha, Espanha, entre 2005 e 2006, constataram contagem de bactérias mesófilas aeróbias que variaram de 2,0 a 7,1 log UFC.g⁻¹ e de psicrotróficos de 1,7 a 7,1 log UFC.g⁻¹ e de fungos filamentosos e leveduras de 1,7 a 4,9 log UFC.g⁻¹, também não foram detectadas salmonela, *Listeria monocytogenes* e *E. coli* O157:H7.

Ainda que as maiores preocupações de segurança alimentar da cadeia produtiva estejam relacionadas à contaminação por bactérias e vírus patogênicos e a presença de resíduos de pesticidas (VAN BOXSTAEL et al., 2013), a presença de micro-organismos deterioradores podem comprometer a vida de prateleira dos produtos e reduzir o percentual aproveitável dos alimentos.

5.1.2 Aspectos físico e químico da matéria-prima

Na Tabela 6 está apresentada a caracterização física e química inicial dos morangos Oso Grande.

Tabela 6 - Caracterização física e química dos morangos Oso Grande utilizados para processamento mínimo.

Variável	Resposta (média ± desvio padrão)
pH	3,71 ± 0,003
Sólidos Solúveis	7,7 ± 0,42 °Brix
Acidez total titulável	1,0 ± 0,18 % ácido cítrico
Firmeza	1,92 ± 0,52 N
L*	44,1 ± 3,84
° Hue	26,7 ± 6,95
Croma	30,7 ± 3,82

Média de três repetições

Alguns dos resultados apresentaram semelhança com dados relativos à mesma variedade avaliada, e produzida em Bom Repouso, Sul de Minas Gerais, sendo o teor de sólidos solúveis de 8,1 °Brix, acidez total titulável de 0,90 % de ácido cítrico e pH de 3,79 (PÁDUA et al., 2006). Resende et al. (2008), também constataram o teor de sólidos solúveis médio de 7,8 °Brix para variedade Oso Grande, porém o teor de acidez total titulável correspondeu a 0,80 % de ácido cítrico.

Fumis et al. (2003), ao compararem diferentes cultivares de morango puderam constatar o pH de 3,19 da variedade Oso Grande, sendo uma das menos ácidas, característica favorável para o consumo *in natura*. Costa et al. (2011) detectaram, para variedade Dover pH de 3,17. Reis et al. (2008) verificaram pH de morangos Oso Grande próximos a 3,70 e Alves (2009) de 3,69. Essas diferenças podem estar associadas ao grau de maturação dos morangos, que favorecem a redução de ácidos e ao aumento do pH (FRANÇOSO et al., 2008).

As coordenadas de cor demonstraram tratar-se de pseudofrutos com cor vermelha intensa. Pelayo, Ebeler e Kader (2003) obtiveram resultados semelhantes, ao avaliarem outras variedades de morango, como a Selva, com valores de L* 37,3; ° Hue de 31,5 e croma 44,0, em ponto de colheita ¾ e 4/4 maduros.

A média do valor de firmeza foi numericamente inferior à encontrada por Cantillano et al. (2008) para outras variedades de morango, sendo Ventana 2,31 N; Aromas, 2,88 N; e Camino Real 3,13 N. Pode-se associar essas diferenças entre as cultivares e estágio de maturação, condições de colheita e de conservação pós colheita.

Associando-se o valor de firmeza determinado com os demais dados, verifica-se que os morangos usados como matéria-prima para processamento mínimo estavam maduros e em condição adequada para consumo *in natura*.

5.2 Eficiência da sanitização de morangos aderidos intencionalmente com *Escherichia coli*

O uso do ácido láctico demonstrou maior capacidade de redução de *E. coli* no teste de desafio dos sanitizantes (Tabela 7). Os tratamentos com ácido láctico isoladamente e em combinação com ultrassom apresentaram redução na contagem de *E. coli* em, pelo menos, 3 ciclos log. Contudo, o uso de DCIS 50 mg.L⁻¹ e do ultrassom isoladamente proporcionaram redução menor que 0,5 log UFC.g⁻¹.

Tabela 7 - Média da redução decimal da contagem de *E. coli* após a utilização de diferentes sanitizantes (Log UFC.g⁻¹)

Tratamento	Média* da redução decimal (Log UFC/g)
Ácido láctico 2%	4,4 ± 0,27a***
Ácido láctico 1%	3,9 ± 0,67a
US** 40 KHz + Ácido láctico 2%	3,5 ± 0,96a
US 40 KHz + Ácido láctico 1%	3,5 ± 0,93a
US 40 KHz + DCIS 100 mg.L ⁻¹	2,0 ± 0,24b
DCIS 100 mg.L ⁻¹	1,5 ± 0,53b
DCIS 50 mg.L ⁻¹	1,4 ± 0,33bc
Controle H ₂ O potável	1,1 ± 0,34bcd
US 40 KHz + DCIS 50 mg.L ⁻¹	0,4 ± 0,33cd
US 40 KHz	0,2 ± 0,24d

* Média de três repetições

** US – ultrassom; DCIS – dicloroisocianurato de sódio; H₂O – água;

*** Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$).

Wang et al. (2013) verificaram que o aumento na concentração de ácido láctico (0,5 % a 2 %) apresentou redução decimal significativa ($p < 0,05$) na população dos patógenos *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 e *S. Typhimurium* inoculados em brotos de lótus. Velázquez et al. (2009) verificaram redução de 5,08 log UFC.g⁻¹ *Yersinia enterocolítica* em tomates

após sanitização com ácido láctico 0,2 %. A redução de *E. coli* O157:H7 em alfaces foi de 1,71 log UFC.g⁻¹ com uso deste ácido a 1 %.

A eficiência do ácido láctico está associada à concentração, ao tempo de contato, ao pH do meio, aos micro-organismos envolvidos e sua quantidade e à natureza da superfície do alimento a ser sanitizado (ÖLMEZ; TEMUR, 2010; AKBAS; ÖLMEZ, 2007a).

Em outro estudo, o efeito combinado do ultrassom (40 kHz) com ácidos orgânicos (0, 3 %, 0,5 %, 0,7 %, 1,0 % e 2,0 %), inclusive o ácido láctico, por 5 min, foi mais efetivo que os tratamentos isolados para redução de *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 e *S. Typhimurium* inoculadas em alfaces orgânicas frescas (SAGONG et al. 2011).

O uso dos ácidos orgânicos pode ser favorável para redução da contagem microbiana, a depender das condições do meio e características do alimento, além dos micro-organismos contaminantes (RAJKOVIC; SMIGIC, DEVLIEGHIERE, 2010). O uso do ácido cítrico, nas concentrações de 0,5 %, 1,0 % e 1,5 %, por 0, 3, 6, 9 e 12 min, não foi efetivo para redução de *E. coli* ATCC 11775 em alfaces, tomates e cenouras (BERMÚDEZ-AGUIRRE, BARBOSA-CÁNOVAS, 2013).

Essa ineficiência na sanitização pelo ultrassom neste estudo pode estar associada aos aspectos relacionados ao pseudofruto, como topografia da superfície e densidade; e relativos ao uso do ultrassom, como a intensidade e a frequência do gerador de ultrassom, o tempo de contato e a temperatura do meio e o *design* do equipamento; e, ainda, aos micro-organismos presente (ADAY et al., 2012; CAO; HU; PANG, 2010; PIYASENA, MOHAREB; McKELLAR, 2003; RASO et al., 1999).

A presença do cesto e o contato entre os morangos, que tendem a se agregarem em meio líquido (Figura 5) podem ter dificultado a ação física promovida pela cavitação e desfavorecido à formação de radicais livres e danos ao DNA da célula microbiana, condições essas importantes para efetividade do ultrassom como sanitizante (CHANDRAPALA et al., 2012; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; RAWSON et al., 2011).

Durante as etapas piloto, testou-se a sanitização dos morangos sem o uso do cesto, mas a tendência dos pseudofrutos era flutuarem nos meios usados (água e solução do ácido láctico), reduzindo o contato.



Figura 5 - Disposição dos morangos na cuba de ultrassom para sanitização

A frequência do ultrassom tem implicação na redução da contagem de micro-organismos e também na aparência das frutas. O uso do ultrassom a 40 kHz foi mais efetivo na redução da microbiota presente em morangos e manutenção da qualidade durante a estocagem, em comparação com frequência de 25 ou 28 ou 59 kHz ($p < 0,05$) (CAO et al., 2010).

De acordo com Huang et al. (2006), o ultrassom 170 kHz, utilizado isoladamente, por 3, 6 e 10 min, não apresentou efetividade na redução de *Salmonella* e *E. coli* O157:H7 inoculadas em alfaces e em maçãs, com redução menor que $0,9 \log \text{UFC.g}^{-1}$ atribuída ao efeito de lavagem. Esse resultado melhora ao associar o ultrassom ao dióxido de cloro, 5, 10, 20 e 40 mg.L^{-1} . Contudo, o efeito sanitizante sobre as bactérias inoculadas na maçã foi maior do que sobre aquelas presentes na alface ($p < 0,05$). Os autores atribuíram essa diferença à superfície irregular das folhas de alface, pois a superfície da maçã permite um maior contato da onda ultrassônica e facilita a ação do dióxido de cloro. As superfícies irregulares, como da alface e do morango podem proporcionar alguma proteção para as células bacterianas, dificultando a remoção e, ou eliminação.

Ajlouni et al. (2006) não obtiveram efetividade com o uso do ultrassom, 40 kHz, em combinação com soluções de ácido peracético (0,005%, 0,01% e 0,02%), ácido acético (0,025%, 0,05%, 1% e 2%), peróxido de hidrogênio (0,025%, 0,05%, 1% e 2%) e hipoclorito de cálcio (100 mg.L^{-1} e 200 mg.L^{-1}), e com variação de tempo e de temperatura (2, 6, 10 e 20 min; 4, 20 e 50 °C) para sanitização de alfaces. Em todos os casos,

não apresentaram efeito significativo na redução da contagem de psicrotróficos ($p > 0,05$), e naqueles tratamentos com maior tempo de contato provocaram efeitos indesejáveis na aparência.

Outro fator importante é o posicionamento da sonda ultrassônica, que pode favorecer à distribuição não uniforme e, a depender das condições do meio, dificultar a propagação e formação do fenômeno de cavitação (ZHOU; FENG; LUO, 2009).

Há ainda que se considerar a ação mecânica do ultrassom, provocada pelo colapso das bolhas da cavitação, capaz de desagregação de células aderidas à superfície do morango. Com isso, pode ter favorecido a uma maior contagem no número de *E. coli*, sem efetivamente eliminá-las. Mason et al. (2005) destacam inclusive, a esse respeito, a vantagem do uso do ultrassom em combinação com um sanitizante químico.

5.3 Estabilidade e qualidade dos morangos minimamente processados

5.3.1 Qualidade microbiológica dos morangos minimamente processados

Após a sanitização, o uso do ácido láctico 1 % possibilitou uma redução média na contagem de mesófilos de 3,1 Log UFC.g⁻¹, sendo estatisticamente diferente dos demais sanitizantes (Tabela 8).

Tabela 8 - Redução decimal média da contagem de micro-organismos após a sanitização, utilizando diferentes sanitizantes (Log UFC.g⁻¹)

Tratamento	Redução Decimal da Contagem Microbiana (Log UFC.g ⁻¹)*		
	Mesófilos	Psicrotróficos	Fungos filamentosos e Leveduras
Água Potável	1,5b*	1,3a	1,0a
Ácido Láctico 1 %	3,1a	1,3a	0,9a
Ultrassom + Ácido láctico 1 %	1,9b	0,8 ^a	1,1a

* Média de três repetições

**Médias, seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$)

No entanto, as reduções decimais da contagem de psicrotróficos e de fungos filamentos e leveduras, não apresentaram diferenças significativas entre os sanitizantes utilizados ($p=0,45$, e $p=0,82$, respectivamente). Verificou-se uma redução média de $1,1 \log \text{UFC.g}^{-1}$ de psicrotróficos e de $1,0 \log \text{UFC.g}^{-1}$ de fungos filamentos e leveduras.

Os tratamentos de sanitização apresentaram efeito significativo sobre a contagem de mesófilos aeróbios ($p < 0,02$). Diferentemente, o tempo de armazenamento e a sua interação com os tratamentos não apresentaram efeito significativo, $p = 0,05$; $p = 0,77$, respectivamente (Tabela 9).

Tabela 9 - Resumo da ANOVA de mesófilos aeróbios, psicrotróficos e fungos filamentosos e leveduras avaliados no processamento mínimo de morangos Oso Grande.

Variável	Fonte Variação	GL	QM	Prob > F	CV%
Mesófilos Aeróbios	Sanitizantes	2	4,4723	0,022*	
	Resíduo (a)	6	0,5808		13,18
	Tempo	3	2,5962	0,0511 ^{n.s.}	
	Sanitizantes *tempo	6	0,4465	0,7717*	
	Resíduo (b)	18	0,8281		11,4
Psicrotróficos	Sanitizantes	2	0,0685	0,7442 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	0,2205		15,47
	Tempo	3	3,8807	<0,0001*	
	Sanitizantes *tempo	6	0,1529	0,4490 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,1513		12,82
Fungos Filamentos e Leveduras	Sanitizantes	2	0,1083	0,5593 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	0,1689		42,24
	Tempo	3	3,3092	<0,0001*	
	Sanitizantes *tempo	6	0,1351	0,4158 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,1262		50,4

GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; Nível de significância: 5% de probabilidade pelo teste de Fischer

* = Efeito significativo; n.s.= efeito não significativo

O uso do ácido láctico 1 % isolado e em combinação com o ultrassom proporcionou uma menor contagem de mesófilos aeróbios, em relação à verificada com uso da água potável apenas (Tabela 10). Já o tempo de armazenamento e a interação deste com os tratamentos de sanitização não apresentaram efeito significativo sobre a contagem desses micro-organismos ($<0,05$) (Tabela 11).

Tabela 10 - Média e desvio padrão da contagem de mesófilos aeróbios em morangos minimamente processados, em relação aos tratamentos com uso de diferentes sanitizantes, durante armazenamento por 9 dias, a 5 °C

Tratamento	Mesófilos aeróbios (Log UFC.g ⁻¹)
Água Potável	2,5 ± 0,87a
Ácido Láctico 1%	1,3 ± 0,99b
Ultrassom + Ácido láctico 1%	1,6 ± 0,94b

Médias, seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Duncan ($p > 0,05$)
Média de três repetições.

Tabela 11 - Média e desvio padrão do logaritmo da contagem de mesófilos aeróbios por grama de morangos minimamente processados, com uso de diferentes sanitizantes, armazenados por 9 dias, a 5°C.

Tratamento		Tempo de armazenamento (dias)			
		0	3	6	9
Mesófilos aeróbios (Log UFC/g)	Água Potável	2,0 ± 1,04	1,9 ± 0,34	3,1 ± 1,02	2,9 ± 0,2
	Ácido láctico 1 %	1,0 ± 0,60	1,3 ± 0,95	1,4 ± 1,12	2,0 ± 0,70
	Ultrassom + Ácido láctico 1 %	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,72	2,0 ± 0,45	2,1 ± 1,61

Média de três repetições.

Huang e Chen (2011) verificaram maior efetividade no uso do ácido láctico (1 %) isolado ou em combinação com outros ácidos orgânicos (1 %) ou com peróxido de hidrogênio (1 %) associado ao aquecimento de 40 °C, por 5

min, na redução aproximada de $2,7 \log \text{ UFC.g}^{-1}$ de *E. coli* O157:H7, inoculadas em espinafres minimamente processados, em comparação com outros ácidos orgânicos ou água clorada ou peróxido de hidrogênio isolados, associados com aquecimento.

Nesse estudo, o ácido láctico foi mais efetivo sobre os micro-organismos aeróbios mesófilos, em comparação com os resultados obtidos para psicrotróficos e fungos filamentosos e leveduras.

Os ácidos orgânicos têm efeito tanto sobre células Gram-positivas quanto Gram-negativas. No interior da célula, as moléculas dos ácidos se ionizam após dissociação e promovem redução do pH. Essa condição pode inibir a glicólise, com alteração na permeabilidade das membranas e inibição do transporte ativo. Como consequência, afeta o transporte de substratos, inclusive a eliminação de prótons para o exterior celular. Destaca-se ainda como ação dos ácidos orgânicos a inibição da cadeia de transportes de elétrons. Assim, o ácido láctico provoca transtorno em todo metabolismo da célula microbiana (RAYBAUNDI-MASSILIA et al., 2009)

O efeito da interação dos tratamentos de sanitização com o tempo de armazenamento, a 5 °C, também não proporcionou diferenças significativas na contagem de psicrotróficos ($p=0,4490$) e de fungos filamentosos e leveduras ($p=0,4158$) dos morangos minimamente processados. Porém, o tempo de armazenamento influenciou significativamente ($p < 0,001$ para ambos) a contagem desses micro-organismos, sendo o modelo linear da regressão o que melhor representou os resultados.

Na Figura 6 é apresentada a contagem desses micro-organismos com as respectivas estimativas, com base na equação de regressão em função do tempo, para cada tratamento.

A sanitização, por mais eficiente, não é capaz de eliminar completamente a microbiota presente nos morangos. Assim, durante o período de armazenamento percebeu-se o aumento na contagem dos psicrotróficos e dos fungos filamentosos e leveduras.

As condições do meio proporcionadas pelos morangos são favoráveis ao crescimento dos micro-organismos, pela umidade e disponibilidade de nutrientes decorrente de tecidos lesionados durante o armazenamento (AJLOUNI et al., 2006).

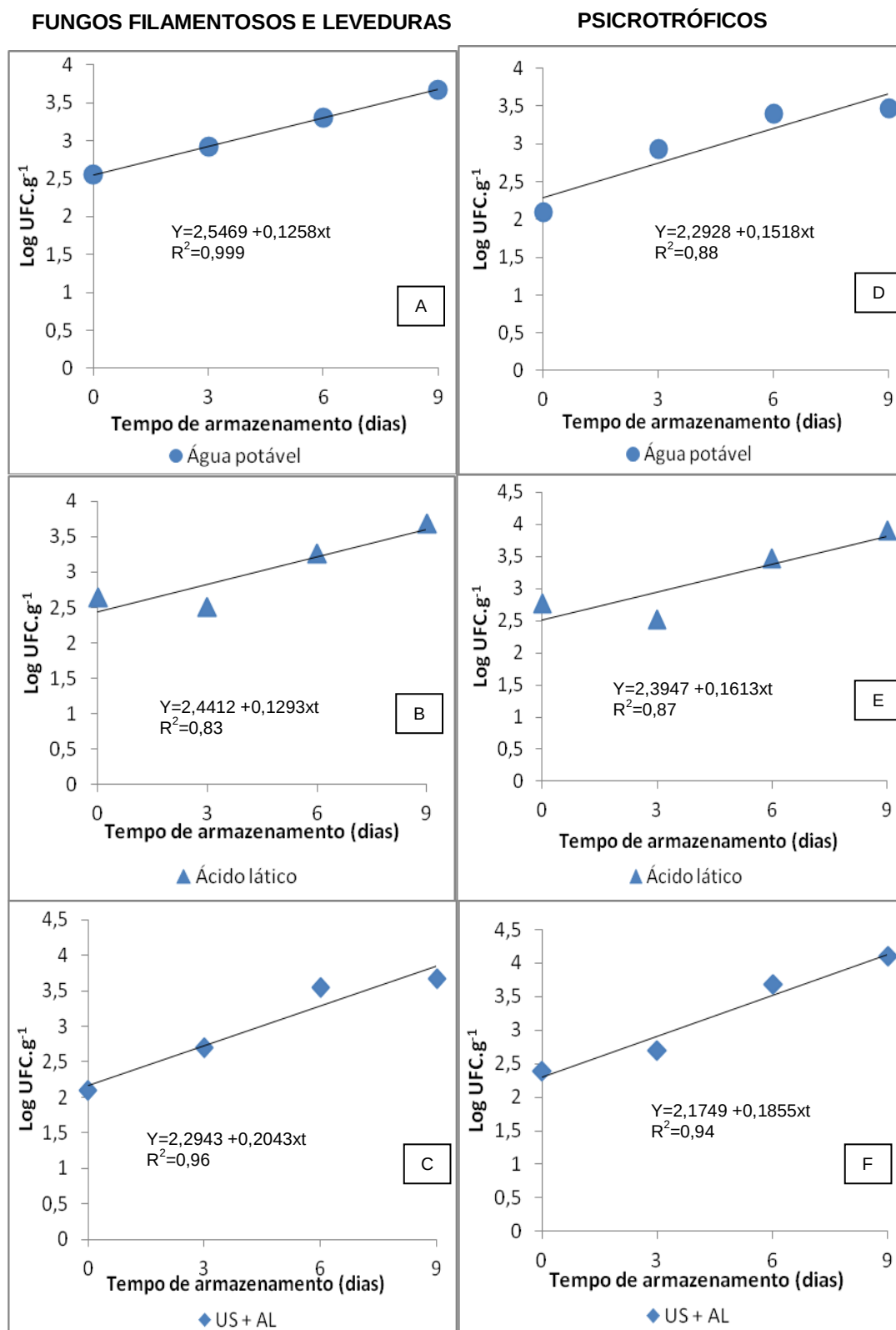


Figura 6 - Contagem média e desvio padrão, em Log UFC.g⁻¹, de fungos filamentosos e leveduras (A, B e C) e de psicrotróficos (D, E e F) presentes nos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.

O armazenamento a 5 °C não foi impeditivo à multiplicação microbiana, principalmente dos psicrotróficos e dos fungos filamentosos e leveduras. Tournas; Heeres e Burgess (2006) identificaram a presença de leveduras em frutas e saladas de frutas, inclusive de morangos, ainda que mantidos sob refrigeração, indicando a capacidade desses micro-organismos de resistirem às baixas temperaturas.

Outro fator, o pH é limitador ao crescimento das bactérias, pois muitas não toleram pH inferior a 3,5. Mas tem pouco efeito sobre os fungos filamentosos e leveduras.

Após o sexto ou nono dias, em média, a contagem dos psicrotróficos e dos fungos filamentosos e leveduras foram superiores à contagem inicial, antes dos tratamentos de sanitização. Essa contagem não ultrapassou a ordem de 10^3 UFC.g⁻¹ de psicrotróficos e de 10^3 UFC.g⁻¹ e 10^4 UFC.g⁻¹ de fungos filamentosos e leveduras, nesses últimos dias de armazenamento.

A qualidade inicial da matéria-prima é requisito essencial para que a contagem microbiana não exceda o máximo permitido. No Brasil ainda não há legislação referente a contaminação microbiana permitida para frutas e hortaliças minimamente processadas. Para morangos frescos e similares, a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), prevê apenas a quantificação de coliformes a 45 °C e a pesquisa de *Salmonella* sp. (BRASIL, 2001).

Existem Guias, Normas ou Requerimentos internacionais relacionados à produção segura de alimentos, estabelecidos por Comissões relacionadas aos órgãos governamentais, como o *Code of Good Practice for Fresh Fruits and Vegetables* (2010) do *Codex Alimentarius*, ou pelas indústrias e aceitos para a comercialização dos produtos, porém sem estabelecerem parâmetros específicos para sua segurança microbiológica (GOODBURN; WALLACE, 2013).

Comumente, um dos principais contaminantes presentes em morangos são os fungos, em especial o *Botrytis cinérea*, responsável pelo mofo cinzento e o *Rhizopus stolonifer* e *Mucor* spp pela podridão mole (CANTILLANO; SILVA, 2010; TOURNAS; HEERES; BURGESS, 2006). A presença de psicrotróficos e mesófilos aeróbios compreendem, entre outros efeitos, ação deteriorante. Assim, destaca-se a necessidade da

determinação da contagem desses micro-organismos para auxiliar na verificação da qualidade do produto.

De acordo com revisão realizada por Ragaert; Devlieghere e Debevere (2007), contagens microbianas acima de 7 a 8 log UFC.g⁻¹ podem conferir alterações na qualidade sensorial de hortaliças minimamente processadas.

Ainda que a contagem microbiana detectada nesse estudo tenha atingido valores superiores à quantidade inicial, até o nono dia, isso representou contaminação inferior a 10⁴ UFC.g⁻¹ de cada micro-organismo avaliado. De Giusti et al. (2010) constataram contagem média de mesófilos aeróbios acima de 10⁶ UFC.g⁻¹ após 24h de armazenamento de saladas prontas para o consumo, de três diferentes produtores.

Com essa contagem microbiana pode-se considerar que os morangos minimamente processados após nove dias de armazenamento a 5 °C apresentavam condições microbiológicas aceitáveis para consumo. Além da sanitização, a adoção das boas práticas em todas as demais etapas foi essencial para o êxito no processamento.

5.3.2 Estabilidade e qualidade física e química dos morangos minimamente processados

O conteúdo de sólidos solúveis, a acidez total titulável, a razão entre essas duas variáveis e a firmeza dos morangos minimamente processados não variaram significativamente ($p>0,05$) em decorrência dos tratamentos de sanitização, do tempo de armazenamento e da interação entre esses (Tabela 12).

Assim, pode-se afirmar que os morangos minimamente processados mantiveram sua qualidade no decorrer dos nove dias de armazenamento, em termos de teor de sólidos solúveis, acidez, sabor dado pelos ácidos e açúcares e sua firmeza.

Os valores médios e os respectivos desvios padrão dos sólidos solúveis, acidez total titulável, Razão SS/ATT e firmeza estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 12 - Resumo da ANOVA dos sólidos solúveis (SS), acidez total titulável (ATT), razão SS/ATT e firmeza, avaliados no processamento mínimo de morangos Oso Grande.

Variável	Fonte Variação	GL	QM	Prob > F	CV
Sólidos Solúveis (SS)	Sanitizantes	2	0,1447	0,8983 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	1,3251		15,86
	Tempo	3	0,4427	0,1545 ^{n.s.}	
	Sanitizantes*tempo	6	0,2379	0,4219 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,2246		6,53
Acidez Total Titulável (ATT)	Sanitizantes	2	0,0061	0,4125 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	0,0059		8,07
	Tempo	3	0,0106	0,1622 ^{n.s.}	
	Sanitizantes *tempo	6	0,0021	0,8833 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,0055		7,82
Razão SS/ATT	Sanitizantes	2	0,2047	0,7056 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	0,5536		9,71
	Tempo	3	2,3117	0,0513 ^{n.s.}	
	Sanitizantes *tempo	6	0,4245	0,7453 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,7384		11,21
Firmeza	Sanitizantes	2	0,0298	0,5536 ^{n.s.}	
	Resíduo (a)	6	0,0455		10,89
	Tempo	3	0,0462	0,1235 ^{n.s.}	
	Sanitizantes *tempo	6	0,0264	0,3255 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	0,0210		7,39

GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; Nível de significância: 5% de probabilidade pelo teste de Fischer

* = Efeito significativo; n.s.= efeito não significativo

O teor médio de sólidos solúveis foi de 7,3 °Brix, considerando todos os tratamentos de sanitização e tempo de armazenamento. Este resultado foi semelhante ao teor determinado por Pinelli et al. (2011), que constataram teores médios de sólidos solúveis em morangos Oso Grande de 7,5 a 7,9 °Brix, para aqueles pseudofrutos 3/4 maduros e 4/4 maduros, respectivamente.

Tabela 13 - Média e desvio padrão dos valores de sólidos solúveis (SS), acidez total titulável (ATT), razão SS/ATT e firmeza dos morangos minimamente processados com uso de diferentes sanitizantes, armazenados por 9 dias, a 5 °C.

Tratamento		Tempo de armazenamento (dias)			
		0	3	6	9
SS** (° Brix)	Água Potável	7,2* ± 1,04	7,7 ± 0,25	7,5 ± 0,99	7,0 ± 0,95
	Ácido láctico 1 %	6,8 ± 0,54	7,8 ± 0,49	6,9 ± 0,49	7,1 ± 0,33
	Ultrasom + Ácido láctico 1 %	7,2 ± 0,78	7,3 ± 0,67	7,1 ± 0,91	7,5 ± 0,45
ATT (% ácido cítrico)	Água Potável	0,99 ± 0,03	0,95 ± 0,09	1,03 ± 0,09	0,99 ± 0,07
	Ácido láctico 1 %	0,96 ± 0,04	0,87 ± 0,03	1,0 ± 0,05	0,93 ± 0,11
	Ultrasom + Ácido láctico 1 %	0,95 ± 0,07	0,91 ± 0,07	0,95 ± 0,13	0,97 ± 0,05
Razão SS/ATT	Água Potável	7,2 ± 0,928	8,1 ± 0,613	7,3 ± 0,664	7,4 ± 0,539
	Ácido láctico 1 %	7,1 ± 0,828	9,0 ± 0,844	6,9 ± 0,798	7,7 ± 1,366
	Ultrasom + Ácido láctico 1 %	7,7 ± 1,300	8,1 ± 0,442	7,5 ± 0,416	7,8 ± 0,616
Firmeza (N)	Água Potável	1,96 ± 0,34	2,06 ± 0,88	2,0 ± 3,35	1,88 ± 2,07
	Ácido láctico 1 %	1,92 ± 0,57	1,98 ± 0,35	2,14 ± 2,77	1,97 ± 1,39
	Ultrasom + Ácido láctico 1 %	1,78 ± 0,12	2,09 ± 1,48	1,84 ± 0,41	1,92 ± 1,94

*Média de três repetições.

**SS = Sólidos solúveis; ATT = acidez total titulável

Apesar de os ácidos orgânicos serem utilizados como substrato para respiração, neste estudo as alterações no teor de acidez total titulável não foram significativas, com média de 0,95 % de ácido cítrico. Essa acidez dos morangos pode variar de 0,6 % a 2,3 % de ácido cítrico, com implicações diretas no sabor, sendo mais saborosos os de menor acidez (CORDENUNSI; NASCIMENTO; LAJOLO, 2003). Outro fator é o baixo pH

dos morangos sanitizados com ácido láctico (pH=1,00) pode ter contribuído para os resultados verificados nesse estudo.

A razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável de morangos apresentou média geral de 7,7 °Brix/percentual de ácido cítrico, indicando manutenção da qualidade, dado o balanço entre açúcares e ácidos. O estágio de maturação tem sido correlacionado com o balanço entre açúcares e ácidos, pois essa relação afeta diretamente o sabor e aceitação da fruta pelo consumidor (CANTILLANO; SILVA, 2010).

As alterações não significativas da firmeza do morango, após os tratamentos de sanitização ($p=0,4021$), durante o período de armazenamento ($p = 0,1235$), bem como decorrentes da interação entre tratamentos e tempo de armazenamento ($p=0,3255$) indicaram preservação da textura, com média geral de 1,96 N.

Pelayo, Ebeler e Kader (2003) constataram diferenças na firmeza de morangos das cultivares Selva, Diamante e Aromas, no decorrer dos 12 dias de armazenamento a 5 °C, apresentando médias iniciais de, aproximadamente, 3,0 N. Os autores ainda ressaltaram que a baixa temperatura e altas concentrações de CO₂ podem aumentar a firmeza dos frutos.

Pode-se sugerir, para as condições de armazenamento desse estudo, uma ação discreta das enzimas polimetilesterase e poligalacturonase na despolimerização e solubilização dos constituintes da parede celular (GOULAS; MANGANARIS, 2011). E, ainda, que a microbiota presente não foi suficiente para provocar alterações na textura (RAGAERT et al., 2006). Essa condição de preservação da firmeza desse pseudofruto é relevante para a determinação do período de armazenamento para comercialização (HERNÁNDEZ-MUNÓZ et al., 2008).

Cao, Hu e Pang (2010) verificaram que morangos da cultivar Fengxiang tratados com ultrassom a uma frequência de 40 kHz e potência 250 W e por, no máximo, 10 min mantiveram firmeza maior que tratamentos mais intensos e prolongados.

Cordenunsi, Nascimento e Lajolo (2003) destacaram que alterações na qualidade de morangos de diferentes cultivares durante o armazenamento estão associadas à cultivar; condições de cultivo; estágio de

maturação; e condições pós-colheita, inclusive temperatura.

Em outros estudos, o ultrassom tem sido indicado como uma técnica não térmica efetiva para manutenção da qualidade de frutas por períodos prolongados, inclusive morangos. Como demonstrado por Aday et al. (2012) morangos tratados com ultrassom em frequência de 20 kHz e potências de 30 W ou 60 W, por 5 ou 10 min apresentaram melhor textura, conteúdo de sólidos solúveis e cor, além do controle do crescimento de fungos filamentosos, em relação ao controle e ao uso de potência de 90 W, mantendo-se a mesma frequência, armazenados por até quatro semanas.

O pH dos morangos minimamente processados apresentou variação significativa ($p=0,0014$) em decorrência dos tratamentos de sanitização e do tempo de armazenamento ($p=0,0057$), mas não da interação entre ambos ($p = 1,0000$).

O uso do ultrassom associado ao ácido láctico aumentou o pH comparado aos demais tratamentos aplicados aos morangos minimamente processados (Tabela 14). Isto pode ser decorrente da ação sinérgica dos dois, pois a sanitização apenas com ácido láctico não provocou tal efeito.

Tabela 14 - Média e desvio padrão do pH dos morangos minimamente processados, em relação aos tratamentos com uso de diferentes sanitizantes, durante armazenamento por 9 dias, a 5 °C.

Tratamento	pH*
Potável	3,61 ± 0,03b**
Ácido láctico 1%	3,60 ± 0,02b
Ultrassom + Ácido láctico 1%	3,67 ± 0,03a

* Média de três repetições

** Médias, seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Duncan ($p>0,05$)

Alguns estudos têm evidenciado a degradação de compostos, formação de radicais livres e modificação indesejáveis, como degradação de pigmentos e de ácido ascórbico de alguns alimentos por ação do ultrassom (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT; 2013).

O tempo de armazenamento influenciou o pH com aumento até o terceiro dia, seguindo-se declínio posterior até sexto dia e outro aumento, com valores próximos aos verificados no dia inicial de armazenamento (Figura 7).

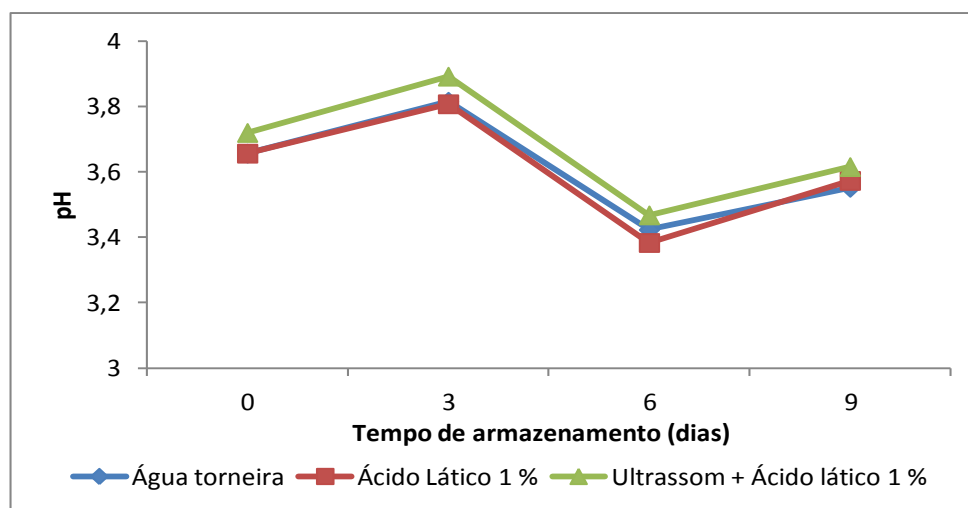


Figura 7 - Valores médios do pH dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (■); ultrassom com ácido láctico 1 % (US + AL) (▲) e armazenados a 5 °C, por 9 dias.

Reis et al. (2008) verificaram aumento nos valores de pH, seguido-se queda e outro aumento ao final da avaliação de morangos Oso Grande minimamente processados e sanitizados com diferentes produtos clorados e peróxido de hidrogênio, com armazenamento por 12 dias, a 9 °C.

Essa oscilação nos valores de pH, durante o armazenamento, pode estar associada às alterações fisiológicas, próprias do metabolismo do morango, com degradação de alguns nutrientes e produção de metabólitos, inclusive com acúmulo de CO₂ no interior da embalagem. Outro fator pode estar associado à capacidade tamponante existente no interior do vacúolo, pela presença de ácidos e algumas proteínas, que após dissociação dos ácidos fracos ou presença de CO₂ tendem a retornar o pH para a condição inicial (CANTILLANO; SILVA, 2010; HOLCROFT; KADER, 1999).

Os morangos minimamente processados no decorrer dos 9 dias de armazenamento apresentaram aumento significativo no percentual de perda de massa ($p < 0,0001$), sendo próximos a 1 % (Figura 8).

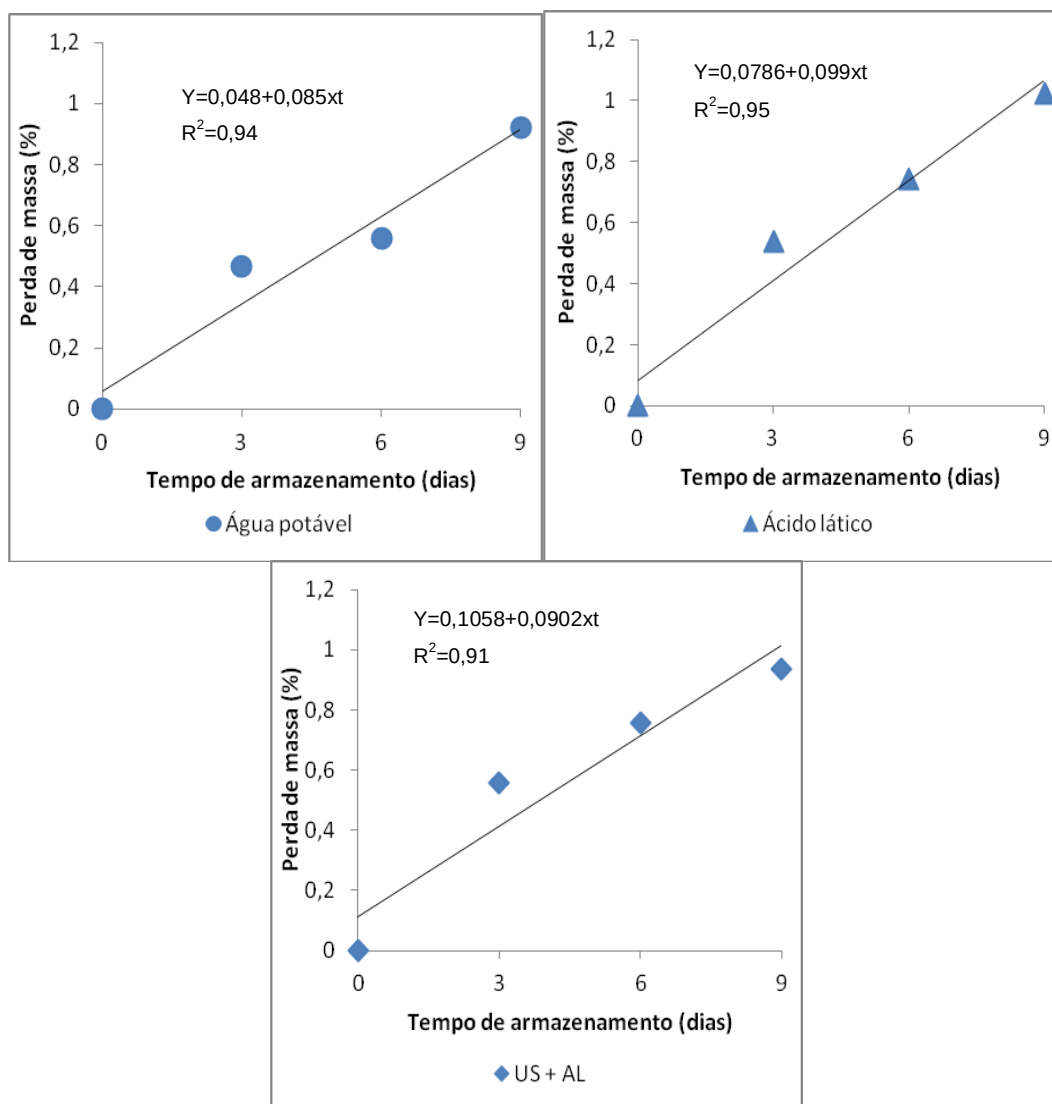


Figura 8 - Valores médios da perda de massa dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido lático 1 % (▲); ultrassom com ácido lático 1 % (US + AL) (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C

Os tratamentos de sanitização ($p=0,2897$) e a interação com o tempo ($p=0,7798$) tiveram efeito não significativo. A embalagem utilizada, associada à condição de temperatura baixa e umidade elevada pode ter favorecido para minimizar a perda de água.

Como o filme de PVC apresenta certa barreira ao vapor de água, pode haver formação de uma atmosfera interna com elevada umidade relativa e com déficit de pressão de vapor de água e redução da taxa respiratória que favorece a menor perda de massa do fruto (YAMASHITA et al., 2006).

Alguns estudos destacam a elevada perda de massa dos morangos dada sua alta taxa respiratória. De acordo com Cantillano e Silva (2010) percentuais de perda de massa dos morangos acima de 6 % de seu peso, podem comprometer a aparência do morango e, conseqüentemente, sua aceitação comercial.

Os frutos minimamente processados tendem a apresentar maior relação superfície e volume, em comparação com os inteiros, favorecendo a exposição dos tecidos internos à atmosfera ambiente. No caso dos morangos desse estudo, como os cortes foram apenas para remoção do cálice e do pedúnculo, possivelmente não elevou consideravelmente a taxa de evaporação de água.

Morangos da variedade Oso Grande, armazenados a 5 °C e umidade relativa de 90 - 95 % e acondicionados em bandejas de polietileno tereftalato (PET) perfurada, atingiram percentuais de perda de massa de 6 % após o sexto dia (COSTA, 2009). Com resultado semelhante, Moraes et al. (2008) verificaram a perda de massa significativa em morangos Oso Grande armazenados por 7 d, a temperaturas de 5 °C e 10 °C, com umidade relativa de 85 % em embalagens de PET. A média de perda de massa ao final do armazenamento alcançou 6,6 % a 5 °C e 7,7 % a 10 °C.

A cor é um dos atributos de qualidade com influência na escolha, pelos consumidores, de frutas como o morango (BARRET; BEAULIEU; SHEWFELT, 2010; PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). Assim, alterações decorrentes do processamento, das condições de armazenamento, de embalagem e do próprio estágio de maturação, entre outros fatores, podem comprometer a qualidade em termos sensoriais, como a cor e, conseqüentemente, a aceitação e a vida de prateleira esperada (CRECENTE-CAMPO et al., 2012; SILVA et al., 2007).

Neste estudo, apenas o tempo de armazenamento apresentou influência determinante na alteração da cor. Os tratamentos dos sanitizantes

e a interação com o tempo não foram significativos ($p>0,05$) para nenhuma das variáveis avaliadas relacionadas à cor (Tabela 15).

Tabela 15 - Resumo da ANOVA das variáveis relacionadas à cor no processamento mínimo de morangos Oso Grande

Variável	Fonte Variação	GL	QM	Prob > F	CV
L*	Sanitizantes	2	3,4895	0,1605 ^{n.s.}	2,74
	Resíduo (a)	6	1,3845		
	Tempo	3	9,5339	0,0063*	3,0
	Sanitizantes*tempo	6	1,0915	0,6872 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	1,6700		
°Hue	Sanitizantes	2	10,2425	0,0561 ^{n.s.}	6,07
	Resíduo (a)	6	2,1168		
	Tempo	3	19,0999	0,0016*	6,55
	Sanitizantes*tempo	6	0,6052	0,9549 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	2,4648		
Croma	Sanitizantes	2	0,8246	0,9259 ^{n.s.}	11,25
	Resíduo (a)	6	10,5684		
	Tempo	3	74,1142	<0,0001*	4,83
	Sanitizantes*tempo	6	5,0580	0,0547 ^{n.s.}	
	Resíduo (b)	18	1,9520		

GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; Nível de significância: 5% de probabilidade pelo teste de Fischer

* = Efeito significativo; n.s.= efeito não significativo

A análise das respostas relativas à coordenada L* resultou em um modelo de regressão linear, com aumento dos valores no decorrer do tempo armazenamento (Figura 9).

Para o croma e o ângulo Hue, que derivam das coordenadas a* e b* da cor, o modelo quadrático foi o que apresentou melhor ajuste na análise de regressão (Figuras 9 e 10).

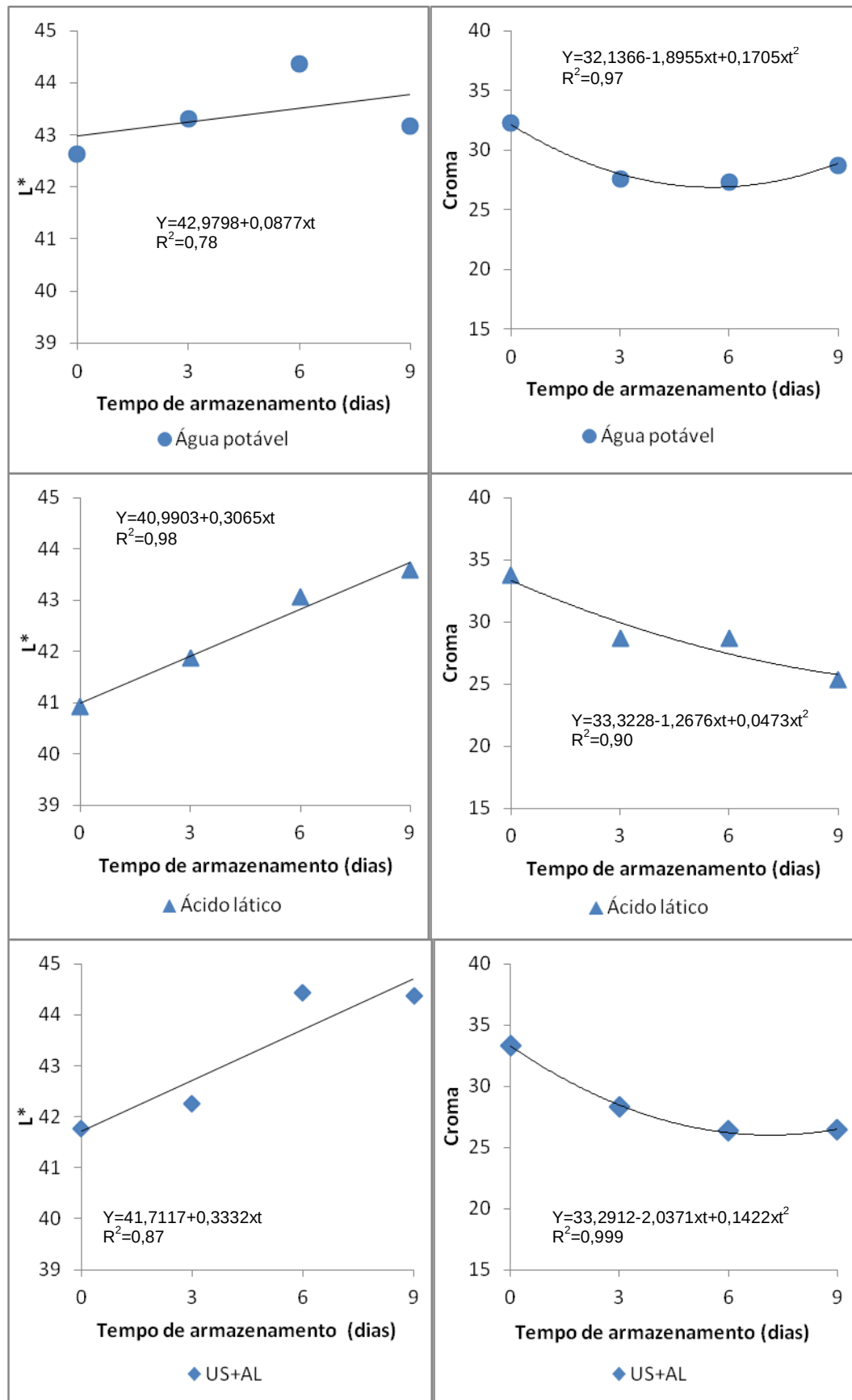


Figura 9 - Valores médios da coordenada L* e do croma, dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água

potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.

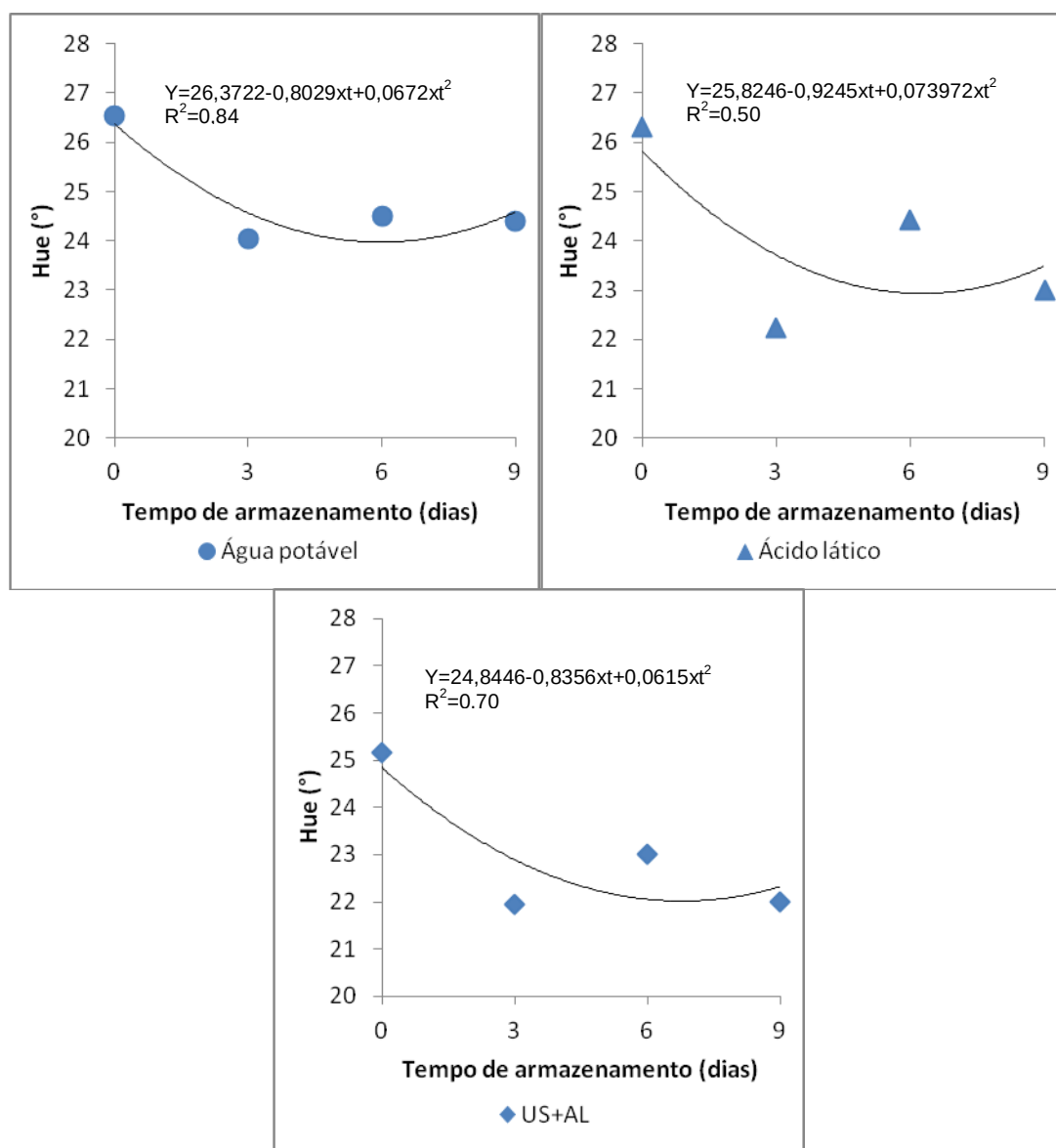


Figura 10 - Valores médios do ângulo Hue dos morangos minimamente processados, tratados com diferentes sanitizantes: água potável (●); ácido láctico 1 % (▲); ultrassom com ácido láctico 1 % (◆) e armazenados por 9 dias, a 5 °C.

O aumento da luminosidade, a redução do croma e do ângulo Hue durante o armazenamento indicaram perda do brilho e intensificação da cor vermelha mais escura dos pseudofrutos. Pinelli (2009) constatou aumento na coordenada L* de morangos Oso Grande após 6 d de armazenamento a

5°C.

Cantillano et al. (2008) constataram uma redução no °Hue entre a colheita e o armazenamento de morangos, a 3, 6 e 9 dias a 0 °C mais um dia a 10 °C, da cultivar Camino Real.

Essa redução na cromaticidade e no °Hue dos morangos pode demonstrar um escurecimento da cor vermelha do pseudofruto, típicos de um estado de maturação mais elevado (RIBEIRO et al., 2007).

A quantidade de antocianinas, principal pigmento flavonoide que confere a cor vermelha aos morangos, varia de acordo com o estágio de maturação dos pseudofrutos e mantém-se ativa durante o armazenamento, mesmo em temperatura de refrigeração (GOULAS; MANGANARIS, 2011; PINELLI et al., 2011). Há que se considerar, ainda, o efeito estabilizador do pH ácido, pois pH acima de 4,0 favorece à perda da cor característica. Temperaturas elevadas também são capazes de degradar esse pigmento (CORDENUNSI et al., 2005; MORAES et al., 2008; ODRIOZOLA-SERRANO, SOLIVA-FORTUNY, MARTÍN-BELLOSO, 2010).

Patras et al. (2011) verificaram que a temperatura (4 °C e 15 °C) e o tempo de estocagem (duas semanas) de geleias de morango mostraram um efeito significativo na degradação da cor, com redução das coordenadas de L*, a*, b* e no croma.

As alterações de cor dos morangos minimamente processados verificadas durante o armazenamento podem ser decorrentes do próprio metabolismo, que tem influência das condições de temperatura e umidade. Contudo, não representaram alterações que comprometessem a qualidade para comercialização.

6 Considerações Finais

Destaca-se a necessidade de avaliar esse processamento mínimo dos morangos, em termos sensoriais e nutricionais para melhor apuração da viabilidade dessa tecnologia. Investigar questões importantes, como perdas de vitamina C e compostos fenólicos, em especial antocianinas; verificar a aceitação dos morangos minimamente processados, com uso do ácido láctico como sanitizante.

Além disso, outros aspectos importantes são relativos à concentração de agrotóxicos e sua implicação sobre a microbiota presente.

7 Conclusões

Os morangos utilizados nesse estudo apresentaram baixa contaminação inicial de bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficos e também de fungos filamentosos e leveduras. Também apresentaram qualidade física e química satisfatória para processamento.

O teste de desafio dos sanitizantes demonstrou maior eficiência no uso do ácido láctico, em ambas as concentrações testadas, 1 % e 2 %, na redução da contagem das bactérias *E. coli* inoculadas nos morangos, assim como em combinação, nessas concentrações, com o ultrassom.

O uso do ultrassom como sanitizante não demonstrou a eficiência relatada na literatura.

Os tratamentos aplicados para sanitização dos morangos minimamente processados foram efetivos para manutenção da qualidade microbiológica e físico-química, durante os 9 dias de armazenamento a 5 °C.

O tempo de armazenamento apresentou efeito significativo sobre algumas variáveis que influenciam a qualidade dos morangos, sem, contudo, haver comprometimento na segurança e nas características físico-químicas.

Pode-se considerar que o tratamento de sanitização dos morangos com ácido láctico isoladamente e em combinação com o ultrassom foi adequado para o processamento mínimo de morangos Oso Grande. Além disso, as condições de armazenamento a 5 °C e umidade relativa de 85% favoreceram ao prolongamento da vida útil desses frutos que, normalmente, é bem curta.

8 Bibliografia

- 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 of Food Microbiology** v.123, n.7, p.121–129, 2008
- ADAY, M.S.; TEMIZKAN, R.; BÜYÜKCAN, M.B.; CANER, C. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound, **LWT - Food Science and Technology**. *In Press, Corrected Proof*, Available online 8 October 2012.
- AJLOUNI, S.; SIBRANI, H.; PREMIER, R.; TOMKINS, B. Ultrasonication and Fresh Produce (Cos lettuce) Preservation. **Journal of Food Science**. v.71, issue 2, p. M62-68. 2006
- AKBAS, M.Y.; ÖLMEZ, H. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids. **Letters in Applied Microbiology**. v. 44, i6, p. 619-624 Mar. 2007a
- AKBAS, M.Y.; ÖLMEZ, H. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce, **Journal of the Science of Food and Agriculture** v.87. i14, p.2609–2616, Aug 2007b
- ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science & Technology** v.17, p.513-519, 2006
- ALVES, F.G. **Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro mantidos sob temperatura refrigerada após a aplicação pré-colheita de produtos biológicos**. 2009. 42p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG.
- ANDRADE, N. J.; ANTUNES, M.A. **Higiene na Indústria de Processamento Mínimo**. In: Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. 4. Abril 2006. São Pedro. SP. 72p. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departametnos/lpv/eventos/palestras/IVMP.pdf> Acessado em: 21 ago 2009
- ANDRADE, N. J.; BASTOS, M.S.R.; ANTUNES, M.A.A. Higiene e Sanitização. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Frutas e Hortaliças e SEBRAE. 2007, cap. 3, p.101-120
- ANDRADE, N. J.; PINTO, C. L. O.; ROSADO, M. S. Controle da higienização na indústria de alimentos. In: ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de**

Alimentos –Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos..São Paulo(SP): Varela. 2008.Cap. 04. p.181-226.

ANTUNES. L.E.C.; DUARTE FILHO. J.; CALEGARI. F.F.; COSTA. H.; REISSER JUNIOR. C. Produção Integrada de Morango (PIMo) no Brasil. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte. v.28. n.236. p.34-39. jan/fev.. 2007

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. P. Cunnif (ed). 16th ed. Arlington AOAC (EUA). 1997. v. I e II.
AOAC. **Method 991.14**: Official methods of analysis of AOAC International. 17^a ed. Gaithersburg: AOAC International. 2000. p. 22-23.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th. Washington: APHA. 2001. 676 p.

ARES. G.; BARRIOS. S.; LAREO. C.; LEMA. P. Development of a sensory quality index for strawberries based on correlation between sensory and consumer perception. **Postharvest Biology and Tecnology**. v.52, i.1, p.97-102. April 2009

ARTÉS. F.; GÓMEZ. P.; AGUAYO. E.; ESCALONA. V.; FRANCISCO ARTÉS-HERNÁNDEZ. F. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. **Postharvest Biology and Technology**. v.51, i.3, p.287–296. march. 2009

AZEVEDO. S.M.C. **Estudo das taxas de respiração e factores de qualidade na conservação de morango fresco (*Fragaria x ananassa* Duch)**. 2007. 225f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Consumo Alimentar). Universidade Aberta de Lisboa. Lisboa. Portugal.

BALBINO. J.M.S. (Ed.) **Tecnologias para produção: colheita e pós-colheita do morangueiro**. Vitória. ES: INCAPER. 2004. 76p. (INCAPER. Documentos. 124).

BARCELOS. M.F.P.; FERRUA. F.Q. Frutos e hortaliças: métodos de conservação e efeitos no valor nutritivo. **Textos Acadêmicos**. Lavras: UFLA. 2003. 71p.

BARRET, D.M.; BEAULIEU, J.C.; SHEWFEIT, R. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.50, i.5, p.369-389. 2010.

BASTOS, M.S.R. **Frutas minimamente processadas: aspectos de qualidade e segurança**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical. 2006. 59 p. Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos. 103.

BERMÚDEZ-AGUIRRE. D.; BARBOSA-CÁNOVAS. G.V. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine. acid citric. ultraviolet light and ozone. **Food Control**. v.29. n.1. p.82-90. 2013

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº14. Anexo – Normas Técnicas Específicas para a Produção Integrada de Morango – NTPIMo. 01abr 2008. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. seção 1. 03 abr. 2008

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº326. de 30 de julho de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. 01 ago. 1997.

_____. Resolução RDC nº12. de 02 de janeiro de 2001 – Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. 02 jan. 2001.

_____. Resolução RDC nº275. de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação aplicados aos estabelecimentos produtores/ industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. 06 nov. 2002.

_____. Portaria nº 2914. de 14 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. 14 dez. 2011.

CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. Análise da produção de morango dos Estados de São Paulo e Minas Gerais e do Mercado da CEAGESP. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 42-50, 2009.

CAO. S.; HU. Z.; PANG. B Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.55, i.3, p.150-153. 2010.

CAO. S.; HU. Z.; PANG. B.; WANG. H.; XIE. H.; WU. F. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. **Food Control** v.21, i.4, p.529–532. 2010

CANTILLANO. R.F.F. **Colheita e Pós Colheita do Morango**. Sistemas de Produção. 5. EMBRAPA Clima Temperado. Nov 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap12.htm>>. Acessado em: 20 jan 2010

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. 30p. – (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 75).

CANTILLANO. R.F.F.; SILVA. M.M. **Manuseio pós colheita de morango**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2010. 36 p. – (Embrapa Clima Temperado. Documentos. 318).

CARDOSO.C.C.; VEIGA. S.M.O.M.; NASCIMENTO. L.C.; FIORINI. J.E.; AMARAL. L.A. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.23, n.1, p. 59-61. jan.-abr. 2003

CASTRO. R.L. **Diversidade genética. adaptabilidade e estabilidade do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch) em cultivo orgânico**. 2002. 145p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa/UFV. Viçosa. MG.

CENCI. S. A. Boas Práticas de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças na Agricultura Familiar. In: NETO, F.N. (Org.). **Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar**. 1a ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2006. Cap. 3, p. 65-80.

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing e food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology**. v. 26, i.2, p.88- 98. 2012

CHEMAT. F.; ZILL-E-HUMA; KHAN. M.K. Applications of ultrasound in food technology: Processing. preservation and extraction. **Ultrasonon. Sonochem.**. v.18, i.4, p.813-835. Jul. 2011

CHITARRA. M.I.F. Processamento mínimo de frutos e hortaliças. **Textos acadêmicos**.Lavras: UFLA/FAEPE. 2002. 119p.

CHITARRA. M.I.F.; CHITARRA. A.B. **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA. 2005. 785p.

CORDENUNSI. B.R.; GENOVESE. M.I.; NASCIMENTO. J.R.O.; HASSIMOTTO. N.M.A.; SANTOS. R.J.; LAJOLO. F.M. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. **Food Chemistry**. v.91, n.1, p.113–121. 2005

CORDENUNSI. B.R.; NASCIMENTO. J.R.O.; LAJOLO. F.M. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. **Food Chemistry**. v.83, i2, p.167–173. 2003

COSTA. F.B. **Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados**. 2009. 126p. Tese (Doutorado em Fisiologia vegetal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. MG.
COSTA. F.B.; DUARTE. P.S.; PUSCHMANN. R.; FINGER. F.L. Quality of fresh-cut strawberry. **Horticultura Brasileira** v.29, n.4, p.477-484. 2011.

Codex Alimentarius Commission. (2010). **Code of hygienic practice for fresh fruits and vegetables**: Adopted 2003 In Revision 2010 (new Annex III for fresh leafy vegetables). Retrieved 13.11.12.

CRECENTE-CAMPO. J.; NUNES-DAMACENO. M.; ROMERO-RODRÍGUEZ. M.A.; VÁZQUEZ-ODÉRIZ. M.L. Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch. cv Selva). **Journal of Food Composition and Analysis**. v.28, i.1, p. 23–30. 2012.

CRUZ. A.G.; CENCI. S.A.; MAIA. M.C.A.; Pré-requisitos para implementação do sistema APPCC em uma linha de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.26. n.1. p.104-109. jan.-mar. 2006

DE GIUSTI. M.; AURIGEMMA. C.; MARINELLI. L.; TUFI. D.; DE MEDICI. D.; DI PASQUALE. S.; DE VITO. C.; BOCCIA. A. The evaluation of the microbial safety of fresh ready-to-eat vegetables produced by different technologies in Italy. **Journal of Applied Microbiology**. v.109, p.996-1006. 2010

DOLATOWSKI. Z.J.; STADNIK. J.; STASIAK. D. Applications of ultrasound in food technology. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**. v.6, i.3, p. 89-99. 2007

EMATER. **Dados da produção de morango na região Sul de Minas Gerais**. 2010. [dados não publicados]

FELLOWS. P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos** - Princípios e Prática Porto Alegre: Artmed- 2ª Ed. 2006. 602p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.FAO. FAOSTAT. **Food and Agricultural commodities production: Strawberry in 2011**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acessado em: 16 abr 2013.

FAO. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Report of the thirty-sixth session of the Codex Committee on Food Hygiene**. Washington D.C.. United States of America. 29 March - 03 April 2004. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Twenty-seventh Session. Geneva. 28 June - 03 July 2004. 102p.

FERNANDES. G.R. **Diagnóstico das condições de funcionamento de agroindústrias familiares antes e após o desenvolvimento de atividades educativas e de capacitação**. 2005. 128f. Dissertação (Mestrado em

Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. MG.

FERREIRA. M.D.; SARGENT. S.A.; BRECHT. J.K.; CHANDLER. C.K. Strawberry fruit resistance to simulated handling. **Scientia Agricola**. v.65. i.5. p.490-495. September/October 2008

FONSECA. M.J.O.; OLIVEIRA. A.G.M.; SOARES. A.G.; FREIRE JÚNIOR. M. **Preparo de frutas e hortaliças minimamente processadas em bancos de alimentos** / – Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos. 2006. 27p.

FRANÇOSO. I.L.T.; COUTO. M.A.L.; CANNIATTI-BRAZACA. S.G.; ARTHUR. V. Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.28, n.3, p.614-619. jul.-set. 2008.

FUMIS. T.F.; SAMPAIO. A.C.; PALLAMIN. M.L.; OLIVEIRA. O.M. Avaliação tecnológica de nove cultivares de morango na região de Bauru - SP. In: congresso Brasileiro de Olericultura. 2003. Recife-PE. **Revista Horticultura Brasileira**. v.21. p.321. 2003

GLEESON. E.; O'BEIRNE. D. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. **Food Control** v.16. i 8. p.677–685. Oct. 2005

GIL. M.I.; SELMA. M.V.; LÓPEZ-GÁLVEZ. F.; ALLENDE. A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. . **International Journal of Food Microbiology** v.134. p.37–45. 2009

GOODBURN. C.; WALLACE. C.A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. **Food Control**. v.32, i.2, p.418-427. 2013

GONZÁLEZ-AGUILAR. G.A.; AYALA-ZAVALA. J.F.; OLIVAS. G.I.; ROSA. L.A.; ÁLVAREZ-PARRILLA. E. Preserving quality of fresh-cut products using safe Technologies. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**. v.5. p.65-72. 2010

GOULAS. V.; MANGANARIS. G.A. The effect of postharvest ripening on strawberry bioactive composition and antioxidant potential. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.91, i.10, p.1907-1914. 2011

HERNÁNDEZ-MUNÓZ. 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, i..2, p. 428–435. 2008

- HODGES; D.M.; TOIVONEN. P.M.A. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. **Postharvest Biology and Technology**. v.48, i.2, p. 155–162. 2008.
- HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.17, i.1, p. 19–32. 1999.
- HOLTZ. S.G. **Aplicação de ozônio e de revestimentos comestíveis em morangos (*Frangaria ananassa Duch.*) minimamente processados**. 2006. 93p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. Minas Gerais
- HUANG, T.; XU, C.; WALKER, K.; WEST, P.; ZHANG, S.; WEESE, J. Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. **Journal of Food Science**. v.71, i.4, p.M134-139. 2006.
- HUANG. Y.; CHEN. H. Effect of organic acids. hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of Escherichia coli O157:H7 on baby spinach. **Food Control**. v.22, i.8, p.1178-1183. 2011.
- HUNG,Y.; BAILLY, D.; KIM, C.; ZHAO,Y.; WANG, X. Effect of electrolyzed oxidizing water and chlorinated water treatments on strawberry and broccoli quality. **Journal of Food Quality**. v.33, p.578-598, 2010
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ.IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed., 1ª ed. digital, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020
- INTERNATIONAL FRESH-CUT PRODUCE ASSOCIATION. IFPA. **Food Safety Guidelines for the Fresh-cut Produce Industry**. 4.Edition. 2001. 213p.
- JIRANEK. V.;GRBIN. P.; YAP. A.; BARNES. M.; BATES. D. High power ultrasonics as a novel tool offering new opportunities for managing wine microbiology. **Biotechnology Letters**. v.30, i.1, p.1–6. Sep. 2008.
- KOKKINAKIS. E.; FRAGKIADAKIS. G.A. HACCP effect on micorbiological quality of minimally processed vegetables: a survey in six mass-catering establishments. **International Journal of Food Science and Technology**. v.42. i.1 p.18-23. 2007
- KUZNESOF. P.M. Sodium Dichloroisocyanurate (NADCC – anhydrous and dihydrate) **Chemical and Technical Assessment (CTA) 61st JECFA/FAO**. 2004. 8p.
- LÓPEZ-GÁLVEZ. F.. GIL. M.I.; TRUCHADO. P. SELMA. .; M.V.;ALLENDE. A. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with

chlorine dioxide or sodium hypochlorite. **Food Microbiology**. v.27, i.2. p.199-204. 2010

MADAIL. J.C.M. **Economia do morango**. In: Simpósio Nacional do Morango. IV. Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. III. Embrapa Clima Temperado. 12 a 14 de agosto. 2008

MAISTRO. L.C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**. v.14, n.3, p.219-224. set./dez. 2001

MARTINES. M.A.U.; DAVOLOS. M.R.; JAFELICCI JÚNIOR. M. Efeito do ultrassom em reações químicas. **Química Nova**. v.23, n.2, p.251-256. 2000

MARTÍNEZ-SÁNCHEZ. A; ALLENDE. A; BENNETT. R.N.; FERRERES. F.; GIL. M.I. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. **Postharvest Biology and Technology** v.42, i1, p.86–97. Oct. 2006

MASON, T.J.; RIERA, E.; VERCET, A.; LOPEZ-BUESA, P. Application of Ultrasound. In: SUN, D. (ed.). **Emerging technologies for food precessing**. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Academic Press. 2005. Cap. 13. p. 323-35.1

MATTOS, M.L.T.; ANTUNES, L.E.C. Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) na produção integrada de morango: princípio microbiológico e princípio químico. In ANTUNES. L.E.C.; RASEIRA. M.C.B.; PEREIRA. J.F.M. (Ed.) Simpósio Nacional do Morango. 3. e Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do MERCOSUL. 2. **Resumos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Documentos 171. 2006. 145p.

MEYER. S.T. O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas. a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública. **Rev. Saúde Pública**. Rio de Janeiro. v.10. n.1. p.99-110. jan/mar. 1994

MIZRACH. A. Ultrasonic technology for quality evaluation of fresh fruit and vegetables in pre- and postharvest processes. **Postharvest Biology and Technology** v.48, i.3, p.315–330. 2008

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**. v.28, n.2, p. 274-281. abr.-jun. 2008.

MORETTI. C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Frutas e Hortaliças e SEBRAE. 2007. 531p.

MORETTI, C.L. Manuseio pós-colheita, compostos funcionais e logística de distribuição de morangos. In: REISSER JR., C. et al.(Org.) Simpósio Nacional do Morango. 4. e Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas

Nativas do MERCOSUL. 3. **Palestras e Resumos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 12 a 14 agosto 2008. 175p.

NASCIMENTO. L.C.; LIMA. L.C.O.; VALLE. R.H.P.; VEIGA. S.M.O.M.; FIORINI. J.E. Uso de derivados clorados, ozônio e ultrassom na sanificação de água e alimentos: revisão. **Revista Higiene Alimentar**. V.19. n.136. outubro 2005

NASCIMENTO, M.S.; SILVA, N. Tratamentos químicos na sanitização de morango (*Fragaria vesca* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 13, i.1, p.11-17. 2010

ODRIOZOLA-SERRANO. I.; SOLIVA-FORTUNY. R.; MARTÍN-BELLOSO. O. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen. low-oxygen or passive atmospheres. **Journal of Food Composition and Analysis** v.23. i.1. p. 37–43. 2010

OIE. S.; KIYONAGA. H.; MATSUZAKA. Y.; MAEDA.K.; MASUDA. Y.; TASAKA. K.; ARITOMI. S.; YAMASHITA. A.; KAMIYA. A. Microbial Contamination of Fruit and Vegetables and Their Disinfection **Biological & Pharmaceutical Bulletin**. v.31, i.10, p.1902-1905. 2008

OLIVEIRA. A.C.G.; ZANÃO. C.F.P.; ANICETO. A.P.P.; SPOTO. M.H.F.; CANNIATTI-BRAZACA. S.G.; WALDER. J.M.M. Conservação pós-colheita de goiaba branca kumagai por irradiação gama: aspectos físicos. químicos e sensoriais. **Boletim CEPPA**. Curitiba. v. 24. n. 2. p. 375-396. jul./dez. 2006a

OLIVEIRA. A.M.C.; COSTA. J.M.C.; MAIA. G.A. Qualidade higiênico-sanitária de abacaxi “Pérola” minimamente processado. **RBPS**; v.19, n.1, p.19-24. 2006b

OLIVEIRA. E.C.M.; VALLE. R.H.P. Aspectos microbiológicos dos produtos hortícolas minimamente processados. **Revista Higiene Alimentar**. v.14, n.78/79. set./dez. 2000

ÖLMEZ. H.; KRETZSCHMAR. U. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. **LWT - Food Science and Technology**. v.42, i.3, p. 686–693. 2009

ÖLMEZ. H.; TEMUR, S.D.; Effects of different sanitizing treatments on biofilms and attachment of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in green leaf lettuce. **LWT - Food Science and Technology**. v.43, i.6, p. 964–970. 2010

OMS-OLIU; G.; ROJAS-GRAU, M.A.; GONZÁLEZ. L.A.; VARELA. P.; SOLIVA-FORTUNY. R.; HERNANDO. M.I.H.; MUNUERA. I.P.; FISZMAN. S.; MATÍN-BELLOSO. O. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. **Postharvest Biology and Technology**. v 57, i.3, p.139–148. 2010

PÁDUA. J.G.; MOTA. R.V.; FILHO. J.D.; CAPRONI. C.M.; GONÇALVES. F.M. Características físico-química de frutos de cultivares de morangueiro. In ANTUNES. L.E.C.; RASEIRA. M.C.B.; PEREIRA. J.F.M. (Ed.) Simpósio Nacional do Morango. 3. e Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do MERCOSUL. 2. **Resumos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Documentos 171. 2006. 145p.

PARISH. M.. BEUCHAT. L.. SUSLOW. T.. HARRIS. L.. GARRET. E.. FARBER. J.. BUSTA. F. Methods to reduce or eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.2, i.S1, p.161–173. 2003

PATHARE. P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID. F.A. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and Bioprocess Technology**. v. 6, i.1, p.36–60. 2013

PATIL. S.; BOURKE. P.; CULLEN. B.; FRIAS. J.M.; CULLEN. P.J. The effects of acid adaptation on *Escherichia coli* inactivation using power ultrasound. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.10, i.4, p. 486-490. 2009

PATRAS. A.; BRUNTON. N.P.; TIWARI. B.K.; BUTLER. F. Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. **Food Bioprocess Technology** . v.4, i.7, p.1245–1252. 2011

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

PELOSO. A.G.F.; CARVALHO. P.N.; VEIGA. S.M.O.M.; NASCIMENTO. L.C.; FIORINI. J.E. Avaliação da eficiência de diferentes sanificantes em alface (*Lactuca sativa*) e de suas influências na vida útil do produto. **Higiene Alimentar**. Alfenas. vol. 24. n. 180. p. 122-127. Jan/Fev 2010

PINELI. L.L.O. **Qualidade e potencial antioxidante *in vitro* de morangos *in natura* submetidos a processamentos**. 2009. 222p. Tese (Doutorado em Nutrição Humana). Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília. Distrito Federal.

PINELI. L.L.O.; MORETTI. C.L.; SANTOS. M.S.; CAMPOS. A.B.; BRASILEIRO. A.V.; CORDOVA. 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, i.1, p. 11–16. 2011

PINGRET. D.; FABIANO-TIXIER. A.S.; CHEMAT. F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control** v.31. n2. p.593-606. 2013

PIYASENA. P.; MOHAREB. E.; McKELLAR. R.C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**. v.87, i.3, p.207-216. Nov. 2003

PRESTES. E.B. **Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças folhosas minimamente processadas**. 2007. 135p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Campinas. Campinas. São Paulo.

RAGAERT. P.; DEVLIEGHERE. F.; DEBEVERE. J. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. **Postharvest Biology and Technology**. v.44, i.3, p.185–194. 2007

RAGAERT. P.; DEVLIEGHERE. F.; LOOS. S.; DEWULF. J.; VAN LANGENHOVE. H.; FOUBERT. I.; VANROLLEGHEM. P.A.; DEBEVERE. J. Role of yeast proliferation in the quality degradation of strawberries during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology** v.108, i.1, p.42 – 50. Apr. 2006.

RAJKOVIC. A.; SMIGIC. N.; DEVLIEGHERE. F. Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. **International Journal of Food Microbiology** v.141. Suplement 31. S29–S42. 2010

RAHMAN. S.M.E.; JIN.Y.G.; OH. D.H. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety. shelf-life and sensory quality of shredded carrots. **Food Microbiology** v.28. i3. p.484-491. May 2011.

RASO, J.; MAÑAS, P.; PAGÁN, R.; SALA, F.J. Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry** v.5, i.4, p.157–162. 1999

RAWSON. A.; TIWARI. B. K.; PATRAS. A.; BRUNTON. N.; BRENNAN. C.; CULLEN. P. J.; O'DONNELL. C. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**. v.44, i.5, p.1168-1173. 2011

RAYBAUDI-MASSILIA. R.M.; MOSQUEDA-MELGAR. J.; SOLIVA-FORTUNY. R.; MARTÍN-BELLOSO. O. Control of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Fresh-cut Fruits and Fruit Juices by Traditional and Alternative Natural Antimicrobials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.8. i.3 p.157-180. 2009

REIS. K.C.; SIQUEIRA. H.H.; ALVES. A.P.; SILVA. J.D.; LIMA. L.C.O. Efeito de diferentes sanitizantes sobre a qualidade de morango cv. Oso Grande. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras. v.32, n.1, p. 196-202. jan/fev.. 2008

RESENDE. J.T.V.; CAMARGO. L.K.P.; ARGANDOÑA. E.J.S.; MARCHESE. A.; CAMARGO. C.K. Sensory analysis and chemical characterization of strawberry fruits. **Horticultura Brasileira** v.26, n.3, p.371-374. 2008.

RIBEIRO. C.; VICENTE. A.A.; TEIXEIRA. J.A.; MIRANDA. C. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. **Postharvest Biology and Technology**. v.44, i.1, p.63-70. 2007

RICO.D.; MARTÍ'N-DIANA. A.B.; BARAT. J.M.; BARRY-RYAN. C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology** v.18, i7, p.373-386. jul. 2007

ROJAS-GRAÜ, M.A.; OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.44, i.5, p.875-889. 2009.

ROSS. A.I.V.; GRIFFITHS. M.W.; MITTAL. G.S.; DEETH. H.C. Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**. v.89, i. 2-3, p.125-138. Dez. 2003

SAGONG. H.-G.; LEE. S.-Y.; CHANG. P.-S.; HEU. S.; RYU. S.; CHOI. Y.-J.; KANG. D.-H. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7. *Salmonella* Typhimurium. and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. **International Journal of Food Microbiology** v.145, i.1, p. 287–292. 2011

SANCHES. J. DURIGAN. J. F.; SANTOS. J.M. Utilização da microscopia eletrônica de varredura como ferramenta de avaliação da estrutura do tecido de abacate 'Quintal' após danos mecânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP. v.29, n.1, p.57-60. Abril 2007

SANHUEZA. R.M.V.; HOFFMANN. A.; ANTUNES. L.E.C.; FREIRE. J.M. **Sistema de produção de morango para mesa na região da Serra Gaúcha e Encosta Superior do Nordeste**. Embrapa Uva e Vinho Sistema de Produção. Versão Eletrônica. Dez. 2005 Disponível em: <sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/index.htm> Acessado em: 10 jan 2010

SÃO JOSÉ. J.F.B. **Sanitização por Ultrassom e Agentes Químicos no Processamento Mínimo de Hortaliças**. 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa. 2009

SÃO PAULO. Secretaria Municipal de Saúde. Portaria SMS-G nº1210 de 02 de agosto de 2006. Regulamento Técnico de Boas Práticas na Produção de Alimentos. **Diário Oficial da Cidade de São Paulo**. São Paulo. SP. 03/08/2006. pg. 23

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. SEBRAE. **Hortaliças Minimamente processadas**. Estudos de Mercado SEBRAE/ESPM set 2008 Relatório Completo. 174p.

SEYMOUR. I. J.; D. BURFOOT.D.; SMITH. R. L.; COX. L. A.; LOCKWOOD. A. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**. v.37, i.5, p. 547–557. 2002

SILVA. F.L.. ESCRIBANO-BAILÓN. M.T.; ALONSO.J.J.P.; RIVAS-GONZALO. J.C.; SANTOS-BUELGA. C. Anthocyanin pigments in strawberry **LWT - Food Science and Technology**. v.40, i.2, p.374–382. 2007.

SILVEIRA. A.C.; CONESA. A.; AGUAYO. E.; ARTES. F. Alternative Sanitizers to Chlorine for Use on Fresh-Cut “Galia” (*Cucumis melo* var. *catalupensis*) Melon. **Journal of Food Science** v.73, i.9, p.M405-M411. 2008

SIMÕES. J.C.; DIAS. J.P.T.; PÁDUA. J.G. Produtividade do morangueiro em Sistema de Produção Integrado. Orgânico e Convencional no Sul e Centro-Oeste de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.4. n.2. p.235-239. 2009

SOARES. N.F.F. Efeito da embalagem na conservação de produtos minimamente processados. In: **Seminário Internacional de Pós-Colheita e Processamento Mínimo de Frutas e Hortalças**. Brasília:2002. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/novidade/eventos/semipostexto10.pdf>> Acessado em: 27 mai 2009

SPECHT. S.; BLUME. R. Competitividade e segmento de mercado à cadeia do morango: algumas evidências sobre o panorama mundial e brasileiro. **47. Congresso Sober**. Palestra. Porto Alegre. 26 a 30 de julho de 2009. 17p.

SREBERNICH. S.M. Uso do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.27, n.4, p.744-750. out.-dez. 2007

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, i.1, p.1-14. 2008

TOURNAS. V.H.; HEERES. J.; BURGESS. L. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. **Food Microbiology**. v.23, i.7, p.684-688. 2006

TOURNAS. V.; STACK. M.E.; PHILIP B. MISLIVEC. P.B.; KOCH. H.A.; BANDLER. A.R. Yeasts. Molds and Mycotoxins. In: Food and Drug Administration. FDA. **Bacteriological Analytical Manual Online**. Chapter 18. 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM071435#authors>> Acessado em: 20/03/2010 UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação/NEPA. **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA-UNICAMP. Versão II. -- Campinas: NEPA-UNICAMP. 2006. 105p.

VAN BOXSTAEL, S.; HABIB, I.; JACXSENS, L.; DE VOCHT, M.; BAERT, L. VAN DE PERRE, E.; RAJKOVIC, A.; LOPEZ-GALVEZ, F.; SAMPERS, I.; SPANOGHE, P.; MEULENAER, B.; UYTENDAELE, M. Food safety issues in fresh produce: Bacterial pathogens, viruses and pesticide residues indicated as major concerns by stakeholders in the fresh produce chain. **Food Control** v.32, i.1, p.190-197. 2013

VANETTI, M.C.D. Microbiologia. In: MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Frutas e Hortaliças e SEBRAE. cap.5. p.141-152. 2007.

VELÁZQUEZ, L.D.C.; BARBINI, N.B.; ESCUDERO, M.E.; ESTRADA, C.L.; GUZMÁN, A.M.S. Evaluation of chlorine, benzalkonium chloride and lactic acid as sanitizers for reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Yersinia enterocolitica* on fresh vegetables. **Food Control**. v. 20, i.3, p. 262–268. Mar. 2009

VIDAL, H.R. Janelas de mercado e novas cultivares de Morangueiro. In: **Curso em Tecnologia de Produção. Transformação e Mercado de Morango** 2º Etapa. Curitiba. Paraná. 69p. 2008

VILAS BOAS, B.M.; NUNES, E.E.; VILAS BOAS, E.V.B.; XISTO, A.L.R.P. Influência do tipo de corte na qualidade de abobrinha 'Menina Brasileira' minimamente processada. **Horticultura Brasileira** v.24, n.2, p.237-240. abr/jun 2006.

VIRTO, R.; SANZ, D.; ÁLVAREZ, I.; CONDÓN; RASO, J. Inactivation kinetics of *Yersinia enterocolitica* by citric and lactic acid at different temperatures. **International Journal of Food Microbiology**. v.103, i.3, p.251– 257. 2005

WANG, C.; WANG, S.; CHANG, T.; SHI, L.; YANG, H.; SHAO, Y.; FENG, W.; CUI, M. Efficacy of lactic acid in reducing foodborne pathogens in minimally processed lotus sprouts. **Food Control**. v. 30, i.2, p. 721-726. 2013.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**. v.9, p.115-125. 1996

YAMASHITA, F.; VEIGA, G.F.; BENASSI, M.T.; ROBERTO, S.R. Morangos embalados com filme de policloreto de vinila (PVC). **Semina: Ciências Agrárias**. v.27, n. 2, p.429-436. 2006

ZHANG, L.; LU, Z.; YU, Z.; GAO, X. Preservation of fresh-cut celery by treatment of ozonated water. **Food Control**. n.16, i.3, p.279-283. 2005

ZHENG, Y.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y.; ZHENG, W. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen

treatments. . **LWT - Food Science and Technology**. v.40, i.1, p.49–57. 2007

ZHOU. B.; FENG. H.; LUO.Y. Ultrasound Enhanced Sanitizer Efficacy in Reduction of Escherichia coli O157:H7 Population on Spinach Leaves. **Journal of Food Science**. v.74, i.6, p.308-313. 2009