



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TATIANA MARIN

**EMBALAGEM ATIVA PARA ALFACE AMERICANA
(*Lactuca sativa* L.)
MINIMAMENTE PROCESSADA**

TATIANA MARIN

**EMBALAGEM ATIVA PARA ALFACE AMERICANA
(*Lactuca sativa* L.)
MINIMAMENTE PROCESSADA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Yamashita

Londrina
2006

TATIANA MARIN

**EMBALAGEM ATIVA PARA ALFACE AMERICANA
(*Lactuca sativa* L.)
MINIMAMENTE PROCESSADA**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Yamashita

Prof. Dr. Hideaki Wilson Takahashi

Prof. Dr. Rui Sérgio Santos Ferreira da Silva

Londrina, 21 de março de 2006 .

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo e aos meus pais pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Santa Rita de Cássia que me permitiram realizar esse trabalho.

Ao meu esposo Jonas Weber Jorge e aos meus pais Heraldo Marin Lopes e Leonice Cestari Lopes pelo amor, incentivo, ajuda em todas as horas de minha vida.

Aos professores do Programa de mestrado e funcionários dos Laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos da Universidade Estadual de Londrina, que muito contribuíram para meu crescimento e experimento.

Ao Sr. Júlio T. Hissanaga, produtor de alface que forneceu o material necessário para a realização do experimento com alface.

Ao meu estagiário Jonatas Renan Montanucci pela colaboração e companheirismo no decorrer das análises laboratoriais.

À todos meus colegas de curso pelo companheirismo e dedicação.

Especialmente ao meu orientador Fábio Yamashita, pela amizade, apoio, dedicação, paciência que em todo o tempo de curso me dedicou.

E a todos aqueles que, apesar de não estarem aqui citados, contribuíram para que esse estudo fosse realizado.

MARIN, Tatiana. **Embalagem Ativa para Alface Americana (*Lactuca sativa* L.) Minimamente Processada**. Londrina, 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina.

RESUMO

As grandes perdas pós-colheita de produtos hortícolas mostram a necessidade da adoção de novas técnicas de conservação. O processamento mínimo destes produtos permite agregar valor à matéria-prima e torna-os conveniente ao consumidor. O objetivo do trabalho foi desenvolver uma embalagem ativa para alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada visando o aumento da vida útil. Foi definida a metodologia de processamento mínimo e a qualidade do produto foi acompanhada através de avaliação sensorial, físico-química e microbiológica. As alfaces foram desfolhadas, selecionadas, pré-lavadas, sanificadas (100 ppm de cloro ativo) por 15 minutos e centrifugadas. As alfaces foram acondicionadas em potes de polipropileno contendo sachês com 1-metilciclopropeno (1-MCP) e seladas com filme biodegradável de amido. Logo após o processamento, o produto foi armazenado a 4°C por 12 dias. Periodicamente amostras foram avaliadas sensorialmente (aparência e intenção de compra) e foram determinados teor de sólidos solúveis e vitamina C, pH, textura, cor, perda de massa e contagem total de microrganismos mesófilos, psicrotróficos, bactérias lácticas, bolores e leveduras. O uso de 1-MCP na forma de sachê não aumentou a vida útil da alface em relação ao controle mas o processamento mínimo associado à embalagem selada com filme biodegradável é uma técnica viável pois o produto apresentou boa aceitação sensorial, baixa contaminação microbiológica e vida de prateleira de 5 dias a 4°C.

Palavras Chave: Filmes biodegradáveis, 1-metilciclopropeno, vida útil , pós-colheita.

MARIN, Tatiana. **Active packaging for fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.)**. Londrina, 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina.

ABSTRACT

The great postharvest losses of horticultural products indicate the need of new preservation techniques. The minimal processing of these products adds value to the raw material and became them convenient to the consumer. The objective of this work was to develop an active packaging for fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.) to increase its shelf life. Minimally processing methodology was defined and the product quality was determined by sensorial, physico-chemical and microbiological analysis. The lettuce was selected, trimmed, pre-washed, soaked in sanitized water (100ppm of active chlorine) for 15 minutes and centrifuged. The lettuce was packed in polypropylene pots with a sachet containing 1-methylcyclopropene (1-MCP) and sealed with biodegradable starch film. Soon after the processing, the product was stored at 4°C for 12 days. Periodically samples were evaluated in terms of appearance and purchase intention, soluble solids and vitamin C contents, pH, texture, color, weight loss and total count of mesophilic and psicotrophic microorganisms, lactic bacteria, mould and yeast. Using 1-MCP in sachet format did not increase the lettuce shelf life but the minimal processing combined with packaging sealed with biodegradable film is practicable because the product showed good sensorial acceptance, low microbiological counts and shelf life of 5 days at 4°C.

Key words: Biodegradable film, 1-methylcyclopropene, shelf-life, postharvest.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Massa de água permeada pelo filme em função do tempo, taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) do biofilme de amido de mandioca..... | 36 |
| Tabela 2 - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes biodegradáveis e sintéticos..... | 37 |
| Tabela 3 - Taxa de perda de massa de alface, isento de sache com 1-MCP, com saches de 10 mg de 1-MCP e saches com 15 mg de 1-MCP | 39 |
| Tabela 4 - Avaliação sensorial de aceitação e intenção de compra de alface americana minimamente processada armazenada a 4°C | 46 |
| Tabela 5 - Contagem de bolores e leveduras em alface americana minimamente processada armazenadas a 4°C | 47 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 - | Centrífuga manual utilizada para retirada da água clorada da alface .. | 25 |
| Figura 2 - | Cápsula e dessecador para determinação da permeabilidade ao vapor de água de biofilmes | 27 |
| Figura 3 - | Esquema Geral do Equipamento de Determinação da Taxa de Respiração | 30 |
| Figura 4 - | Modelo da ficha de avaliação sensorial e de intenção de compra para alface minimamente processada | 31 |
| Figura 5 - | Texturômetro equipado com ponteira Kramer para determinação da força de cisalhamento de folhas de alface | 33 |
| Figura 6 - | Alface cortada e embalada em potes selados com filme de PVC | 35 |
| Figura 7 - | Perda de massa da alface americana durante a armazenagem | 38 |
| Figura 8 - | pH da alface americana durante a armazenagem | 40 |
| Figura 9 - | Firmeza da alface americana durante a armazenagem | 41 |
| Figura 10 - | Teores de vitamina C na alface americana durante a armazenagem .. | 42 |
| Figura 11 - | Diferença de cor na alface americana durante a armazenagem | 43 |
| Figura 12 - | Relação a^*/b^* na alface americana durante a armazenagem | 43 |
| Figura 13 - | Taxa de respiração da alface americana durante a armazenagem | 44 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 2.1 PERDAS PÓS-COLHEITA | 13 |
| 2.2 PRODUTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS | 13 |
| 2.3 EMBALAGENS E BIOFILMES | 15 |
| 2.4 ETILENO..... | 17 |
| 2.5 1- METILCICLOPROPENO | 18 |
| 2.6 SANITIZAÇÃO DE HORTALIÇAS | 19 |
| 2.7 RESPIRAÇÃO | 21 |
| 2.8 ALFACE..... | 22 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 25 |
| 3.1 MATERIAL | 25 |
| 3.2 MÉTODOS | 25 |
| 3.2.1 Processamento mínimo..... | 25 |
| 3.2.2 Embalagem | 26 |
| 3.2.3 Produto do filmes biodegradáveis | 26 |
| 3.2.4 Determinação da permeabilidade ao vapor de água do biofilme..... | 26 |
| 3.2.5 Produção dos saches..... | 28 |
| 3.2.6 Tratamentos | 28 |
| 3.2.7 Armazenagem | 28 |
| 3.2.8 Determinação da taxa de respiração..... | 29 |
| 3.2.9 Avaliação sensorial | 31 |
| 3.2.10 Determinação da perda de massa | 32 |
| 3.2.11 Teor de sólidos solúveis e pH da polpa..... | 32 |
| 3.2.12 Determinação da textura | 32 |
| 3.2.13 Determinação do teor de vitamina C | 33 |
| 3.2.14 Contagem total de microrganismos mesófilos e psicrófilos, bactérias láticas, bolores e leveduras..... | 34 |
| 3.2.15 Determinação de cor | 34 |

| | |
|---|----|
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 35 |
| 4.1 TESTES PRELIMINARES..... | 35 |
| 4.2 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DOS BIOFILMES..... | 36 |
| 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS..... | 37 |
| 4.3.1 Atividade de água e perda de massa | 37 |
| 4.3.2 Teor de sólidos solúveis e pH | 39 |
| 4.3.3 Firmeza | 40 |
| 4.3.4 Vitamina C..... | 41 |
| 4.3.5 Cor | 42 |
| 4.3.6 Taxa de Respiração | 44 |
| 4.3.7 Avaliação Sensorial | 45 |
| 4.3.8 Análises Microbiológicas | 46 |
| | |
| 5 CONCLUSÃO | 48 |
| | |
| REFERÊNCIAS | 49 |
| | |
| ANEXOS | 57 |
| ANEXO 1 - Resolução - RE nº 98, de 28 de maio de 2003 D.O.U. 29/05/2003 | 58 |

1 INTRODUÇÃO

A conservação pós-colheita de frutas e hortaliças tem ganhado atenção, visto que as perdas pós-colheita são grandes, trazendo prejuízos para toda cadeia produtiva e encarecendo o produto para o consumidor final. Por serem altamente perecíveis, grandes volumes de hortaliças deixam de serem aproveitados. Além do desperdício, a forma de apresentação do produto ao consumidor é outra questão que tem despertado a atenção de pesquisadores, produtores e comerciantes.

O consumo *per capita* de hortaliças varia de 25 a 30 kg/ano nas regiões Norte e Nordeste, e de 45 a 50 kg/ano nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Essas médias são inferiores às aquelas observadas em outros países, principalmente Europa, Ásia e América do Norte onde o consumo atinge aproximadamente 110 kg/ano. Por outro lado notou-se um aumento de 6 a 10% nas quantidades consumidas, que pode ser devido à mudança de hábitos alimentares da população (MAKISHIMA, 2000).

Embora no Brasil haja grande disponibilidade de produtos hortícolas acessíveis a substancial parcela da população, ocorrem perdas significativas no campo e na póscolheita, pela produção desorganizada e carência de uso de tecnologias adequadas no cultivo, manuseio, embalagem, armazenamento, transporte e conservação.

A fim de melhorar tanto a vida útil, quanto à apresentação do produto ao consumidor, as hortaliças de época, as mais consumidas e/ou as mais perecíveis podem ser minimamente processadas, acondicionadas em embalagens adequadas e armazenadas sob refrigeração.

As condições de armazenamento são aspectos importantes que podem afetar, tanto os tipos de microrganismo como o seu crescimento em produtos *in natura*. A concentração de gases e umidade relativa no interior das embalagens e a temperatura de armazenagem são os fatores com maior influência sobre a microbiota e a vida útil do produto (ROSA, 2002).

Diversos trabalhos já comprovaram que a vida útil de hortaliças pode ser prolongada com a aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP), mas que exige uma câmara estanque para sua aplicação e é um processo demorado (24 - 48 h) tendo em vista a curta vida útil de alguns produtos (ABLE, 2002).

O valor nutricional é um atributo de qualidade pouco considerado na cadeia de comercialização de hortaliças. A forma de manuseio desses produtos e as condições de armazenamento podem afetar sua composição; reduzindo os teores vitamínicos, particularmente de vitamina C (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Considerando que cerca de 90% das necessidades de vitamina C do homem, advêm de frutos e hortaliças, faz-se necessário um estudo das perdas com processamento.

O objetivo do trabalho foi desenvolver um sistema de embalagem ativa para a alface minimamente processada, visando o aumento da vida de prateleira do produto. O sistema de embalagem foi formado por bandejas de polipropileno, sachês biodegradáveis contendo 1-MCP e filmes biodegradáveis à base de amido para fechamento da embalagem. A vida útil foi determinada através da avaliação sensorial da aparência, contaminação microbiológica, textura, cor, teor de vitamina C e perda de massa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PERDAS PÓS-COLHEITA

Segundo CHITARRA & CHITARRA (1990) a pós-colheita tem origem no momento da separação do produto comestível de seu meio por ato deliberado, com a intenção de utilizá-lo como alimento, e termina quando este produto é submetido ao processo de preparação para o consumo final.

As perdas pós-colheita são geralmente consideradas maiores em países menos desenvolvidos, sendo as zonas tropicais incluídas nessa categoria. Os produtos vegetais compreendem aproximadamente 25% das principais safras de alimentos produzidos nesses países, incluindo raízes, bulbos, frutas e hortaliças. O conhecimento e aplicação de métodos para reduzir os danos e perdas pós-colheita são medidas usuais nos países desenvolvidos, enquanto que nos países em desenvolvimento a aquisição do conhecimento e sua aplicação nem sempre são bem sucedidos, uma vez que a solução para muitos problemas de manuseio e armazenamento está ligada a fatores educacionais e sociológicos (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Uma forma de reduzir as perdas pós-colheita é realizar o processamento mínimo de frutas e hortaliças.

Estudos constataram que no Brasil os níveis médios de perdas pós-colheita são de 35%, chegando a atingir até de 40%, enquanto em outros países como Estados Unidos não passam de 10% (VILELA, 2003).

As perdas no transporte, variam de acordo com as estações do ano, sendo mais intensas nas épocas chuvosas. Ademais, o mau estado de conservação das estradas brasileiras, associada às altas temperaturas aceleram a deterioração, de forma que as perdas de produtos perecíveis, como hortaliças, podem chegar a 30% (CAIXETA FILHO, 1999).

2.2 PRODUTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

Produtos minimamente processados podem ser definidos como frutas ou hortaliças, ou a combinação destas, que tenham sido fisicamente alteradas mas que permaneçam em estado fresco. O processamento mínimo inclui as atividades de

seleção e classificação da matéria prima, pré-lavagem, processamento (destacamento, corte, fatiamento), sanificação, enxágüe, centrifugação e embalagem, visando-se obter um produto fresco e saudável e que, na maioria das vezes, não necessita subsequente preparo para ser consumido (CHITARRA, 2000).

O aumento da demanda por hortaliças minimamente processadas, devido à comodidade de preparo e consumo, tem levado a um aumento na qualidade e diversidade dos produtos disponíveis no mercado. Tecnologias de preservação, principalmente a refrigeração e a atmosfera modificada estão sendo empregadas para assegurar a qualidade desses produtos. Revisões feitas por ZAGORY & KADER (1989); CARLIN *et al.* (1990); IZUMI *et al.* (1996); GIL *et al.* (2002) e JAVAS & JEYAMKONDAN (2002) demonstram a importância do uso da atmosfera modificada, composta da mistura preestabelecida dos gases, O₂, CO₂ e N₂, na manutenção da qualidade e aumento da vida útil de hortaliças minimamente processadas.

Os produtos minimamente processados vêm alcançando grande participação no mercado de produtos frescos. Embora ainda não existam dados disponíveis, representantes brasileiros do setor de supermercados estimam que as vendas dos produtos hortícolas minimamente processados representam hoje de 5 a 8% do mercado de frutas e hortaliças frescas, isto é, cerca de 500 milhões de dólares por ano. Além disso, segmentos deste setor antecipam que, dentro de 5 a 10 anos, mais de 20% do total de produtos hortifrutícolas serão comercializados dessa forma (SEABRA, 2001).

As hortaliças minimamente processadas são altamente perecíveis, tanto pela maior exposição de seus tecidos causada por injúrias como pela aceleração do seu metabolismo devido ao processamento. A combinação desses dois fatores acarreta danos aos produtos com subsequentes efeitos na conservação e qualidade dos mesmos (WATADA & QI, 1999).

Apesar de sua praticidade e conveniência, este processo provoca nas hortaliças comportamento similar a de tecidos submetidos a fermento e condições de estresse (HONG & KIM, 2001), conduzindo a alterações fisiológicas indesejáveis. A perda da integridade celular na superfície cortada das frutas e hortaliças destrói a compartimentação de enzimas e substratos e tem, como consequência, o escurecimento e a formação de metabólitos secundários indesejáveis (WILEY, 1994; AHVENAINEN, 1996). Com o aumento da respiração e

da produção de etileno, pode ocorrer a aceleração da senescência e também a formação de sabores e odores não característicos. Outra limitação resulta do exsudato da superfície cortada, que torna-se um meio favorável ao crescimento de fungos e bactérias (BURNS, 1995).

Segundo WATADA & QI (1999), a temperatura é o fator mais crítico durante o preparo, manuseio, trânsito e comercialização na manutenção da qualidade de hortaliças minimamente processadas.

Tradicionalmente, os produtos frescos não eram alvo de preocupação por parte de órgãos fiscalizadores, pois eram considerados seguros, já que eram lavados e rapidamente consumidos no próprio local de preparo. Atualmente, com a tendência ao consumo das hortaliças minimamente processadas, a preocupação com riscos de natureza microbiológica, torna-se acentuada, pois muitas operações como corte, lavagem e embalagem são feitas manualmente, aumentando o risco de contaminações dos produtos. (FARBER, 1999).

O oxigênio geralmente estimula o crescimento de bactérias aeróbicas e pode inibir o crescimento de bactérias estritamente anaeróbicas. Já o nitrogênio é um gás inerte, que apresenta pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana, podendo, ao deslocar o oxigênio na embalagem, retardar a rancidez oxidativa e também inibir o crescimento de microrganismos aeróbicos (FARBER, 1991).

Frutas e hortaliças minimamente processadas devem ser armazenadas na faixa de temperatura de 2°C a 5°C e a temperatura de refrigeração deve ser estritamente controlada para limitar o crescimento de patógenos e microrganismos deteriorantes (FRANCIS *et al.*, 1999).

Para produtos minimamente processados a escolha da embalagem é um fator importante, pois além das funções básicas de proteção, fracionamento e segurança, a embalagem deve apresentar permeabilidade à gases adequada para impedir a formação de uma atmosfera tóxica ao produto.

2.3 EMBALAGEM E BIOFILMES

O estudo de embalagem para frutos e hortaliças frescas ou minimamente processadas é direcionado para os fatores que influenciam a qualidade e conservação desses produtos, tais como o tipo de material, a interação

do material com o produto, de que forma e onde serão utilizados. Dessa maneira, os cuidados devem ser iniciados no campo logo após a colheita, no transporte do campo pra as centrais de embalagens e destas para as demais etapas de distribuição (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

As operações de embalagem não melhoram a qualidade do produto, portanto, apenas os melhores produtos devem ser embalados. Produtos infectados ou estragados tornam-se fonte de contaminação ou infecção para os sadios, além de reduzir a qualidade da comercialização. Do mesmo modo, a embalagem não substitui a refrigeração. A qualidade será mantida quando as boas condições de embalagem forem associadas com boas condições de transporte e armazenamento (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Atualmente, há grande interesse no desenvolvimento de biofilmes compostos essencialmente por amido, pois, ao contrário dos polímeros usados em embalagens convencionais, é biodegradável e obtido a partir de fontes renováveis (AVEROUS & BOQUILLON, 2004).

Amidos têm uma estrutura similar comparado a polímeros sintéticos. Possui alto peso molecular e forte ligação entre macromoléculas. Para a produção de filmes misturando-se amido com polímeros puros, ocorrem mudanças na morfologia e, quanto maior a quantidade de amido incorporado, maior é a redução na sua propriedade mecânica de resistência à tração. Aumentando-se o teor de amido, observa-se um aumento da taxa de biodegradação dos mesmos, o que evidencia a viabilidade de obtenção de polímeros biodegradáveis de menor preço (ROSA *et al.*, 2001).

A água adicionada à formulação tem duas funções: de agente desestruturante do grânulo nativo, com rompimento das ligações hidrogenadas entre as cadeias e de plastificante. No entanto é necessária a adição de um plastificante adicional além da água, tal como um poliol, que deverá ser pouco influenciado pelas condições atmosféricas em mecanismo de adsorção - dessorção, permitindo a obtenção de uma fase fundida em temperatura inferior à da degradação do amido (AVEROUS, 2002).

Filmes de amido em geral possuem alta permeabilidade a umidade e apresentam variação nas propriedades mecânicas sob umidade e degradam de forma rápida para muitos tipos de aplicações. Para contornar essas dificuldades, o amido é usado em mistura com plastificantes e outros polímeros biodegradáveis.

Como os polímeros biodegradáveis são mais caros, essas misturas aumentam o custo dos produtos, reduzindo o consumo em alguns nichos de mercado. A redução de custo passa por pesquisas adicionais e ganhos em economia de escala (LAWTER & FISCHER, 2000; CEREDA, 2003).

A obtenção de biofilme de amido de mandioca natural baseia-se no princípio da gelatinização do amido, que ocorre acima de 70°C, com excesso de água. O amido gelatinizado, que se obtém quando resfriado, forma biofilmes com resistência e transparência, devido as suas propriedades de retrogradação. Os biofilmes de amido representam uma alternativa aos filmes convencionais utilizados na conservação de frutas e hortaliças pois apresentam bom aspecto, não são pegajosos, são brilhantes e transparentes, melhorando o aspecto visual dos frutos, não são tóxicos e de baixo custo (MALI *et al.*, 2005).

Filmes de polissacarídeos são de natureza hidrofílica e a sua permeabilidade ao CO₂ e O₂ resulta na criação de uma atmosfera modificada desejável, aumentando assim a vida útil dos frutos sem causar severas condições anaeróbicas (BALDWIN *et al.*, 1995).

As embalagens ativas além de proteger o alimento do meio externo interagem com o ambiente em que se encontra o produto, visando manter sua qualidade e melhorar a segurança e vida útil, incorporando, p.ex., absorvedores do etileno, que é um fitohormônio associado ao amadurecimento de frutas e hortaliças; absorvedores de oxigênio; emissores de gás carbônico, emissores de etanol, emissores de dióxido de enxofre, dessecantes; dentre outros (SARANTÓPOULOS *et al.*, 1998).

2.4 ETILENO

O etileno (C₂H₄) é um gás considerado como fitohormônio que está associado ao processo de amadurecimento e senescência de frutos e hortaliças. Em determinado estágio da maturação, o etileno se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático, e desencadeia uma série de eventos que culminam com o amadurecimento e a senescência do fruto ou hortaliça (LELIÈVRE *et al.*, 1997), tendo sido verificado que a inibição da ligação do etileno ao receptor reduz sua ação, retardando o amadurecimento e a senescência (KLUGE *et al.*, 2002).

O CO₂ apesar de não afetar diretamente a síntese de etileno, tem efeito competitivo com o mesmo sítio de ligação, por ser um análogo estrutural. A ação inibidora pode ser também por retroalimentação, uma vez que o etileno é rapidamente oxidado a CO₂ nos tecidos (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

KADER & BEN-YEHOSHUA (2000) demonstraram que a exposição de frutas e hortaliças a níveis elevados de O₂ pode estimular, não ter nenhum efeito ou reduzir as taxas de respiração e produção de etileno, dependendo de diversos fatores como: produto, estágio de maturação, tempo e temperatura de exposição, concentração de O₂, além da concentração de CO₂ e etileno presentes na atmosfera. Há necessidade de novas pesquisas visando elucidar os mecanismos envolvidos na ação do etileno, a fim de auxiliar na manutenção da qualidade do produto fresco.

2.5 1- METILCICLOPROPENO

O 1-metilciclopropeno (1-MCP ou C₄H₆) é um composto volátil comercializado na forma de pó, o qual libera o 1-MCP quando misturado a uma solução básica ou água. Em frutas, hortaliças e flores esse composto age através da fixação preferencial ao receptor de etileno, bloqueando, deste modo, os efeitos do etileno proveniente de fontes internas e externas (SEREK *et al.*, 1995). Como a afinidade do 1-MCP ao receptor do etileno é substancialmente mais eficiente do que a do próprio etileno, o 1-MCP é eficaz mesmo em concentrações extremamente baixas, da ordem de partes por bilhão (ppb) (ROHM & HASS, 2000).

A utilização do 1-metilciclopropeno deve ser feita com tecnologia adequada, observando-se o intervalo de reentrada na área de aplicação, descritos em rótulo e bula. Não há metodologias para detecção e quantificação de resíduos do ingrediente ativo (Anexo 1).

Normalmente o 1-MCP é aplicado a 20-25°C, mas pode ser usado a baixas temperaturas em algumas condições. Geralmente, tratamentos de 12 - 48h são suficientes para atingir uma resposta. Vários fatores devem ser considerados na aplicação de 1-MCP incluindo cultivar, estágio de desenvolvimento, tempo de colheita para tratamento e múltiplas aplicações. Dependendo da espécie a ser tratada, o 1-MCP pode ter efeitos diferentes sobre a respiração, produção de etileno e substâncias voláteis, degradação de clorofila e alterações na cor, proteínas e

mudanças de membrana, maciez, desordens fisiológicas e doenças, acidez e doçura (BLANKENSHIP, 2003). De acordo com o fabricante (ROHM & HASS, 2000) o 1-MCP apresenta as seguintes características:

- Registro CAS (Chemical Abstracts) do Ingrediente Ativo: 3100-14-7;
- Nome químico: 1-Metilciclopropeno;
- Nome comercial: SmartFresh ;
- Fórmula molecular: C_4H_6 ;
- Peso molecular: 54;
- Estado físico: gasoso;
- Formulação: forma de pó com 0,14% de concentração, que libera o ingrediente ativo, 1-MCP, quando a ele se adiciona água ou uma solução base neutra. O 1-MCP é estável sob forma de pó;
- Toxicidade oral aguda: $LD_{50} > 5.000\text{mg/kg}$;
- Toxicidade dérmica aguda: $LD_{50} > 2.000\text{ mg/kg}$;
- Toxicidade aguda de inalação: nenhuma descoberta negativa;
- Irritação dérmica: não irritante;
- Irritação ocular: ligeiramente irritante;
- Sensibilidade da pele: negativa;
- Teste de Ames: não mutagênico;
- Teste de linfoma em ratos: não mutagênico;
- Teste micronuclear de medula óssea: não mutagênico.

2.6 SANITIZAÇÃO DE HORTALIÇAS

A qualidade de produtos frescos depende de sua flora microbiológica inicial, manuseio, pré-higienização, acondicionamento e transporte até a planta de processamento. Falhas nas etapas de colheita e pós-colheita podem comprometer a qualidade e a segurança do produto através do incremento da população inicial de microrganismos (HURST & SCHULLER, 1992).

A quantidade de solo aderido à superfície do produto determina o início da contaminação e a lavagem inicial ou pré-lavagem deve ser o primeiro passo

para uma correta sanitização. Este procedimento consiste na limpeza efetiva por meio de ação mecânica, como por exemplo, jatos d'água aplicados às hortaliças. Esta etapa contribui com a redução da flora microbiana, no entanto, quando não executada corretamente, pode agir de forma inversa, difundindo e incrementando a contaminação microbiana, como ocorre quando se reutiliza a água de lavagem (HURST & SCHULLER, 1992).

A utilização apropriada de desinfetantes age de forma a complementar um programa eficiente de sanitização, mas pode não eliminar microrganismos patogênicos de um alimento pré-contaminado. Uma concentração de 100 a 200 mg/L de cloro ou ácido cítrico na água de lavagem antes e depois do desfolhamento, ou corte, é efetiva para estender a vida-de-prateleira da alface (HURST & SCHULLER, 1992).

Tem sido sugerido que 50 a 200ppm de cloro livre é necessária para a destruição de bactérias vegetativas e fungos, porém, vários fabricantes de produtos alimentícios alegam que essa dosagem provoca a descoloração e o desenvolvimento de odores desagradáveis nas folhas (HURST & SCHULLER, 1992).

Resultados obtidos em ensaios sobre a utilização do cloro para a eliminação da *Listeria monocytogenes* de produtos processados frescos, demonstram a limitação do mesmo como desinfetante. Apesar da eficácia na redução de microrganismos, o cloro, utilizado na concentração de 200 ppm, demonstrou não ser completamente efetivo (BRACKETT, 1992).

LEITÃO *et al.* (1981) realizaram um estudo sobre a eficiência de compostos químicos a base de cloro, iodo, cloro-bromo e ácido acético, na desinfecção da alface. Utilizando técnicas variadas para o preparo das amostras e diferentes condições de uso dos desinfetantes, observaram que no tratamento das folhas cortadas, sem lavagem prévia, ocorreu uma redução sensível na concentração inicial dos produtos desinfetantes diluídos em água. O mesmo não ocorreu com as folhas lavadas inteiras, onde essa redução foi pouco pronunciada. Essa redução pode ser atribuída a uma maior presença de microrganismos em produtos cortados, pois durante o processo de corte, as injúrias promovidas contra o tecido foliar liberam uma grande quantidade de líquido intersticial que servirá como substrato para o desenvolvimento e proliferação desses microrganismos. LEITÃO *et al.* (1981) observaram também que a pré-lavagem das folhas com água corrente

promoveu uma redução da ordem de 74% da microflora bacteriana. Determinaram ainda que, nas concentrações e tempos de exposição testados, nenhum dos desinfetantes estudados mostrou-se capaz de reduzir a microflora bacteriana em níveis considerados seguros. Em análise comparativa, o vinagre diluído a 2% foi mais eficiente que o cloro e o iodo.

De acordo com AHVENAINEN (1996), em se tratando de folhas de alface, os compostos clorados reduzem o teor de microrganismos aeróbios, mas uma segunda lavagem depois de desfolhamento ou corte é necessária para a remoção de microrganismos e fluído de tecidos, reduzindo-se, assim, o crescimento microbiano e a oxidação enzimática durante a subsequente armazenagem.

O cloro, nas suas várias formas, consiste no sanificante mais utilizado em alimentos (DYCHDALA, 1991; BRECHT, 1995). Os compostos à base de cloro são germicidas de amplo espectro de ação, que reagem com as proteínas da membrana das células microbianas, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de componentes celulares (VANETTI, 2000). O hipoclorito de sódio (NaOCl) corresponde ao sanificante químico de maior utilização (BRECHT, 1995; IZUMI, 1999), em função de sua rápida ação, fácil aplicação e completa dissociação em água (PARK *et al.*, 1991).

2.7 RESPIRAÇÃO

A respiração é o principal processo metabólico em frutas e hortaliças e ocorre pela degradação oxidativa de produtos mais complexos, como o amido, açúcares e ácidos orgânicos a moléculas mais simples, como CO₂ e água. A respiração pode ocorrer tanto na presença de oxigênio como na sua ausência, utilizando uma via fermentativa ou anaeróbica (WILLS *et al.*, 1981).

Na respiração anaeróbica ocorre a formação de acetaldeídos, CO₂ e de etanol, responsável pelo desenvolvimento de sabores estranhos (KADER, 1986) e a respiração do produto é medida pela quantidade de CO₂ liberado ou de O₂ consumido (BALDWIN *et al.*, 1995).

Em função do padrão respiratório, as frutas podem ser classificadas como climatéricas e não climatéricas. As frutas climatéricas apresentam, ao final do período de maturação, um aumento marcante na taxa de respiração e produção

auto-catalítica de etileno, sendo esta etapa denominada de período climatérico (KLUGE *et al.*, 1997). Em geral, nos frutos não climatéricos, as transformações bioquímicas e físicas, tais como a decomposição da clorofila, síntese de pigmentos e amolecimento dos tecidos, associados ao amadurecimento, são mais lentas. Já nos climatéricos, as taxas de respiração, normalmente, são mais elevadas e essas transformações ocorrem mais rapidamente (CASTRO, 1983).

2.8 ALFACE

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no país, sendo fonte de fibras, sais minerais e vitaminas para a dieta (KATAYAMA, 1993). Entre os tipos de alface cultivados atualmente, tem-se destacado a alface americana principalmente devido às características de crocância, folhas externas de coloração verde-escura, folhas internas de coloração amarela ou branca, imbricadas, semelhantes ao repolho (YURI *et al.*, 2000). Cada paulistano consome quase dois quilos de alface por ano e 40% dos seus gastos totais com verduras são destinados à compra desta hortaliça. No Estado de São Paulo, a cultura da alface ocupa 7.859 hectares, produz 137 mil toneladas/ano e ocupa mais de 6.000 empregos (CEASA – Campinas, 2005). No estado do Paraná a produção de alface foi de 54.895 toneladas no ano de 2002 e 2003, isso representou R\$25.321.159 no valor bruto produzido (ANDRETTA, 2003).

As perdas pós-colheita geram graves conseqüências econômicas e sociais, proporcionarem variação no comportamento do mercado, induzindo mudanças em importantes parâmetros econômicos. Desta forma, um aumento de perdas faz com que a quantidade de equilíbrio de mercado diminua e o preço de equilíbrio cresça. Quando o preço de equilíbrio de mercado cresce o consumidor paga o custo das perdas, que é embutido no preço final do produto. De forma geral, qualquer nível de perda é prejudicial para o consumidor (Vilela *et al.*, 2003).

Dessa forma, o processamento mínimo pode diminuir sensivelmente as perdas de alface na pós-colheita, além de fornecer ao consumidor um produto de boa qualidade, pronto para ser consumido e proporcionar maiores ganhos aos produtores e comerciantes, agregando valor ao vegetal em função dos serviços prestados durante a sua transformação (CEASA-Campinas, 2002).

Em estudos realizados pelo Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo citados por SILVA (1990), verificou-se que as hortaliças fornecem 2% do total energético e 40% do teor de vitamina C, valores bastante semelhantes aos descritos no Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF, 1974 *apud* SILVA, 1990). Segundo KING & PABLO (1987), folhas verdes conservadas a temperaturas de 10°C e 21°C perdem 30% e 75% da vitamina C, respectivamente, após 4 dias de armazenagem.

Muito tem-se pesquisado em vários países com relação à contaminação de frutas e hortaliças, e surtos de toxinfecções alimentares associados a esse alimento, que continuam a existir (BEUCHAT, 1999). Entre as hortaliças mais vendidas para consumo cru está a alface, bastante utilizada na confecção de sanduíches, decorações de pratos e saladas, além do produto pronto para o consumo, na forma de hortaliça minimamente processada, merecendo maior atenção quanto ao aspecto de saúde pública. De acordo com FRANK & TAKEUSHI (1999), hortaliças frescas, principalmente alface, têm sido identificadas como veículos de patógenos relevantes em saúde pública, incluindo a bactéria enterohemorrágica *Escherichia coli* O157:H7.

Tem-se recomendado à adoção de atmosfera modificada durante o transporte e armazenagem de alfaces pré-processadas, visando-se, assim, prevenir a descoloração do tecido e a deterioração por microrganismos (BALLANTYNE *et al.*, 1998; BOLIN & HUXSOLL, 1991). A atmosfera modificada é considerada, após a refrigeração, o método mais efetivo para estender a vida útil e o frescor dos produtos minimamente processados mas é necessário determinar seu efeito em relação ao crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos e a qualidade dos produtos embalados (FRANCIS *et al.*, 1999).

A temperatura de armazenamento é um dos fatores mais importantes no crescimento de microrganismos em hortaliças minimamente processadas. O Instituto Inglês de Ciência e Tecnologia de Alimentos publicou diretrizes para o controle de refrigeração de alimentos, recomendando armazenamento entre 0°C e 5°C para as saladas pré-prontas, pois abaixo desta faixa as hortaliças podem sofrer danos (FRANCIS *et al.*, 1999).

O armazenamento de hortaliças minimamente processadas sob temperaturas adequadas de refrigeração limita o crescimento de microrganismos patogênicos psicrótróficos. Algumas pesquisas mostraram que a *Listeria*

monocytogenes sobrevive ou cresce em vários tipos de vegetais prontos para o uso como alface fatiada (BEUCHAT & BRACKETT, 1990).

BEUCHAT & BRACKETT (1990) demonstraram que a população de *Listeria monocytogenes* em alface aumentou durante o armazenamento e as embalagens contendo 3% de O₂ e 9% de N₂ não influenciaram na taxa de crescimento da bactéria.

Com o aumento da vida útil do produto, há também aumento no tempo disponível para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos. Embora a embalagem de hortaliças com concentrações de 2 a 5% de O₂ deva inibir o crescimento de microrganismos anaeróbios como *Clostridium botulinum*, se a mesma for submetida a temperatura de abuso pode haver o desenvolvimento desses microrganismos, como resultado do aumento da respiração do produto que irá consumir o oxigênio residual. A maior preocupação se deve ao crescimento de microrganismos psicotróficos, anaeróbios facultativos, que podem tolerar os baixos níveis de oxigênio na embalagem com atmosfera modificada (BENNIK *et al*, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Foi utilizada alface americana (*Lactuca sativa* L.) produzida na região de Londrina PR no estágio de desenvolvimento comercial. Após a colheita, o produto foi imediatamente transportado em sacos plásticos para os Laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos da Universidade Estadual de Londrina, onde foram realizados todos os experimentos do trabalho, o tempo de transporte não ultrapassou 20 minutos.

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) utilizado nos experimentos foi doado pela Rohm and Haas Química Ltda, com o nome comercial de Smartfresh , que contém 0,14% de 1-MCP ativo.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Processamento Mínimo

As alfaces foram selecionadas, descartando as que apresentavam injúrias físicas, doenças ou manchas. Posteriormente, as folhas de alface foram lavadas com água corrente tratada objetivando retirada de sujidades mais aparentes e, depois, foram mantidas em tanque com água clorada (100ppm de cloro ativo) por 15 minutos, e a retirada da água clorada foi feita em centrífuga doméstica manual (Figura 1).

Figura 1 - Centrífuga manual utilizada para retirada da água clorada da alface



3.2.2 Embalagem

Aproximadamente 60g de alface minimamente processada foram acondicionadas em embalagens de polipropileno juntamente com sachês contendo 1-MCP, na seqüência as embalagens foram fechadas com filmes biodegradáveis de 100 μm de espessura.

3.2.3 Produção dos Filmes Biodegradáveis

Os filmes biodegradáveis (biofilmes) a base de amido de mandioca foram produzidos por *casting* de acordo com a metodologia descrita por NAKAGAWA (2003). A produção dos biofilmes foi realizada a partir de uma solução contendo 3,5% de amido de mandioca (base úmida), 1% de glicerol líquido (base úmida) e água destilada. A técnica consistiu em hidratar o amido em água destilada e adicionar o glicerol. Após a hidratação e homogeneização, a solução foi transferida para o viscógrafo Brabender para gelatinização completa do amido, com agitação constante de 75 rpm, e aquecimento de 3°C por minuto a partir de 30°C, até atingir 95°C, mais 2 minutos de estabilização. A solução gelatinizada foi transferida para um béquer e homogeneizada manualmente, até atingir 65°C. Então a solução foi despejada em placas de acrílico dotada de borda com medidas de 200mm x 120mm x 20mm e mantidas em estufa com circulação de ar a 40°C até secarem e formarem os filmes, aproximadamente 20 horas.

3.2.4 Determinação da Permeabilidade ao Vapor de Água do Biofilme

A permeabilidade ao vapor de água dos biofilmes foi determinada de acordo com a norma E96 da ASTM (1995). Foram utilizadas 4 cápsulas (Figura 2) de 60 mm de diâmetro, correspondendo a uma área de $2,83 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$ contendo cloreto de cálcio anidro, cuja umidade relativa de equilíbrio é 0%. Os corpos de prova foram cortados e colocados na cápsula cujas bordas foram previamente besuntadas com vaselina. As cápsulas foram fechadas e colocadas imediatamente num dessecador

contendo solução saturada de NaCl, que a 25°C propicia uma umidade relativa de equilíbrio de 75%.

Figura 2 - Cápsula e dessecador para determinação da permeabilidade ao vapor de água de biofilmes



As cápsulas foram pesadas de 1 em 1 hora até completar 6 horas e após 24 e 25 horas. Com os dados de ganho de massa da cápsula em função do tempo e a área do corpo de prova foi calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) de acordo com a equação 1.

$$TPVA = \frac{m}{A} \quad (1)$$

Onde:

TPVA = taxa de permeabilidade ao vapor de água do biofilme (g H₂O.h⁻¹.m⁻²)

m = coeficiente angular da reta de ganho de massa da cápsula vs tempo (g H₂O.h⁻¹)

A = área do corpo de prova (m²)

A permeabilidade ao vapor de água do biofilme foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$PVA = \frac{TPVA \times e}{p_s \times \left(\frac{URE_1 - URE_2}{100} \right)} \quad (2)$$

Onde:

PVA: permeabilidade ao vapor de água do biofilme (g H₂O.h⁻¹.Pa⁻¹.m⁻¹);

TPVA: taxa de permeabilidade ao vapor de água do biofilme;

e = espessura do biofilme (m);

p_s = pressão de saturação de vapor de água a temperatura do ensaio (Pa)

URE₁ = umidade relativa de equilíbrio no interior do dessecador (%)

URE₂ = umidade relativa de equilíbrio no interior da cápsula (%)

3.2.5 Produção dos Saches

Foram embalados 10mg e 15mg de SmartFresh®, que contém 0,14% de 1-MCP, diluído em 5g de amido em saches de 50mm x 50mm produzidos com o biofilme descrito anteriormente.

3.2.6 Tratamentos

Foram realizados 3 tratamentos: embalagens contendo apenas alface e biofilme (controle); embalagens contendo alface, biofilme e saches com 10 mg de SmartFresh® e embalagens contendo alface, biofilme e 15 mg de SmartFresh®.

3.2.7 Armazenagem

As hortaliças previamente embaladas foram armazenadas em estufas para B.O.D. (Marconi) a 4±1°C e a umidade relativa da estufa foram monitoradas, mas não controlada. A alface foi armazenada por 12 dias e amostras foram retiradas a cada 2 dias e foram avaliadas sensorialmente e também foram determinadas a perda de massa, teores de sólidos solúveis e vitamina C, pH, textura e cor.

3.2.8 Determinação da Taxa de Respiração

Foram feitas determinações da taxa de respiração da alface de todos os tratamentos, com e sem embalagem a 4°C. O método de determinação foi baseado na capacidade de soluções básicas reagirem com o CO₂, retendo-o em solução na forma de íon carbonato. Na Figura 3, temos o esquema geral do equipamento para a determinação da taxa de respiração (JACOMETTI *et al.*, 2003).

Neste sistema, o ar ambiente é borbulhado diretamente em uma solução básica, para a retirada do CO₂ presente. O ar, isento de CO₂, percola pela hortaliça ou pela embalagem, que estão dispostos dentro de um dessecador mantido no interior de uma estufa para B.O.D. com temperatura controlada. O ar tem acesso pelo fundo do dessecador e é retirado pela parte superior. Todo o dispositivo é estanque, não permitindo vazamentos. O ar aspirado do dessecador contendo CO₂ e vapor de água, provenientes da respiração e transpiração do produto, é borbulhado em uma série de tubos contendo:

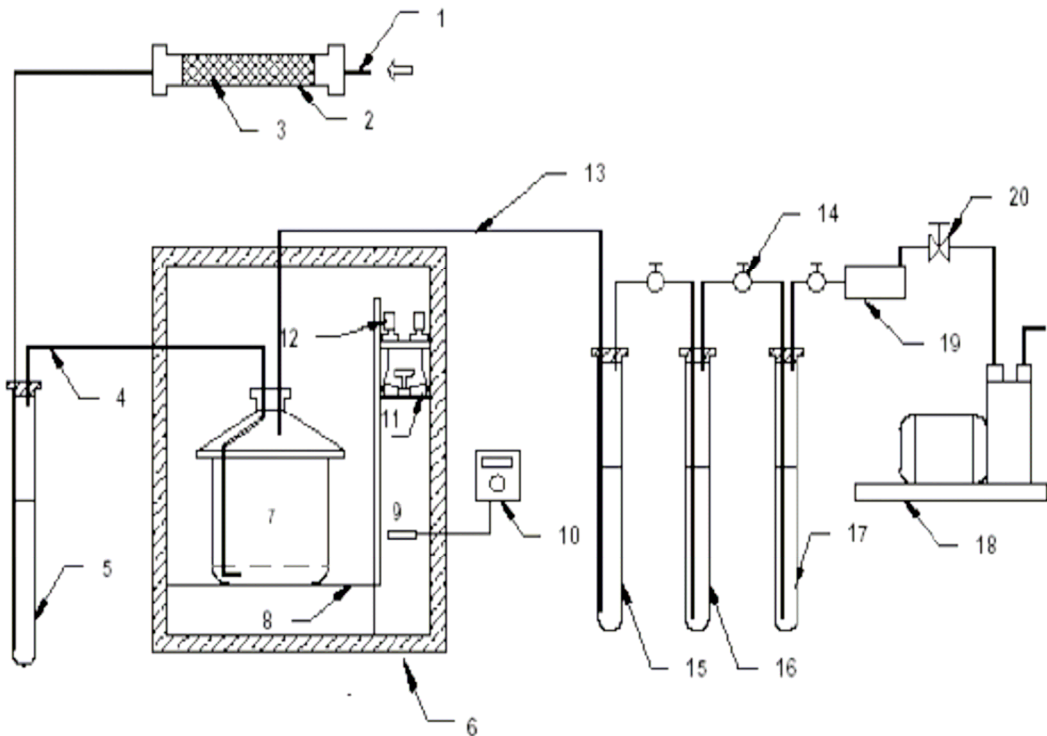
- solução de HCl, que umidifica o ar sem reter o CO₂;
- solução de KOH 1N, que absorve o CO₂ presente no ar;
- solução de KOH 1N, que absorve o CO₂ residual não retido na solução anterior.

O procedimento para determinação da taxa de respiração foi o seguinte:

- padronização das soluções de KOH e HCl e adição de um volume de 180mL nos tubos pelos quais o ar foi borbulhado;
- pesagem de bandejas contendo aproximadamente 60g de alface e colocação no dessecador;
- operação da bomba aspiradora com registro do período;
- após 24 horas foram retiradas alíquotas de 2mL dos tubos contendo solução de KOH e pipetadas em frascos de Erlenmeyer com 15mL de uma solução de 3% de cloreto de bário. Como a reação de CO₂ com KOH é reversível, a função do cloreto de bário é a formação de carbonato de bário, que precipita, evitando a saída de CO₂;
- adicionou-se 2 gotas do indicador fenolftaleína no frasco de Erlenmeyer e titulou-se com uma solução previamente padronizada de HCl 0,1N até o ponto de viragem;

- com o volume gasto de HCl determinou-se, através de cálculo estequiométrico, a massa de CO₂ liberada pelo produto após 24 horas. O resultado foi expresso em mg CO₂/(kg de produto.h).

Figura 3 - Esquema Geral do Equipamento de Determinação da Taxa de Respiração



- 1 - Entrada de ar
- 2 - Tubo de vidro
- 3 - Lã de vidro embebida com NaOH
- 4 - Mangueira para acesso do ar ao dessecador
- 5 - Tubo de vidro Pirex contendo NaOH
- 6 - Estufa para B.O.D.
- 7 - Dessecador contendo o produto a ser estudado
- 8 - Suporte
- 9 - Bulbo do termostato da estufa
- 10 - Termostato da estufa
- 11 - Micro ventilador
- 12 - Lâmpadas para aquecimento
- 13 - Mangueira para acesso do ar que sai do dessecador ao tubo de vidro
- 14 - Controle da vazão de ar
- 15 - Tubo de vidro contendo solução umidificante do ar (HCl)
- 16 - Tubo de vidro contendo solução absorvente de CO₂ do ar (NaOH)
- 17 - Tubo de vidro reserva contendo solução absorvente de CO₂ do ar (NaOH)
- 18 - Bomba aspiradora para circulação do ar pelo sistema
- 19 - Recipiente de segurança em caso de vazamento
- 20 - Válvula manual para controle do fluxo de ar

3.2.9 Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial de aceitação da aparência e de intenção de compra da alface minimamente processada foi realizada ao longo do período de armazenagem. Foram utilizados 30 provadores não treinados por sessão, formados por alunos, funcionários e professores da Universidade Estadual de Londrina.

Os provadores avaliaram a alface através de uma escala hedônica estruturada de sete pontos com os extremos correspondendo a “desgostei extremamente” e “gostei extremamente”, e na avaliação de intenção de compra, uma escala hedônica estruturada de cinco pontos, com extremos correspondendo a “certamente não compraria” e “certamente compraria”, de acordo com o modelo da ficha mostrada na Figura 4.

Figura 4 - Modelo da ficha de avaliação sensorial e de intenção de compra para alface minimamente processada

| | |
|---|--------------|
| Nome: _____ | Idade: _____ |
| E-mail: _____ | Data: _____ |
| Telefone: _____ | |
| Amostra: _____ | |
| <p>A – Você está observando uma amostra codificada de ALFACE MINIMAMENTE PROCESSADA. Por favor, avalie a APARÊNCIA GLOBAL da amostra de acordo com a escala abaixo:</p> <p>7 – Gostei extremamente 6 – Gostei muito 5 – Gostei moderadamente 4 – Nem gostei / nem desgostei 3 – Desgostei moderadamente 2 – Desgostei muito 1 – Desgostei extremamente</p> <p>B – Comente o que você mais gostou ou menos gostou na APARÊNCIA GLOBAL da amostra: + gostou: _____ - gostou: _____</p> <p>C – Se você encontrasse essa ALFACE MINIMAMENTE PROCESSADA, mantida sob refrigeração, à venda no mercado você:</p> <p>5 – Certamente compraria 4 – Possivelmente compraria 3 – Talvez comprasse / talvez não comprasse 2 – Possivelmente não compraria 1 – Certamente não compraria</p> <p>Muito obrigado pela sua colaboração!</p> | |

3.2.10 Determinação de Perda de Massa

A perda de massa da alface minimamente processada durante a armazenagem foi calculada de acordo com a Equação 3 e foi expressa em gramas/100 gramas de alface.

$$\text{Perda de massa} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

m_i = massa da hortaliça no início da armazenagem (g);

m_f = massa da hortaliça após um determinado tempo (t) de armazenagem (g).

3.2.11 Teor de Sólidos Solúveis e pH da Polpa

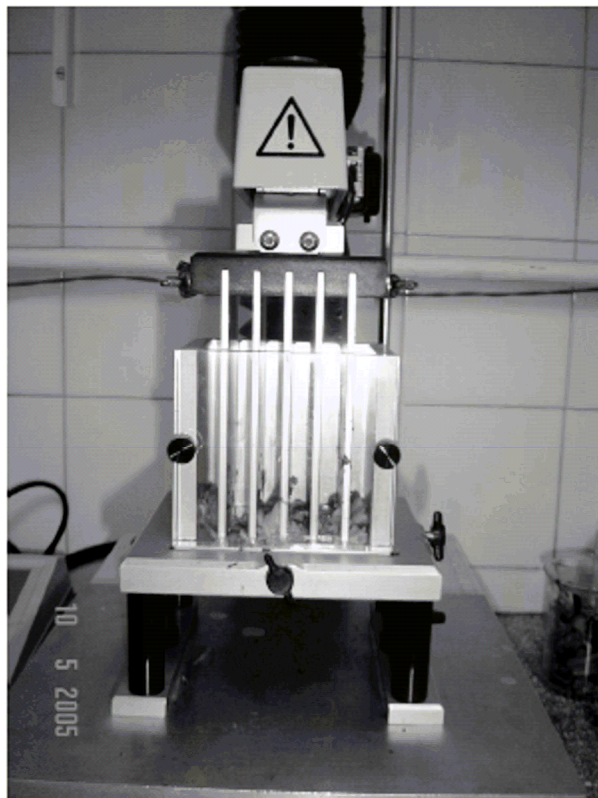
O teor de sólidos solúveis foi determinado de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976), utilizando-se um refratômetro de bancada (Carl Zeiss, Modelo Abbe, Alemanha). As medidas foram expressas em graus Brix.

Para a determinação do pH a alface foi previamente triturada com água destilada e homogeneizada e sua leitura foi realizada num pHmêtro digital (Hanna Instruments, Modelo H18514, EUA).

3.2.12 Determinação da Textura

A textura dos produtos foi avaliada através da leitura direta da força máxima de cisalhamento em 5g de folhas, através do texturômetro (Stable Micro System, modelo TA – XT2i, Inglaterra) equipado com ponteira Kramer de 5 lâminas (Figura 5), na velocidade de pré-teste, teste e pós-teste, respectivamente, de 5, 1,5 e 5 mm/s, com distância de penetração de 50 mm (SIGRIST, 2002) e os resultados, em Newton, representam a média de 8 determinações por tratamento.

Figura 5 - Texturômetro equipado com ponteira Kramer para determinação da força de cisalhamento de folhas de alface



3.2.13 Determinação do Teor de Vitamina C

Foi utilizado o método padrão da AOAC (1984), modificado por BENASSI & ANTUNES (1988). Amostras de 25g do produto foram homogeneizadas com 50g de solução de extração (ácido oxálico 2%) em liquidificador por dois minutos. Foi retirada uma alíquota de 20g para diluição em 50mL da solução extratora. Uma alíquota deste volume foi utilizada para titulação com 2,6-diclorofenolindofenol 0,01%. A solução de 2,6- diclorofenolindofenol foi padronizada através da titulação de 1mg de ácido ascórbico PA.

3.2.14 Contagem Total de Microrganismos Mesófilos e Psicrotróficos, Bactérias Lácticas , Bolores e Leveduras

Para a contagem de microrganismos mesófilos, as amostras foram inoculadas em Plate Count Agar (PCA) e incubadas a 37°C por 48 horas. Para psicrotróficos, as amostras também foram inoculadas em PCA, a incubação foi feita a 7°C por 7-10 dias, segundo VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (1992). A contagem de bactérias lácticas foi realizada através da inoculação em ágar Man, Rogosa e Sharpe (M.R.S.) e incubada por 3 dias à 37°C. Para bolores e leveduras foi utilizado Ágar Batata Dextrose e foi incubado por 3-5 dias à 25°C, segundo SIQUEIRA (1995).

3.2.15 Determinação dos Parâmetros de Cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* foram obtidos no sistema CIELAB, onde o parâmetro L^* corresponde a luminosidade, a^* é componente vermelho-verde e b^* é o componente amarelo-azul, utilizando um colorímetro digital Minolta, modelo CR10 (MINOLTA, 2005). As medidas serão tomadas em quatro pontos diferentes da folha de alface. Foram utilizadas duas folhas por tratamento. Foi feita também a análise da relação a^*/b^* e o cálculo da diferença de cor (ΔE) entre as folhas de alface no início e ao longo da armazenagem de acordo com a Equação 4.

$$\Delta E = \sqrt{(L_t^* - L_0^*)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2} \quad (4)$$

Onde:

L_0^* , a_0^* , b_0^* = parâmetros de cor no início da armazenagem

L_t^* , a_t^* , b_t^* = parâmetros de cor após tempo "t" de armazenagem

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTES PRELIMINARES

Foram realizados testes preliminares utilizando alfaces cortadas e embaladas. As alfaces foram selecionadas, higienizadas e mantidas em solução de hipoclorito de sódio (100 ppm por 15 minutos), cortadas em tiras de 3 cm e centrifugadas em centrífuga manual. Porções de alface (~60g) foram embaladas em potes de polipropileno de 1 litro, divididos num tratamento controle e tratamentos contendo no fundo da embalagem saches com 10 e 15 mg de Agrofresh. Todos os potes foram selados com filme de policloreto de vinila (PVC), pois os filmes a base de amido racharam algumas horas após o início da armazenagem, provavelmente devido ao envelhecimento dos biofilmes que tinham sido produzidos 2 meses antes. Desta forma os biofilmes das embalagens foram rapidamente substituídos pelo PVC e recolocados na estufa para B.O.D. a 12°C.

Com o experimento, as alfaces com 3 dias de armazenamento apresentaram contaminação, provavelmente por *Erwinia cyripedii*, causando podridão mole nas alfaces (Figura 6). Isso pode ter ocorrido devido à época de colheita e temperatura de armazenamento favorável ao crescimento desse microrganismo. Além disso, com o corte os microrganismos tinham nutrientes suficientes para o seu desenvolvimento devido a exsudação de líquido da alface.

Figura 6 - Alface cortada e embalada em potes selados com filme de PVC



Para aumentar o tempo de vida-útil, segurança microbiológica e aparência, nos testes finais as alfaces não foram cortadas em tiras, as embalagens foram seladas com biofilme de 100 μm produzidos com 15 dias de antecedência e também foi reduzida a temperatura de armazenagem para 4°C.

4.2 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DOS BIOFILMES

Os biofilmes de amido de mandioca produzidos por *casting* foram fáceis de manusear, tendo saído com facilidade das placas de acrílico e apresentaram boa transparência, porém os biofilmes de amido em geral possuem limitações devido a baixa resistência a umidade e propriedades mecânicas inferiores aos filmes convencionais que limitam seu uso. Apesar dessas características negativas, a substituição dos materiais plásticos pelos biodegradáveis é importante para reduzir o volume do lixo urbano.

A espessura média dos filmes produzidos foi de $100 \pm 8,36 \mu\text{m}$ e a Tabela 1 mostra a massa de água permeada pelo filme em função do tempo, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) do biofilme, utilizando quatro cápsulas.

Tabela 1 - Massa de água permeada pelo biofilme em função do tempo, taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) do biofilme de amido de mandioca

| Cápsula | Massa de H ₂ O (mg) permeada pelo biofilme | | | | | | | | TPVA x 10 ² (g H ₂ O.h ⁻¹ .m ⁻²) | PVA x 10 ⁷ (g H ₂ O.h ⁻¹ .Pa ⁻¹ .m ⁻¹) |
|---------|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|--|---|
| | 1 h | 2 h | 3h | 4h | 5 h | 6 h | 24 h | 25 h | | |
| 1 | 50 | 89 | 123 | 124 | 140 | 170 | 520 | 552 | 2,00 | 7,5 |
| 2 | 30 | 80 | 100 | 110 | 130 | 160 | 558 | 580 | 2,23 | 8,4 |
| 3 | 40 | 80 | 110 | 120 | 141 | 160 | 576 | 600 | 2,28 | 8,6 |
| 4 | 50 | 90 | 130 | 138 | 150 | 179 | 621 | 647 | 2,43 | 9,2 |

Tabela 2 - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes biodegradáveis e sintéticos.

| Filme | Espessura (μm) | Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) | Δ U.R. (%) | PVA ($\text{g H}_2\text{O}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$) |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------|--|
| Amido : acetato celulose | 1.119 | 38 | 100-30 | $9,20\cdot 10^{-6}$ |
| Metil celulose | 75 | 30 | 11-0 | $3,39\cdot 10^{-7}$ |
| Hidroxipropil celulose | 75 | 30 | 11-0 | $1,87\cdot 10^{-7}$ |
| Glúten de trigo | 50 | 30 | 100-0 | $3,29\cdot 10^{-7}$ |
| Caseinato de sódio | - | 25 | 100-0 | $1,60\cdot 10^{-6}$ |
| Zeína de milho | - | 26 | 100-50 | $1,48\cdot 10^{-6}$ |
| Proteína de soja (pH=3) | 83 | 25 | 100-50 | $1,49\cdot 10^{-6}$ |
| Proteína miofibrilar | 60 | 25 | 100-0 | $2,54\cdot 10^{-7}$ |
| Cera de abelha | 120 | 25 | 87-0 | $2,07\cdot 10^{-9}$ |
| Cera de carnaúba | 100 | 25 | 100-0 | $1,20\cdot 10^{-9}$ |
| Polietileno de alta densidade | 25 | 38 | 97-0 | $7,90\cdot 10^{-10}$ |
| Polietileno de baixa densidade | 25 | 38 | 95-0 | $3,10\cdot 10^{-9}$ |
| Celofane | - | 38 | 90-0 | $3,03\cdot 10^{-7}$ |

Fonte: Adaptado de CUQ *et al.* (1995)

Comparando a permeabilidade ao vapor de água (PVA) do biofilme de amido de mandioca, que foi igual a $(8,4\pm 0,7)\cdot 10^{-7}$ $\text{g H}_2\text{O}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ (Tabela 1), com os dados da Tabela 2 (CUQ *et al.*, 1995), verifica-se que as PVAs são semelhantes ou inferiores aos demais filmes biodegradáveis a base de carboidrato e de proteína, mas superior aos polímeros convencionais como o polietileno de alta e baixa densidade devido a alta hidrofiliçidade dos componentes do biofilme.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.3.1 Atividade de Água e Perda de Massa

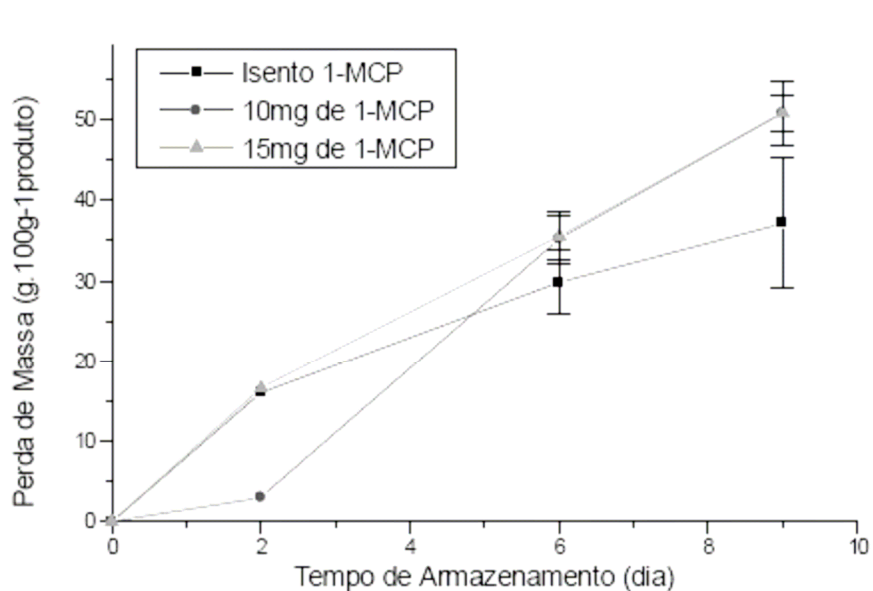
A atividade de água (A_w) da alface *in natura* foi de 0,96 a $20,3^{\circ}\text{C}$. A perda de água durante o armazenamento foi elevada, devido à alta umidade relativa de equilíbrio (URE) do produto, que foi igual a $100\cdot A_w = 96\%$, formando um ambiente saturado no interior da embalagem. Como a permeabilidade ao vapor de água do

filme era alta, em torno de $8,4 \cdot 10^{-7} \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$, e a umidade relativa no interior da estufa onde produto encontrava-se armazenado era em torno de 75%, havia um alto déficit de pressão de vapor, possibilitando uma elevada perda de massa. Além disso a alta taxa de respiração nas primeiras horas após a colheita aumentou a perda de massa, já que no processo respiratório as substâncias de reserva e estruturais das células vegetais são metabolizadas, resultando em CO_2 , água e energia (ROVERSI & MASSON, 2004).

Outro aspecto importante observado no experimento foi que nos tratamentos que continham saches, a perda de massa foi maior em relação ao sem sache, provavelmente devido a retenção de água pelo amido utilizado para diluir o 1-MCP e pelo próprio biofilme.

A Figura 7 mostra a perda de massa dos diferentes tratamentos durante a armazenagem. Foi feita uma regressão linear dos dados de perda de massa em função do tempo de armazenagem e as taxas de perda de massa, representadas pela inclinação das retas, estão na Tabela 3.

Figura 7 - Perda de massa da alface americana durante a armazenagem.



A alface que apresentou menor taxa na perda de massa foi o tratamento isento de 1-MCP, com valor de $3,9 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ (Tabela 3). As alfaces dos tratamentos que continham sache com 1-MCP apresentaram taxas de perda de

massa 1,6 e 1,4 vezes maiores que as alfaces do tratamento com 10 e 15 mg de 1-MCP, respectivamente, provavelmente devido ao sache contendo amido.

Tabela 3 - Taxa de perda de massa de alface, isento de sache com 1-MCP, com saches de 10 mg de 1-MCP e saches com 15 mg de 1-MCP

| Tratamento | Taxa de perda de massa (g.100g ⁻¹ .dia ⁻¹) | r ² | p |
|----------------|--|----------------|-------|
| Isento | 3,9±0,7 | 0,95 | 0,028 |
| 10 mg de 1-MCP | 6,1±0,7 | 0,97 | 0,013 |
| 15 mg de 1-MCP | 5,5±0,4 | 0,99 | 0,006 |

r² = coeficiente de determinação da regressão linear

p = nível de significância da regressão linear

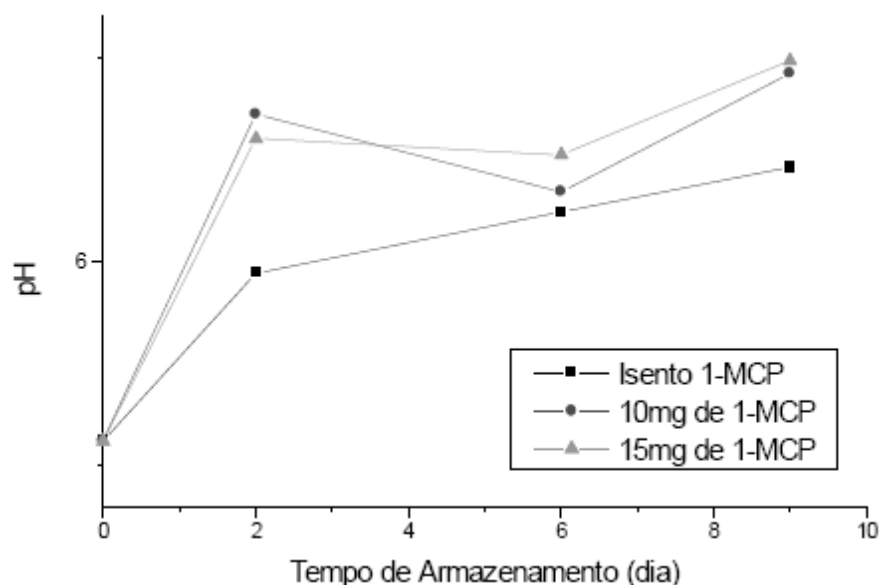
4.3.2 Teor de sólidos solúveis e pH

As análises foram realizadas no início da armazenagem e após 2, 6 e 9 dias. O teor de sólidos solúveis totais (SST), no início da armazenagem, foi de 1,5°Brix, a alface do tratamento controle apresentou no decorrer do armazenamento um declínio no teor de SST. Porém nas alfaces com 1-MCP isso não aconteceu, provavelmente devido a presença do 1-MCP ou pela perda de massa que concentrou os SST.

Os valores de pH aumentaram no início da armazenagem (Figura 8), provavelmente devido a alta taxa de respiração do produto neste período, que consumiu os ácidos orgânicos, aumentando o pH do produto. Com o passar do tempo de armazenamento, a taxa de respiração diminuiu, desta forma os valores de pH aumentam de forma menos acentuada ou estabilizaram.

Foi observado em hortaliças minimamente processadas o aumento de pH, em couves o pH tende a se elevar após cinco dias de armazenamento à 5°C (CARNELOSSI, 2000).

Figura 8 - pH da alface americana durante a armazenagem.

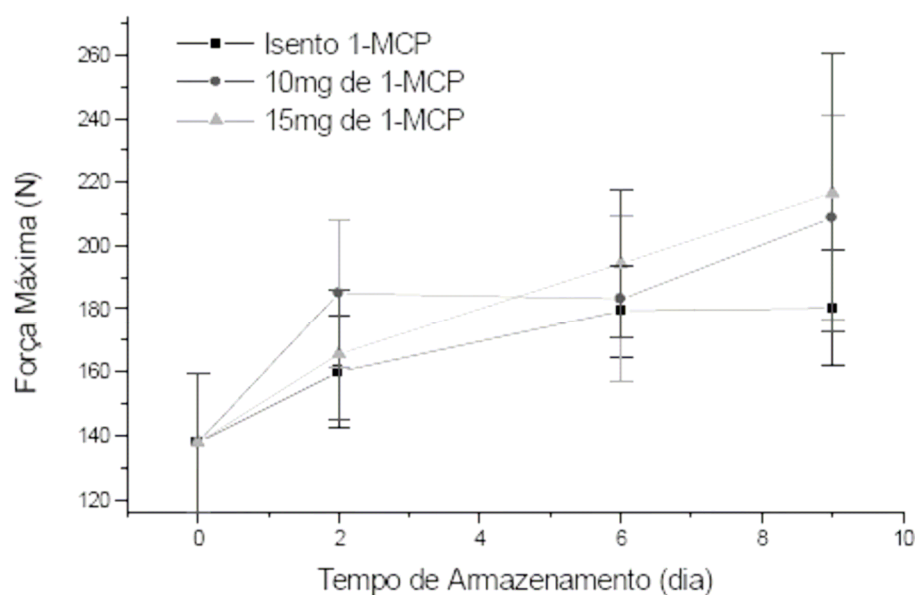


4.3.3 Firmeza

Em todos os tratamentos a alface apresentou um aumento na firmeza ao decorrer do tempo de armazenagem. O gráfico de força máxima por tempo de armazenagem apresentou valores altos de desvio-padrão causados pela grande variabilidade na textura das amostras de um mesmo tratamento. Apesar desta variação a Figura 9 mostra uma tendência de aumento da firmeza em função do tempo de armazenagem. Nos tratamentos em que havia a presença do 1-MCP este aumento foi maior, provavelmente devido a melhor manutenção da estrutura das células do produto, atuação característica do 1-MCP. A atuação do 1-MCP está associada à redução da atividade das enzimas pectinolíticas, induzida pela menor ação do etileno; resultados similares foram observados em maçã (FAN *et al.*, 1999) e em bananas (JIANG *et al.*, 1999).

BERRANG *et al.* (1990) não encontraram efeito significativo de atmosfera controlada nas texturas de floretes de brócolis e de couves-flores. Por outro lado, KADER (1986) relata estudos de outros pesquisadores que ao armazenarem brócolis sob 10% de CO₂ a 5°C por 2 semanas, observaram que eles estavam mais tenros que os mantidos em atmosfera normal.

Figura 9 - Firmeza da alface americana durante a armazenagem.



4.3.4 Vitamina C

Os teores de vitamina C nas alfaces dos tratamentos que continham sachê com 1-MCP apresentaram uma grande variação, que pode ser observada pelos desvios-padrão (Figura 10), mas percebe-se uma tendência de aumento ao longo do período de armazenagem. Essa tendência se deve à perda de massa no decorrer da armazenagem, já que nenhum tipo de antioxidante foi adicionado ao tratamento.

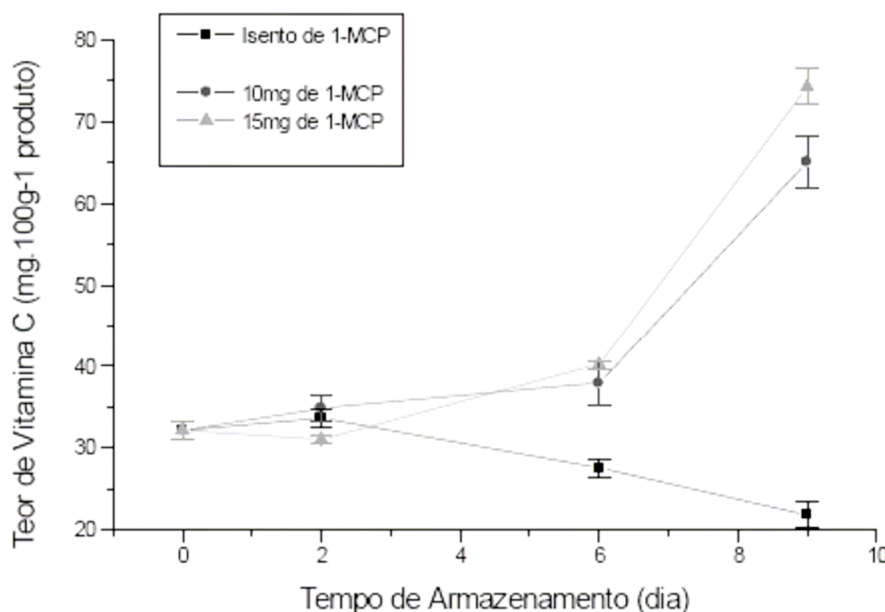
A alface do tratamento controle apresentou uma maior perda de vitamina C, demonstrando uma maior atividade metabólica do produto em relação aos dois tratamentos com 1-MCP.

A retenção de vitamina C foi registrada por PIGA *et al.* (2003) em peras (var. Gialla) embaladas com filme de alta permeabilidade e mantidas a 4°C por 9 dias.

De acordo com LEE & KADER (2000), a vitamina C é muito sensível à degradação quando o produto é submetido a condições adversas de manuseio e armazenamento. Perdas são favorecidas por períodos prolongados de armazenamento, altas temperaturas, baixas umidades relativas, danos físicos e distúrbios fisiológicos causados pelo frio. É facilmente oxidada, especialmente em

soluções aquosas, na presença de oxigênio, de íons metálicos pesados, especialmente, Cu^{+2} , Ag^{+} e Fe^{3+} e em pH alcalino e altas temperaturas. No nosso experimento os principais fatores de perda de vitamina foram evitados, pois o produto não foi cortado, foi mantido num ambiente com alta umidade relativa e menor teor de oxigênio no interior da embalagem e baixa temperatura de armazenagem, o que contribuiu para manter o teor de vitamina.

Figura 10 - Teores de vitamina C na alface americana durante a armazenagem.



4.3.5 Cor

A Figura 11 mostra a diferença entre a cor inicial e a cor depois de determinados tempos de armazenagem da alface (ΔE) e quanto maior a diferença, maior a alteração da cor característica inicial do produto. Neste caso todos os tratamentos mostraram uma tendência do aumento do ΔE da alface com tempo de armazenagem.

A razão a^*/b^* (Figura 12) de todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhante, sendo que a alface tratada com 15 mg de 1-MCP apresentou uma alteração da razão a^*/b^* menor que os demais tratamentos no segundo e sexto dia de armazenagem. No início da armazenagem a alface apresentava valores de a^* e b^* negativos, ou seja, coloração verde-amarelada e com

o passar do tempo o produto foi perdendo a cor verde-amarelada e passando a ficar branca.

A cor e descoloração de muitos alimentos são importantes atributos de qualidade no mercado e embora isso não reflita necessariamente o valor nutricional, sabor e funcionalidade, a cor é um atributo básico para o consumidor para compra do produto (POMERANS, 1994).

Figura 11 - Diferença de cor na alface americana durante a armazenagem

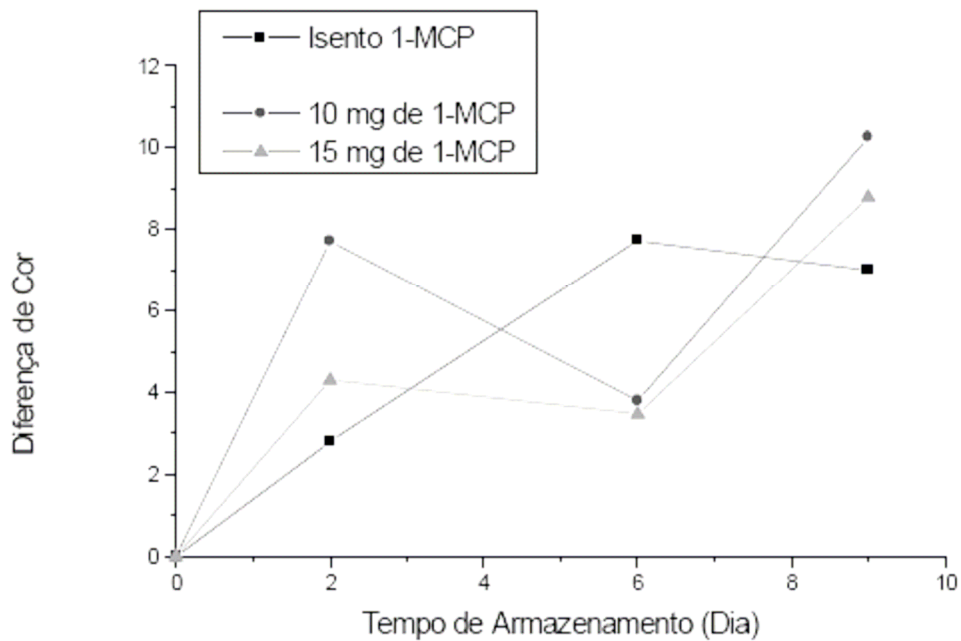
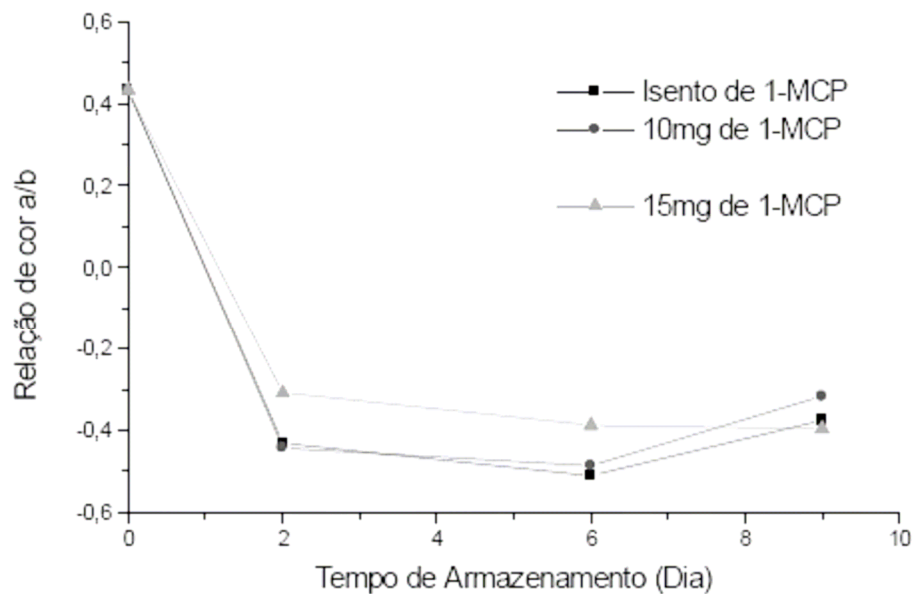


Figura 12 - Relação a^*/b^* na alface americana durante a armazenagem.



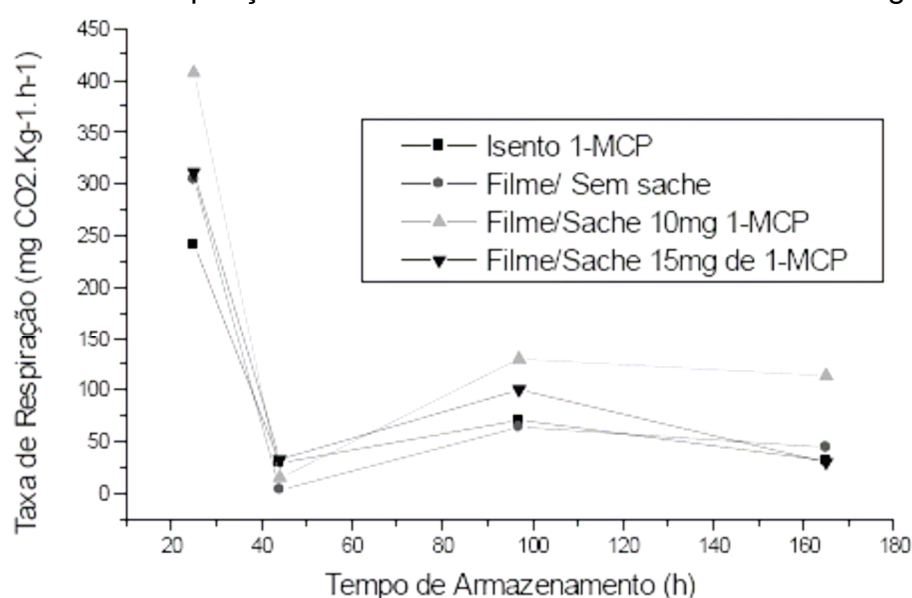
4.3.6 Taxa de Respiração

Todos os tratamentos apresentaram alta taxa de respiração nas primeiras vinte e quatro horas de armazenamento, isso aconteceu devido ao “stress” causado pelo processamento mínimo da alface, fazendo com que a hortaliça aumentasse sua taxa metabólica (CHITARRA, 1990).

Após dois dias de armazenagem, o produto apresentou uma queda na taxa respiratória em todos os tratamentos, passando de 316 ± 68 para 20 ± 13 mg $\text{CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, isso devido à temperatura de armazenagem ($4 \pm 1^\circ\text{C}$), que reduziu a atividade metabólica da alface, representada pela taxa respiração, em torno de 16 vezes.

A alface do tratamento com 10 mg de 1-MCP apresentou uma taxa de respiração mais alta após 2 dias de armazenagem provavelmente devido à contaminação microbiológica do produto, sendo que as alfaces dos demais tratamentos apresentaram taxas semelhantes, ou seja, a ação do 1-MCP não foi observada (Figura 13).

Figura 13 - Taxa de respiração da alface americana durante a armazenagem



4.3.7 Avaliação Sensorial

As análises de aceitação do produto e intenção de compra foram realizadas após 1, 3 e 5 dias de armazenamento a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e a escala para aceitação foi de 1 até 7, onde 1 era *desgostei extremamente* e 7 era *gostei extremamente* (Tabela 4). No primeiro dia de avaliação sensorial o produto obteve uma média de 5,7 onde 5 era *gostei moderadamente* e 6 era *gostei muito*, demonstrando boa aceitação do produto. No terceiro dia da avaliação as alfaces dos tratamentos 10 e 15mg de 1-MCP obtiveram as maiores médias, 5,1 e 4,9, respectivamente, mostrando que a aceitação do produto foi maior para esses dois tratamentos em relação ao controle, que obteve nota 4,0. No quinto dia não houve diferença entre as notas dadas para os três tratamentos.

A escala para intenção de compra foi de 1 até 5, onde 1 era *certamente não compraria* e 5 era *certamente compraria*. No primeiro dia de análise a intenção de compra a média foi de 4,2 onde 4 era *possivelmente compraria* e 5 era *certamente compraria*, mostrando um interesse na comodidade que o produto oferece ao consumidor. Na análise para intenção de compra, no terceiro dia as alfaces com maiores médias foram dos tratamentos, 10 mg de 1-MCP e 15mg de 1-MCP, que obtiveram notas 3,7 e 3,5, respectivamente. No quinto dia não houve diferença entre as notas dadas para os três tratamentos. O valor agregado ao produto foi uma preocupação do consumidor na hora da análise, sendo um dos comentários mais citados nas fichas preenchidas pelos provadores.

Tabela 4 - Avaliação sensorial de aceitação e intenção de compra de alface americana minimamente processada armazenada a 4°C

| AVALIAÇÃO SENSORIAL | TEMPO DE ARMAZENAMENTO (dia) | TRATAMENTO DA ALFACE | | |
|---------------------|------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | | Controle | Sache 10mg de 1-MCP | Sache 15mg de 1-MCP |
| Aceitação | 1 | 5,7 ^a | 5,7 ^a | 5,7 ^a |
| | 3 | 4,0 ^b | 5,1 ^a | 4,9 ^a |
| | 5 | 2,9 ^a | 2,7 ^a | 3,1 ^a |
| | 7 | i.c. | i.c. | i.c. |
| Intenção de Compra | 1 | 4,2 ^a | 4,2 ^a | 4,2 ^a |
| | 3 | 2,7 ^b | 3,7 ^a | 3,5 ^a |
| | 5 | 2,9 ^a | 2,7 ^a | 3,1 ^a |
| | 7 | i.c. | i.c. | i.c. |

i.c. Análises não realizadas por estar o produto impróprio para o consumo.

^{a,b,c} letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa ao nível 0,05 pelo teste de Tukey.

4.3.8 Análise Microbiológicas

Hortalças *in natura* estão relacionadas a incidentes e surtos de toxinfecção alimentar e além do perigo de transmissão de patógenos, há também a possibilidade de aumento da população microbiana inicial, compostas de microrganismos deteriorantes como bolores, leveduras e o grupo de bactérias coliformes totais, que reduzem a vida útil do produto (BEUCHAT, 1996).

O resultado das análises microbiológicas das alfaces dos três tratamentos foi negativo para presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e bactérias lácticas, provavelmente devido ao fato das alfaces utilizadas no trabalho terem sido apenas desfolhadas e não cortadas, desta forma não ocorreu liberação de substrato para crescimento de microrganismos. Além disso, as boas condições higiênico-sanitárias do produto no campo, através da seleção do produtor e do processamento mínimo garantiram a baixa contaminação do produto.

Houve apenas crescimento de bolores e leveduras no decorrer do tempo de armazenagem (Tabela 5), pois esses microrganismos apresentam menor exigência em relação à umidade, pH, temperatura e nutrientes, comparados às bactérias (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A contagem de bolores e leveduras na alface sem sanitização, porém higienizada, mostra a importância da lavagem inicial em água corrente tratada. Segundo LEITAO, MONTEIRO FILHO & DELAZARI (1981), quando se pesquisa eficiência de um agente germicida em indústria de alimentos, deve-se considerar também que a redução observada na contagem microbiana, não deve ser atribuída exclusivamente à atividade germicida do agente desinfetante, mas também o efeito conjugado da remoção de células na lavagem inicial, em água de boa qualidade.

Tabela 5 - Contagem de bolores e leveduras em alface americana minimamente processada armazenadas a 4°C

| TRATAMENTO | CONTAGEM BOLORES E LEVEDURAS (UFC/g) | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 0 dia | 2 dias | 6 dias | 9 dias |
| Alface sem Sanitização | $<10^{-3}$ | | | |
| Alface Isenta de 1-MCP | $<10^{-2}$ | 1×10^{-2} | 1×10^{-2} | $<10^{-3}$ |
| Alface com 10 mg de 1-MCP | $<10^{-2}$ | $<10^{-3}$ | 1×10^{-2} | $<10^{-3}$ |
| Alface com 15 mg de 1-MCP | $<10^{-2}$ | 5×10^{-2} | 1×10^{-2} | 3×10^{-2} |

5 CONCLUSÃO

O uso de 1-MCP em alface americana minimamente processada não aumentou a vida útil do produto provavelmente devido a forma de aplicação, em sachê, ou a baixa concentração do composto ou ainda devido a alta permeabilidade do filme biodegradável ao 1-MCP, que impediu a manutenção de uma concentração adequada no interior da embalagem.

A técnica de processamento mínimo associado à embalagem selada com filme biodegradável mostrou ser viável para alface americana, pois o produto apresentou boa aceitação sensorial, baixa contaminação microbológica e vida de prateleira adequada para este tipo de produto, que é altamente perecível.

REFERÊNCIAS

ABLE, A.J.; WONG, L.S.; PRASAD, A.; O'HARE, T.J. 1- MCP is more effective on a floral brassica than a leafy brassica. **Postharvest Biology and Technology**, v.26, p.147-155, 2002.

AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, n.6, p.179-187, 1996.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL (ASTM). **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Material. E96-95**, Philadelphia: ASTM, p.8,1995.

ANDRETTA, G.C. **Valor Bruto da Produção Agropecuária Paranaense**. Curitiba: SEAB/ DERAL - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, 2003.

AVEROUS, L. **Etude de systèmes polymers multiphases: approche dès relations matériaux-procédés-propriétés**. Reims: Université de Reims, Champagne-Ardenne, 2002. 46p.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.111-122, 2004.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O.; BAKER, R.A. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.6, p. 509-524, 1995.

BALLANTYNE, A., STARK, R., SELMAN, J.D. Modified atmosphere packing of shredded lettuce. **International Journal of Food Science and Technology**, v.23, n.2, p.267-274, 1998.

BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J.A. Comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.31, n.4, p.507-513, 1988.

BENNIK, M.H.J.; VORSTMAN, W.; SMID, E.; GORRIS, L. The influence of oxygen and carbon dioxide on the growth of prevalent *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas species* isolated from fresh and controlled-atmosphere-stored vegetables. **Food Microbiology**, v.15, p.459-469, 1998.

BERRANG, M.E.; BRACKETT, R.E.; BEUCHAT, L.R. Microbial color and textural qualities of fresh asparagus, broccoli, and cauliflower stored under controlled atmosphere. **Journal of Food Protection**, v.53, n.5, p.391-395, 1990.

BLANKENSHIP, S.M.; DOLE, J.M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p.1-25, 2003.

BEUCHAT, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal of Food Protection**, v.59, n.2, p.204-216, 1996.

BEUCHAT, L.R.; BRACKETT, R.E. Inhibitory effects of raw carrots on *Listeria monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, n.6, p.1734-1742, 1990.

BEUCHAT, L.R. Standardization of methods to determine the efficacy of disinfectants for raw fruits and vegetables. In: **Proceeding of 17th International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH)**, Venndhoven, The Netherlands, p.785-786, 1999.

BOLIN, H.R.; HUXSOLL, C.C. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad cut lettuce. **Journal of Food Science**, v.56, n.1, p.60-67, 1991.

BRACKETT, R.E. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. **Journal of Food Protection**, v.55, n.10, p.808-814, 1992.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, v.30, n.1, p.18-22, 1995.

BURNS, J.K. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the colloquium. **Hortscience**, v.30, n.1, p.14, 1995.

CAIXETA FILHO, J.V. Losses in the transportation of fruits and vegetables: A Brazilian case study. **International Journal of Logistics: Research and Applications**, v.2, n.3, 1999.

CARLIN, F.; NGUYEN-THE, C.; CHAMBROY, Y.; REICH, M. Effects of controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content on fresh, ready-to-use grated carrots. **International Journal of Food Science and Technology**, v.25, p.110-119, 1990.

CARNELOSSI, M.A.G. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. *acephala*) minimamente processadas**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000. 81 p.

CASTRO, J.V. Aspectos biológicos de deterioração de frutas e hortaliças: respiração, transformações químicas, transporte e danos fisiológicos. In: **Curso de transporte refrigerado de frutas e hortaliças**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, p.20-35, 1983.

CEASA – CAMPINAS. **A Cultura da Alface**. Disponível em: <http://www.ceasacampinas.com.br/pd01b.htm> (02 MAR.2002)

CEASA – CAMPINAS. **Padronização da Alface**. Disponível em: http://www.ceasacampinas.com.br/padronizacao_alface.htm (06 OUT.2005)

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.F. Plásticos a Base de Amido. In: **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, cap.18, 2003.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113 p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós colheita de frutos e hortaliças, fisiologia e manuseio**. São Paulo: Editora Gráfica Nagy Ltda, 1990.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M.L. (Ed.). **Active food packaging**. Glasgow: Blackie Academic & Professional, p.111-142, 1995.

DYCHDALA, G.R. Chlorine and chlorine compounds. In: DYCHDALA, G.R. **Disinfections, sterilization and preservation**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, p.131-151, 1991.

FAN, X.; BLANKENSHIP, S.M.; MATTHEIS, J.P. 1-methylcyclopropene inhibits apple ripening. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.124, p.690-695, 1999.

FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. **Microbiology Reviews**, v.55, p.476-511, 1991.

FARBER, J. Microbiological issues surrounding the safety of fresh cut produce. **10th World Congress of Food Science and Technology**. Abstract Book, Sydney, Australia; p.11, 1999.

FRANCIS, G.A.; THOMAS, C.; O'BEIRNE, D. The Microbiological safety of minimally processed vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v.34, p.1-22, 1999.

FRANCO, B.. LANDGRAF. M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRANK, J.F; TAKEUSHI, K. Direct observation of *Escherichia coli* O157:H7 inactivation on lettuce leaf using confocal scanning laser microscopy. In: **Proceeding of 17th International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH)**, Veldhoven, The Netherlands, p.795-797, 1999.

GIL, M.I.; CONESA, M.A.; ARTÉS, F. Quality changes in fresh-cut tomato as affected by modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, v.25, p.199-207, 2002.

HONG, S.; KIM, D. Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green onion. **International Journal of Food Science and Technology**, v.36, p.283-289, 2001.

HURST, W.C., SCHULLER, G.A. Fresh produce processing: an industry perspective. **Journal of Food Protection**, v.55, n.10, p.824-827, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para a análise de alimentos. 2. Ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976. 317p

IZUMI, H.; WATADA, A.E.; KO, N.P.; DOUGLAS, W. Controlled atmosphere storage of carrot slices, sticks and shreds. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, p.165-172, 1996.

IZUMI, H. Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. **Journal of Food Science**, v.64, n.3, p.536-539, 1999.

JACOMETTI, G.A.; MENEGHEL, R.E.A.; YAMASHITA, F. Aplicação de revestimentos comestíveis em pêssegos (*Prunus persica*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.95-100, 2003.

JAVAS, D.S.; JEYAMKONDAN, S. Modified atmosphere storage of grains, meats, fruits and vegetables. **Biosystems Engineering**, v.82, n.3, p.235-251, 2002.

JIANG, Y.; JOYCE, D. C.; MACNISH, A. J. Extension of the shelf life of banana fruit by 1- methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. **Postharvest Biology and Technology**, v.16, p.187-193, 1999.

KADER, A.A., BEN-YEHOSHUA, S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.1-13, 2000.

KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, v.40, n.5, p. 99-104, 1986.

KATAYAMA, M. Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. In: FERREIRA, M.E.; CASTELLANE, P.D.; CRUZ, M.C.P. **Nutrição e adubação de hortaliças**. Jaboticabal: Potafós, p.141-148, 1993.

KING, J.R.; PABLO, S. Perdas de vitaminas durante e procesamiento de los alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, v.5, p. 143-152, 1987.

KLUGE, R.A.; JACOMINO, A.P.; OJEDA, M.R.; BRACKMANN, A. Inibição do amadurecimento do abacate com 1-metilciclopropeno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.7, p.895-901, 2002.

KLUGE, R.A.; NATCHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Pelotas: Ed. Universitária UFPEL, 1997. 164 p.

LAWTER, M.; FISCHER, G. Potential of starch based packaging for the food industry. In: **Food Biopack Conference – Proceedings**, Copenhagen, p.8-11, 2000.

LEE, S.K; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, n.3, p.207-220, 2000.

LEITÃO, M.F.F.; MONTEIRO FILHO, E.; DELAZARI, I.; ANGELUCCI, E. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface. **Boletim do ITAL**, v.18, n.2, p.201-226, 1981.

LELIÈVRE, J.M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia plantarum**, v.101, p.727-739, 1997.

MAKISHIMA, N. **Mapeamento da Produção e Consumo de Hortaliças no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, p.7, 2000.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v.60, n.3, p.283-289, 2005.

MINOLTA – Disponível em: www.minolta.it/industrial/specifiche.asp. Acesso em 22 de novembro de 2005.

NAKAGAWA, A. **Embalagem ativa biodegradável para acerolas in natura**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, 2003.

PARK, D.L.; RUA JR., S.M.; ACKER, R.F. Direct application of a new hypochlorite sanitizer of reducing bacterial contamination on foods. **Journal of Food Protection**, v.54, n.12, p.960-965, 1991.

PIGA, A.; DEL CARO, A.; PINNA, I.; AGABBIO, M. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. **Lebensmittel wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, v.36, n.2, p.257-262, 2003.

POMERANS, Y.; MELOAN, C.E. **Food analysis: theory and practices**. 3^oed. New York: Chapman & Hall, p.87-98,1994.

ROHM & HASS. **Boletim Técnico de 1-MCP**. 2000.

ROSA, D.S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.11, n.2, p.82-88, 2001.

ROSA, O.O. **Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados**. Lavras. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2002.

ROVERSI, R.M.; MASSON, M.L. Qualidade da Alface Crespa Minimamente Processada Acondicionada em Atmosfera Modificada. **Ciência Agro Tecnológica**, v.28, n.4, p. 823- 830, 2004.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; SOLER, R.M. Embalagens com atmosfera modificada/controlada In: SARANTOPÓULOS, C.I.G.L. (Coord.) **Novas tecnologias de acondicionamento de alimentos**. Campinas: ITAL, p. 105-140, 1998.

SEABRA, G.F.S. Efeito da temperatura e de diferentes atmosferas nas características sensoriais do brócolis minimamente processado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.137-145, 2001.

SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M.S. 1-Metilciclopropeno, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improves the life of fruit, cut flowers and potted plants. **Acta Horticulturae**, v.394, p.337-345, 1995.

SIGRIST, J. M. **Estudos Fisiológicos e Tecnológicos de Couve-Flor e Rúcula Minimamente Processadas**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2002.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1995. p.159.

SILVA, M.E.M.P. **Teores de vitamina C em alimentos de consumo habitual na região de São Paulo**. São Paulo. 1990. 103 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOSSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.

VANETTI, M.C.D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: **II Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças - Palestras**. Viçosa: UFV, 2000. p.44-51.

VILELA, N.J.; LANA, M.M.; MAKISHIMA, N. O peso da perda de alimentos para a sociedade: o caso das hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.2, p.141-143, 2003.

WATADA, A.E.; QI, L. Quality of minimally processed vegetables. **Acta Horticulturae**, v.483, p.209-219, 1999.

WILEY, R.C. (Ed.) **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, p. 226-268, 1994.

WILLS, R. H. H.; LEE, T. H.; GRAHAM D.; McGLASSON, W.B.; HALL, E. G. **Postharvest, an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables**. Westport: Avi Publ., 1981. 163 p.

YURI, J.E. **Avaliação de cultivares de alface americana em duas épocas de plantio e dois locais do sul de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000. 51p.

ZAGORY, D.; KADER, A.A. Quality maintenance in fresh fruits and vegetables by controlled atmospheres. In: JEN, J.J. (Ed.). **ACS Symposium Series, n.405, cap.4: Quality factors of fruits and vegetables**. Washington: American Chemical Society, p.174-187, 1989.

ANEXOS

ANEXO 1 - Resolução - RE nº 98, de 28 de maio de 2003 D.O.U. 29/05/2003

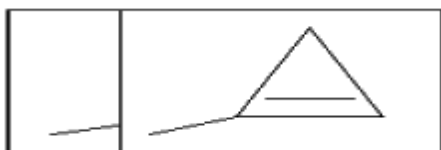
O Diretor da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe confere a Portaria nº 327, de 16 de maio de 2003, tendo em vista o disposto no § 3º do Art. 111 do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, publicada no DOU de 22 de dezembro de 2000,

considerando o art. 6º, do Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, resolve:

Art. 1º Alterar o itens i) Classificação toxicológica e j) Uso agrícola, da monografia M35 - Metilciclopropeno, com a seguinte redação:

| INDICE MONOGRAFICO | NOME |
|--------------------|-------------------|
| M35 | METILCICLOPROPENO |

- a) Ingrediente ativo ou nome comum: Metilciclopropeno (Methylcyclopropene)
 b) Sinonímia: 1-MCP; MCP
 c) N° CAS: 3100-04-7
 d) Nome químico: 1-methylcyclopropene
 e) Fórmula bruta: C₄H₆
 f) Fórmula Estrutural:



- g) Grupo químico: Cicloalqueno (bloqueador da síntese de etileno)
 h) Classe: Regulador de crescimento
 i) Classificação toxicológica: Classe III
 j) Uso agrícola: Autorizado conforme indicado

Modalidade de emprego: Aplicação única em ambiente hermeticamente fechado nos frutos das culturas de abacate, banana, goiaba, maçã, mamão, manga, melão e tomate.

Aplicação única em ambiente hermeticamente fechado em flores de corte (cravo, crisântemo, gérbera, gipsofila e lírio) e em flores de vaso (azaléia, crisântemo, lírio e violeta).

NOTA-1: a aplicação deverá ser realizada com tecnologia adequada, observando-se o intervalo de reentrada na área de aplicação, descritos em rótulo e bula.

NOTA-2 : as metodologias para detecção e quantificação de resíduos do Ingrediente Ativo em culturas tratadas não permitiram sua identificação.

OBS: estado físico - pó solúvel (gerador de gás em contato com a água)

Art. 2º Esta Resolução entrará em vigor na data de sua publicação.

RICARDO OLIVA