UTILIZAÇÃO DE OZÔNIO COMO SANITIZANTE DE FRUTAS: EFEITO SOB AS ANTOCIANINAS TOTAIS DA AMORA-PRETA (*Rubus* fruticosus) – CRICTE 2013

SILVA, EVELISE F.[1*]
[1] Graduanda de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa campus Bagé
evelise.fs@hotmail.com
JACQUES, A. C. [2*]
[2]Prof Adjunta da Universidade Federal do Pampa campus Bagé
andressa.jacques@yahoo.com.br
ZAMBIAZI, R.C[3]
[3] Prof. Adjunto da Universidade Federal de Pelotas.
GANDRA, E. A.[3]
[3] Prof. Adjunto da Universidade Federal de Pelotas.

* Autor para correspondência

Resumo. *O presente trabalho teve por objetivo verificar a eficiência do ozônio como sanitizante de amora-preta, assim com a influencia sob as antocianinas totais da fruta. Foram realizadas análises microbiológicas para bolores e leveduras, coliformes totais, termotolerantes e antocianinas totais. A utilização do ozônio como sanitizante apresentou bons resultados sem alteração nos compostos antociânicos presentes independente da concentração utilizada.*

Palavras-chave: *Ozônio. Amora-preta. Antocianinas totais.*

1. INTRODUÇÃO

A amora-preta pertence ao gênero Rubus que contém, aproximadamente, 740 espécies divididas segundo alguns autores, em 12 a 15 subgêneros (JENNINGS, 1988, apud DAUBENY, 1996). As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha e/ou azul, como a amora-preta, são as mais importantes fontes de compostos antociânicos em dietas alimentares, apresentando uma gama de efeitos biológicos, incluindo ação antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória e vasodilatadora (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004). As frutas e hortaliças são potenciais veiculadores de micro-organismos que podem estar associados à toxinfecções alimentares e, conseqüentemente, a doenças transmitidas por alimentos (DTA). Nos últimos anos tem existido certa preocupação quanto ao uso do hipoclorito e dos demais sais de cloro por serem considerados precursores na formação de cloraminas orgânicas, as quais são prejudiciais à saúde devido ao seu alto potencial carcinogênico, com isto a preocupação com pesquisas de novos agentes sanitizantes que não gerem resíduos deve ser acelerada, surgindo a opção da utilização de ozônio como santizante de alimentos. Na área de alimentos, poucas pesquisas têm sido realizadas no Brasil e ainda não existe legislação específica que oriente aplicações nesta área.

Em face do exposto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a eficiência da

sanitização com ozônio em diferentes concentrações e determinar a influência da sanitização sob os compostos antociânicos totais da amora-preta cv. Tupy.

2. MATERIAL E METODOS

Ozonização. A água ozonizada foi gerada borbulhando-se o gás ozônio em água destilada a 2ºC por 15 minutos (1,75ppm), 30 minutos (3ppm) e 1h (4ppm). Para isso foi utilizado um equipamento gerador de ozônio (Trata OZ, modelo TLS 6A) cedido pela empresa OZ Engenharia Ltda. (RS). O residual de ozônio na água foi medido pelo método Padrão do índigo, aceito mundialmente pelo *United States Environmental Protection Agency* (EPA) e pelo *International Ozone Association* (IOA).

Determinação de bolores e leveduras. Para contagem de bolores e leveduras, foi utilizado o método de plaqueamento direto em superfície das diluições 10^{-1},10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4} em meio Ágar Batata Dextrose.

Determinação do número mais provável (NMP.g^{-1}) de coliformes totais e termotolerantes. Utilizado caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com tubo de Duhran invertido (teste presuntivo). A partir dos tubos com leitura positiva (turvação e formação de gás), foram realizados os testes confirmativos para coliformes totais em caldo Lactose Bile Verde Brilhante (VB) e coliformes termotolerantes em caldo *Escherichia coli* (EC).

Determinação de Escherichia coli. Para confirmação da presença de *Escherichia coli*, uma alçada de tubos contendo caldo EC que apresentavam turbidez, com ou sem produção de gás no interior do tubo de Durhan, foi semeada em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB).

Determinação de Salmonella. Alíquotas de 1mL da cultura pré-enriquecida foi transferidas para dois tubos, contendo cada um 10mL de caldo de enriquecimento seletivo, composto pelo caldo Tetrationato - TT e pelo caldo Rappaportt - RV, e incubadas (TT 24h/37°C e RV 24h/45°C). A partir desses caldos, uma alíquota de cada tubo foi semeada em ágar XLD e outra em ágar HE e incubadas em estufa a 35ºC por 24h.

Determinação de antocianinas totais. A determinação de antocianinas totais foi feita utilizando-se etanol acidificado, seguindo método original (Lees e Francis, 1972). O cálculo do conteúdo total de antocianinas foi baseado na Lei de Beer e os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-glicosídio por 100 g^{-1} de amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1 e 2, observa-se que a sanitização das frutas com ozônio em todas as concentrações utilizadas, foi eficiente para manter os níveis de bolores e leveduras de acordo com o anexo I do Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta da Instrução normativa n° 1 de 07 de janeiro de 2000.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas para bolores e leveduras e salmonella das frutas sanitizadas com ozônio.

Conc. Ozônio	Bolores e leveduras (UFC.g^{-1})	Pesquisa de Salmonella ausência/ presença
Sem tratamento	3,75x10^{6}	Ausência
1,75ppm	5 x10^{3}	Ausência
3ppm	3,73x10^{3}	Ausência
4ppm	2 x10^{2}	Ausência
Padrão Federal	5x10^{3*}	Ausência em 25g

* Instrução Normativa n°1 de 07 jan de 2000
**RDC nº 12, de 02/01/2001

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas para coliformes totais, termotolerantes e Salmonella das frutas sanitizadas com ozônio.

Coliformes termotolerantes ($NMP.g^{-1}$)	Coliformes totais ($NMP.g^{-1}$)	Pesquisa de *E. coli* ausência/presença
-	-	Ausência
-	-	Ausência
-	-	Ausência
-	-	Ausência
10^{2**}	1^{*}	Ausência

* Instrução Normativa n°1 de 07 jan de 2000
**RDC nº 12, de 02/01/2001

Não foram encontrados dados de sanitização de frutas com ozônio nas concentrações utilizadas neste estudo, sendo que fazendo uma comparação com sanitização a partir de soluções cloradas, alguns autores necessitaram de concentrações bem mais elevadas para manter os níveis no padrão Federal. Antoniolli (2005), utilizou NaOCl, na concentração de 200mg.L-1 para abacaxis com cloro obtendo, nesta concentração, êxito na sanitização.

A presença de fungos verificada nas amostras sem tratamento não parece ser um fato restrito, Nascimento et al. (1999), ao estabelecerem o perfil microbiológico de polpas produzidas e comercializadas na cidade de São Luís – MA, constataram que 100% das amostras apresentaram contaminação por bolores e leveduras, apresentando contagens entre 1,0 x 10^5 e 1,1 x 10^8 $UFC.g^{-1}$. Segundo Franco e Landgraf (2003), baixas contagens de bolores e leveduras são consideradas normais (não significativas) em alimentos frescos e congelados. No entanto, contagens elevadas representam, além do aspecto deteriorante, que pode levar inclusive à rejeição do produto, um risco à saúde pública devido à possível produção de micotoxinas por algumas espécies de bolores.

A Legislação Brasileira, ANVISA - Resolução RDC-12 (Brasil, 2002), estabelece o limite de 5 x 10^2 UFC de coliformes fecais por grama, para frutas, produtos de frutas e similares - frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanitizadas, refrigeradas ou congeladas para consumo direto. O baixo valor de pH apresentado pela maioria das frutas pode representar um fator limitante para o crescimento de bactérias patogênicas, mantendo os índices de contaminação bacteriana em níveis baixos. De acordo com Mota (2006), o pH da amora-preta cv. Tupy é de 3,23.

Contaminação por coliformes totais e termotolerantes em maracujá foi encontrada por Leite et al. (2000) e Lima et al. (2001), estando, provavelmente, associada à manipulação inadequada durante o processamento da matéria-prima, ou à contaminação de equipamentos, sendo que neste estudo não foram evidenciadas a presença de coliformes totais e termotolerantes em nenhum dos tratamentos realizados. Com relação à Salmonella, não foi observada em nenhuma amostra a presença deste micro-organismo nas amostras sanitizadas com ozônio.

Tabela 3: Resultados de antocianinas totais das frutas sanitizadas com cloro e ozônio.

Ozônio	Antocianinas Totais ($mg.100g^{-1}$)
1,75ppm	$110,9 \pm 2,52^{a}$
3 ppm	$109,78 \pm 3,62^{a}$
4 ppm	$109,55 \pm 1,82^{a}$

± Desvio padrão; * letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de confiança de 95%

Observou-se com a Tabela 3, que a sanitização com ozônio não houve diferença significativa entre os tratamentos no teor de Antocianinas totais, pigmento predominate na amora-preta. Mesmo em baixas concentrações a efetividade da sanitização é

evidenciada e poucas perdas são oferecidas aos compostos analisados. Não foram encontrados dados deste efeito em outros trabalhos, salientando a importância deste estudo.

4. CONCLUSÃO

As frutas sanitizadas com ozônio, apresentaram bons resultados sem alteração nos compostos antociânicos presentes independente da concentração utilizada. O mesmo foi observado para a sanitização, mostrando-se eficiente em todas as concentrações, sendo então o ozônio uma opção viável para sanitização de frutas, sem geração de resíduos nem compostos tóxicos.

2. REFERÊNCIAS

ANTONIOLLI , L. R.; BENEDETI, B. C.; FILHO, M. M. S.; BORGES, M. F. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi 'pérola' minimamente processado. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 27, n. 1, p. 157-160, Abril 2005

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA DO ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 01/00, de 07/01/00. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000, Seção I, p.54-58.

DAUBENY, H.A. Brambles. **Fruit Breeding.** New York: John Wiley & Sons, 1996. p.109-190.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J.; *Hortscience* **1972**, *7*, 83.

LEITE, C. C. et al. Avaliação Microbiológica de polpas congeladas de frutas produzidas no Estado da Bahia. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 78-79, p. 69-73, 2000.

NASCIMENTO, A. R. et al. Perfil microbiológico de polpas de acerola (*Malpighia glabal*) e abacaxi (*Ananas comosus*), produzidas e comercializadas na ilha de São Luís, MA**. Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 44-47, 1999.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev. Nutrição**, v.17, n.2, p.227-236, 2004