

**Utilização do Ozônio Como
Agente Sanitizante em Produtos
Minimamente Processados**





ISSN 0103-6068 81

Dezembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos81

Utilização do Ozônio Como Agente Sanitizante em Produtos Minimamente Processados

Sérgio Agostinho Cenci
Otniel Freitas-Silva
Simone Gomes Vaz
Suelen Alvarenga Regis

Rio de Janeiro, RJ
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba

CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (21) 2410-9500

Fax: (21) 2410-1090

Home Page: www.ctaa.embrapa.br

E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações e Editoração da Unidade

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: Marcos José de Oliveira Fonseca, Marilia Penteado Stephan, Renata Torrezan, Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, Soraya Pereira da Silva, André Luis do Nascimento Gomes.

Secretárias: Renata Maria Avilla Paldês e Celia Gonçalves Fernandes

Revisor de texto: Comitê de Publicações

Normalização bibliográfica: Luciana Sampaio de Araújo

Ilustração da capa: André Guimarães de Souza

Tratamento das fotos e ilustrações: André Guimarães de Souza

Editoração eletrônica: André Guimarães de Souza

1^a edição

1^a impressão (2007): 200 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Utilização do ozônio como agente sanitizante em produtos minimamente processados / Sérgio Agostinho Cenci ... [et al.]. - Rio de Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2007.

24p.; 21cm. - (Documentos / Embrapa Agroindústria de Alimentos, ISSN 0103-6068; 81).

1. Processamento mínimo. 2. Sanitização. 3. Ozônio. 4. Tecnologia de alimento. I. Cenci, Sérgio Agostinho. II. Freitas-Silva, Otniel. III. Vaz, Simone Gomes. IV. Regis, Suelen Alvarenga. V. Embrapa Agroindústria de Alimentos. VI. Série.

Autores

Sérgio Agostinho Cenci

Eng. Agrônomo, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos e Pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9641.
E-mail: cenci@embrapa.br

Otniel Freitas-Silva

Eng. Agrônomo, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9645.
E-mail: ofreitas@ctaa.embrapa.br

Simone Gomes Vaz

Nutricionista. MBA em Qualidade e Segurança dos Alimentos. Bolsista CNPq – Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9645.
E-mail: sigvaz78@yahoo.com.br

Suelen Alvarenga Regis

Graduanda em Economia Doméstica – UFRRJ.
Bolsista CNPq/Embrapa Agroindústria de Alimentos.
Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470,
Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9645.
E-mail: suelenar@gmail.com

Apresentação

Tendo em vista que o ozônio é considerado um potente sanitizante de aplicação promissora e que algumas agroindústrias já vêm utilizando-o em seu processo de sanificação, este trabalho aborda algumas das principais vantagens e desvantagens relativas à sua utilização em substituição a outros produtos de mesma finalidade.

Amauri Rosenthal
Chefe Geral da Embrapa Agroindústria de Alimentos

Sumário

Introdução	09
Características Físico-Químicas do Ozônio	10
Mecanismo de Inativação Microbiana	12
Microorganismos Alvos	13
Bactérias	13
Vírus	14
Fungos	15
Reação do Ozônio com o Tecido Vegetal	15
Vantagens da Utilização do Ozônio	16
Desvantagens	17
Comparação entre Sanificantes	19
Conclusão	22
Referências Bibliográficas	23

Utilização do Ozônio Como Agente Sanitizante em Produtos Minimamente Processados

Sérgio Agostinho Cenci

Otniel Freitas-Silva

Simone Gomes Vaz

Suelen Alvarenga Regis

Introdução

O ozônio é um gás formado naturalmente em pequenas quantidades na estratosfera através da ação dos raios ultravioleta sobre moléculas de oxigênio, causando o rompimento das mesmas com conseqüente formação de fragmentos, os quais irão unir-se produzindo O_3 (Fig. 1). Também pode ser produzido no solo como um produto de reações de oxidação envolvendo hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio. Por ser extremamente instável, sua decomposição ocorre espontaneamente, retornando à sua forma precursora de oxigênio (GIL; TOMÁS-BARBERÁN, 2005; GRAHAM, 1997).

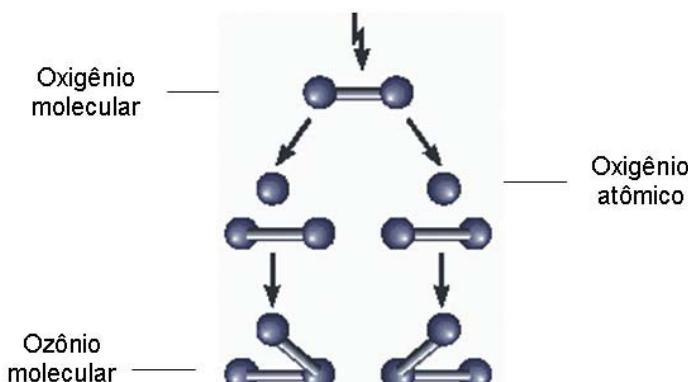


Fig. 1. Princípio de geração do ozônio.

Fonte: OKTE Engenharia e Consultoria (2007).

Seu alto poder oxidante, conferido pela formação de radicais hidroperóxido (HO_2^-), hidroxila (OH^-) e superóxido (O_2^-), possui efeitos bactericidas e bacteriostáticos (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Estas propriedades corroboraram para que sua utilização ocorresse inicialmente em processos de purificação da água na Holanda em 1893 (TORRES et al., 1996) a partir da criação de um equipamento desenvolvido por Fewson, em 1888, chamado gerador de ozônio; também foram observados os benefícios para o sabor e o odor da água (GIL; TOMÁS-BARBERÁN, 2005) ao remover os minerais ferro, manganês e enxofre (XU, 1999).

A primeira aplicação do ozônio em água para tratamentos de vegetais, em escala industrial, ocorreu na cidade de Nice, na França, em 1906 (TORRES et al., 1996).

Depois de algumas pesquisas em 1982, o ozônio foi declarado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como uma substância reconhecidamente segura (GRAS - *Generally Recognized as Safe*), com uso permitido apenas como sanitizante para água engarrafada (ESTADOS UNIDOS. Food, 2007). Alguns anos mais tarde, um grupo de especialistas americanos concluiu que, sendo o ozônio uma substância GRAS, sua utilização poderia ser extensiva a alimentos. A esta afirmativa, o FDA não se opôs, estimulando o seu uso nas indústrias processadoras (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Atualmente, o ozônio vem ganhando destaque na sanitização de alimentos em substituição ao uso do cloro, já que este apresenta problemas de contaminação ambiental e ocupacional, devido à formação de subprodutos altamente tóxicos e cancerígenos: os trialometanos (THMs). Entretanto, são necessários estudos para que esta substituição ocorra de forma segura sob os pontos de vista microbiológico, econômico e de saúde, já que sua utilização ainda é pouco conhecida.

Características Físico-Químicas do Ozônio

Em temperaturas ambiente e refrigerada, o ozônio é um gás com odor característico, podendo ser detectado pelo olfato humano, em concentrações que variam entre 0,02 e 0,04 ppm (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Sua alta capacidade oxidante é conferida por seu potencial de oxidação de -2,07 volts (V), que o torna 1,5 vezes mais forte e eficaz que o cloro e outros sanitizantes (Quadro 1) contra várias espécies de microorganismos (FORNEY, 2003; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; OKTE ENGENHARIA E CONSULTORIA, 2007; XU, 1999).

Quadro 1. Poder de oxidação relativa de substâncias desinfetantes.

Desinfetantes	Potencial de Oxidação (volts)	Poder relativo de oxidação*
Ozônio	-2,07	1,52
Peróxido de Hidrogênio	-1,77	1,3
Hipoclorito	-1,49	1,1
Cloro	-1,36	1

Baseado no cloro como referência (=1,00).

Fonte: Forney (2003); Kim, Yousef e Dave (1999); OKTE Engenharia e Consultoria (2007); Xu (1999).

A solubilidade do ozônio em água não ocorre completamente e depende de fatores como pressão parcial e temperatura. Por isso, inclui-se na lei de Henry, a qual estabelece que a dissolução de um gás em uma solução, a uma dada temperatura, é linearmente proporcional à sua pressão parcial. Em temperaturas elevadas, o ozônio é pouco solúvel, ocorrendo o inverso quando a mesma é reduzida. A uma temperatura de 20°C, essa dissolução é de, aproximadamente, 0,2 µg/L, chegando a 0,54 µg/L quando a temperatura atinge 0°C (FORNEY, 2003; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

A pureza da água também influencia na taxa de solubilidade e reatividade, na medida em que, assim como no cloro, a presença de minerais e matéria orgânica pode exercer a função de catalisadores do ozônio aumentando sua decomposição (Khadre; Yousef; Kim, 2001). Desta forma, para que haja melhor eficácia do sanificante, seja ele qual for, é essencial que a água utilizada no processo seja de boa qualidade.

Com meia-vida curta, aproximadamente 20 minutos em temperatura ambiente (XU, 1999), sua estabilidade em soluções aquosas é afetada pelo valor do pH numa relação inversamente proporcional. Assim, quanto maior o pH da solução, menor será a estabilidade do ozônio. Pesquisas atribuem a rápida decomposição do O₃ em soluções com alto pH à atividade catalítica do íon hidroxila (Khadre; Yousef; Kim, 2001; Kim; Yousef; Dave, 1999).

A decomposição do ozônio em meio aquoso, em face do tipo de composto presente na solução, forma radicais reativos e inclui as reações de:

- Iniciação: formação de radicais livres, superóxido (O₂[·]) e, sua forma hidrogenada, hidroperóxido (HO₂[·]), com posterior geração do radical hidroxila (OH[·]), que é altamente reativo;
- Promoção: regeneração dos radicais hidroperóxido e superóxido;

- Inibição: reações que levam ao consumo do radical hidroxila sem a regeneração do radical superóxido (STAEHELIN; HOIGNÉ, 1985).

Compostos como íon hidroxila e Fe^{+2} , ácido fórmico e álcoois primários, bicarbonato e álcoois terciários exercem a função de iniciar, promover e inibir, respectivamente, o processo de decomposição (STAEHELIN; HOIGNÉ, 1985).

A reatividade do ozônio aumenta com a formação destes radicais, uma vez que, além da reação direta do composto orgânico com o ozônio molecular, ocorre reação entre o composto orgânico e os radicais, principalmente OH^- , formados a partir de sua decomposição (STAEHELIN; HOIGNÉ, 1985).

A inativação de microorganismos ocorre predominantemente através da reação com o ozônio molecular quando o pH é baixo. Por outro lado, sua decomposição em valores de pH mais elevados contribui para a formação de radicais livres, os quais aumentam sua eficácia (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Mecanismos de INativação Microbiana

O tipo de microorganismo, bem como a idade da cultura, a densidade da população tratada, a presença de compostos na solução com demanda de O_3 , a forma de aplicação do O_3 (se em bolhas de gás ou em solução aquosa uniforme), a acurácia dos métodos e planos de medir o ozônio e método de avaliar a eficácia antimicrobiana são aspectos apontados por alguns estudos que podem interferir na sensibilidade do microorganismo ao O_3 e, consequentemente, sua eficácia de inativação (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Este processo de inativação consiste num mecanismo complexo devido à reação do ozônio com inúmeros componentes celulares, dentre os quais destacam-se: proteínas, lipídios insaturados e enzimas respiratórias na membrana celular; peptidoglicanos no envoltório celular; enzimas e ácidos nucléicos no citoplasma; proteínas e peptídeos no revestimento de esporos e capsídeo viral e alguns aminoácidos como o triptofano. A oxidação dos componentes da membrana celular inativa enzimas (a partir da reação com grupos sulfidrilas), danifica o material nucléico, além de causar um extravasamento de material celular com lise em decorrência da alteração da permeabilidade da membrana (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; MOORE; GRIFFITH; PETERS, 2000).

Microorganismos Alvos

Bactérias

As grans positivas são mais resistentes ao O₃ que as grans negativas devido à estrutura de sua parede celular que confere maior proteção. Estudos utilizando várias espécies de bactérias comprovaram a eficácia do ozônio contra estas espécies incluindo suas formas vegetativas e de esporos. No entanto, essa ação bactericida depende da dose aplicada, tempo de exposição entre as espécies e do meio no qual a bactéria está presente (Quadro 2) (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Esporos bacterianos apresentam maior resistência ao ozônio, em relação às células vegetativas, pois seu revestimento funciona como uma barreira primária de proteção (FOEGEDING, 1985).

Quadro 2. Inativação de bactérias através do tratamento com ozônio.

<i>Condições de Tratamento</i>						
Bactérias	Concentração O ₃ (mg/L)	Tempo (min.)	pH	Temp. (°C)	Inativação (log10)	Meio
<i>Bacillus cereus</i>	0,12	5	---	28	>2,0	Água com demanda livre de O ₃
<i>Bacillus cereus</i> (esporos)	2,29	5	---	28	>2,0	Água com demanda livre de O ₃
<i>Escherichia coli</i>	0,065	0,5	---	---	3,5	Água com demanda livre de O ₃
<i>E.coli</i>	0,004-0,8	0,5-2,0	6,9	---	0,5-6,5	fosfato de sódio
<i>E.coli</i>	0,19	5	2,8	---	>2,0	Água com demanda livre de O ₃
<i>E.coli</i>	0,23-0,26	1,7	7	24	4	Água com demanda livre de O ₃
<i>E.coli</i>	0,53	0,1	6,8	1	2	fosfato de sódio
<i>E.coli</i> O157:H7	0,3-1,0	<0,5	5,9	25	1,3-3,8	Água com demanda livre de O ₃
<i>Legionella pneumophila</i>	0,32	20	7	24	>4,5	Água destilada
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	0,23-0,26	1,67	7	24	1	Água com demanda livre de O ₃
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,2-1,2	<0,5	5,9	25	0,9-5,0	Água com demanda livre de O ₃
<i>Salmonella enteritidis</i>	0,5-6,5	0,5	---	25	0,6-4,0	Água com demanda livre de O ₃
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,23-0,26	1,67	7	24	4,3	Água com demanda livre de O ₃
<i>Staphylococcus aureus</i>	---	0,25	7	25	>2,0	Fosfato de sódio

Fonte: Khadre, Yousef e Kim (2001); Kim, Yousef e Dave (1999).

Vírus

A aplicação do ozônio confere alta eficácia na inativação de vírus em baixas concentrações e curto tempo de contato. Porém, doses e tempos maiores tornam-se necessários para se alcançar essa inativação se os vírus encontram-se associados a células ou fragmentos presentes no meio (Quadro 3) (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Outros autores citam a semelhança entre vírus e bactérias quanto à sensibilidade ao ozônio após compararem a inativação de várias espécies de vírus pela aplicação deste sanificante em água (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

Quadro 3. Inativação de vírus através do tratamento com ozônio.

Condições de Tratamento						
Virus	Concentração O ₃ (mg/L)	Tempo (min.)	pH	Temp. (°C)	Inativação (log ₁₀)	Meio
Bacteriófago f2	0,09-0,8	0,08	7	25	5,0-7,0	Água com demanda livre de O ₃
Bacteriófago MS2	0,6	0,3	6,9	22	2,96	Fosfato de sódio
Bacteriófago MS2	0,3-0,4	0,08	6,0-10,0	3,0-10,0	6	Fosfato de sódio
Poliovírus tipo 1	Inicial: 1-10 Residual: 0,6	---- 5	---	---	---	Água com demanda livre de O ₃
Poliovírus tipo 1	Residual: 0,3	< 0,14	---	---	2	Água com demanda livre de O ₃
Poliovírus tipo 1	Residual: 0,23-0,26	0,5	---	---	2	Água com demanda livre de O ₃
Poliovírus tipo 1 (Mahoney)	0,23-0,26	1,67	7	24	2,5-3,0	Água com demanda livre de O ₃
Poliovírus tipo 3	0,6	0,3	6,9	22	1,63	Fosfato de sódio
Rotavírus Humano	0,31	10	7,2	20	0,7	Água de esgoto
Rotavírus símeo SA 11	0,1-0,25	6,0-8,0	6,0-8,0	4	3	Fosfato de sódio
Rotavírus humano WA ATCC	2,1-4,2	1	---	22	0,0-1,0	---
Rotavírus humano WA Wooster	1,9-15,9	1	---	22	1,0-5,0	---
Vírus Coxsackie A9	0,035	0,16	7	29	>1,7	Água com demanda livre de O ₃
Vírus Coxsackie B5	0,4	2,5	7,2	20	4	Água de esgoto
Vírus Entérico	Inicial: 4,1 residual: 0,02	29	7,8	18	>1,7	Água reutilizada
Vírus Estomatite Vesicular	---	0,25	7	25	>2,0	---
Vírus Hepatite A	0,25	0,02	7,2	20	2,7	Fosfato de sódio
Vírus Hepatite A	0,3-0,40	0,08	6,0-10,0	3,0-10,0	3,9	Fosfato de sódio
Vírus Hepatite A	1	---	6,0-8,0	4	5	Fosfato de sódio
Vírus Poliomielite	residual: 0,3	4	---	---	4	---

Fonte: : Khadre, Yousef e Kim (2001); Kim, Yousef e Dave (1999).

Fungos

O ozônio é um efetivo agente fungicida, sendo que fungos fermentadores mostram-se mais sensíveis a este sanitizante que os demais fungos.

Entretanto, essa sensibilidade varia entre eles (Quadro 4) (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; NADAS; OLMO; GARCÍA, 2003; WHANGCHAI; SAENGNIL; UTHAIBUTRA, 2005).

A incidência de fungos em morangos tratados com ozônio a 0,35ppm e morangos não tratados foi comparada após o armazenamento em câmara fria a 2°C. Verificou-se que o tratamento com ozônio por três dias a 2°C foi parcialmente efetivo na prevenção ao crescimento fúngico e, após dois dias a 20°C, com redução de 15% do apodrecimento causado por fungos deteriorantes (PÉREZ et al., 1999).

Quadro 4 - Inativação de fungos através do tratamento com ozônio.

Condições de Tratamento						
Fungos	Concentração O ₃ (mg/L)	Tempo (min.)	pH	Temp. (°C)	Inativação (log10)	Meio
<i>Botrytis cinerea</i>	1,5	---	---	2	---	Atmosfera enriquecida com O ₃
<i>Candida parapsilosis</i>	0,23-0,26	1,67	7	24	2,7	Água com demanda livre de O ₃
<i>Candida tropicalis</i>	0,02-1,0	0,30-0,08	7,2	20	2	Água com demanda livre de O ₃
<i>Cladosporium sp.</i>	20	60	---	---	---	Atmosfera enriquecida com O ₃
<i>Lasiodiplodia sp.</i>	20	60	---	---	---	Atmosfera enriquecida com O ₃

Fonte: Kim, Yousef e Dave (1999); Nadas, Olmo e García (2003); Whangchai, Saengnil e Uthaibuttra (2005).

Reação do Ozônio com o Tecido Vegetal

Atenção especial tem sido dada ao ozônio devido a suas propriedades antimicrobianas e eficácia em inibir ou prevenir apodrecimento do produto decorrente da ação de fungos deteriorantes. Contudo, sua ação não se restringe à microbiota inerente aos vegetais e frutas, uma vez que ocorre uma resposta do tecido celular devido à sua presença, induzindo alterações fisiológicas.

O tecido vegetal, em resposta à entrada do ozônio (a qual ocorre principalmente através das aberturas dos estômatos), desencadeia mecanismos de defesa que:

- 1º) irão impedir sua entrada na célula vegetal como resultado do fechamento dos estômatos (1ª linha de defesa) (FORNEY, 2003);
- 2º) reduzir sua concentração e seus produtos reativos através de antioxidantes, enzimas antioxidantes e compostos fenólicos, como o ácido ascórbico, superóxido dismutase e catalase, e α -tocoferol, respectivamente, presentes na fase líquida dos apoplastos (2ª linha de defesa) (FORNEY, 2003).

Quando as concentrações de ozônio ou de seus intermediários reativos excedem a capacidade do tecido vegetal de auto defesa, danos celulares irreversíveis são desencadeados ocorrendo (FORNEY, 2003):

- degradação da cutícula, promovendo sua penetração na célula;
- injúrias no tecido vegetal caracterizadas pelo desenvolvimento de manchas;
- perda de clorofila e carotenóides;
- aumento da permeabilidade da membrana, devido à oxidação de proteínas e peroxidação lipídica, estando esta última associada à formação de hidroperóxidos lipídicos (LOOH), os quais reduzem a função e fluidez da membrana;
- aumento da taxa respiratória, possivelmente, influenciando na
- produção de etileno (FORNEY, 2003).

Entretanto, ao induzir a atividade de uma variedade de genes de defesa, o ozônio promove a produção de fitoalexinas, como a quitinase, a qual funciona como uma barreira celular contra a invasão de fungos patógenos (FORNEY, 2003).

Vantagens da Utilização do Ozônio

Sob o ponto de vista ambiental, um dos fatos que desperta interesse na utilização do ozônio como agente sanitizante é sua capacidade de auto decomposição, não gerando resíduos tóxicos; os produtos de sua decomposição (radicais OH⁻, O₂⁻ e HO₂⁻) agem potencializando seu efeito oxidante.

Esta última característica, aliado ao seu alto potencial de oxidação, contribui para torná-lo eficaz contra inúmeras espécies de microorganismos patogênicos e deteriorantes, incluindo esporos e protozoários a baixas concentrações e tempo de contato reduzido quando comparado aos

sanificantes utilizados comercialmente. A redução no tempo de sanificação se torna um atrativo para as indústrias processadoras que buscam otimizar o tempo na linha de produção, tendo em vista uma maior produtividade.

O ozônio também apresenta a particularidade de decompor pesticidas, resíduos químicos nos alimentos, subprodutos do cloro e compostos orgânicos tóxicos ao aumentar a flocação e sua biodegradabilidade, precipita o ferro, remove cor e odor na água, além de exercer função na redução de micotoxinas (compostos provenientes do metabolismo de algumas espécies de fungos) (KARACA; VELIOGLU, 2007; SMILANICK, 2003; XU, 1999).

O processo de amadurecimento de frutas e vegetais é retardado pelo ozônio através de sua reação química com o etileno, removendo este composto produzido naturalmente pelo processo respiratório. Desta forma, o ozônio também pode ser utilizado não somente como um agente sanitizante, mas como uma ferramenta para aumentar a vida útil de muitas frutas e vegetais na etapa de armazenamento (BEUCHAT, 1992; XU, 1999).

Desvantagens

Como todo agente sanitizante, o ozônio também apresenta desvantagens que limitam seu uso e merecem ser analisadas para que sua escolha seja feita de forma consciente.

Para que o ozônio seja produzido a nível industrial, é necessário que haja no local um gerador de ozônio dependente de descarga elétrica de alta voltagem. Isto implica em altos custos iniciais com o gerador (além de sistemas de filtração da água, se esta for de reuso), energia e manutenção de equipamentos (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; SMILANICK, 2003).

Os custos iniciais com o gerador podem ser dissipados com a venda dos produtos processados (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001). Entretanto, ao repassar esse custo para o produto, deve-se atentar para que o preço final no mercado de vendas não fique acima do poder de compra do consumidor que, certamente, dará preferência a um produto similar, porém de menor preço.

O ozônio é extremamente tóxico em baixas concentrações. Conforme descrito por alguns autores, concentrações de aproximadamente 0,1mg/L são suficientes para causar irritações no nariz, garganta e olhos (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Os efeitos tóxicos do ozônio ao organismo humano, por um tempo de exposição de uma hora, a

concentrações de 2, 4, 15 e 95 mg/L, foram relatados por Thorp (1950). Inicialmente, o ozônio induziu efeitos sintomáticos seguidos por irritação, toxicidade e letalidade, respectivamente. Nos Estados Unidos da América, a OSHA (Occupational Safety and Health Administration) aprovou um limite para o tempo de exposição ao ozônio no ambiente de trabalho de 0,1ppm por 8 horas diárias para uma jornada de trabalho de 40 horas semanais (ESTADOS UNIDOS. Occupational, 2007; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; XU, 1999).

Como o mecanismo de dissolução de ozônio depende de fatores como tipo de radical formado na solução e matéria orgânica presente no meio, há uma dificuldade para estabelecer uma concentração que seja seguramente eficaz para eliminar uma concentração definida de microorganismos. De acordo com o composto presente no meio aquoso, a dissolução do ozônio poderá ser iniciada, promovida ou inibida (conforme visto anteriormente); dessa forma, não se pode afirmar que uma determinada concentração do sanificante será sempre efetiva porque, apesar de sua efetividade depender também da quantidade aplicada, o ozônio residual será determinante (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

A utilização de água limpa com alta qualidade e baixo potencial de oxirredução torna-se fundamental neste processo para que o poder bactericida do ozônio não seja alterado (SMILANICK, 2003).

A resistência dos microrganismos ao ozônio é maior quando estes se encontram associados a algum tipo de fragmento presente no meio. Sendo assim, maiores dosagens do sanificante se tornam necessárias para eliminá-los ou reduzir o índice de contaminação. Porém, o uso excessivo de ozônio, tempo de exposição e temperatura podem causar danos oxidativos na superfície do produto, induzindo injúrias nos tecidos de vegetais e frutas caracterizadas por descoloração, escurecimento ou branqueamento da epiderme (Quadro 5), alterando negativamente suas características sensoriais (FORNEY, 2003; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999; SMILANICK, 2003).

O ozônio também pode ser um agente carcinogênico, uma vez que contribui para o estresse oxidativo, responsável por danos e morte celular, atuando também no DNA desempenhando um importante papel nos processos de mutagênese e carcinogênese (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Quadro 5. Injúrias causadas pelo tratamento com ozônio durante armazenamento.

Produtos	Conc. Ozônio ($\mu\text{L/L}$)	Temp. (°C)	Tempo (dias)	Sintomas
Maçãs	3,25	-0,6	28	Manchas descoloridas tornando-se escuras e rebaixadas.
Bananas	1,5	15	10	Áreas verde-escuras tornando-se escurecidas.
	5	15	8	
	25	15	8	
	40	15	6	
Ervilhas	0,5	7	7	Áreas com manchas escurecidas.
Cenouras	0,53	10	21	Superfície escurecida.
	1	2	28	
	1	8	28	Cavidades com manchas ressecadas e perda da coloração alaranjada.
Aipo	0,115	10	21	Escurecimento da superfície.
Amora	0,6	15	35	Aumento da perda de massa e apodrecimento.
Uvas	4	NR1	>0,03	Aparecimento de veias microscópicas na epiderme.
Alface	0,1	2	3	Folhas expostas amarelas, escurecimento de áreas intravascular, algumas manchas escurecidas, colapso de células.
	0,4	2	5	
	0,7	~20,0	0,1	
Cogumelos	0,04	4	14	Escurecimento da superfície.
Pêssegos	0,9	16	5	Manchas escurecidas.
	10	16	5	
Morangos	0,5	13,0 – 16,0	5	Cálice enrugado e ressecado. Descoloração da fruta.
	0,5	1,7	7	
	0,5	5	4	

Fonte : Smilanick (2003).

Comparação entre Sanificantes

Atualmente, encontram-se disponíveis no mercado vários tipos de sanificantes utilizados para reduzir de maneira significativa a presença de patógenos nos produtos processados. A eficácia de cada um depende de variáveis como o tipo e fisiologia dos microorganismos alvos, características implícitas ao produto a ser sanificado (textura, natureza hidrofóbica da cutícula cerosa de vegetais que funcionam como barreira protegendo os microorganismos da exposição aos agentes sanitizantes), tempo de exposição, concentração, pH e temperatura (GONZÁLEZ et al., 2005; PARISH et al., 2003).

Independentemente do sanificante, todos apresentam vantagens e desvantagens, cujas características de intervenção próprias (Quadro 6) influenciarão na escolha do melhor método para eliminar patógenos, o qual, para alguns autores, consiste na prevenção da contaminação (GONZÁLEZ et al., 2005; PARISH et al., 2003).

Quadro 6. Vantagens e desvantagens apresentadas pelos sanificantes mais utilizados.

Sanitizantes	Vantagens	Desvantagens
Hipoclorito	<ul style="list-style-type: none"> • Relativamente fácil de aplicar e monitorar; • Barato; • Possui amplo espectro de ação microbicida; 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento da temperatura da água de lavagem libera cloro gasoso (Cl₂) que é tóxico; • Perde efetividade rapidamente ao entrar em contato com matéria orgânica, metais, altas temperaturas e luz; • Formação de subprodutos clorados (trialometanos) potencialmente carcinogênicos e mutagênicos ; • Dependente de pH; • Corrosivo para equipamentos; • Esporos bacterianos e oocistos de protozoários demonstram alguma resistência;
Cloreto de sódio acidificado	<ul style="list-style-type: none"> • Maior eficácia que o cloro, devido ao baixo pH; • Amplo aspecto micromicídico; • Sua efetividade não é afetada pelo alto conteúdo de matéria orgânica na água de lavagem. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pouca informação sobre a produção de subprodutos clorados; • Quantidade limitada de pesquisas a respeito deste sanitizante.
Dióxido de cloro	<ul style="list-style-type: none"> • Grande espectro microbicida; • Boa penetração na s biopelículas; • Capacidade de romper compostos fenólicos eliminando sabores e odores presentes na água de lavagem; • Pouco afetado pelas mudanças de pH; • Menos tóxico que o hipoclorito. 	<ul style="list-style-type: none"> • Instabilidade devida sua geração ocorrer <i>in situ</i>; • Alto custo com equipamentos; • Necessidade de mão-de-obra especializada; • Altas concentrações do gás pode ser explosiva.
Fosfato trissódico	<ul style="list-style-type: none"> • Menos corrosivo que muitos outros compostos. 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Listeria</i> relativamente resistente; • Possui alto pH (11-12).
Ácidos orgânicos	<ul style="list-style-type: none"> • Econômicos dependendo do tipo e forma uso; 	<ul style="list-style-type: none"> • Somente usado em pH baixo; • Efeito antimicrobicida depende do tipo ácido e linhagem do microorganismo; • Pode exercer efeitos negativos na características sensoriais do produto vegetal.
Ozônio	<ul style="list-style-type: none"> • Efetivo em baixas concentrações e curto tempo de contato; • Amplo espectro microbicida; • Boa habilidade de penetração; • Decompõe produtos tóxicos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Possivelmente produz injúrias fisiológicas; • Corrosivo para equipamentos; • Possivelmente deteriora <i>flavor</i> e cor do produto; • Possui efeitos tóxicos à saúde .
Biocontrole	<ul style="list-style-type: none"> • Ausência de tratamento químico; • Produção de compostos antimicrobianos nocivos para os patógenos desfavorecendo sua sobrevivência. 	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa aceitação do consumidor devido à presença de microorganismos vivos; • Espectro de ação limitado.

Fonte: González et al. (2005); Parish et al. (2003).

Devido à facilidade de uso e ao baixo custo, a utilização do cloro tornou-se mais conveniente nas indústrias processadoras. A forma mais comum de uso inclui o cloro líquido e o hipoclorito, em concentrações que variam de 50 a 200 ppm. Em soluções aquosas, sua atividade antimicrobiana depende do cloro livre disponível que se encontra na forma de ácido hipocloroso (HOCl) (GONZÁLEZ et al., 2005; PARISH et al., 2003).

Assim como a maioria dos sanitizantes, sua concentração em solução aquosa depende do pH, temperatura, presença de matéria orgânica e metais. Sua solubilidade máxima em água ocorre aproximadamente à 4°C; entretanto, sua ação é mais efetiva quando a temperatura da água é maior que a temperatura do produto a ser tratado. Alguns autores sugerem que a temperatura da água de lavagem seja mantida, no mínimo, a 10°C acima que a do produto, de modo a reduzir a possibilidade de infiltração microbiana causada pelo diferencial de pressão gerado pela temperatura (GONZÁLEZ et al., 2005; PARISH et al., 2003).

Devido a formação de compostos com propriedades mutagênicas e carcinogênicas (clorofórmio, bromodíclorometano), gerados a partir da reação dos derivados clorados com a matéria orgânica, a continuidade de sua utilização tem suscitado polêmicas, levando à busca de outras alternativas para substituí-lo. O ozônio surge como uma destas alternativas, diferenciando-se em muitos aspectos (Quadro 7), como sua alta decomposição, uma vez que é extremamente instável em oxigênio, o que não gera problemas ambientais (GIL; TOMÁS-BARBERÁN, 2005).

Quadro 7. Comparativo entre os atributos do Cloro e Ozônio.

Atributo	Hipoclorito	Ozônio
Potencial Microbiológico	Elimina patógenos e saprófitas de plantas eficientemente. Alguns patógenos humanos, esporos de protozoários resistentes. Taxa máxima admitida sob controle.	Elimina patógenos de plantas e saprófitas eficientemente, incluindo esporos de protozoários. Taxa máxima limitada pela solubilidade do ozônio, dificuldade para exceder 10µg/ml.
Custo	Baixo custo químico. Entregas repetidas do produto são exigidas, algumas vezes sistemas de controle de pH e concentração são necessários, menor manutenção e custo com energia, questão do armazenamento do cloro. Água de qualidade, no mínimo, moderada se faz necessário.	Variável: sem custo químico, mas alto custo inicial para gerador, usualmente requer sistemas de filtração se a água utilizada for de reuso. Geradores são complexos, custos de manutenção e energia moderados. A água utilizada deve ser limpa de alta qualidade com baixo potencial de oxidação.
Influência do pH	Eficácia diminuída com aumento do pH (pH acima de 8), necessário ajuste de pH. Gás cloro é liberado em pH muito baixo (4 ou menor)	Potencial não é pouco influenciado pelo pH, mas a decomposição do ozônio aumenta rapidamente em pH acima de 8.

Continua...

Continuação

Subprodutos	Preocupação com os trialometanos, particularmente o clorofórmio.	Pequeno aumento em aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos carboxílicos formados a partir de compostos orgânicos.
Segurança no trabalho	Cloraminas podem formar e produzir vapor irritante. Sistemas de gás cloro requerem, no local, uma medida de segurança. Limite para o gás cloro, segundo OSHA (TWA): 1µg/mL.	O gás ozônio em soluções é irritante e deve ser administrado. Limite para o gás ozônio, segundo OSHA (TWA): 0,1 µL/L.
Persistência em água	Persiste horas em água limpa, porém é reduzida para minutos se a água for suja.	Persiste minutos em água limpa sendo reduzida a segundos em água suja.
Taxa de uso	Limitada pela regulação de 25 a 600 µg/mL, dependendo da aplicação.	Não limitado pela regulação, mas a lei de Henry limita um máximo teórico de ozônio em água de 30 ppm (µg/L a 200C). A maioria dos sistemas de ozônio produz 5 µg/mL ou menos.
Uso em água aquecida	Aumenta a potência somente em vapor.	Sem efeito prático, acelera a velocidade de decomposição, aumenta a forma gasosa e diminui sua solubilidade.
Influência na qualidade do produto	Pouco risco de injúria em taxas recomendadas ou menores que 200 µg/mL.	Em água e baixas aplicações em gás, o risco de injúria em citrinos parece baixo, porém são necessárias mais avaliações.
Impacto na qualidade da água	Impacto negativo secundário: concentrações de sal na água aumentam podendo interferir com fermentação usada para reduzir a inativa alguns pesticidas. Descarga para descoloração da água pode ser necessária.	Impacto positivo: não aumenta o sal na água, pode decompor pesticidas, a Demanda Biológica de Oxigênio pode ser reduzida, aumenta a floculação e a biodegradabilidade de muitos compostos orgânicos, precipita o ferro, remove cor e odor.
Corrosividade	Alta, particularmente ferro e danifica, em menor nível, objetos de aço.	Mais alta, particularmente borracha, alguns plásticos, metais amarelos, alumínio, ferro, zinco e corrói objetos de aço.

Fonte: Smilanick (2003).

Conclusão

O ozônio demonstra alta eficácia como agente sanitizante contra um amplo espectro de microorganismos em curto tempo e em baixas concentrações, quando comparado a outros produtos comumente utilizados com a mesma finalidade. Entretanto, sua utilização requer maiores esclarecimentos quanto à espécie vegetal e aos microorganismos alvos. No seu custo / benefício, têm de ser contabilizadas suas limitações, entre as quais o comprometimento da vida útil do produto tratado, a saúde das pessoas expostas ao gás no ambiente de trabalho, além do alto investimento para instalação do aparelho gerador de ozônio e as dificuldades de dosagem e monitoramento das concentrações.

Desta forma, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de esclarecer questões que envolvam a utilização deste sanitizante, considerado por muitos estudiosos e leigos como sendo promissor para a indústria de alimentos.

Referências Bibliográficas

BEUCHAT, L. R. Surface disinfection of raw produce. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 12, n. 1, p. 6 -9, jan. 1992.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 1999.

ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration. **Direct food substances affirmed as generally recognized as safe**. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1563>>. Acesso em: 08 ago. 2007.

ESTADOS UNIDOS. Occupational Safety and Health Administration. **Air contaminants**. Disponível em: <http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=10286>. Acesso em: 08 ago. 2007.

FOEGEDING, P. M. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance. **Food Microbiology**, n. 2, p. 123-134, 1985.

FORNEY, C. F. Postharvest response of horticultural products to ozone. In: HODGES, D. M. **Postharvest oxidative stress in horticultural crops**. New York: Food Products Press, 2003. cap. 2, p. 13-53.

GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Uso de ozono en la conservación. In: GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; GARDEA, A. A.; CUAMEA-NAVARRO, F. (Ed.). **Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados**. 1. ed. Hermosillo, Sonora, México: CIAD, 2005. cap. 18, p. 400-412.

GONZÁLEZ, R. J; ALLENDE, A.; RUÍZ-CRUZ, S.; LUO, Y. Sanitizantes utilizados. In: GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; GARDEA, A. A.; CUAMEA-NAVARRO, F. (Ed.). **Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados**. 1. ed. Hermosillo, Sonora, México: CIAD, 2005. cap. 12, p. 262-285.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 72-75, jun. 1997.

KARACA, H.; VELIOGLU, Y. S. Ozone application, as a promising technology for patulin degradation: influence of pH and temperature. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 12., 2007, Istambul, Turkey. **Poster presentations**. Istanbul: Tübitak, 2007.

- KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**. v. 66, n. 9, p. 1242-1252, nov. 2001.
- KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. A. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**. v. 62, p. 1071-1087, 1999.
- MOORE, G.; GRIFFITH, C.; PETERS, A. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 8, p. 1100-1106, 2000.
- NADAS, A.; OLMO, M.; GARCÍA, J. M. Growth of *botrytis cinerea* and strawberry quality in ozone-enriched atmospheres. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 5, 2003.
- OKTE Engenharia e Consultoria. **Ozônio**. Disponível em: <<http://www.okte.com.br/Tecnologias/Ozonio.htm>>. Acesso em: 08 ago. 2007.
- PARISH, M. E.; BEUCHAT, L. R.; SUSLOW, T. V.; HARRIS, L. J.; GARRET, E. H.; FARBER, J. N.; BUSTA, F. F. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, p. 161-173, 2003. Supplement 1.
- PÉREZ, A. G.; SANZ, C.; RÍOS, J. J.; OLÍAS, R.; OLÍAS, J. M. Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 4, p.1652-1656, 1999.
- SMILANICK, J. L. Use of ozone in storage and packing facilities. In: WASHINGTON TREE FRUIT POSTHARVEST CONFERENCE, 2003, Wenatchee, WA. **Proceedings**. Disponível em: <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003H.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2007.
- STAHELIN, J.; HOIGNÉ, J. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. **Environmental Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 1206-1213, 1985.
- THORP, E. D. The toxicity of ozone: a report and bibliography. **Industrial Medicine and Surgery**, v. 15, p. 49-57, 1950.
- TORRES, E. A. F. S.; ROGÉ-FERREIRA, A. F.; RÍMOLI, C. D.; OLIVO, R. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p.18-23, mar./abr. 1996.
- WHANGCHAI, K.; SAENGNIL, K.; UTHAIBUTRA, J. Control of postharvest diseases in longan fruit by ozone. **Acta Horticulturae**, v. 682, p. 2121-2126, 2005. Edition of Proceedings of the Fifth International Postharvest Symposium, Verona, Italy, jun. 2005. Disponível em : <http://www.pubhort.org/actahort/books/682/682_289.htm>. Acesso: 21 ago. 2007.
- XU, L. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 53, n. 10, p. 58-62, oct. 1999.



Agroindústria de Alimentos