

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSIÇÃO GASOSA E SISTEMAS DE
EMBALAGENS ADEQUADAS PARA CONSERVAÇÃO DE
ALFACE AMERICANA 'LORCA' MINIMAMENTE PROCESSADA**

Helga Maria Darezzo

Campinas
Fevereiro/2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

D247d Darezzo, Helga Maria
Determinação de composição gasosa e sistemas de
embalagens adequadas para conservação de alface
americana 'Lorca' minimamente processada / Helga
Maria Darezzo .--Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Benedito Carlos Benedetti.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

1. Alface. 2. Alimentos embalagens. 3. Avaliação
sensorial. 4. Alface – Armazenamento. Temperatura –
Efeito fisiológico. I. Benedetti, Benedito Carlos. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia Agrícola. III. Título.

Titulo em Inglês: Determination of gas composition and package systems for
conservation of minimally processed 'Lorca' lettuce

Palavras-chave em Inglês: Lettuce, Packaging, Sensory evaluation, Storage e
Temperature physiological effect

Área de concentração: Tecnologia Pós-Colheita

Titulação: Doutora em Engenharia Agrícola

Banca examinadora: Rosires Deliza, José Maria Monteiro Sigrist, José de Assis
Fonseca Faria e Sylvio Luiz Honório

Data da defesa: 16/02/2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSIÇÃO GASOSA E SISTEMAS DE
EMBALAGENS ADEQUADAS PARA CONSERVAÇÃO DE
ALFACE AMERICANA 'LORCA' MINIMAMENTE PROCESSADA**

Tese de Doutorado submetida à banca
examinadora para obtenção do título
de Doutor em Engenharia Agrícola, na
área de concentração de Tecnologia
Pós-Colheita.

Acadêmica: MS. Helga Maria Darezzo

Orientador: Prof. Dr. Benedito Carlos Benedetti

Campinas
Fevereiro/2004

Ofereço aos meus pais, Artur e Regina, e aos meus irmãos, Fabiana e João Paulo, que no decorrer deste longo caminho estiveram ao meu lado, com infinito amor, apoio e compreensão.

Dedico a Deus, fonte de toda a minha força e determinação, sem o qual não seria possível o término desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela bolsa de doutorado e pela reserva técnica, fundamentais a realização desta pesquisa.

Ao Centro de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos – EMBRAPA, pela disponibilidade de seus laboratórios e profissionais, através dos quais aprendi e me enriqueci profissionalmente.

À empresa Thompson Processadora de Alimentos “In Natura” LTDA, nome fantasia Moinho Verde, por ter disponibilizado sua linha de produção, assim como, pela doação de toda a matéria-prima e de um dos filmes plásticos testados.

Ao Centro de Tecnologia de Embalagens – ITAL, pelos ensinamentos cromatográficos prestados.

À empresa Air Liquide do Brasil LTDA, na pessoa de Orion Ferreira Pinheiro, por todos os cilindros de gases doados.

À empresa Parnaplast Indústria de Plásticos LTDA, que desenvolveu, especialmente para esta pesquisa, o outro filme plástico testado.

Ao Prof. Dr. Benedito Carlos Benedetti, pela orientação e amizade, sem o qual não teria finalizado esta etapa da minha vida. Agradeço pelo seu incentivo e auxílio, pela sua compreensão e paciência, pelas lições de perseverança, profissionalismo e imensa colaboração, que por horas distante, sempre se fez presente, muito obrigada meu querido amigo.

Ao Pesquisador e Dr. Sérgio Agostinho Cenci, pela possibilidade de ter participado do projeto PRODETAB/EMBRAPA, sob sua coordenação, sem o qual a realização desta Tese não seria possível. Atuando como verdadeiro co-orientador, mesmo sem ser sua responsabilidade, seu auxílio foi imprescindível.

À Pesquisadora e Dra. Rosires Deliza, amiga nesta caminhada, do início ao fim, pelos ensinamentos, profissionalismo, competência, sugestões e correções na Banca Examinadora. Por sua imensa colaboração e por me mostrar ‘o mundo sensorial’ que eu desconhecia e me apaixonei, me servindo de inspiração profissional, muito obrigada.

À pesquisadora Claire Sarantópoulos pelo auxílio na especificação e aquisição de um dos filmes plásticos.

Ao amigo Ricardo Sasaki pelos ensinamentos, competência, sugestões, amizade e auxílio. Saiba que foi imprescindível a realização deste trabalho, muito me ensinou e ajudou. Muito obrigada pelo seu apoio, amizade e imensa colaboração.

À Pesquisadora e Dra Neide Botrel, pelo auxílio, incentivo e serenidade.

À Pesquisadora Elisabeth Gonçalves pela orientação e pelo apoio nas análises estatísticas

À amiga Ms. Fernanda Lignon, pelo auxílio, amizade, convívio, apoio e ajuda verdadeira, especialmente nos momentos mais difíceis, muito obrigada.

À Eliane Rocha, pela colaboração no desenvolvimento das análises microbiológicas.

À Equipe de provadores, pela disponibilidade e pelo auxílio imprescindível no desenvolvimento desta pesquisa.

Às estagiárias Henriqueta, Candy e Elisângela, pelo auxílio nas determinações químicas.

Ao Pesquisador Ronoel, pelos ensinamentos e auxílio nas análises cromatográficas.

À Banca Examinadora, pelas sugestões e em especial ao Prof. Dr. Sylvio Luiz Honório pelos ensinamentos de vida.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente à realização desta Tese.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 MATÉRIA-PRIMA	4
3.2 OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO MÍNIMO	5
3.2.1 Sanificação	9
3.2.1.1 Sanificação clorada	9
3.2.1.2 Sanificação ozonizada	13
3.3 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DECORRENTES DO PROCESSAMENTO MÍNIMO	14
3.3.1 Taxa respiratória	14
3.3.2 Indução a síntese de etileno	17
3.3.3 Escurecimento enzimático	18
3.3.4 Degradação da clorofila	21
3.3.5 Desenvolvimento de injúrias fisiológicas	23
3.3.6 Perda de água	27
3.3.7 Variação da textura	29
3.3.8 Alterações microbiológicas	30
3.4 FATORES RESPONSÁVEIS PELA CONSERVAÇÃO	36
3.4.1 Temperatura	36
3.4.2 Acondicionamento em atmosfera modificada ou controlada	38

4. MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 ESTRUTURAÇÃO DA PESQUISA	48
4.2 MATÉRIA-PRIMA	49
4.2.1 Colheita	49
4.3 PROCESSAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA	50
4.4 ESTUDO EM ATMOSFERA CONTROLADA – 1ª ETAPA	52
4.4.1 Instalação dos Experimentos de Armazenamento	53
4.4.2 Instalação do Experimento Respiratório	55
4.5 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO DA 2ª ETAPA	57
4.6 ANÁLISES REALIZADAS	58
4.6.1 Taxa respiratória	58
4.6.2 Análises químicas	59
4.6.3 Análises sensoriais	60
4.6.3.1 Treinamento da Equipe Sensorial	60
4.6.3.2 Avaliação dos Experimentos	62
4.6.3.3 Teste de Consumidor – 2ª ETAPA	63
4.6.4 Análises microbiológicas	63
4.6.5 Análise estatística	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 EXPERIMENTO EM ATMOSFERA CONTROLADA A 5°C – 1ª ETAPA	65
5.1.1 Monitoramento do processamento	65
5.1.2 Aspectos químicos	65
5.1.3 Aspectos sensoriais	69
5.1.3.1 Intensidade da cor verde	70
5.1.3.2 Turgidez	70
5.1.3.3 Escurecimento de nervuras	71

5.1.3.4	Escurecimento de bordas	71
5.1.3.5	Cozido	71
5.1.3.6	Aparecimento de manchas escuras	72
5.1.3.7	Impressão global de aparência	72
5.1.4	Aspectos microbiológicos	74
5.1.4.1	Avaliação microbiológica na linha de processamento	74
5.2	EXPERIMENTO EM ATMOSFERA CONTROLADA A 8°C- 1ª ETAPA	78
5.2.1	Monitoramento do processamento	78
5.2.2	Aspectos químicos	78
5.2.3	Aspectos sensoriais	81
5.2.3.1	Intensidade da cor verde	82
5.2.3.2	Turgidez	82
5.2.3.3	Escurecimento de nervuras	83
5.2.3.4	Escurecimento de bordas	84
5.2.3.5	Cozido	84
5.2.3.6	Aparecimento de manchas escuras	85
5.2.3.7	Impressão global de aparência	85
5.2.4	Aspectos microbiológicos	88
5.2.4.1	Avaliação microbiológica na linha de processamento	88
5.2.4.2	Avaliação microbiológica do experimento	90
5.3	EXPERIMENTO RESPIRATÓRIO EM ATMOSFERA CONTROLADA A 5 E 8°C	98
	– 1ª ETAPA	
5.3.1	Aspectos fisiológicos	98
5.3.2	Aspectos sensoriais	102
5.3.2.1	Intensidade da cor verde	103
5.3.2.2	Turgidez	103

5.3.2.3	Escurecimento de nervuras	104
5.3.2.4	Escurecimento de bordas	104
5.3.2.5	Cozido	105
5.3.2.6	Aparecimento de manchas escuras	105
5.3.2.7	Impressão global de aparência	105
5.4	EXPERIMENTO EM ATMOSFERA MODIFICADA ATIVA - 2º ETAPA	107
5.4.1	Especificação da permeabilidade do filme plástico e da atmosfera ativa	107
5.4.2	Monitoramento do processamento	108
5.4.3	Aspectos químicos	109
5.4.4	Aspectos sensoriais – Equipe sensorial	116
5.4.4.1	Aroma característico	117
5.4.4.2	Aroma fermentado	117
5.4.4.3	Intensidade da cor verde	119
5.4.4.4	Turgidez	120
5.4.4.5	Escurecimento de nervuras	120
5.4.4.6	Escurecimento de bordas	122
5.4.4.7	Cozido	123
5.4.4.8	Aparecimento de manchas escuras	124
5.4.4.9	Impressão global de aparência	125
5.4.5	Aspectos sensoriais – Teste de consumidor	127
5.4.6	Aspectos microbiológicos	130
5.5	CORRELAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS QUÍMICOS E SENSORIAIS	137
6.	CONCLUSÕES	140
7.	LITERATURA CITADA	141
8.	ANEXOS	149

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Taxa respiratória da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	102
Figura 2	Taxa respiratória da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	102
Figura 3	Variação das médias sensoriais referentes a intenção de compra da alface americana 'Lorca' minimamente processada, acondicionada nos filmes HP e MV sob atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ + 10%CO ₂ , e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.	128
Figura 4	Fotos da alface 'Lorca' minimamente processada e submetida à atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ + 10%CO ₂ , aos 8, 12 e 14 dias de armazenamento a 5°C.	155
Figura 5	Fotos da alface 'Lorca' minimamente processada e submetida à atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ + 10%CO ₂ , aos 8, 12 e 14 dias de armazenamento a 8°C.	155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros funcionais dos filmes plásticos empregados no acondicionamento da alface americana 'Lorca' minimamente processada.	57
Tabela 2	Atributos sensoriais referentes à aparência e aroma da alface americana 'Lorca' minimamente processada, e as respectivas definições apresentadas pelos provadores.	61
Tabela 3	Variação das médias atribuídas aos parâmetros químicos obtidos na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	69
Tabela 4	Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	74
Tabela 5	Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa no NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.	75
Tabela 6	Variação da contagem da população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero Pseudomonadaceae, expressa em NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.	76
Tabela 7	Variação na contagem das colônias de mesófilos aeróbios nas diferentes áreas da linha de processamento da alface americana 'Lorca' e contagem proveniente do toque do manipulador da mesa de seleção, expressas em UFC/placa.	77
Tabela 8	Variação das médias atribuídas aos parâmetros químicos obtidos na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	81
Tabela 9	Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	87

Tabela 10	Varição da contagem do Grupo Coliformes, expressa em NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.	88
Tabela 11	Varição da contagem referente à população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero Pseudomonadaceae, expressa em NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca' .	89
Tabela 12	Varição da contagem do Grupo Coliformes, expressa em NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	93
Tabela 13	Varição da contagem da população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero Pseudomonadaceae, expressa em NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	97
Tabela 14	Varição das notas sensoriais atribuídas à alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5 e 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.	106
Tabela 15	Varição das médias do pH da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.	114
Tabela 16	Varição das médias dos parâmetros químicos da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.	114
Tabela 17	Varição das médias dos parâmetros químicos da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.	115

Tabela 18	Variação do teor dos sólidos solúveis, expressa em °Brix, da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.	115
Tabela 19	Variação do teor dos sólidos solúveis, expressa em °Brix, da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.	116
Tabela 20	Variação das médias referentes a aroma característico da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.	118
Tabela 21	Variação das médias atribuídas ao aroma característico e aroma fermentado da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e estocada por 14 dias a 5 e 8°C.	119
Tabela 22	Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.	126
Tabela 23	Perfil dos 80 participantes do teste de consumidor da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ +10%CO ₂ , e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.	129
Tabela 24	Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa em NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ +10%CO ₂ , e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.	133
Tabela 25	Variação da contagem da população contaminante total e do Gênero Pseudomonadaceae, expressas em UFC/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O ₂ +10%CO ₂ , e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.	136
Tabela 26	Coeficientes de correlação de Spearman entre os parâmetros químicos e sensoriais determinados na alface americana 'Lorca' minimamente processada e submetida a atmosfera controlada e modificada ativa, no decorrer de diferentes períodos de armazenamento em 5 e 8°C.	139

RESUMO

Com o aumento da demanda por produtos frescos surge uma nova classe de produtos denominada minimamente processados, que apresentam como características o alto valor nutricional, por conservarem as propriedades do produto “in natura”; a praticidade no preparo, por serem higienizados e cortados; o aproveitamento total; e a maior vida útil. Nos últimos anos tem-se verificado um grande interesse na produção de hortaliças e frutos minimamente processados. O presente trabalho objetivou a determinação do sistema de embalagem ideal à conservação das características de qualidade da alface americana ‘Lorca’ minimamente processada, acondicionada sob atmosfera modificada ativa e submetida a 5 e a 8°C, com a especificação de sua vida útil. Para tanto, primeiramente, a alface foi armazenada em diferentes atmosferas controladas refrigeradas, visando à determinação da atmosfera mais benéfica à manutenção das características de qualidade. Os tratamentos, submetidos a 5 e a 8°C, foram avaliados por 15 e 13 dias, respectivamente, em relação aos parâmetros: químicos, pH, acidez titulável, sólidos solúveis e clorofila total; sensoriais, intensidade da cor verde, turgidez, escurecimento de nervuras, escurecimento de bordas, aspecto cozido, aparecimento de manchas e impressão global da aparência; e microbiológicos, contagem de coliformes totais e fecais, bactérias psicotróficas, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. A atmosfera escolhida, constituída por 1%O₂ + 10%CO₂, mostrou capacidade de preservar as características sensoriais referentes à aparência, turgidez e coloração e restringir os escurecimentos, o aspecto cozido, além de limitar o crescimento microbiano. Após a escolha da atmosfera, a alface foi submetida por 15 dias a mesma, ainda em atmosfera controlada, e avaliada quanto à atividade respiratória e as características sensoriais, visando a especificação de dois filmes plásticos que foram empregados no acondicionamento em atmosfera modificada ativa. A taxa respiratória média da alface, enquanto submetida à mistura gasosa 1%O₂ + 10%CO₂ a 5 e a 8°C, foi correspondente a 10,7 e 19,8mgCO₂kg⁻¹h⁻¹, respectivamente. Finalmente, a alface foi acondicionada em dois sistemas de embalagem, exposta a atmosfera modificada ativa, 1%O₂ + 10%CO₂, com estocagem a 5 e a 8°C por 14 dias, sendo avaliada segundo os mesmos parâmetros de qualidade estudados em atmosfera controlada. Na temperatura de 5°C, a alface apresentou capacidade de conservar as características de qualidade por 14 dias e apresentou, até o 12^o dia, baixas contagens para coliformes totais, bactérias psicotróficas e *Pseudomonas* spp., sendo detectada ausência de coliformes fecais e *Salmonella* spp. durante os 14 dias. A temperatura de 8°C mostrou-se mais limitante à conservação, estando a alface com a aparência totalmente comprometida no 12^o dia, sendo obtidas populações altíssimas de coliformes totais, bactérias psicotróficas e *Pseudomonas* spp. Nesta temperatura, a aparência foi diretamente relacionada ao nível de contaminação presente e a perda do valor comercial da alface ocorreu entre o 8^o e o 12^o dia.

Palavras chave: *Lactuca sativa* L.; atmosfera controlada; atmosfera modificada; avaliação sensorial; armazenamento; temperatura.

ABSTRACT

DETERMINATION OF GAS COMPOSITION AND PACKAGE SYSTEMS FOR CONSERVATION OF MINIMALLY PROCESSED 'LORCA' LETTUCE

With the increase of the demand for fresh products appears a new class of products denominated minimally processed. These products present high nutritional value, as they preserve the properties of the 'in natura'; the convenience because they are sanitized and cut; the complete use; and an extended shelf-life. In the last years a great interest has been verifying in the production of vegetables and fruits minimally processed. The present work aimed at determining an ideal packing system for the conservation of the lettuce 'Lorca' minimally processed quality characteristics, conditioned under modified atmosphere activates and stored at 5 and 8°C, with the specification of its shelf-life. For so much, firstly, the lettuce was stored at different refrigerated controlled atmospheres, seeking the determination of the most beneficial atmosphere for the maintenance of the quality characteristics. The treatments, submitted at 5 and 8°C, were evaluated at 15 and 13 days, respectively, in relation to the chemical parameters: pH, acidity titrable, soluble solids and total chlorophyll; and sensory properties, intensity of the green color, turgidity, midrib browning, leaf edge browning, cooked appearance, dark spots and global appearance impression; and microbiological, total and fecal counts coliforms, psicrotrofics, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp bacteria. The chosen atmosphere, constituted by 1%O₂ + 10%CO₂, showed capacity to preserve the referring sensory characteristics of appearance, turgidity and color and to avoid the browning, the cooked appearance, besides limiting the microbial growth. After the choice of the atmosphere, the lettuce was stored for 15 days at the referred atmosphere, and evaluated regarding the breathing activity and the sensory characteristics, seeking the specification of the two plastics films which were used in the modified active atmosphere condition. The rate breathing average of the lettuce, while submitted to the gaseous mixture 1%O₂ + 10%CO₂ at 5 and 8°C, corresponded to 10.7 and 19.8mgCO₂kg⁻¹h⁻¹, respectively. Finally, the lettuce was conditioned in two packing systems and exposed to the modified atmosphere activates, 1%O₂ + 10%CO₂, and stored at 5 and 8°C for 14 days. The products were following the same quality parameters studied in the controlled atmosphere. At the temperature of 5°C, the lettuce preserved the quality characteristics for 14 days having, until the 12^o day, low total coliforms, psicrotrofics and *Pseudomonas* spp. bacteria counting, and absence of fecal coliforms and *Salmonella* spp. during the 14 days. The temperature of 8°C was more limitante for the conservation and the lettuce had the appearance totally committed at the 12^o day. Besides, the population of total coliform and psicrotróficas bacteria were countless and it was verified a high counting of *Pseudomonas* spp. At this temperature the product appearance was directly related to the level of the contamination, contributing to a decreasing of the lettuce commercial value from the 8^o to the 12^o day of storage.

Key-words: Lactuca sativa L.; controlled atmosphere; modified atmosphere; sensory evaluation; storage and temperature.

1. INTRODUÇÃO

Mudanças na demanda do consumo de alimentos vêm ocorrendo nos últimos anos, com o aumento gradativo do consumo de produtos frescos. No Brasil, de 1990 a 1999, a Associação Brasileira de Supermercados (ABRAS) registrou acréscimo de 20% no consumo de hortaliças (RABELLO, 1999). Tal tendência é atribuída a alterações no estilo de vida, gostos ou preferências, como também, a fatores demográficos, visto que, em decorrência do controle de natalidade e da cura de doenças tem-se o envelhecimento da população mundial e, conseqüentemente, a maior expectativa de vida da população. Como reflexo destas mudanças na demanda de consumo de alimentos surge uma nova classe de produtos, os chamados minimamente processados, que se referem a produtos frescos com alto valor nutricional, sem adição de conservantes. Os minimamente processados são lavados, cortados, higienizados e acondicionados em embalagens plásticas seladas com atmosferas específicas ao item acondicionado, e conservados com utilização de refrigeração. Comparados aos produtos enlatados e congelados, os quais perdem aproximadamente 20% de seu valor nutricional, em decorrência das operações de processamento, os produtos minimamente processados vem obtendo uma grande participação no mercado de produtos frescos, pois mantém as características sensoriais e nutricionais naturais (WILEY, 1996).

O setor dos minimamente processados encontra-se em plena ascensão, representando uma tendência irreversível, pois significam conveniência ao consumidor devido à praticidade e rapidez de preparo, e se destinam a restaurantes, redes de “fast-food”, alimentação institucional, super e hipermercados, assim como, ao consumo doméstico. A agregação de custos para tais produtos é significativa, visto que, uma embalagem com 200g da alface americana é comercializada no Brasil por, aproximadamente, R\$4,30, enquanto uma cabeça de alface da mesma variedade, pesando de 400 a 800g, é vendida por mais de R\$1,00. A agregação de custo pode ser compensada pela extensão da vida útil do produto, pois folhas minimamente processadas e acondicionadas adequadamente mantêm-se frescas, sem alteração da qualidade nutricional, por até seis dias sob temperaturas variando de 8 a 10°C, ao passo que uma cabeça de alface já está murcha no terceiro dia após a colheita, mesmo se conservada em geladeira.

No mercado americano 70% dos itens comercializados na forma de minimamente processados compreendem os produtos: alface, batata, brócolis, cebola, cenoura, couve-

flor e repolho, apresentando vida útil em torno de 10 a 14 dias e rendimento de processo correspondente a 65%. No Brasil o índice de rendimento é menor, variando de 35 a 40%, sendo esta diferença atribuída à qualidade inferior da matéria-prima, com destaque às hortaliças, cuja produtividade é dependente das condições edafoclimáticas em virtude da baixa aplicação de tecnologia em nível de campo. A má qualidade da matéria-prima encarece o produto sobremaneira e o preço representa um obstáculo a ser vencido para a expansão do setor.

Economistas americanos estimam que 8 a 10% do mercado mundial de frutos e hortaliças frescos refere-se a produtos minimamente processados, e antecipam que dentro de 10 anos, mais de 25% do total de produtos hortícolas serão comercializados desta forma (REYES, 1996). Em 1994 os produtos minimamente processados constituíam o segmento de maior crescimento da horticultura norte-americana, respondendo por 8,9% do total dos produtos hortícolas comercializados, originando US\$ 5,2bi., sendo a geração de US\$ 17,7bi., prevista para 1999, já alcançada em 1996 (DURIGAN, 1996). No mercado brasileiro, a venda de hortaliças minimamente processadas alcançou US\$ 50mi. no ano de 1999, com perspectivas de acréscimo a US\$150mi. em quatro anos (RABELLO, 1999). Entre as hortaliças, a alface no Brasil apresenta-se com grande importância econômica e nutricional, por compreender a folhosa de maior produção e consumo e por encontrar-se presente regularmente na dieta da população. Atualmente, muitos agricultores brasileiros vem recorrendo a este promissor mercado paralelo. Segundo Mário Tanaka, horticultor e fabricante da marca 'Da Roça', através do processamento há a agregação de custo ao produto e a obtenção de cotações estáveis de preço ao longo do ano. No período de 1998 a 1999, apenas na rede de hipermercados Carrefour, a demanda por hortaliças minimamente processadas apresentou acréscimo de 50%. A empresa 'Da Roça' acondiciona e distribui, para estabelecimentos nas cidades de São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, de 6 a 8 mil pacotes por dia de alface, agrião, rúcula e espinafre, além do mix de verduras e couve picada. O horticultor relata que os minimamente processados, adotados a três anos e meio pela empresa, garantem 50% do faturamento total.

A conservação dos minimamente processados torna-se bastante crítica em virtude das injúrias mecânicas, ou seja, dos danos físicos causados ao tecido vegetal pela operação de corte, os quais aceleram o processo de deterioração dos mesmos. O aumento da vida de prateleira destes produtos depende, basicamente, da qualidade da matéria-prima, do desenvolvimento de tecnologias de processamento mínimo e de conservação, que propiciem, na ocasião do acondicionamento, uma composição gasosa ideal ao redor do produto, alcançada com a utilização de um sistema de embalagem

adequado, além do rigoroso controle da temperatura, incluindo-se a manutenção da 'cadeia do frio', e do correto manejo fitossanitário ao longo do sistema produtivo, em nível de campo e agroindústria.

A ampliação desta classe de produtos encontra-se restrita devido à escassez de informações e pesquisas em relação ao comportamento fisiológico e à conservação pós-colheita, assim como, a adequação dos sistemas de embalagens, específicos a cada tipo de produto. A crescente demanda por produtos minimamente processados e as poucas pesquisas, em âmbito nacional, que abordem o comportamento fisiológico e o prolongamento da vida útil de alfaces minimamente processadas, estimulou a presente proposta de trabalho.

2. OBJETIVO

O presente trabalho objetivou, primeiramente, a determinação da composição gasosa ideal à conservação da alface americana 'Lorca' minimamente processada. Para tanto, foram aplicadas à alface diferentes misturas de gases em atmosfera controlada refrigerada. Após a identificação da composição gasosa favorável a conservação, este estudo visou à especificação do sistema de embalagem propício a manutenção da atmosfera escolhida, sendo a alface acondicionada em atmosfera modificada ativa refrigerada e, finalmente, o estabelecimento do término de sua vida útil enquanto submetida ao armazenamento a 5 e a 8°C.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MATÉRIA-PRIMA

A alface, *Lactuca sativa* L., é uma planta da família *Cichoreacea*, originária da Ásia e trazida ao Brasil pelos portugueses no início do século XVI (MEIRELLES, 1998). De acordo com a variedade, a alface pode ser classificada nos grupos crespa, lisa, mimosa, romana e americana. A variedade americana, que compreende a cv. Iceberg, produzida há anos nos Estados Unidos, apresenta em 100g de parte comestível a seguinte composição nutricional: 95,5g de água, 13cal, 0,9g de proteína, 0,1g de gordura, 2,9g de carboidrato total, 0,5g de fibras, 0,6g de cinzas, 20mg de cálcio, 22mg de fósforo, 0,5mg de ferro, 9mg de sódio, 175mg de potássio e 330UI de pró- vitamina A (SEELIG, 1970). Na medicina popular, a alface é recomendada por manifestar propriedade calmante. Devido às suas características intrínsecas, a variedade americana constitui a mais indicada ao processamento mínimo e suas cultivares diferem quanto aos fatores: tamanho do ciclo, época de colheita, peso, compactação e coloração da cabeça, espessura de folhas, resistência a doenças, comportamento fisiológico, sensibilidade à utilização de baixas temperaturas, assim como, susceptibilidade ao processamento mínimo (CAMARGO FILHO, 1984). VAROQUAUX et al. (1996), relataram que diferentes condições edafoclimáticas, incluindo-se irrigação, clima e adubação, encontram-se diretamente relacionadas ao comportamento fisiológico e à sensibilidade das cultivares americanas às injúrias decorrentes das altas concentrações de CO₂, visto que, alfaces cultivadas no inverno, após processamento e embalagem, exibiram maior taxa respiratória que as cultivadas no outono. Os mesmos autores, ressaltaram que as características intrínsecas influenciaram a susceptibilidade das cultivares ao processamento mínimo, sendo que, as cultivares dotadas com baixo conteúdo de açúcares e, conseqüentemente, com menor "ratio", apresentaram maior susceptibilidade às altas concentrações de CO₂, exibindo rápida depreciação da aparência. Por conseguinte, estes fatores intrínsecos influenciaram e determinaram a qualidade e a vida útil do produto processado, sendo assim, cultivares com maior atividade respiratória e menor conteúdo de açúcares, não deveriam ser processadas.

De acordo com KONDO (1998) e FERREIRA (1998), a 'Raider', em nível de Brasil, é a cultivar americana mais utilizada e indicada ao processamento mínimo, sendo cultivada durante o ano todo, apresenta ciclo de 65 dias, cabeça compacta de coloração verde-claro, com tamanho variando de médio a grande, coração pequeno, folhas espessas (mais duras) e maior resistência às doenças.

Segundo SIGRIST (1998), a qualidade dos produtos hortícolas é originada no de campo e dependendo desta qualidade, tem-se a determinação da vida útil do produto, sendo assim, o cuidado no setor produtivo torna-se imprescindível. Portanto, a aplicação de boas práticas agrícolas (BPA) é fundamental a obtenção de um produto minimamente processado seguro e de qualidade, considerando-se as operações: análises periódicas da água de irrigação, por influenciar o grau de contaminação inicial da matéria-prima; compostagem ou fermentação dos adubos orgânicos, pois determinam a microbiota da matéria-prima; cultivo sobre plásticos, limitando a contaminação; respeito ao 'ponto de colheita' e o descarte das folhas mais externas (mais contaminadas) em nível de campo; sanitização freqüente das caixas de colheita, limitando a fonte de inóculo; transporte rápido e lonado, tomando-se o cuidado de não abafar a matéria-prima.

De acordo com CASTRO (1982), a qualidade do produto e, por conseguinte, seu valor comercial, dependem de uma série de características físico-químicas, a começar pela sua maturação no momento da colheita. O ponto de colheita indicado para a alface, sendo um produto não climatérico, corresponde ao máximo desenvolvimento da cabeça, estando as folhas ainda tenras e não havendo nenhum indício de florescimento. A colheita deve realizar-se nas primeiras horas do dia ou no início da noite, visando-se a redução do calor que o produto traz do campo e, conseqüentemente, limitando-se a elevação de sua taxa respiratória, o que acarreta em um metabolismo acelerado. No caso de ser colhida em estágio de maturação avançado, a alface perde seu valor comercial devido ao aumento do teor de látex, provocando o endurecimento das folhas e um acentuado gosto amargo. Por ocasião da colheita, a planta é cortada na altura do coleto por instrumento afiado, geralmente faca, sendo a maior parte das folhas velhas (externas) já eliminadas, deixando-se algumas para a proteção da cabeça durante o transporte (FILGUEIRA, 1982). Subseqüentemente à colheita, pode-se realizar a operação de pré-resfriamento, que consiste na rápida remoção do calor que o produto traz do campo, tendo por finalidade a redução da velocidade dos processos metabólicos, como a respiração e auto-deterioração, através da diminuição da temperatura do mesmo (LEAL & CORTEZ, 1998). Segundo ZAGORY et al. (1993), o pré-resfriamento do produto fresco imediatamente após a colheita, propiciará a desaceleração da atividade enzimática, seja esta, proveniente da atividade microbiana ou fisiológica da matéria-prima.

3.2 OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO MÍNIMO

Em uma linha de processamento aplicam-se as operações: seleção e toalete, pré-lavagem/pré-resfriamento, corte, sanitização, centrifugação, acondicionamento em

embalagens e estocagem refrigerada. Antes de serem encaminhadas ao processamento mínimo, as hortaliças folhosas devem ser selecionadas quanto à presença de defeitos provenientes do ataque de pragas ou microrganismos, como também, em relação àqueles defeitos de formação, como cabeças e folhas deformadas, descoloridas e queimadas. Em seguida, procede-se à operação de toaleta, que consiste na retirada das folhas mais externas e, em alguns casos, do coração e das folhas mais internas, precedendo a operação de pré-lavagem/pré-resfriamento. Após o toaleta, a alface a ser processada representa 50 a 70% do produto íntegro, estabelecendo um rendimento de processo em torno de 40 a 50% (YILDIZ, 1996). KONDO (1998) e PSILLAKIS(1999), relataram para cabeças de alface americana minimamente processadas, aproveitamento em torno de 30 a 40%, enquanto TANAKA (1999) mencionou rendimento de processo equivalente a 50%.

A operação de pré-lavagem/pré-resfriamento, que emprega água resfriada de 5 a 12°C com adição de tensoativo, é destinada à eliminação de impurezas (partículas de solo, insetos e resíduos de defensivos), além da retirada do calor de campo do produto. O pré-resfriamento pode ser realizado em câmara fria, no caso do processamento não ocorrer imediatamente após o recebimento da matéria-prima, e tem por finalidade a redução da taxa respiratória e da atividade enzimática e, por conseguinte, a desaceleração da senescência do produto. A utilização de tensoativo, geralmente sabão líquido próprio para vegetais em concentração de 1%, tem como objetivo a remoção de impurezas aderidas a matéria-prima ou presentes na água, além da redução da tensão superficial da água afim de propiciar o melhor contato do sanitizante com a superfície do vegetal, melhorando a eficiência da operação de sanitização, pois o sanitizante age por contato direto (clorados).

A operação de corte deve ser realizada com material cortante bem afiado, visando provocar danos mínimos ao tecido vegetal, pois quanto maior o nível de dano dos tecidos e o grau de processamento do produto, mais acelerado será o metabolismo do mesmo, intensificando as respostas ao processamento e refletindo em menor vida útil. De acordo com BRECHT (1995), o nível de dano influenciará drasticamente a vida útil do produto. BOLIN & HUXSOLL (1991), relataram que a utilização de facas afiadas, na ocasião do processamento mínimo de alfaces, prolongou a vida útil do produto, se comparado àquele cortado com facas menos afiadas ou sem corte. O tipo de corte empregado varia de acordo com o mercado de destino, institucional ou varejista, e deve ser realizado transversalmente à nervura central das folhas. A etapa de corte responde pelo acréscimo do grau de contaminação microbiana do produto e, sendo assim, se o equipamento de

corte que não for devidamente sanitizado pode representar uma potencial fonte de contaminação. Destaca-se a importância da sanitização de toda a linha de processamento no final do expediente de trabalho, ou mesmo após o processamento de uma matéria-prima suspeita de contaminação excessiva.

A operação de sanitização, que compreende a imersão do produto processado em água resfriada por 1 a 3min com adição de sanitizante, é destinada a redução da população microbiana contaminante, a fim de minimizar os riscos à saúde do consumidor, garantir a segurança do produto e estender a vida útil do mesmo. Em linhas de processamento nacionais, a sanitização normalmente é realizada com sanitizante à base de cloro, geralmente o hipoclorito de sódio, com concentração na faixa de 100 a 200ppm de Cl livre, e abrange dois banhos subseqüentes sob agitação, estando a solução com temperatura variando de 5 a 12°C, ou ainda, em torno de 2°C acima da temperatura de armazenamento (YILDIZ, 1996; THOMPSON, 1995). A imersão do produto em solução resfriada visa a redução da atividade respiratória, que é acrescida após o corte, e a desaceleração do processo natural de deterioração, antes do material processado ser submetido ao acondicionamento e a estocagem refrigerada. SASAKI (2000) utiliza 150µL/L de Cl livre para sanitizar fatias de alface americana por 2min30s, aproximadamente, estando a temperatura da solução em torno de 5 a 12°C, enquanto PSILLAKIS (1999) sanitiza folhas de alface americana por 3min em 100µL/L de Cl livre, estando a solução com temperatura de 2°C. A sanitização, compreende uma das operações mais importantes no processamento mínimo, sendo determinante à preservação da qualidade e da sanidade do produto durante a comercialização. Portanto, enfoque especial será dado a mesma.

O produto processado e sanitizado deve ser submetido à operação de centrifugação para a eliminação da umidade superficial, adsorvida durante a operação de sanitização, e a exclusão dos exsudados celulares liberados na operação de corte, em virtude do extravasamento do conteúdo celular. Os exsudados celulares devem ser eliminados por representarem um meio propício ao desenvolvimento microbiano. A remoção da água adsorvida à superfície do produto minimamente processado tem como objetivo diminuir a atividade enzimática, minimizar o crescimento microbiano e melhorar a apresentação do mesmo. A velocidade e o tempo de centrifugação normalmente são estabelecidos em torno de 590 a 750rpm por 60 a 100s. BOLIN & HUXSOLL (1991), na ocasião da centrifugação da alface americana 'Iceberg' picada, utilizaram a velocidade de 500rpm por 10min e observaram que a maior parte da umidade superficial foi removida nos primeiros 5min. PETRAN et al. (1995), utilizou 700rpm por 75s para a centrifugação

de tiras de alface americana, cv. Romaine, enquanto SASAKI (2000), centrifugou alface americana picada, cv. Lucy Brown e Lorca, a 750rpm por 90s. TANAKA (1999), relatou a utilização de 590rpm por 180s, para a centrifugação de folhas inteiras de alface americana, cv. Raider, e PSILLAKIS (1999), centrifugou folhas de alface americana a 800rpm por 120s. Os fatores determinantes da velocidade e do tempo de centrifugação referem-se à força centrífuga relativa (G), ao diâmetro do cesto da centrífuga e a massa e o tipo produto a ser processado. No caso de produtos com maior nível de processamento, o tempo de centrifugação deve ser reduzido a fim de minimizar o dano ao tecido vegetal.

Em algumas linhas de processamento é realizada a seleção do produto antes da operação do acondicionamento, porém, muito cuidado deve ser dispensado a esta operação complementar pois pode provocar a recontaminação do produto. O acondicionamento do produto minimamente processado normalmente é realizado em atmosfera modificada ativa e, esta técnica de conservação apresenta como princípio básico a redução da concentração de O₂, buscando-se a desaceleração da atividade respiratória e com esta a redução do metabolismo, como também, o acréscimo da concentração de CO₂, visando a limitação do escurecimento enzimático, devido ao efeito inibitório do gás sobre a polifenol oxidase (PFO), a redução da síntese e da atividade do etileno e o controle do crescimento microbiano. A cada produto corresponderá uma determinada atmosfera de acondicionamento específica e adequada ao mesmo, sendo dependente da temperatura e da estimativa de vida útil. A estocagem do produto acondicionado é realizada em câmaras frias com temperatura em torno de 3 a 5°C, e ocorre até a distribuição do mesmo aos estabelecimentos comerciais, onde é colocado nas gôndolas de venda com temperatura variando de 8 a 12°C, apresentando uma vida útil de quatro a sete dias, aproximadamente, o que varia de acordo com o tipo de produto.

A utilização de boas práticas de fabricação tornam-se fundamentais para a obtenção de um produto seguro ao consumidor e englobam os fatores: utilização de água de boa qualidade para a sanitização; equipamentos de aço inoxidável, que não reajam com os sanitizantes e permitam a fácil higienização; a sanitização de toda a linha de processamento no término do expediente de trabalho; a utilização de vestimentas adequadas por parte dos operadores, como toucas, luvas, máscaras, aventais e botas, além do treinamento e a conscientização dos mesmos em relação a importância de certos cuidados como a freqüente higienização das luvas de manipulação durante o expediente de trabalho; ambiente de processamento climatizado, com temperatura em torno de 12 a 16°C. KONDO (1998), relatou que nos estabelecimentos do McDonald's a temperatura na linha de processamento mínimo para alface é de 4 a 5°C. Segundo TANAKA (1999),

PSILLAKIS (1999) e SASAKI (2000) , a temperatura nas linhas de processamento nacionais varia de 14 a 17°C.

3.2.1 SANITIZAÇÃO

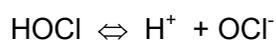
A operação de sanitização é determinante a manutenção da qualidade e da sanidade do produto durante a fase de comercialização. De acordo com RABELLO (1999), para os produtos minimamente processados a higiene não representa qualidade mas pré-requisito fundamental para o sucesso do negócio. A qualidade e a sanidade dos produtos frescos dependem da microbiota presente, considerando-se o tipo e a contagem da mesma. A produção, compreendendo as etapas de campo e de processamento, e a comercialização, influencia a contaminação microbiológica e o frescor do produto minimamente processado, sendo assim, a falta de sanidade da matéria-prima e dos equipamentos de processamento comprometem a qualidade e a segurança do mesmo (BRACKETT, 1992). A operação de corte pode responder pelo acréscimo do nível de contaminação microbiana do produto e, para minimizá-la, recorre-se ao uso de sanitizantes. Além de reduzir a população microbiana presente, destruindo as membranas dos contaminantes através da desinfecção superficial do produto, a sanitização tem como objetivo impedir ou minimizar a transferência de microrganismos presentes na água para o produto, assim como, quando presente no produto, prevenir a transferência destes à superfícies não contaminadas (SUSLOW, 1997). A operação de sanitização, quando adequada, representa a eliminação de aproximadamente 90% da flora microbiana presente. Em linhas de processamento nacionais, a operação de sanitização geralmente é realizada com sanitizantes químicos à base de cloro, dissolvidos em água.

3.2.1.1 SANITIZAÇÃO CLORADA

O cloro representa um potente sanitizante dotado com poderosa propriedade oxidante e sua utilização na forma líquida, como hipoclorito de sódio (NaOCl), tem sido usual em indústrias de processamento mínimo. O cloro (total) empregado na operação de sanitização, refere-se à somatória do cloro combinado (reativo) com o cloro livre (ativo). Logo que é adicionado, parte do cloro é consumido imediatamente pelas reações com as impurezas presentes na água (solo, matéria orgânica e compostos nitrogenados). O consumo imediato do cloro, o chamado cloro reativo ou combinado, satisfaz à demanda de cloro da água e, devido a este fato, matérias-primas com muitas impurezas (sujas), devem sofrer uma pré-lavagem a fim de prolongar a eficácia da solução clorada. O chamado “breakpoint” refere-se ao ponto no qual o cloro adicionado excede a demanda

de cloro da água (combinado), e a partir deste ponto, tem-se o chamado cloro livre ou ativo, responsável pela desinfecção superficial do produto. O Cl adicionado à água demasiadamente contaminada apresentará menor eficiência devido a sua reação com o material orgânico presente, restando menos Cl livre para matar microrganismos (ZAGORY et al., 1993). Portanto, a necessidade da seleção e da toailete do material a ser processado inicia-se na operação de sanitização, pois a desinfecção de tecidos em deterioração pode não ocorrer antes da contaminação total do sistema operante, incluindo-se a contaminação dos tecidos sadios, devido à incapacidade do Cl em penetrar prontamente nas porções de tecidos deterioradas. Assim, tecidos em deterioração, com acúmulo de microrganismos, não devem ser desinfetados e sim refugados, evitando-se o contato com o material sadio. A operação de pré-lavagem, com adição de tensoativo, encontra-se diretamente relacionada a eficiência da sanitização pois responde pela remoção das impurezas aderidas a matéria-prima, visto que, os sanitizantes clorados agem por contato direto.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) constitui o sanitizante químico de maior utilização, devido à sua rápida ação, fácil aplicação e completa dissociação em água, não deixando resíduos tóxicos na superfície do alimento, e por ser translúcido. Em concentrações de 100 a 200ppm, o hipoclorito de sódio pode responder pela redução de 1 a 2 ciclos logarítmicos da população deteriorante presente. O Cl na forma de hipoclorito, é aplicado na limpeza e sanitização de produtos frescos e equipamentos, e na sanitização da própria planta de processamento (Nikolaeva et al, citados por PARK et al., 1991). As desvantagens decorrentes da aplicação de hipocloritos, compreendem a elevação do pH da solução e a ausência de atividade antimicrobiana residual, além do que, em altas concentrações, provocam irritabilidade na pele e nos olhos, e mancham tanques de aço e outros metais. Além da ação do Cl na sanitização ser lenta e formar subprodutos como os trihalometanos, sobre os quais há suspeitas de serem cancerígenos. O hipoclorito de sódio é eficaz em matar bactérias, fungos, vírus e nematóides e, em água, origina hidróxido de sódio (NaOH) e ácido hipocloroso (HOCl). O agente germicida refere-se ao ácido hipocloroso, que se dissocia em H⁺ e no íon OCl⁻.



Tanto o ácido hipocloroso quanto o íon apresentam atividade germicida e são considerados como Cl livre (ativo), entretanto, a atividade germicida do ácido é

consideravelmente maior que a do íon, sendo de 20 a 300 vezes mais tóxico e letal aos microrganismos por reagir e destruir a parede celular dos mesmos. A eficiência da atividade germicida é dependente dos fatores: concentração utilizada, temperatura e pH da solução, tempo de exposição do produto ao sanitizante, qualidade da água e tipo de microrganismos presentes. A relação entre o ácido hipocloroso e o íon é controlada, principalmente, pelo pH da solução. Em soluções com pH 7,5 a relação é de 1:1, enquanto em pH 6 e 9 a relação é de 97:3 e de 3:97, respectivamente. Com a remoção do ácido hipocloroso da solução sanitizante, o íon é convertido a ácido em segundos, visando o restabelecimento do equilíbrio químico ditado pelo pH da solução (SUSLOW, 1997). Em pHs inferiores a 4 e 5, há a máxima atividade germicida pois tem-se a máxima concentração do ácido hipocloroso, em contrapartida, a solução é menos estável, ocorrendo a corrosão dos equipamentos e a liberação do gás de cloro da solução para o ambiente, irritando a pele e os olhos dos operadores. A faixa de pH mais apropriada a atividade e estabilidade da solução sanitizante compreende os valores 6,0 a 7,0, com concentrações de ácido hipocloroso variando de 98 a 83%, respectivamente, sob 0°C (ZAGORY et al., 1993). Todavia, a utilização de hipoclorito, de sódio ou cálcio, promove o acréscimo do pH da solução à valores superiores a 7,5, o que constitui a principal desvantagem da aplicação destas substâncias, visto que, quanto maior o pH da solução, menor será a atividade germicida da mesma. A elevação do pH é oriunda da acumulação dos íons hidróxidos, pois enquanto os íons de hipoclorito (OCl^-) combinam-se com os hidrogênios (H^+) para formar o ácido hipocloroso, as hidroxilas são deixadas de lado e seu excesso acarreta o aumento do pH da solução. Neste caso, compostos ácidos devem ser adicionados à água, visando neutralizar a alcalinidade e manter o apropriado pH da solução, para tanto, pode-se recorrer ao uso dos ácidos muriático, cítrico e clorídrico (SUSLOW, 1997).

A temperatura também exerce grande influência na atividade germicida e, de acordo com SUSLOW (1997), soluções cloradas resfriadas e com inadequado valor de pH, apresentam redução significativa da eficiência da sanitização. ZAGORY et al. (1993), mencionam que a máxima solubilidade do Cl livre é atingida em água com temperatura de 3°C.

A demanda de Cl total requerida por um sistema de sanitização, considerando-se o Cl combinado e livre, e o tempo de exposição do produto à solução sanitizante, devem ser determinados através de testes que contemplem a qualidade da matéria-prima empregada, o pH e a temperatura da solução e a população patogênica alvo, pois os microrganismos diferem quanto à sensibilidade ao Cl, sendo as bactérias mais sensíveis

do que os esporos de fungos (BARTZ & ECKERT, 1987). De acordo com SUSLOW (1997), em soluções com concentração de Cl livre em torno de 50 a 75µL/L, mantida em pH 6,5, o tempo de contato (produto/sanitizante) em torno de 3 a 5min, normalmente é adequada ao controle de grande parte dos patógenos pós-colheita suspensos na água. Na prática, a concentração de Cl total pode exceder 300µL/L, visando a manutenção da atividade do Cl livre no processo de sanitização. Em geral, em linhas de processamento nacionais o tempo de imersão do produto processado em água clorada com temperatura de 3a 6°C e contendo 100 a 200µL/L de Cl livre, varia de 1 a 3min. KONDO¹ relata a utilização do produto Veromax 80, com concentração de 100µL/L de dióxido de cloro, para a sanitização de tiras de alface em solução a 2°C por 2min, aproximadamente. PSILLAKIS³ sanitiza folhas de alface, por 3min, em solução a 2°C com 100µL/L de Cl livre, enquanto SASAKI⁵ utiliza 150µL/L de Cl livre a 5°C, por 2min30s, aproximadamente, para sanitizar alface cortada em formato quadrangular de 30x30mm, aproximadamente. Segundo FANTUZZI et al. (1999), a sanitização de tiras de repolho, com 200mg/L de hipoclorito de sódio comercial da marca Sumaveg (0,66%), resultou na redução de até 1,8 ciclos logarítmicos na população de aeróbios mesófilos, com contagem inicial de 10⁴ UFC/g, aproximadamente, e relataram que não houve variação na contagem de aeróbios mesófilos e psicotróficos no decorrer de 20 dias de estocagem a 1 e 5 °C.

A concentração do Cl livre e o pH da solução devem ser monitorados freqüentemente pois em um sistema de sanitização, o teor de Cl livre decresce continuamente devido às reações do Cl com o material orgânico da água, sendo assim, produtos clorados devem ser adicionados para a manutenção do pH e da concentração de Cl livre requeridos. Tal adição é realizada através do monitoramento da concentração de Cl livre no sistema de sanitização, podendo ser manual ou automática. Os sistemas manuais de monitoramento, que abrangem kits colorimétricos, são preteridos pois constantemente adicionam-se produtos clorados em concentração sub ou super estimadas, fora o risco do monitoramento não ser freqüente o suficiente para detectar qualquer variação indesejável neste teor de Cl. A adição desnecessária de Cl não é recomendada pois além de onerar a operação, há o maior risco de corrosão dos equipamentos e do acréscimo na liberação de voláteis, o caso da tricloramina, gás corrosivo e altamente instável, facilmente formado e liberado quando a concentração de Cl livre é muito superior à dos íons de amônia. Em solução de menor pH, a concentração do ácido é maior e pode ocorrer liberação de gás de Cl. O sistema de cloração automática, que inclui o contínuo monitoramento do pH e da concentração de Cl, com

intervalos de 2min entre medições, são preferidos devido à alta sensibilidade e à rápida resposta às mudanças da concentração de Cl livre e pH da solução, sendo o sanitizante adicionado automaticamente de acordo com frequentes leituras em milivolts, baseado no princípio ORP. O teste ORP, “oxidation reduction potencial” (potencial redox) é realizado através de sonda que mede a atividade do Cl em milivolts (mv) (ZAGORY et al. 1993).

De acordo com BRECHT et al. (1993) os compostos clorados, além da função sanitizante, vêm sendo empregados como agentes branqueadores, e relatam a redução do escurecimento enzimático de pedaços de tecido de batata e de maçã submetidos à imersão em hipoclorito, de sódio e cálcio, com concentração de 17,5µL/L e pH ajustado a 11, sendo o hipoclorito de cálcio mais efetivo. Os mesmos autores compararam o efeito dos hipocloritos com tratamentos empregando branqueadores usuais, como metabissulfito ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) e o ácido ascórbico, relatando que os branqueadores apresentaram efeito semelhante aos hipocloritos.

3.2.1.2 SANITIZAÇÃO OZONIZADA

O ozônio, a forma triatômica do O_2 , representa um possível substituto dos tradicionais sanitizantes clorados, pois sua propriedade oxidante é 1,5 vezes maior que a dos hipocloritos, promovendo a redução de até 3 ciclos logarítmicos da população deteriorante contaminante, além da sua capacidade de eliminar alguns patógenos como a *Escherichia coli* e a *Listeria monocytogenes*. Com aplicação recomendada em concentrações variando de 0,5 a 5ppm, o ozônio não origina subprodutos e é capaz de inativar o etileno, desacelerando a senescência do produto. Em decorrência de sua rápida decomposição em oxigênio molecular, o ozônio apresenta a habilidade de eliminar resíduos de pesticidas e os subprodutos químicos oriundos da sanitização clorada, em virtude da alta reatividade do oxigênio com substâncias oxidáveis. Devido a esta capacidade, em linhas de processamento que empregam a sanitização clorada e ozonizada, a aplicação da água ozonizada, seja por aspersão ou imersão, é subsequente a sanitização clorada (XU, 1999). A atividade germicida, além de mais rápida e eficiente que a dos sanitizantes à base de cloro, não é afetada por valores de pH na faixa de 6 a 8 e apresenta menor sensibilidade às baixas temperaturas da água. Em contrapartida, este sanitizante é altamente reativo em água, após 20min apresenta metade de sua atividade germicida, e concentrações superiores a 5ppm provocam corrosão nos equipamentos e podem causar irritação aos olhos e ao aparelho respiratório dos operadores, no caso da exposição prolongada, porém, é facilmente detectável pelo olfato humano devido ao odor desagradável liberado pelo mesmo (SUSLOW, 1997). A concentração residual ambiente,

próxima as lavadoras que empregam água ozonizada, deve ser de 0,1 a 0,3ppm. As sondas que medem o ORP, "oxidation reduction potencial" (potencial redox) nas soluções cloradas, podem ser usadas para monitor à concentração deste sanitizante (XU, 1999).

KIM et al. (1999) utilizou o ozônio para sanitizar tiras de alface, injeção de 1,3mM com fluxo de 0,5L/min durante 3min, e obteve redução de dois ciclos logarítmicos da população de contaminantes total.

3.3 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DECORRENTES DO PROCESSAMENTO MÍNIMO

O processamento mínimo, que acarreta uma série de danos físicos, traz como conseqüências o acréscimo da atividade respiratória e, por conseguinte, a aceleração do metabolismo, o precoce escurecimento enzimático, a maior perda de umidade, além do acréscimo da produção de etileno, como resposta à condição de estresse proveniente do corte do tecido vegetal. KING & BOLIN (1989), relataram como principais problemas à extensão da vida útil de produtos minimamente processados, a aceleração do metabolismo, provocando alterações das características sensoriais e conduzindo à rápida senescência, além da proliferação microbiana. O controle das mudanças fisiológicas e do crescimento microbiano é crítico para esta classe de produtos. Portanto, os produtos minimamente processados apresentam vida útil consideravelmente reduzida, se comparados à produtos comercializados intactos. Normalmente, enzimas e substratos encontram-se em diferentes compartimentos celulares, sendo a união enzima-substrato minuciosamente controlada, porém, com o preparo do produto originam-se rupturas celulares que permitem a união enzima-substrato, promovendo a rápida depreciação da qualidade e a precoce deterioração, além de favorecerem a contaminação microbiana (VAROQUAUX & WILEY, 1996).

3.3.1 TAXA RESPIRATÓRIA

Todos os organismos vivos requerem um ininterrupto fornecimento de energia capaz de possibilitar a continuidade das suas reações metabólicas vitais, a manutenção da organização celular, o transporte de metabólitos e a manutenção da permeabilidade das membranas. A maior parte desta energia é proveniente da oxidação de substâncias orgânicas através da respiração aeróbia do produto, dentre as quais a glicose constitui a principal (WILLS et al., 1989). Uma vez colhido, o produto supre sua demanda energética pela utilização de substâncias químicas pré-sintetizadas na fase de crescimento e armazenadas nos tecidos como carboidratos, lipídeos e proteínas. O processo respiratório responde pela transformação destes compostos, na presença de oxigênio, em energia

química (ATPs). A energia química liberada é então utilizada para produzir enzimas e outras substâncias de estrutura molecular elaborada, como parte essencial da manutenção das funções vitais. Com a chegada da senescência, processo natural de envelhecimento do produto, e com o esgotamento das reservas energéticas acumuladas durante a fase de crescimento, há predominância de reações degradativas que conduzem à deterioração e morte das células, nesta fase, a respiração continua a fornecer energia química, porém, em menor quantidade. Pelo exposto, o processo respiratório refere-se a um processo fundamental para as fases de crescimento, maturação (amadurecimento) e senescência do produto hortícola, sendo a velocidade respiratória determinante a duração de cada uma destas (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Portanto, a respiração refere-se a um processo fundamental a todos os tecidos vivos. De modo geral, produtos processados minimamente apresentam uma taxa respiratória superior à dos produtos intactos, sendo este acréscimo variável de 25 a 50%, considerando-se a mesma espécie e temperatura (CANTWELL, 1995). O acréscimo da respiração em tecidos minimamente processados refere-se a uma resposta fisiológica ao corte, uma reação as injúrias mecânicas decorrentes do processamento, sendo que, a espécie, a cultivar, o estágio de maturação no momento da colheita e processamento, a temperatura de processamento e o nível de danos impostos aos tecidos, podem alterar a resposta fisiológica ao corte (WATADA et al., 1996).

A conservação de produtos minimamente processados constitui um processo particularmente complexo, pois tem-se células vegetais danificadas, mortas ou intactas. As células danificadas apresentam uma velocidade respiratória consideravelmente maior que as intactas, que encontram-se respirando normalmente e são muito mais resistentes à reações oxidativas, como também, a contaminação por microrganismos, visto que, os tecidos lesionados representam 'portas de entrada' a patógenos (WILEY, 1996). Segundo CANTWELL (1995), considerando-se alfaces minimamente processadas em tiras, quanto maior o nível de ferimentos impostos ao tecido vegetal maior será a taxa respiratória, por conseguinte, a largura das tiras encontra-se correlacionada com o nível de injúrias, por isso, tiras menores expressam maior atividade respiratória. De acordo com CANTWELL (2000), a taxa respiratória determinada em pedaços de tecidos de alface da variedade Iceberg e Romana, com dimensões de 2-3X2-3cm, representa acréscimo variando de 20 a 40%, em comparação com a taxa discriminada para as mesmas variedades intactas ("in natura"). Em contrapartida, segundo CANTWELL (1995), alface processada minimamente em tiras apresenta um acréscimo da taxa respiratória correspondente ao dobro ou triplo daquela exibida por uma cabeça de alface intacta. Entretanto, esta taxa

pode ser controlada pelo rápido resfriamento do produto, assim como, pela estocagem deste em temperaturas variando de 0 a 5°C, faixa ideal à conservação da qualidade da alface.

A taxa respiratória é regulada por enzimas cuja atividade é fortemente influenciada, ou mesmo determinada, pela temperatura à qual o produto encontra-se exposto. CHITARRA & CHITARRA (1990), determinaram a taxa respiratória de cabeças e folhas de alface submetidas às temperaturas de 0, 4 a 5, 10 e 15 a 16°C e obtiveram, para a respiração das cabeças, valores variando de 6 a 17, 13 a 20, 21 a 40 e 32 a 45mgCO₂/kg/h, respectivamente, enquanto os valores provenientes das folhas variaram de 19 a 27, 24 a 35, 32 a 46, 51 a 74mgCO₂/kg/h, respectivamente. Os valores descritos por Cantwell, citada por WATADA et al. (1996), para a taxa respiratória de cabeças de alface submetidas as temperaturas de 2,5, 5, 7,5 e 10°C, foram 2,4, 2,9, 5,0 e 7,6mgCO₂/kg/h, respectivamente, e aqueles obtidos de folhas de alface pré-processadas foram, respectivamente, 7,6, 8,5, 12,6 e 15,9mg CO₂/kg/h. As porcentagens de variação obtidas para a respiração de cabeças e folhas de alface foram de 216,7, 193,1, 152 e 109,2%, sob 2,5, 5, 7,5 e 10°C, respectivamente. GORNY (1997a), avaliando o comportamento de cultivares de alface da variedade Iceberg minimamente processada em tiras e submetida a atmosfera ambiente (ar atmosférico) a 5 e 7,5°C, relatou para a taxa respiratória valores entre 8 e 14mLCO₂/kg/h e 12 e 17mLCO₂/kg/h, respectivamente. Outro fator de influência sobre a taxa respiratória refere-se ao estágio de maturação do produto. Os tecidos de folhas novas (imaturas) apresentam taxa respiratória superior a dos tecidos de folhas mais velhas (maturas), assim como, os tecidos processados. Os pedaços de tecidos de folhas maduras de couve, com dimensões 2X2cm, expressam valores de respiração equivalentes ao dobro dos obtidos em folhas intactas, embora a similaridade destes valores com os expostos por tecidos de folhas novas, imaturas (CANTWELL, 2000).

Tuncel & Cantwell, citados por CANTWELL (2000), avaliando a taxa respiratória de cogumelos brancos minimamente processados em fatias e armazenados em atmosfera ambiente por 12 dias a 0, 5 e 10°C, mencionaram a elevação da taxa respiratória após 6, 4 e 1 dia de armazenamento, respectivamente. CARNELOSSI (2000), determinando a respiração em folhas de couve minimamente processadas e mantidas a 1, 5, 10 e 25°C em diferentes embalagens por 15 dias, relatou a estabilidade da taxa respiratória do 3º ao 9º dia e do 6º ao 15º dia de armazenamento em 10 e 5°C, respectivamente. O acréscimo da atividade respiratória após certo período de armazenamento e, principalmente, no final

da vida útil do produto, pode ser proveniente da alta taxa de deterioração dos tecidos vegetais, requerendo maior quantidade de energia e esgotando, através da respiração, todas as reservas finais de energia do vegetal, propiciando a continuidade do metabolismo e das reações degradativas, predominantes na fase de senescência do produto hortícola.

A elevação da taxa respiratória, causada muitas vezes pela concentração de etileno fisiologicamente ativo, resultará na aceleração do metabolismo, ou seja, no maior número de reações metabólicas, sendo estas responsáveis por alterações de coloração (escurecimento enzimático), "flavor" (aroma e sabor), textura e qualidade nutricional (BRECHT, 1995). Desta forma, quanto maior a atividade respiratória, maior será a atividade metabólica e mais rápido ocorrerá a transição da fase de maturação a de senescência e, em decorrência, menor será a vida útil, em virtude da rápida depreciação das características que conferem a qualidade do produto hortícola. Segundo SHEWFELT (1987), a qualidade é a característica que diferencia um produto de outro e determina o grau de aceitabilidade do mesmo pelo consumidor. A vida útil, ou vida de prateleira, é o período de tempo que espera-se do produto à manutenção de um nível pré-determinado de qualidade, estando o mesmo sob condições adequadas de conservação. De acordo com JORDAN et al. (1985), a avaliação visual, aparência, corresponde ao principal fator de influência na decisão de compra do consumidor.

3.3.2 INDUÇÃO À SÍNTESE DE ETILENO (C₂H₄)

A operação de processamento, ocasionando injúrias mecânicas ao tecido vegetal, representa estresse ao produto. Em condições de estresse, há a síntese autocatalítica (biossíntese) de etileno (C₂H₄) pela formação e ativação da enzima ACCsintase, a partir da metionina (MET), que se refere ao composto considerado como ponto inicial da biossíntese. Com a ativação da ACCsintase tem-se a formação do ACC, ácido aminociclopropano 1-carboxílico, considerado o imediato precursor do etileno, e este, após a ação da enzima EFE (enzima formadora de etileno) origina o gás. O etileno sintetizado une-se à proteína chamada sítio de ligação, liberando uma mensagem que instruirá o DNA nuclear a formar RNAs mensageiros, que serão transcritos em proteínas e estas em enzimas, responsáveis por inúmeras reações desencadeadas pelo etileno (REID, 1992). O incremento de sua concentração é proporcional à incidência e severidade das lesões ocasionadas ao produto; este aumento normalmente ocorre 1h após a operação de processamento, com seu pico de síntese atingido após decorridas 6 a 12 h (BRECHT, 1995). A maior produção de etileno pode preceder o acréscimo da taxa

respiratória ou ser subsequente ao pico respiratório. De qualquer forma, as concentrações de etileno fisiologicamente ativas, marcam a transição entre as fases de maturação e senescência, visto que, este gás é conhecido como sendo o elicitador de uma série de respostas fisiológicas, conduzindo à depreciação dos atributos de qualidade e à abreviação da vida útil do produto (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

De acordo com KE & SALTVEIT (1989d), a resposta fisiológica da planta às injúrias mecânicas envolve muitas reações metabólicas e, entre estas, inclui-se a biossíntese do etileno e a aceleração do metabolismo fenólico. Os mesmos autores observaram em folhas de alface 'Iceberg' injuriadas mecanicamente, um acréscimo na síntese de C_2H_4 , equivalente ao quádruplo da produção observada em folhas não injuriadas. Resultados semelhantes, foram obtidos em folhas tratadas com 1mM de ACC permitindo concluir, ser a ACCsintase a enzima reguladora da biossíntese do gás em tecidos de alface.

3.3.3 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

O escurecimento enzimático dos tecidos vegetais representa um dos principais fatores limitantes à vida útil dos produtos minimamente processados, respondendo pela perda do valor comercial dos mesmos. O corte dos tecidos e o rompimento das células, permitindo o contato entre enzimas oxidativas e substrato, promove o escurecimento enzimático das superfícies cortadas, sendo a intensidade deste, influenciada pela atividade oxidativa. Além disso, o corte do tecido induz a aceleração do metabolismo, estimulando a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo dos compostos fenólicos. As enzimas fenilalanina amonialiase (FAL) e a polifenol oxidase (PFO) respondem pelo escurecimento do tecido vegetal (BRECHT, 1995). De acordo com BARRIGA et al. (1991), o escurecimento enzimático de superfícies injuriadas mecanicamente, age como uma barreira de proteção contra possíveis infecções (contaminações), constituindo uma reação de defesa contra os danos físicos impostos ao tecido.

A FAL refere-se a enzima-chave responsável pela regulação do metabolismo fenólico e sua atividade pode ser rapidamente acrescida pela exposição do produto a níveis de etileno fisiologicamente ativo, cuja alta produção (produção autocatalítica) encontra-se vinculada a qualquer tipo de estresse ocasionado ao tecido vegetal, o caso das injúrias mecânicas. A exposição do produto a atmosferas compostas pela alta concentração de CO_2 , assim como, pela baixa concentração de O_2 , inibe a atividade da FAL (KE & SALTVEIT, 1989c).

A via fenólica se inicia com o contato FAL e fenilalanina, ou seja, enzima-substrato, originando o ácido cinâmico, que é hidrolizado a vários compostos fenólicos solúveis, como os flavonóides e derivados do ácido clorogênico, que representam os substratos da enzima PFO. Com a ativação da PFO, cuja atividade é favorecida em meios com pH variando de 4 a 7 e com máxima ativação em pH 6,2, estes compostos são oxidados a quinonas, as quais são instantaneamente polimerizadas em pigmentos amarronzados que respondem pelo escurecimento do tecido vegetal. (RHODES et al., 1981). A PFO apresenta alta atividade na alface devido ao pH dos seus tecidos vegetais, que varia de 5 a 6. Portanto, as injúrias mecânicas impostas ao tecido vegetal e a conseqüente aceleração da taxa respiratória, resultando na aceleração do metabolismo como um todo, em associação à síntese de etileno, respondem pela indução da atividade de tais enzimas, incluindo-se também, a ativação da enzima clorofilase, responsável pela degradação da clorofila (VAROQUAUX & WILEY, 1996).

A degradação da clorofila ocorre concomitantemente ao escurecimento enzimático dos tecidos vegetais, sendo assim, simultaneamente a ativação da clorofilase, há a atividade das enzimas FAL e PFO. A degradação da clorofila encontra-se vinculada aos fatores: temperatura, concentrações de oxigênio e etileno e pH dos tecidos vegetais. A temperatura afeta a degradação da clorofila por interferir diretamente nos processos metabólicos e, especificamente, na atividade das enzimas degradativas. O papel do etileno encontra-se vinculado ao desencadeamento do amadurecimento e, por conseguinte, da senescência dos produtos hortícolas, promovendo a atividade de várias enzimas, inclusive da clorofilase. Com relação ao pH, o decréscimo de seus valores nos tecidos vegetais, na fase de amadurecimento e principalmente na senescência, favorece processos proteolíticos, aumentando a taxa de degradação do complexo enzima-substrato, ou clorofila-clorofilase, além de promover a substituição do cátion Mg^{2+} pelo H^{+} , originando a feofitina que apresenta coloração amarronzada (HEALTON & MARANGONI, 1996). Pelo exposto, verifica-se que a degradação da clorofila está diretamente relacionada ao escurecimento dos tecidos vegetais. Em contrapartida, a entrada do produto hortícola na fase de senescência nem sempre se encontra vinculada ao decréscimo do pH, especialmente em produtos minimamente processados, onde se verifica o acréscimo dos valores do pH no decorrer do armazenamento. O desencadeamento deste fato ainda não foi esclarecido, embora acredita-se ser uma conseqüência do metabolismo normal do CO_2 ou uma reação direta de eliminação deste gás do interior dos tecidos vegetais para os vacúolos ou ambiente e, por conseguinte, diminuindo a acidez causada pelo mesmo (KADER, 1986).

De acordo com LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996b), uma das principais causas da depreciação da qualidade de alfaces processadas minimamente é o escurecimento, superficial e de bordas, decorrente da atividade enzimática da FAL. COUTURE et al. (1993), avaliando a atividade enzimática da FAL e da PFO em diferentes cultivares de alface crespa minimamente processada, submetidas à aplicação de etileno ($2\mu\text{L/L}$) por 2, 3 ou 4 dias e armazenadas a $2,5^{\circ}\text{C}$, relataram que a maior exposição ao etileno proporcionou maior escurecimento enzimático, com acréscimo da atividade da PFO e aumento significativo da FAL, enfatizando que a atividade da FAL pode servir como um índice para prever o final da vida útil do produto. Os mesmos autores concluíram que o maior nível de injúrias mecânicas impostas ao produto e a maior exposição deste ao etileno, encontram-se diretamente relacionados ao acréscimo da taxa respiratória, à maior atividade da FAL e da PFO e à acumulação e oxidação de compostos fenólicos solúveis, acarretando o escurecimento do tecido vegetal e, por conseguinte, a perda do valor comercial do produto. CANTWELL (1995) relata que a vida útil da alface é costumeiramente limitada pelo escurecimento dos tecidos, e que atmosferas de acondicionamento com concentração alta de CO_2 e baixa de O_2 retardam a alteração da coloração.

KE & SALTVEIT (1989d), avaliando a atividade da FAL em tecidos de nervuras e de folhas de alface 'Iceberg' injuriados mecanicamente, relataram que o pico de atividade da enzima foi atingido 1h após os ferimentos, retornando a níveis normais em 1 semana, aproximadamente. O acréscimo da atividade da enzima foi diretamente proporcional ao nível de ferimentos e não se limitou apenas às células injuriadas, mas também àquelas distantes até 2,5cm das injúrias, sendo que, nos tecidos localizados a 0,5cm destas, a atividade da FAL aumentou após decorridas 4h, e nos distantes 2,5cm, o aumento ocorreu após 8h. Os mesmos autores mencionaram que a elevação da atividade da FAL foi diretamente proporcional ao acréscimo da concentração de compostos fenólicos solúveis, os quais foram oxidados a compostos amarronzados (quinonas) em minutos pela PFO. A PFO apresentou 10 vezes mais atividade que a FAL, embora esta discrepância não foi considerada reflexo dos ferimentos. Sugeriu-se ser esta alta atividade da PFO uma medida de proteção, por serem as quinonas tóxicas a microrganismos. A lignificação das paredes celulares dos tecidos danificados, também se enquadra como uma medida preventiva ou uma reação de defesa à possível colonização microbiana.

MATEOS et al. (1993), estudaram o efeito de diferentes atmosferas modificadas (ar + 5% CO_2 , ar + 10% CO_2 , ar + 20% CO_2) sobre o escurecimento enzimático em tecidos de folhas e de nervuras de alfaces minimamente processadas, cv Vanguard, e

armazenados por 10 ou 20 dias a 2,5°C, com posterior transferência a condições ambientais sob 20°C por 12h, e observaram que os tecidos de nervuras expostos a 20%CO₂ não exibiram escurecimento, enquanto nas nervuras sob 5 ou 10%CO₂, o escurecimento foi acrescido com o decorrer do tempo, com maior severidade após transferência à condições ambientais (ar). Nos tecidos verdes mantidos a 20%CO₂ a incidência do escurecimento foi maior que naqueles expostos a 5 ou 10%CO₂. A concentração de 5%CO₂ proporcionou menor incidência e severidade de escurecimento, enquanto na de 10%CO₂ só foi observado escurecimento após a transferência ao ar.

3.3.4 DEGRADAÇÃO DA CLOROFILA

A coloração refere-se ao atributo de qualidade mais atrativo ao consumidor e varia intensamente entre as espécies e cultivares (CHITARRA & CHITARRA, 1990). A comercialização, no mercado varejista, de produtos minimamente processados em embalagens fechadas, sem possibilidade de manipulação, muitas vezes impõe a coloração como o único critério disponível para orientar a escolha do consumidor. Na ocasião da compra, a uniformidade da coloração é exigida como parâmetro de qualidade, sendo os produtos dotados com cor forte e brilhante preferidos pelo consumidor (AWAD, 1993). No caso da alface americana, que exhibe as folhas externas com a tonalidade da cor verde mais intensa, em relação as folhas mais internas, a uniformização da coloração do produto acondicionado torna-se difícil. Entretanto, a coloração corresponde a uma das características mais desejáveis para a aceitabilidade comercial dos produtos minimamente processados.

A cor verde, que caracteriza as hortaliças folhosas, é proveniente da clorofila, pigmento relativo a um complexo orgânico com um íon de magnésio (Mg) central (WILL et al., 1988). Nos tecidos de plantas, com predominância da tonalidade verde, a mais comum alteração compreende a degradação da clorofila, provocando nos tecidos senescentes de alimentos processados a alteração da coloração verde brilhante para marrom esverdeada (HEATON & MARANGONI, 1996). As moléculas de clorofila encontram-se unidas a moléculas de proteínas, constituindo o complexo proteína/clorofila, estabelecido na membrana do tilacóide, no interior do cloroplasto. A perda da cor verde é atribuída à decomposição estrutural da molécula do pigmento em decorrência da vários fatores que atuam isoladamente ou em conjunto, sendo os seguintes: pH, oxigênio, temperatura e etileno. O decréscimo do pH nos tecidos vegetais, pode desencadear um processo proteolítico e estimular a taxa de degradação do complexo proteína/clorofila. Com a queda do pH ocorre, também, a substituição do íon Mg⁺⁺ por H⁺, originando o

composto feofitina, subproduto da degradação da clorofila. O oxigênio é requerido para a ocorrência de sistemas oxidativos, destacando-se a enzima 'feide a oxigenase', atuante no composto feofórbio e observada somente em tecidos senescentes. A temperatura encontra-se diretamente relacionada à atividade metabólica, podendo interferir no nível de degradação do pigmento, enquanto o etileno está envolvido no processo de senescência e, seu papel na perda da clorofila, encontra-se associado à ativação, ou mesmo, ao acréscimo da atividade da enzima clorofilase (HEATON & MARANGONI, 1996; MATILE et al., 1996).

Com o corte do tecido vegetal ocorre o extravasamento do conteúdo celular e a liberação de ácidos orgânicos dos vacúolos, acarretando na redução do pH e, por conseguinte, desencadeando/estimulando a atividade de enzimas proteolíticas, elevando a taxa de degradação das proteínas, inclusas as pertencentes ao complexo proteína/clorofila. A operação de corte, por danificar a estrutura celular, também propicia o precoce contato entre enzima-substrato, ou ainda, clorofilase-clorofila, promovendo uma série de reações degradativas, características da fase de senescência.

A primeira etapa da via de degradação da clorofila envolve a separação da cadeia do fitol da molécula da clorofila, por intermédio da ativação da enzima clorofilase, resultando no composto clorofilina, dotado com coloração verde-brilhante. O segundo passo envolve a remoção, em meio ácido, do íon central de Mg^{++} da estrutura da clorofila e a incorporação de íon H^+ , originando o composto feofórbio que apresenta coloração marrom esverdeada. A degradação pode iniciar-se, também, pela retração do íon Mg^{++} da cadeia da clorofila, gerando o composto feofitina que possui coloração verde oliva. Por intermédio da ativação da enzima clorofilase, a feofitina perde a cadeia do fitol, resultando no composto feofórbio (CHITARRA & CHITARRA, 1990; HEATON & MARANGONI, 1996). Portanto, o primeiro composto resultante da degradação da clorofila pode ser a clorofilina ou a feofitina, dependendo do produto vegetal e do valor do pH. Em repolho minimamente processado e com pH equivalente a 4,8, o catabólito inicial refere-se a feofitina, enquanto em azeitonas com pH correspondente a 7,0, o composto inicial abrange a clorofilina (MATILE et al., 1996). Na alface minimamente processada, em virtude de seu pH variar de 4,9 a 5,5, pode-se inferir que a feofitina represente o cabólito inicial da via de degradação da clorofila. Curiosamente, nos produtos inteiros, os compostos feofitina e clorofilina desaparecem com o avanço da fase de senescência, enquanto nos minimamente processados, tais compostos se acumulam, provavelmente devido ao dano e a morte ocasionados aos tecidos cortados e, por conseguinte, à limitação ou paralisação da atividade metabólica destes, tornando-os incapazes de

promover maior nível de degradação. Em seguida, o feofórbio é convertido, na presença de oxigênio, a um composto fluorescente através da ruptura do macrociclo da porção porfirina da molécula, com subsequente incorporação de dois átomos de oxigênio à cadeia, o que na maioria das vezes resulta da atividade da dioxigenase, ou ainda, da enzima denominada 'feide a oxigenase'. A ativação desta enzima ocorre na presença de oxigênio e sua atuação restringe-se apenas a tecidos senescentes. Esta etapa responde pela perda, propriamente dita, da coloração verde dos tecidos senescentes, resultado da abertura do macrociclo da porção porfirina e, conseqüentemente, da formação do composto fluorescente, tornando a atividade da 'feide a oxigenase' o ponto chave da degradação da clorofila (MATILE et al., 1996). A etapa final desta via compreende a conversão do composto fluorescente a um composto de coloração avermelhada. A perda da fluorescência é conduzida pela desestabilização das duplas ligações da estrutura, na presença de oxigênio e baixo pH, produzindo o composto avermelhado denominado 'rusty pigment', o que ocorre após duas semanas de senescência, aproximadamente (HEATON & MARANGONI, 1996; MATILE et al., 1996). Vale ressaltar, que o processo oxidativo, abrangendo a atividade da 'feide a oxigenase', ocorre especificamente no feofórbio a, descendente da clorofila a e responsável pela denominação da enzima em questão. A dúvida de como procede o catabolismo da clorofila b, possivelmente pode ser elucidada através da conversão deste em clorofila a, visando a degradação (MATILE et al., 1996).

De acordo com Barth et al. (1993), citados por CARNELOSSI (2000), floretes de brócolis acondicionados em adequada atmosfera modificada, apresentaram retenção da cor e acréscimo do conteúdo de clorofila total durante o armazenamento. CARNELOSSI (2000), acondicionando couve minimamente processada em embalagens de poliolefina multicamadas e armazenando-as por 7 dias a 5°C, obteve acréscimo nos teores de clorofila total no decorrer da estocagem, atribuindo a manutenção dos níveis de clorofila à característica de baixa permeabilidade ao O₂ das embalagens e, por conseguinte, a exposição do produto a baixos níveis de O₂, limitando a atividade da 'feide a oxigenase' e proporcionando a manutenção da coloração verde por todo o período experimental.

3.3.5 DESENVOLVIMENTO DE INJÚRIAS FISIOLÓGICAS

De acordo com KADER (1986), a exposição do produto a níveis de O₂ e CO₂, abaixo ou acima, respectivamente, do nível tolerado pelo mesmo, pode resultar em desordens fisiológicas. As chamadas "Brown Stain" (BS) e "Russet Spotting" (RS) referem-se às principais injúrias fisiológicas (distúrbios fisiológicos) ocasionadas em tecidos de alface, com destaque à última, devido à freqüência de sua ocorrência. A

necrose e o escurecimento celular, acarretando o escurecimento do tecido, assim como, a indução e acréscimo da atividade da FAL e o acúmulo e oxidação de compostos fenólicos solúveis pela PFO nos tecidos injuriados, encontram-se envolvidos no desenvolvimento dos sintomas da RS e BS (KE & SALTVEIT, 1989c).

A “Brown Stain” (BS) é caracterizada pela formação de pequenas lesões epidérmicas ovaladas e levemente deprimidas, com bordas marrons escuras. As lesões, geralmente, ocorrem na nervura central ou próxima à mesma, em direção a base da folha, e em primeira instância, são decorrentes do metabolismo dos compostos fenólicos (SUSLOW, 1991). Devido à não ocorrência em tecidos submetidos ao ar atmosférico, pode-se inferir ser esta injúria provocada pela exposição à concentrações de CO₂ tóxicas ao produto, sendo seu desenvolvimento (incidência e severidade) diretamente proporcional a essas concentrações (KE & SALTVEIT, 1989c).

KE & SALTVEIT (1989c), submeteram por 8 dias à 5°C, tecidos da nervura central de folhas de alface ‘Iceberg’ a diferentes atmosferas controladas (1,5%O₂, 1,5%O₂ + 11%CO₂, ar + 11%CO₂) e relataram, por ocasião da transferência à temperatura ambiente (25°C), a indução da atividade da FAL e o desenvolvimento da BS nas atmosferas de ar + 11%CO₂, sendo o conteúdo de compostos fenólicos solúveis correlacionado ao grau de escurecimento do tecido. Os mesmos autores observaram que a mistura gasosa de 1,5%O₂+11%CO₂ reduziu a atividade da FAL e, por conseguinte, houve decréscimo do conteúdo de compostos fenólicos solúveis, portanto, a baixa concentração de O₂ reduziu o escurecimento induzido pela alta concentração de CO₂, acarretando o menor desenvolvimento da BS. Por outro lado, os tecidos expostos à atmosfera composta apenas por 1,5%O₂ ou ao ar atmosférico, independente da temperatura (5 ou 25°C), apresentaram decréscimo da atividade da FAL e não desenvolveram BS.

Todavia, WANG (1987) mencionou que o desenvolvimento da BS correlacionou-se com a atividade da FAL e da PFO em atmosferas com concentrações iguais ou superiores a 15%CO₂, com o acréscimo da severidade da injúria sob baixas temperaturas como 0 e 2,5°C, ressaltando a necessidade da remoção do produto das altas concentrações de CO₂ para o desenvolvimento dos sintomas, visto que, sob altos teores deste gás a produção de fenólicos solúveis e a atividade da PFO são inibidas. O mesmo autor relatou que, inicialmente, considerou-se a BS uma forma de “chilling injury”, porém, esta proposição foi abandonada quando se observou a ocorrência da mesma em temperaturas de 10 e 20°C, mas sempre durante ou após a exposição dos tecidos a altos teores de CO₂.

SIRIPHANICH & KADER (1985), avaliando o efeito do CO₂ sobre o desenvolvimento de BS em tecidos da nervura central de folhas de 3 cv. de alface

submetidos à mistura de ar + 15%CO₂ por 10 dias a 0°C, identificaram os sintomas iniciais da injúria, áreas mais claras, porém, o escurecimento das lesões só foi observado após a transferência dos tecidos ao ar atmosférico, sendo verificado considerável acréscimo no conteúdo de compostos fenólicos solúveis e no desenvolvimento de BS, independente da temperatura (0 ou 20°C), embora sob 0°C o desenvolvimento da BS tenha sido retardado e reduzido, assim como, a atividade da FAL e da PFO. Em contrapartida, foi observada a menor severidade da injúria nos tecidos transferidos a 20°C, mas mantidos sob alta concentração de CO₂, indicando que as concentrações elevadas de CO₂ provocam a BS, mas retêm o desenvolvimento dos sintomas por atuar na redução da atividade da PFO. Os mesmos autores mencionaram que a maior severidade da injúria foi observada em tecidos de folhas medianas e centrais.

MATEOS et al. (1993), avaliaram o efeito de atmosferas modificadas (ar + 5%CO₂, ar + 10%CO₂, ar +20%CO₂) em relação à incidência e severidade da BS sobre tecidos verdes e de nervuras de alface minimamente processada, cv Vanguard, armazenadas por 10 ou 20 dias a 2,5°C e transferidas à atmosfera ambiente por 12h a 20°C, e relataram para os tecidos verdes, a inibição da BS quando expostos a 5 ou 10%CO₂, enquanto que, nos armazenados a 20%CO₂ houve BS após 20 dias, com baixa incidência mas alta severidade. Os tecidos de nervuras submetidos a 5 ou 20%CO₂, apresentaram a injúria após transferidos ao ar a 20°C por 12h e, nos tecidos expostos a 10%CO₂ a incidência da BS foi acrescida com o tempo e com a exposição a 20°C por 12h.

A “Russet Spotting” (RS) representa uma das principais injúrias fisiológicas em alface e é caracterizada por numerosas lesões pardo-avermelhadas, variando de 1 a 2 mm de diâmetro e de 2 a 4mm de comprimento, visíveis na epiderme da nervura central e, ocasionalmente, nas bordas de folhas de cabeças maduras. Entretanto, em estágio avançado de incidência expandem-se por toda a lâmina foliar. Os sintomas podem desenvolver-se quando as cabeças são colhidas em estágio de maturação avançado ou quando as mesmas são estocadas em temperaturas muito elevadas (SNOWDON, 1991). Tal distúrbio fisiológico é induzido pela exposição do tecido vegetal à concentrações de etileno fisiologicamente ativas, assim como, por temperaturas de conservação em torno de 5°C, o que provoca o acréscimo de sua severidade. Entretanto, temperaturas em torno de 0°C inibem, quase completamente, o desenvolvimento da mesma. A exposição do tecido ao etileno fisiologicamente ativo, constitui a causa primária da RS, visto que, tecidos submetidos ao ar e a 5°C não desenvolvem a injúria, independentemente do estágio de maturação. Outros fatores que influenciam a inibição desta injúria seriam: concentrações

baixas de O₂ e altas de CO₂, estágio de maturação atrasado, menor nível de injúrias mecânicas no tecido vegetal (estresse) e características intrínsecas da cultivar (KE & SALTVEIT, 1988). KE & SALTVEIT (1989b), relataram inibição de 65%, aproximadamente, no desenvolvimento da RS em tecidos de alface 'Iceberg' submetidos a 1,5%O₂ + 11%CO₂. As principais mudanças fisiológicas associadas à RS referem-se ao escurecimento de células, consequência da acumulação e oxidação de compostos fenólicos solúveis devido à atuação das enzimas PAL e PPO, respectivamente, além do espessamento da parede celular, proveniente da lignificação das células afetadas pela injúria (KE & SALTVEIT, 1988).

KE & SALTVEIT (1989a), avaliando tecidos da nervura central de folhas de alface 'Iceberg', em diferentes estádios de maturação e submetidos ao ar + 10µL/L de C₂H₄ a 5°C, verificaram que tecidos mais velhos foram mais suscetíveis a RS, não havendo desenvolvimento da injúria em tecidos de 20 dias, sendo os primeiros sintomas observados em tecidos de no mínimo 50 dias, que registraram alta atividade da FAL. Os autores enfatizaram a correlação obtida, e altamente significativa, entre a atividade da FAL e o grau de desenvolvimento da RS e sugeriram que, tanto a atividade da FAL quanto o desenvolvimento da injúria são induzidos somente após o tecido foliar atingir certo estágio de desenvolvimento, ou à habilidade de indução desta enzima, o que varia de acordo com as características intrínsecas de cada cultivar.

HYODO et al. (1978), observaram que tanto a atividade da FAL quanto o conteúdo de compostos fenólicos solúveis aumentaram em tecidos de alface submetidos a 5°C e expostos ao etileno, e que tal acréscimo foi correlacionado com o aumento da RS. Os mesmos autores relataram que a atividade da FAL decresceu por ocasião da transferência dos tecidos de 5 para 12°C, enquanto continuou a aumentar a 5°C, sugerindo ser possível reduzir a atividade da enzima e, por conseguinte, o desenvolvimento da RS, pela exposição dos tecidos à temperaturas mais elevadas, antes dos primeiros sintomas da injúria tornarem-se visíveis.

RITENOUR et al. (1995), estudaram o efeito da aplicação de 10µL/L etileno sobre a atividade da FAL e o desenvolvimento da RS em folhas de alface 'Iceberg' submetidas à diferentes temperaturas (0, 5, 15 e 20°C), e observaram que as folhas expostas a 15 ou 20°C exibiram um menor e precoce pico de atividade da enzima, quando comparadas àquelas submetidas a 5°C. Por ocasião da transferência de 5 para 15°C, o pico de atividade da enzima foi retardado, porém, foi maior que o observado nas folhas mantidas continuamente a 15°C, enquanto a transferência a 0°C, antes do aparecimento dos

primeiros sintomas de injúria, limitou tanto o acréscimo da atividade da FAL quanto o desenvolvimento de RS. Os tecidos expostos continuamente a 0°C não desenvolveram RS. Os autores ressaltaram que a atividade da FAL decresceu rapidamente após a remoção do etileno do ambiente de acondicionamento.

KE & SALTVEIT (1989b), avaliaram tecidos da nervura central de folhas de alface 'Iceberg' submetidos por 8 dias a ar + 2 μ L/L de C₂H₄ e à mistura gasosa de 1,5%O₂ + 2 μ L/L de C₂H₄, e relataram que a baixa concentração do O₂ inibiu a atividade da FAL e o desenvolvimento da RS, além de reduzir o conteúdo de compostos fenólicos solúveis. Os autores ressaltaram que a redução da atividade da FAL respondeu pelo controle do metabolismo fenólico e pela inibição da RS, já que, o nível de atividade da enzima determina o maior ou menor acúmulo de compostos fenólicos solúveis, sendo a oxidação destes, responsável pelo subsequente escurecimento das células injuriadas, portanto, o conteúdo de compostos fenólicos solúveis constitui o principal fator de controle da RS.

De acordo com SIRIPHANICH & KADER (1985), diferentes cultivares podem ser igualmente injuriadas por uma mistura gasosa com concentrações de O₂ e/ou CO₂, respectivamente, abaixo e/ou acima das toleradas pelo produto, porém, podem diferir quanto ao grau de desenvolvimento dos sintomas da injúria devido à características próprias à cultivar. Tais características podem representar algum tipo de controle sobre a via fenólica e, conseqüentemente, influenciar o nível de escurecimento do tecido vegetal. Os mesmos autores observaram que os segmentos da nervura central das folhas medianas e centrais são mais susceptíveis à injúrias fisiológicas acarretadas pela exposição à concentrações de CO₂ tóxicas a alface, sendo os segmentos basais ainda mais sensíveis a mesma.

3.3.6 PERDA DE ÁGUA

Os produtos hortícolas, constituídos basicamente por conteúdo aquoso, apresentam teores hídricos superiores a 90% e, no caso da alface, este conteúdo é de 95%. O teor hídrico de um produto é composto principalmente pela água presente no interior das células, que é mantida através de forças osmóticas e refere-se à água livre, mas há uma pequena parcela de água ligada quimicamente, sendo mais estável e difícil de ser perdida. A perda deste conteúdo, além de refletir no decréscimo de peso dos produtos, trará como conseqüências o enrugamento dos tecidos e a perda do brilho e da textura, características estas muito importantes para produtos comercializados com base na aparência. O chamado déficit de pressão de vapor (DPV), existente entre o produto armazenado e o meio circundante ao mesmo, responde pela variação do conteúdo

aquoso, por conseguinte, qualquer variação da pressão de vapor da atmosfera circundante, poderá provocar variação no teor hídrico do tecido vegetal (KADER et al., 1992).

O produto armazenado pode perder seu conteúdo aquoso através dos processos de evaporação, perda da água de superfície do produto, e transpiração, que compreende a liberação de vapor d'água dos espaços intercelulares para a atmosfera externa. A transpiração constitui um processo fisiológico contínuo, mesmo após a colheita, e é consequência do DPV, visto que, a umidade relativa da atmosfera interna do produto é de praticamente 99%, enquanto a da atmosfera circundante (externa) é sempre menor, ocorre o encaminhamento do vapor d'água do meio de maior pressão de vapor para o de menor pressão de vapor. A utilização de refrigeração associada à alta umidade relativa de estocagem, estabelece uma alta pressão de vapor no ambiente, visando a redução do DPV e, conseqüentemente, da perda de água do produto armazenado. A evaporação da água de superfície ocorre quando a temperatura do ambiente de estocagem é menor que a do produto, o qual apresenta maior pressão de vapor que o ambiente, gerando um elevado DPV e a necessidade do rápido resfriamento do produto antes do armazenamento, a fim de minimizar o DPV e, por conseguinte, a perda de água do mesmo. A evaporação refere-se a um processo físico que requer energia, energia esta, proveniente do calor respiratório, portanto, quanto menor a temperatura de estocagem, menor a taxa respiratória do produto, por conseguinte, menor será a liberação do calor respiratório e a perda de água da superfície do produto para o ambiente. Ressalta-se a importância da baixa temperatura e da alta umidade relativa de estocagem, pela influência direta sobre a perda de água do produto. As condições ideais de estocagem para a alface, compreendem temperatura variando de 0 a 2°C e umidade relativa entre 95 a 98% (WILLS, 1989).

Considerando-se as hortaliças folhosas, perdas de 3 a 4% do seu conteúdo hídrico, são suficientes para a depreciação da aparência. A alta relação existente entre a superfície e o volume destes produtos, é um dos principais fatores de influência sobre a perda de água, sendo que, quanto maior a relação área superficial/volume, maior será a perda de água por evaporação. A cutícula, camada cerosa que reveste a superfície vegetal, refere-se a um fator de controle direto sobre o decréscimo do conteúdo aquoso devido à resistência que oferece a passagem de água e vapor d'água dos tecidos para o ambiente externo. O fluxo de vapor d'água e de outros gases entre o interior dos tecidos e o ambiente circundante realiza-se através dos estômatos, poros microscópicos localizados na epiderme. Nas hortaliças folhosas, os estômatos normalmente se fecham

após a perda de pequena quantidade de água, em contrapartida, sob condições de estresse, como o corte do tecido vegetal, os mesmos permanecem abertos (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Os produtos minimamente processados apresentam considerável área superficial sem qualquer tipo de proteção contra a perda de água, visto que, com as injúrias mecânicas há a exposição dos tecidos internos ao ambiente externo, acarretando um drástico aumento da taxa de transpiração e evaporação (evapotranspiração), se os mesmos não forem expostos às condições adequadas de estocagem. Desta forma, conclui-se que esta classe de produtos apresenta maior propensão à perda parcial do conteúdo aquoso, o que pode acarretar a alta dessecação das superfícies cortadas. Os possíveis métodos destinados à conservação da umidade restringem-se ao acondicionamento do produto em atmosferas modificadas, estocadas em ambiente refrigerado e com alto teor de umidade relativa, sendo a manutenção do teor hídrico, crítica e fundamental à conservação da aparência. A escolha de um adequado filme plástico, assim como, a injeção de uma mistura gasosa umedecida e específica na ocasião do acondicionamento de um determinado produto minimamente processado, visa à redução deste sério problema (WATADA et al., 1996). Vale ressaltar que a dessecação do produto, constituindo uma forma de estresse, pode induzir à síntese de etileno (BRECHT, 1995).

3.3.7 VARIAÇÃO DA TEXTURA

A variação da consistência dos tecidos resulta da perda excessiva de água, ou seja, da diminuição da pressão de turgescência das células, o que ocorre quando o produto apresenta alta taxa de transpiração, ou ainda, provém da decomposição enzimática da lamela média e da parede celular. A decomposição enzimática de moléculas poliméricas como as protopectinas, celulosas e hemicelulosas, provocam o afrouxamento da parede celular, pois diminuem a força coesiva que mantém as células unidas, respondendo pela perda de firmeza dos tecidos vegetais, após o processamento mínimo (WILLS et al., 1989). O colapso das células componentes da parede celular resulta na perda de turgor, na variação da textura e, em alguns frutos e hortaliças, promove a síntese de ligninas, alterando adversamente a textura. Tais mudanças ocorrem durante a fase final do amadurecimento e predominam na fase de senescência. Nos produtos minimamente processados, estas alterações são consideravelmente aceleradas (KING & BOLIN, 1989). A ativação de enzimas pectinolíticas e proteolíticas (poligalacturonase-PG e pectinametilesterase-PME), liberadas de células lesionadas, em

contato com a protopectina, com forma insolúvel em água, originam as pectinas solúveis e, por conseguinte, procede-se a alteração da textura (CHITARRA & CHITARRA, 1990). As substâncias pécticas, que correspondem a cadeias lineares de ácido poligalacturônico, respondem pelas mudanças de textura nos produtos hortícolas. A variação da textura pode ser retardada ou minimizada pela manutenção de baixas temperaturas, inferiores a 5°C, durante o processamento e comercialização, retardando a atividade de muitas enzimas (WILLS, 1989).

3.3.8 ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Os produtos perecíveis apresentam maior susceptibilidade à contaminação microbiológica a medida que se aproximam da senescência, visto que, com o decorrer da maturação há uma perda progressiva da integridade das membranas. De acordo com KING & BOLIN (1989), tanto a atividade fisiológica quanto a microbiológica promovem mudanças bioquímicas que conduzem à rápida depreciação da qualidade e à total perda do valor comercial de produtos minimamente processados. Para esta classe de produtos, que atinge a fase de senescência em um período de tempo relativamente curto, o crescimento microbiano é extremamente favorecido, pois com o corte dos tecidos há a rápida alteração da textura e a liberação dos exsudados celulares que representam um meio propício ao crescimento microbiano, além das injúrias apresentarem-se como portas de entrada para microrganismos deterioradores e patogênicos.

O processamento de matérias-primas dotadas de qualidade, o rigor da operação de toalete, a utilização de baixas temperaturas, durante o processamento, distribuição e comercialização, e o emprego de atmosferas modificadas ativas específicas ao produto acondicionado, considerando-se a adequação do filme plástico e da mistura gasosa injetada, referem-se às principais técnicas efetivas à delimitação da contaminação microbiana e ao prolongamento da vida útil destes produtos. Frequentemente, a extensão da vida útil, através destas técnicas, pode mascarar o crescimento de microrganismos. BRACKETT (1992), alerta quanto ao risco de produtos minimamente processados que, embora pareçam atrativos e saudáveis aos olhos do consumidor, podem conter alta população patogênica. O mesmo autor ressalta a necessidade de se empregar no processamento, matérias-primas dotadas com alta qualidade e com nível mínimo de contaminação, e a utilização de técnicas de manuseio e sanitização adequadas, visando a baixa contagem inicial dos contaminantes, por estar diretamente relacionada à melhor conservação da qualidade do produto minimamente processado, além de reduzir o risco à saúde do consumidor. KING & BOLIN (1989), citam a sanitização do produto e de todas a

superfícies em contato com o mesmo, como equipamentos de processamento e material de acondicionamento, como técnica à minimização da população microbiana presente. GUERZONI et al. (1996), ressaltaram que a realização de operações apropriadas de limpeza da matéria-prima em água fria (5°C) e a imersão em água clorada contribuem para a redução da população de contaminantes.

O manuseio humano em algumas operações de processamento mínimo, inclusas as etapas de lavagem, secagem, seleção e acondicionamento, aumentam o risco de contaminação por microrganismos deteriorantes ou patogênicos. Nestes casos, se as boas práticas de fabricação (BPF) não forem seguidas, o manipulador pode tornar-se um vetor na transmissão de contaminantes deteriorantes ou patogênicos, pois a *Salmonella* spp. e a *Listeria* spp. sobrevivem nas luvas dos operadores, demonstrando a importância da higienização das mãos e luvas durante as operações de processamento, visando evitar não só o acréscimo da população microbiana total colonizando o produto, como também, diminuir os riscos de transmissão de patógenos ao mesmo (KEER et al., 1993). As boas práticas de fabricação são fundamentais a obtenção de um produto seguro ao consumidor e, por parte dos operadores abrangem a utilização de vestimentas adequadas como toucas, luvas, máscaras, aventais e botas, além do treinamento e a conscientização dos mesmos em relação a importância de certos cuidados, destacando-se a freqüente higienização das luvas no decorrer do expediente de trabalho.

Segundo HURTS (1995), o acréscimo da vida útil dos produtos minimamente processados não representa o objetivo principal das indústrias de processamento mínimo, que possuem como grande desafio a garantia da segurança destes produtos, visando a eliminação dos riscos à saúde do consumidor. DAVIS et al. (1988) reportaram a ocorrência de um surto de shigelose (*Shigella sonnei*) nos Estados Unidos em 1986, proveniente da contaminação de alface minimamente processada, sendo a provável origem da infecção oriunda dos manipuladores da indústria processadora e, até então, não haviam relatos que alertassem os consumidores em relação aos riscos provenientes desta classe de produtos.

Berrang et al., citados por BRACKETT (1992), relataram que o acondicionamento em atmosfera modificada passiva pode retardar a deterioração natural e estender em até 33% a vida útil de aspargos, brócolos e couve-flor, porém, sem afetar o crescimento de patógenos de risco à saúde humana como a *Listeria monocytogenes* e a *Aeromonas hydrophila*, que apresentam acréscimo da população com o prolongamento da vida útil. Tais bactérias patogênicas são capazes de crescer em temperaturas inferiores a 10°C, assim como, o *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* e a *Yersinia enterocolitica*.

A *Listeria monocytogenes*, cuja ocorrência já foi relatada em alface minimamente processada, habita ambientes agrícolas e é encontrada em vegetais pré-preparados que não são adequadamente sanitizados antes e após a operação de corte. Em temperaturas refrigeradas inferiores a 10°C, pode atingir populações de 10⁶UFC/g (unidades formadoras de colônias/g de amostra), sem que o produto exiba qualquer sinal de deterioração. A alface, por ser uma hortaliça folhosa pouco ácida, torna-se mais susceptível a *Listeria monocytogenes*, visto que, esta bactéria se desenvolve bem em meios pouco ácidos e exibe difícil controle, pois apresenta crescimento em uma ampla faixa de temperatura, de 1 a 45°C, com temperatura ótima ideal de crescimento em torno de 30 a 37°C. BEUCHAT & BRACKETT (1990), avaliaram os efeitos das operações de corte, sanitização e acondicionamento sob atmosfera modificada ativa (3%O₂+ 97%N₂) em relação ao crescimento de *Listeria monocytogenes* inoculadas em alface armazenada a 5 e 10°C, e relataram que nos primeiros 8 dias a 5°C nenhuma mudança significativa da população foi observada, havendo acréscimo considerável da população do 8º ao 15º dia. No 3º dia de estocagem a 10°C, foi registrado acréscimo significativo da população e no 10º dia a contagem atingiu valores entre 10⁸ a 10⁹UFC/g. Os autores comentaram que o tipo de corte, a sanitização e a modificação da atmosfera de acondicionamento, não influenciaram significativamente o crescimento deste patógeno. Nos tecidos não inoculados, não foi registrada a presença de *Listeria monocytogenes*, em contrapartida, a ocorrência natural deste patógeno tem sido relatada em saladas prontas para o consumo e mantidas por 4 dias a 4 °C.

BARRIGA et al. (1991), relataram que microrganismos patogênicos são de crescimento improvável em vegetais devido a microbiota comum de deterioradores apresentar vantagem na competição. Os autores citaram os patógenos que podem ser encontrados colonizando tecidos vegetais, sendo estes: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., com ocorrência em vegetais crus; *Listeria monocytogenes*, detectada em vegetais pré-processados; *Yersinia* spp. e *Escherichia coli*, encontrados em saladas mistas, o último refere-se à um indicador de contaminação fecal. De acordo com KING & BOLIN (1989), as bactérias colonizadoras de vegetais 'convenientes' têm preocupado microbiologistas devido à possível contaminação pela água de irrigação e ao contato direto da matéria-prima com o solo, além das recentes eclosões de doenças causadas por bactérias que crescem a 5°C como o *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolítica*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*.

A população microbiana em alfaces encontra-se intimamente relacionada à deterioração da qualidade, sendo assim, produtos dotados de qualidade apresentarão menor carga microbiológica e, conseqüentemente, representarão menor risco à saúde do consumidor. Os microrganismos presentes no produto minimamente processado e acondicionado, refletem a microflora do vegetal no campo, assim como, aquela presente na linha de processamento. O nível de contaminação inicial de muitos vegetais crus, embora relacionado à qualidade da matéria-prima, geralmente não excede o valor de 10^6 UFC/g. A manutenção da 'cadeia do frio' nas operações de processamento, distribuição e comercialização, diminuem a taxa de reprodução de muitos microrganismos, assim como, elevam o tempo de geração dos mesmos, classificando a refrigeração como principal meio de controle da deterioração microbiana. A composição e o pH do tecido vegetal e a necessidade, ou não, da refrigeração para a conservação, determinará o tipo de microrganismo que poderá se instalar, no caso de vegetais como a alface, tem-se alto pH dos tecidos e o uso da refrigeração para a estocagem, condições que propiciam a colonização por bactérias gram-negativas. Tais bactérias compreendem microrganismos deterioradores psicotróficos e produtores de enzimas pectinolíticas capazes de causar colapso nos tecidos colonizados, alterando rapidamente sua textura e exercendo grande influência sobre sua deterioração. De acordo com BRACKETT (1996), *Pseudomonas*, *Erwinia* e *Enterobacter*, constituem as bactérias normalmente encontradas em hortaliças, sendo as duas primeiras as de maior ocorrência em tecidos de vegetais, com destaque a *Pseudomonas*, pela sua alta taxa de crescimento sob baixas temperaturas, apresentando maior proliferação em alface (KING & BOLIN, 1989).

KING et al. (1991), realizaram contagem microbiológica em alface, considerando-se folhas externas (mais velhas) e internas (mais novas), e relataram níveis de contaminação da ordem de 5,93 e 3,62 \log_{10} , respectivamente. Os autores discriminaram as bactérias gram-negativas como as mais dominantes numericamente, representando 97,3% dos microrganismos isolados, sendo estas: *Pseudomonas* spp. (56,7%), *Erwinia* spp. (8,1%), *Serratia* spp. (8,1%). Segundo GUERZONI et al. (1996), o aumento do número de células de microrganismos deterioradores pode rapidamente atingir um nível populacional superior à 10^6 UFC/g, neste caso, há formação de metabólitos como o etanol e o ácido láctico, com oxidação de polifenóis em tecidos injuriados, trazendo como conseqüência o precoce escurecimento dos tecidos. A presença de bactérias pectinolíticas em produtos pré-processados, diferentemente das bactérias patogênicas, pode ser detectada pela alteração das características sensoriais do mesmo, determinando a perda do valor comercial quando alcançarem um nível populacional de, aproximadamente, 10^7 a

10⁸UFC/g, o que não excede 5 a 7 dias sob temperaturas adequadas e constantes. Os autores mencionam como principais fatores de influência na extensão da vida útil de produtos minimamente processados, a minimização do nível de contaminação do produto após a fase de processamento e a desaceleração da proliferação de células microbianas presentes. De acordo com NGUYEN-THE & PRUNIER (1989), a população contaminante total em alface minimamente processada e armazenada por 8 dias a 10°C, composta predominantemente por bactérias psicotróficas, apresentou contagem na faixa de 10⁵ a 10⁸UFC/g. Os mesmos autores mencionaram existir uma clara relação entre a rápida deterioração de saladas prontas e a contagem de bactérias psicotróficas, com destaque a *Pseudomonas marginalis*, bactéria deteriorante predominante após 8 a 10 dias de estocagem sob 10°C e, reportaram que para esta classe de produtos a perda do valor comercial foi determinada pelo escurecimento das nervuras e bordas dos tecidos, reflexo direto da atividade enzimática, podendo ser favorecido pelo ataque de microrganismos em alta população.

A contagem de enterobactérias, que representa a população contaminante de coliformes totais e fecais, assim como, a de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., segundo SPECK (1984), visa a caracterização do estado da microbiota e o desenvolvimento desta em resposta aos diferentes tratamentos e condições de estocagem, além da determinação do nível de contaminação da matéria-prima. Como fatores determinantes ao desenvolvimento bacteriano, nos produtos pré-preparados, pode-se citar: a contaminação inicial da matéria-prima, a condensação de vapor d'água no interior das embalagens, temperaturas inferiores a 4°C, o nível de dano ocasionado aos tecidos vegetais e a ocorrência de aneroiose (GARG et al., 1990).

FREIRE JR. (2000), armazenando por 14 dias a 10°C a alface hidropônica 'Regina' minimamente processada, observou que a depreciação da 'qualidade visual' do produto coincidiu com o acréscimo da contagem da população do Grupo Coliformes e das bactérias do Gênero Pseudomonadaceae e, após 7 dias de estocagem o produto encontrou-se fora da legislação vigente para coliformes fecais, sendo de 200NMP/g. BARRIGA et al. (1991), avaliaram a influência de diferentes atmosferas controladas (3%O₂, 3%O₂ + 5%CO₂, 3%O₂ + 10%CO₂) sobre a vida útil e a contaminação de alface 'Iceberg' minimamente processada e armazenada por 12 dias a 4°C, e observaram que a população de psicotróficos aumentou de 10⁴ a 10⁷ durante a estocagem, sendo este nível populacional considerado aceitável, com destaque à *Pseudomonas* spp. A atmosfera de 3%O₂ + 10%CO₂, propiciou menor nível de psicotróficos e a manutenção da aparência do produto, provavelmente por limitar a atividade das enzimas do tecido vegetal e dos

microrganismos, sendo o CO₂ um inibidor competitivo da polifenol oxidase (PPO). Os mesmos autores mencionaram que a menor população de microrganismos deterioradores foi correlacionada com a melhor 'qualidade visual' e afirmaram que embora a atmosfera controlada possa alterar o perfil microbiano geral na alface pré-processada, estes efeitos tem sido pouco estudados. Cambroy e Nguyen, citados por BARRIGA et al. (1992), relataram a utilização de atmosfera composta por 20%CO₂ como benéfica à desaceleração da deterioração da alface pré-processada, mas observaram pouco efeito sobre a proliferação dos microrganismos.

GARG et al. (1996), avaliando os efeitos das diferentes etapas de processamento sobre a população microbiana em alface, através da coleta e análise de amostras antes e após cada operação, relataram que as folhas mais internas, predominantes no processamento, apresentam baixo nível de contaminação, aproximadamente 10⁴UFC/g e concluem que a contaminação proveniente do campo pode ser reduzida pelo descarte das folhas mais externas. Os autores obtiveram um nível populacional consideravelmente maior após a operação de corte, aproximadamente 10⁶UFC/g, atribuindo à esta operação, a fonte da maior contaminação do produto final. No experimento foi observado o acréscimo da contaminação após a operação de sanitização em 300mg/L de hipoclorito de sódio, sendo este de 10⁶ a 10⁸UFC/g. Os mesmos autores alertam quanto à operação de sanitização que, embora efetiva em condições de laboratório, nem sempre reduz a população na planta de processamento, devido à falta de controle sobre o teor de Cl livre, visto que, o Cl reage rapidamente com solúveis orgânicos e tem sua concentração decrescida.

BEUCHAT & BRACKETT (1990), estudaram em alface armazenada a 5 e 10°C, o nível de contaminação em relação à psicotróficos provenientes das operações de corte, sanitização e acondicionamento em atmosferas compostas por 3%O₂ + 97%N₂, e observaram que a sanitização não foi efetiva na redução da população, sendo praticamente a mesma encontrada no produto não sanitizado. A população registrada em 5°C por 15 dias foi maior que a obtida em 10°C por 10 dias, sendo o crescimento dos microrganismos acelerado em 5°C.

GUERZONI et al. (1996), analisaram a população microbiana presente em alface minimamente processada após sanitização a 5°C, e registraram após 11 dias de estocagem, 10⁶células/g de bactérias psicotróficas. Os autores determinam um período de 8 a 11 dias para a comercialização da alface pré-preparada, desde que mantida em condições apropriadas de temperatura e após efetiva sanitização.

3.4 FATORES RESPONSÁVEIS PELA CONSERVAÇÃO

Considerando-se que os produtos minimamente processados apresentam um metabolismo acelerado, as alterações decorrentes do mesmo também procedem de maneira rápida, sendo assim, a conservação para esta classe de produtos constitui a etapa mais importantes e decisiva para a manutenção da qualidade, incremento substancial da vida útil, prevenção ou minimização das alterações fisiológicas e bioquímicas, além da garantia da seguridade, em relação ao desenvolvimento de microrganismos prejudiciais à saúde humana. De acordo com KING et al. (1991), a vida útil de qualquer produto minimamente processado depende, sobretudo, da qualidade da matéria-prima, da manutenção da 'cadeia do frio', além do acondicionamento em atmosferas específicas e adequadas ao produto acondicionado. O emprego da refrigeração em associação à atmosfera de acondicionamento, respondem pela manutenção da qualidade sensorial do produto por maior período de tempo.

3.4.1 TEMPERATURA

A temperatura é um fator de fundamental importância na manutenção da qualidade dos produtos minimamente processados, pois interfere na atividade fisiológica, que compreende as atividades metabólica, respiratória e enzimática. A manutenção da 'cadeia do frio', ou seja, a utilização de baixas temperaturas do campo às operações de processamento, distribuição e comercialização torna-se imprescindível, visto que, desaceleram a deterioração, limitando os efeitos do etileno, além de serem determinantes à sanidade do produto, por reduzirem a proliferação microbiana. De acordo com NEVES F^o (1992), o decréscimo de 10°C na temperatura do produto implicará uma atividade respiratória de duas a quatro vezes menor. A operação de sanitização, que compreende a imersão do produto processado em água com adição de hipoclorito de sódio e temperatura variando de 4 a 5°C, é benéfica à conservação, pois além de reduzir a taxa respiratória do mesmo, propicia uma desinfecção superficial antes do acondicionamento.

De modo geral, para os produtos minimamente processados, a temperatura normalmente utilizada para a manutenção da qualidade é de 0°C, e o decréscimo desta pode provocar o congelamento dos tecidos. Para alfaces minimamente processadas, no caso da temperatura atingir índice inferior ou igual a -0,2°C, haverá congelamento do tecido vegetal e, conseqüentemente, perda do valor comercial. De acordo com CANTWELL (1995), a temperatura indicada à conservação de alface processada varia de 0 a 5°C.

Embora a temperatura recomendada à conservação de produtos minimamente processados seja de 0°C, muitos destes são preparados e armazenados a 5°C, enquanto que a temperatura de comercialização encontra-se na faixa de 8 a 10°C (WATADA et al., 1996). Segundo BRACKETT (1992), o principal problema à conservação de produtos minimamente processados, compreende à exposição destes à temperaturas inadequadas, em específico, nas operações de distribuição e comercialização, estando as gôndolas de venda normalmente desajustadas e incapazes de manter a temperatura recomendada pelo processador. Vangarde & Woodburn, citados por BRACKETT (1992), relataram que a temperatura é superior a 10°C em 21% das gôndolas refrigeradas de venda, comprometendo à sanidade do produto, que requer absoluto controle de temperatura. Portanto, a exposição às temperaturas inadequadas, seja nas gôndolas de venda ou na casa do consumidor, anula os melhores esforços para manter as características sensoriais ou a sanidade do produto.

Além do cuidado na manutenção da 'cadeia do frio', um enfoque especial, e não menos importante, deve ser dado ao acondicionamento de tais produtos, visto que, a atividade metabólica dos mesmos pode variar amplamente de uma embalagem ou atmosfera para outra. Pelo exposto, a escolha da atmosfera modificada ou controlada, associada à utilização da refrigeração, serão os principais fatores determinantes a sanidade do produto processado minimamente, assim como, ao prolongamento da vida útil do mesmo.

FREIRE JR. (2000), embalando em atmosfera modificada passiva a alface hidropônica 'Regina' minimamente processada e armazenada sob 10°C por 14 dias, obteve valores de pH em torno de 5,9, relatando o decréscimo destes após o 7º dia, teores de acidez titulável na faixa de 0,095 a 0,120% de ácido cítrico e teores de clorofila total variando de 2,20 a 1,40mg/g de folha fresca.

Tuncel e Cantwell, citados por CANTWELL (2000), avaliando a atividade respiratória de cogumelo branco minimamente processado em fatias e armazenado em atmosfera ambiente por 12 dias a 0, 5 e 10°C, obtiveram acréscimo equivalente ao quádruplo para a taxa respiratória dos cogumelos submetidos a 10°C, em comparação àqueles expostos a 0°C, enquanto de 0 a 5°C, a taxa respiratória foi praticamente o dobro.

A aplicação da refrigeração minimiza a diferença existente entre a taxa respiratória do produto intacto e a do minimamente processado, desacelerando as mudanças de composição que respondem pela depreciação das características de qualidade, além de

limitar o escurecimento enzimático e o desenvolvimento da população microbiana contaminante, retardar a alteração da textura, desacelerar a deterioração e, por conseguinte, estender a vida útil. De acordo com BRECHT (1995), a temperatura refere-se ao principal fator de controle da atividade metabólica e, conseqüentemente, interfere e determina a atividade respiratória, apesar da aplicação de atmosferas otimizadas à conservação, sejam modificadas ou controladas, resultarem também no decréscimo efetivo da taxa respiratória.

3.4.2 ACONDICIONAMENTO EM ATMOSFERAS MODIFICADA OU CONTROLADA

Após a diminuição da temperatura, o acondicionamento do produto minimamente processado em atmosfera modificada ou controlada, é considerado o segundo método mais eficaz para o prolongamento da vida útil. Tais tecnologias apresentam como princípios básicos, a redução da concentração de O_2 , buscando-se a desaceleração da atividade respiratória e com esta, a redução de todo o metabolismo, como também, o acréscimo da concentração de CO_2 , visando a limitação do escurecimento enzimático, devido ao efeito inibitório do gás sobre a PPO, e a redução da síntese e da atividade do etileno e, em especial, o controle do crescimento microbiano (KADER, 1992; SOLOMOS, 1996). A redução do teor de O_2 e a elevação da concentração de CO_2 em relação à composição do ar, cria uma atmosfera modificada capaz de diminuir a velocidade das alterações bioquímicas e fisiológicas relacionadas à senescência, fundamentalmente a velocidade da respiração, à produção de etileno, às mudanças na composição química do produto e à alteração da textura. De modo geral, os efeitos provenientes da aplicação de atmosferas com baixo nível de O_2 seriam: a redução do cociente respiratório e da oxidação de substratos, a desaceleração da degradação da clorofila, o decréscimo da taxa de produção de etileno e da velocidade de degradação das pectinas (textura), o prolongamento do período de conservação, e em relação às influências indesejáveis, tem-se a formação de odores ("off-odors") e o desenvolvimento de distúrbios fisiológicos. Como efeitos do incremento da concentração de CO_2 temos: a desaceleração da velocidade de degradação de substâncias pécticas e a manutenção da textura, a redução do escurecimento enzimático, a inibição do efeito do etileno e da degradação da clorofila, o atraso do crescimento fúngico, e negativamente, a indução de distúrbios fisiológicos e a produção de odores (KADER et al., 1989). Segundo BRACKETT (1992), teores de CO_2 variando de 10 a 15%, impedem o crescimento de muitos tipos de microrganismos. Além dos efeitos independentes, temos os efeitos sinérgicos advindos da aplicação do baixo nível de O_2 e da alta concentração de CO_2 , sendo estes: o decréscimo da taxa

respiratória; a redução do escurecimento dos tecidos, seja proveniente da atividade de enzimas ou do desenvolvimento de microrganismos; a manutenção da turgidez, com baixa perda de peso devido à menor geração de calor respiratório; a redução da biossíntese e ação do etileno. Pelo exposto, estes efeitos sinérgicos, fundamentalmente, referem-se à redução das conseqüências do corte do tecido vegetal pela operação de processamento (GORNY, 1997b).

LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996b), estudando o acondicionamento de diferentes cultivares de alface em atmosfera modificada a 5 e 15°C, determinaram que a atividade da PAL encontra-se diretamente relacionada ao nível de dano imposto ao tecido vegetal, assim como, à temperatura a que o produto encontrava-se exposto, sendo a 'Iceberg' a que apresentou a menor atividade da enzima e, conseqüentemente, o menor escurecimento enzimático.

ZAGORY & KADER (1988), descrevem que o efeito resultante da redução da concentração de O₂ e do acréscimo do teor de CO₂ sobre a taxa respiratória, é cumulativo. De acordo com WILEY (1996), o CO₂ apresenta propriedades antimicrobianas capazes de inibir o desenvolvimento de diferentes microrganismos, embora sua efetividade dependa da sua concentração e da temperatura de exposição do produto. Este gás, em altas concentrações, exibe efeito inibitório sobre a atividade da PPO e algum efeito sobre a manutenção da textura.

No caso do estabelecimento de uma atmosfera de acondicionamento, modificada ou controlada, cuja concentração de gases (O₂ e CO₂) encontra-se fora do limite de tolerância do produto, a respiração procede-se de forma anaeróbia e altera o metabolismo normal, provocando desordens fisiológicas e havendo liberação de compostos tóxicos ao tecido vegetal, que produzem sabores e odores desagradáveis ("off-flavors"), além do precoce escurecimento e o favorecimento do desenvolvimento de microrganismos, condições que aumentam a susceptibilidade do produto ao processo de deterioração. O desenvolvimento de odores é conseqüência da respiração anaeróbia, que conduz à síntese e o acúmulo dos voláteis etanol e acetaldeído e de certos ácidos orgânicos. Geralmente, este tipo de processo respiratório é gerado por teores de O₂ inferiores a 2% e níveis de CO₂ superiores a 20%, propiciando o crescimento de microrganismos patogênicos anaeróbios como o *Clostridium botulinum*, sendo assim, recomenda-se um teor mínimo de 2 a 3%O₂ durante a estocagem, para que não se originem condições que representem um risco à saúde pública (GORNY, 1997b; CANTWELL, 1995). Para a alface americana minimamente processada, a aplicação de atmosfera com teor de O₂ inferior a 0,5% e concentração de CO₂ superior a 15% podem provocar a substituição do

metabolismo aeróbio pelo anaeróbio, promovendo, além das desordens citadas acima, a redução da crocância e a perda da coloração, tornando os tecidos translúcidos (GORNLY, 1997a). De acordo com CANTWELL (2000), a atmosfera modificada ativa responde pela manutenção da aparência. A alface minimamente processada, acondicionada em atmosfera modificada ativa e exposta a venda, em início de processo fermentativo (teor de $O_2 < 0,5\%$), pode parecer atrativa, em virtude da atuação da atmosfera de acondicionamento sobre o escurecimento enzimático.

Desta forma, a cada produto corresponderá uma determinada atmosfera de acondicionamento específica e adequada ao mesmo. As atmosferas modificada e controlada, assim como, a temperatura indicada à conservação do produto pré-processado, normalmente diferem daquelas utilizadas para o mesmo produto intacto. Atmosferas compostas por 3 a 8% O_2 e 3 a 10% CO_2 exprimem potencial para prolongar a vida útil de produtos minimamente processados, embora, para cada tipo de produto exista uma atmosfera específica, capaz de maximizar sua durabilidade. O teor mínimo de O_2 admitido pela maioria dos produtos é de 2%, aproximadamente. A atmosfera adequada ao produto, ou seja, a concentração de O_2 e CO_2 requeridas à conservação, vai depender do tipo de produto (taxa respiratória), da temperatura e do tempo de estocagem (CANTWELL, 1995).

Os fatores a serem considerados no acondicionamento de um produto fresco, referem-se à: massa e volume a ser acondicionado; condições de estocagem, incluindo-se temperatura, umidade relativa e tempo de permanência na embalagem (tempo de estocagem); composição polimérica do filme, determinante das taxas de permeabilidade ao O_2 , CO_2 , vapor d'água e etileno; área de permeação do filme e volume do espaço-livre da embalagem (ZAGORY & KADER, 1988; SCHLIMME & ROONEY, 1996; GORNLY, 1997b). Com relação ao produto, faz-se necessária a discriminação da cultivar e do tipo de corte, pois estas variáveis determinarão a taxa respiratória do mesmo, além da massa a ser acondicionada, definindo a demanda por O_2 e a liberação de CO_2 no interior da embalagem. A importância da temperatura num sistema de embalagem é proveniente de sua influência direta sobre a taxa respiratória do produto, assim como, sobre a permeabilidade do filme. Como reflexos da transferência indevida de um produto fresco, acondicionado e refrigerado, a maiores temperaturas, tem-se: a condensação no interior da embalagem, comprometendo a aparência do produto e propiciando o crescimento microbiano; o acréscimo da taxa respiratória, acelerando a deterioração natural dos tecidos (senescência) e alterando a concentração dos gases no interior da embalagem;

alteração da permeabilidade do filme, modificando a atmosfera no interior da embalagem (KADER et al., 1989).

Para os produtos que respiram, produtos que apresentam os tecidos vivos, é necessário o uso de embalagens que permitam a entrada do O₂ e a saída do CO₂ de forma controlada, a fim de prevenir as condições potenciais da respiração anaeróbia e a conseqüente deterioração. Para tanto, são utilizados filmes plásticos semi-permeáveis, geralmente de polietileno de baixa densidade (PEBD - 35 a 40µm), em associação, ou não, com filmes de polipropileno biorientado (BOPP), com diferentes espessuras e grau de orientação, laminado ou não. Os filmes de baixa permeabilidade, filmes excessivamente barreira, não servem para produtos que respiram, pois podem provocar anaerobiose por não favorecerem a troca de gases entre o interior da embalagem e o meio circundante (CHITARRA & CHITARRA, 1990; MYERS, 1989). De acordo com BENZI (1999), a tendência verificada na INTERPACK 99, a maior feira de embalagem do mundo, refere-se ao desenvolvimento de embalagens flexíveis destinadas ao acondicionamento de produtos frescos, abrangendo filmes plásticos que respiram e embalagens com atmosfera modificada. Segundo a Associação Norte Americana de Embalagens Flexíveis, o segmento de verduras e legumes pré-preparados, tem recebido considerável atenção, constituindo um dos setores que mais têm impulsionado a indústria de embalagens nos últimos anos.

A maior dificuldade na ocasião do acondicionamento de um produto minimamente processado, compreende a determinação da permeabilidade do polímero a ser utilizado. A permeabilidade do filme será estabelecida, em primeira instância, pela taxa respiratória do produto a ser acondicionado, além de sua massa e a temperatura de estocagem do mesmo. Portanto, a taxa respiratória do produto deve ser compatível com a taxa de permeação à gases (O₂ e CO₂) do filme, daí a necessidade e a importância de um estudo fisiológico do produto anteriormente à determinação da embalagem. De acordo com MORALES-CASTRO et al. (1994), a especificação da taxa respiratória do produto a ser acondicionado é fundamental para o estabelecimento de uma atmosfera modificada adequada à estocagem do mesmo, considerando-se a taxa de permeabilidade do filme plástico aos gases O₂, CO₂ e etileno, e inclusive ao vapor d'água. A taxa de permeabilidade ao O₂, vem sendo empregada na discriminação do tipo e da espessura do filme, representando cerca de 1/3 a 1/5 da taxa de permeação ao CO₂. Para o acondicionamento de produtos pré-processados, normalmente, são empregados filmes de polietileno de baixa densidade, com espessura variando de 25 a 35µm, o que equivale à variação de 6000 a 4300mLO₂/m²/d.atm na taxa de permeabilidade ao O₂,

respectivamente, assim como, a variação de permeação ao CO₂ de 20000 a 14000 mLCO₂/m²/d.atm, respectivamente, sob temperatura de 20°C (BALLANTYNE et al., 1988). McDONALD et al. (1990), obtiveram prolongamento da vida útil de alfaces processadas e armazenadas a 1 e 5°C, utilizando filmes plásticos com taxa de transmissão de O₂ superior a 3000mL/m²d a 22°C, e relataram a ocorrência de escurecimento enzimático e o desenvolvimento de odores indesejáveis, decorrentes de processos fermentativos, nas atmosferas modificadas com níveis de CO₂ superiores a 20%.

Com a utilização de filmes plásticos semi-permeáveis e adequados ao material a ser acondicionado, cria-se uma atmosfera modificada, ou seja, uma atmosfera favorável ao produto, mas sem controle rígido das concentrações de O₂ e CO₂ (CABRAL et al., 1984). Antes do fechamento, a embalagem, que pode conter ar atmosférico, deve ser submetida à evacuação parcial ou total (vácuo), ou ainda, pode receber a injeção de uma atmosfera otimizada para a conservação do produto. As diferentes situações descritas definirão duas classes de atmosfera modificada, a passiva e a ativa (KADER et al., 1989), em ambas, a tendência será a obtenção de uma atmosfera constante, a chamada atmosfera de equilíbrio, responsável pela maximização da vida útil do produto. MYERS (1989) menciona que, embora a aplicação de vácuo seja usada em alguns casos, a maioria dos produtos pré-preparados apresenta atividade respiratória que exige outros procedimentos de acondicionamento.

Devido à existência e ação de um gradiente de concentração, entre o ambiente interno da embalagem e o circundante da mesma, haverá um fluxo de O₂ do ambiente externo para o interno e um fluxo contrário de CO₂, ou seja, do ambiente interno para o externo à embalagem. O nível desta transmissão (fluxo) será estabelecido pela difusão dos gases através do filme, o que ocorre devido à presença de uma diferença de concentração destes gases no ambiente interno e no circundante à embalagem, alterando ou modificando a atmosfera interna da mesma (GORNÝ, 1997b; KADER et al., 1989). A modificação da atmosfera de acondicionamento, ocorrerá até que se atinja um equilíbrio em relação à concentração dos gases entre o ambiente externo e o interno à embalagem. A atmosfera de equilíbrio, que compreende a estabilização da atmosfera no espaço-livre da embalagem, é proveniente do estado de equilíbrio entre a difusão de gases através da embalagem e a atividade respiratória do produto. Na atmosfera de equilíbrio, a taxa respiratória do produto é compatível com a taxa de permeabilidade do filme ao O₂ e CO₂, sendo o nível de difusão dos gases pelo filme equivalente ao que está sendo consumido, no caso do O₂, ou liberado, CO₂, pelo produto. Portanto, estabelecida a atmosfera de equilíbrio, a taxa respiratória do produto torna-se idêntica à taxa de permeação do filme

ao O_2 e CO_2 . O tempo decorrido para a obtenção da atmosfera de equilíbrio, assim como, a composição da mesma, serão estabelecidos pelos fatores: intensidade respiratória e massa do produto acondicionado; taxa de permeabilidade e superfície de troca do filme; temperatura de estocagem; volume e concentração do espaço-livre da embalagem (KADER et al., 1989).

No caso da embalagem conter ar atmosférico no momento do fechamento (selagem), estabelece-se uma atmosfera modificada passiva. Logo após seu fechamento, a composição atmosférica no interior da embalagem será aquela do ar atmosférico e, com a respiração do produto ocorrerá consumo de O_2 e conseqüente liberação de CO_2 , estabelecendo-se um gradiente de concentração em função da atividade respiratória do produto e da permeação à gases da embalagem. Devido à permeabilidade do filme plástico, como também, as diferentes concentrações internas e externas dos gases, estabelece-se um fluxo de gases através do filme e este fluxo ocorre até que se atinja o equilíbrio (GARCIA et al., 1988). A evacuação, parcial ou total, no momento da selagem, em associação a permeabilidade do filme, passivamente originará uma atmosfera modificada, com teores de O_2 e CO_2 constantes e favoráveis a manutenção da qualidade do produto. A desvantagem deste tipo de atmosfera é atribuída ao tempo decorrido até o estabelecimento da atmosfera de equilíbrio.

A atmosfera modificada estabilizada por intermédio da injeção de uma mistura gasosa ideal ao produto acondicionado, compreendendo concentrações indicadas de O_2 e CO_2 , recebe a denominação de atmosfera modificada ativa. Este tipo de atmosfera inclui o acondicionamento do produto em um filme semi-permeável, com a retirada parcial do ar existente no interior da embalagem, ou a limpeza da mesma com o gás N_2 , o chamado gás de preenchimento, e subseqüente aplicação da mistura gasosa requerida, anterior ao rápido fechamento (BRECHT, 1995). A vantagem da atmosfera modificada ativa, em relação a passiva, encontra-se na rapidez da obtenção da atmosfera de equilíbrio, que é atingida quase subseqüentemente a injeção e, embora a atmosfera adicionada ainda possa se modificar, a atmosfera de equilíbrio será muito semelhante a injetada. De acordo com GORNY (1997b), a rápida estabilização da atmosfera de equilíbrio é determinante à prevenção do escurecimento enzimático e responde pela redução dos efeitos provocados pela biossíntese do etileno sobre o metabolismo do produto acondicionado. O balanço ideal dos gases varia de acordo com o produto, sendo que, para cabeças de alface intactas, altas concentrações de CO_2 podem ser prejudiciais, por propiciarem a respiração anaeróbia e, por conseguinte, a liberação de odores indesejáveis, conduzindo a fermentação do produto e favorecendo o crescimento de microrganismos. Já para alface

minimamente processada, são requeridas atmosferas com baixas concentrações de O₂ e altas de CO₂, sendo utilizados teores em torno de 10 a 15% de CO₂, pois além de reduzir o escurecimento enzimático do produto, a elevada concentração deste gás permite o controle de muitos microrganismos patogênicos (CANTWELL, 1995). De modo geral, para alfaces processadas minimamente a concentração de CO₂ pode variar de 3 a 15%, sob temperaturas de 0 a 5°C. Por sua vez, LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996a) relataram que as atmosferas normalmente empregadas no acondicionamento de alfaces minimamente processadas apresentam concentração de CO₂ variando de 10 a 20% e O₂ em concentração de 1 a 8%, sendo o produto armazenado de 0 a 2°C.

BALLANTYNE et al. (1988) estudaram, para alfaces 'Iceberg' minimamente processadas, diferentes atmosferas modificadas ativas e relataram que a atmosfera de equilíbrio contendo 1 a 3% de O₂ e 5 a 6% de CO₂, constituída por PEBD de 35µm e estabelecida após a injeção de 5%O₂ + 5%CO₂, foi mais efetiva na desaceleração do escurecimento enzimático, acarretando em vida útil de 14 dias a 5°C, enquanto a injeção de gases com concentração baixa de O₂ e alta de CO₂ em associação ao PEAD (polietileno de alta densidade), pouco permeável, conduziu a condição anaeróbia. McDONALD et al. (1990), relataram que o acondicionamento de alface crespa processada minimamente em atmosfera modificada com concentração de CO₂ inferior a 20% e teor de O₂ variando de 2 a 15%, sob 1 e 5°C, proporcionou vida útil de até 14 dias. Os mesmos autores comentaram que a depreciação da aparência e do "flavor" (aroma e sabor) foi mais influenciada pela temperatura do que pelo período de armazenamento, visto que, o produto armazenado a 5°C apresentou menor vida útil que aquele submetido a 1°C. Portanto, tanto a taxa de transmissão de gases dos filmes como a temperatura de armazenamento, são determinantes ao prolongamento da vida útil do produto. MORALES-CASTRO et al. (1994), avaliaram o efeito da injeção de O₂, em concentrações de 5, 10, 15 e 21%, sobre a taxa respiratória de cabeças de alface armazenadas a 2, 12 e 25°C, e relataram que a concentração de O₂, a temperatura de exposição e o tempo de armazenamento afetaram a respiração e, por ocasião do aumento do teor injetado de O₂ de 5 para 21%, a alface armazenada a 25°C por 24h apresentou acréscimo de 50% no consumo deste gás.

Com a injeção da mistura gasosa ideal ao prolongamento da vida útil, há o pronto decréscimo da taxa respiratória, provocando a menor geração de calor respiratório e, por conseguinte, a menor perda de umidade do produto, além da redução da ocorrência de condensação no interior da embalagem. Muito cuidado deve ser dispensado à escolha do

filme plástico, pois segundo HARDENBURG (1971), a utilização de embalagens plásticas inadequadas contribui para o desenvolvimento de microrganismos à medida que propiciam a formação de gotículas de vapor d'água condensadas, liberadas pelo produto através do processo de evapotranspiração. A condensação no interior da embalagem cria condição favorável ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deterioradores. Segundo KADER et al. (1989), a atmosfera modificada otimizada resulta na rápida desaceleração da atividade respiratória e, esta redução combinada com a baixa produção de etileno, em associação ao uso de refrigeração, resultam na melhor retenção da textura e da clorofila, no menor escurecimento enzimático, na retenção do valor nutricional e, conseqüentemente, na extensão da vida útil do produto acondicionado.

Para a determinação da adequada permeabilidade do filme plástico a ser empregado, faz-se necessário o estudo fisiológico do produto a ser acondicionado em diferentes atmosferas controladas refrigeradas, a fim de especificar qual será mais benéfica ao mesmo, sendo que, após a determinação da combinação adequada dos gases (O_2 e CO_2), procede-se a escolha do filme (KADER et al., 1989). De acordo com GORNY (1997b), o sucesso da utilização da atmosfera modificada ativa, como tecnologia de conservação de produtos frescos, encontra-se na especificação da atmosfera mais benéfica ao produto acondicionado, com posterior determinação do filme plástico a ser utilizado para propiciar a geração de tal atmosfera.

A aplicação de atmosferas com controle rígido das concentrações de O_2 e CO_2 (atmosferas controladas) resulta em considerável extensão da vida útil dos produtos hortícolas frescos, sendo esta, em primeira instância, decorrente da rápida redução da atividade respiratória e, por conseguinte, de todo o metabolismo. A taxa respiratória de um produto submetido à atmosfera controlada adequada a sua conservação, é reduzida em 30%, aproximadamente. A técnica do controle atmosférico total envolve o uso de câmaras herméticas a gases, podendo ser utilizadas câmaras similares a câmaras frigoríficas ou microcâmaras, que apresentam um controle instrumental rigoroso da composição atmosférica. Nas microcâmaras, as concentrações de O_2 , CO_2 e C_2H_4 são medidas periodicamente, sendo os dados coletados introduzidos em um sistema computacional e comparados com as concentrações pré-determinadas a estes gases. No caso de haver diferença entre os dados coletados e o dado ideal pré-estabelecido, o próprio sistema envia instruções para a absorção ou a injeção de CO_2 , a redução ou a injeção de O_2 e a eliminação do etileno (SCHLIMME & ROONEY, 1996). A atmosfera controlada não paralisa a deterioração mas, dependendo do produto, a retarda por dias ou mesmo semanas e apresenta eficácia superior as das atmosferas modificadas, seja

passiva ou ativa.

LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996a), avaliaram a manutenção da aparência de diferentes cultivares de alface processadas minimamente e armazenadas a 5°C, em atmosfera ambiente (ar) ou em atmosfera controlada (3%O₂ + 10%CO₂), e relataram que após 12 dias os tratamentos armazenados em atmosfera ambiente perderam seu valor comercial, enquanto aqueles sob atmosfera controlada conservaram boa aparência por 16 dias. BARRIGA et al. (1991), avaliaram a população microbiana presente em cabeças de alface 'Iceberg', sendo estas, posteriormente processadas e armazenada por 12 dias a 4°C, em atmosfera ambiente e em diferentes atmosferas controladas (3%O₂, 3%O₂ + 5%CO₂, 3%O₂ + 10%CO₂), e relataram a ausência de patógenos prejudiciais a saúde humana, comentando que a utilização da atmosfera controlada pouco ou nada afetou a população microbiana, embora a injeção de gases nas concentrações de 3%O₂ + 10%CO₂, tenha mantido a aparência do produto durante o período de armazenamento, provavelmente por limitar a atividade enzimática do tecido vegetal.

QI & WATADA (1997), aplicando atmosfera controlada constituída por 1 a 2%O₂ e 10%CO₂ em morangos, pêssegos e melões minimamente processados e submetidos a 5°C, relataram decréscimo em torno de 25 a 50% na taxa respiratória.

SEABRA (1999), avaliando a respiração do brócolis americano minimamente processado, armazenado por 15 dias em atmosfera ambiente (ar atmosférico) e em atmosfera controlada (3%O₂ + 9%CO₂) sob 1 e 5°C, decresceu que a taxa respiratória em atmosfera ambiente foi praticamente o triplo da observada em atmosfera controlada e, descreveu o acréscimo da respiração após o 13^o e 11^o dia em 1 e 5°C, respectivamente.

Vale ressaltar, que a maior parte dos processos atuantes em tecidos vegetais encontram-se associados a reações enzimáticas, cuja velocidade depende da temperatura. Por esta razão, torna-se impossível a manutenção da qualidade dos vegetais minimamente processados e, por conseguinte, a extensão de sua vida útil, sem o controle rígido da temperatura. Com a elevação da temperatura, tem-se a aceleração da taxa respiratória e a maior transpiração do produto, além da alteração da permeabilidade da embalagem e, conseqüentemente, altera-se também a atmosfera de equilíbrio, acelera-se a deterioração e abrevia-se a vida útil do mesmo. No caso da exposição de um produto minimamente processado a temperaturas elevadas, injúrias fisiológicas ocasionadas pela baixa concentração de O₂ e pelo alto teor de CO₂ podem ocorrer, além do risco da respiração anaeróbia, que favorece o crescimento de microrganismos (MYERS, 1989). Pelo exposto, a aplicação da atmosfera ideal pode propiciar o prolongamento da vida útil do produto, em contrapartida, com a utilização de um filme

inadequado, a atmosfera de acondicionamento provocará injúrias fisiológicas, resultando na menor vida de prateleira do mesmo (GORNY, 1997b). O sistema de embalagem que apresenta inadequada relação entre a taxa de permeabilidade do filme e a taxa respiratória do produto, funciona no início do armazenamento em baixa temperatura, porém, logo que submetido a temperaturas elevadas, o caso das gôndolas de venda, este sistema entrará em anaerobiose, provocando a perda do valor comercial do produto (KADER et al., 1989). Segundo GORNY (1997b) e KADER et al.(1989), a atmosfera modificada não compreende um substituto, mas meramente um complemento da 'cadeia do frio', visto que, as baixas temperaturas apresentam maior influência sobre a atividade respiratória.

De acordo com CANTWELL (2000), atmosferas modificadas ativas compostas por concentrações de O₂ em torno de 0,5% e teores de CO₂ superiores a 7% garantem a ausência do precoce escurecimento enzimático em muitas saladas prontas, sendo aplicadas comercialmente, e relata que tais atmosferas podem provocar o acréscimo da concentração de acetaldeído e etanol, indicativo da alteração do metabolismo aeróbio pelo anaeróbio ou fermentativo. A mesma autora, relatou que amostras de alface americana minimamente processada, 'Iceberg', acondicionadas em atmosfera composta por teor de O₂ na faixa de 0,5% e 7,5%CO₂, aproximadamente, e submetidas a 0 e 10°C, até o 4º dia de estocagem exibiram as mesmas notas sensoriais para a aparência e, após 12 dias de estocagem as notas atribuídas foram semelhantes, em torno de 7,5 e 8,0, respectivamente, sendo 9,0 a nota máxima. Houve maior consumo de O₂ e maior liberação de CO₂ nas embalagens a 10°C, porém, foram detectados etanol e acetaldeído em ambas as amostras. GORNY (1997a) e CANTWELL (2000) recomendam para a alface 'Iceberg' minimamente processada e armazenada de 5 a 10°C, a aplicação de atmosferas compostas por 0,5 a 1%O₂ e 10 a 15%CO₂, apresentando boa eficiência na desaceleração da taxa respiratória, na redução do escurecimento enzimático e do desenvolvimento de bactérias psicotróficas deteriorantes e, por conseguinte, na retenção da 'qualidade visual' do produto. Vale ressaltar, que o benefício proveniente da utilização da refrigeração e da atmosfera otimizada para o minimamente processado, considerando-se a aplicação destas técnicas de conservação em associação e seu reflexo sobre a atividade fisiológica, varia enormemente com as espécies e cultivares empregadas (WATADA et al., 1996).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTRUTURAÇÃO DA PESQUISA

A execução do projeto de pesquisa foi conduzida em duas etapas, sendo em ambas empregada a alface americana 'Lorca' minimamente processada. A primeira etapa (1ª Etapa) objetivou a determinação da composição gasosa mais favorável a manutenção das características de qualidade da alface e, assim, a especificação da mistura de gases a ser injetada na ocasião do acondicionamento do produto (2ª Etapa). Para tanto foram conduzidos três experimentos constituídos pelo armazenamento em atmosfera controlada, com a alface minimamente processada em cortes de aproximadamente 30x30mm e exposta a diferentes misturas gasosas a 5 e 8°C. Nos dois primeiros experimentos, a alface foi avaliada no decorrer da estocagem em relação a parâmetros químicos e atributos sensoriais, sendo submetida a 5°C no primeiro experimento e a 8°C no segundo. A fim de determinar os parâmetros funcionais do filme plástico empregado no acondicionamento do produto em atmosfera modificada ativa, o terceiro experimento correspondeu a um estudo fisiológico que avaliou a atividade respiratória da alface no decorrer da estocagem a 5 e 8°C em atmosfera controlada, estando exposta a misturas de gases selecionadas nos experimentos anteriores.

A segunda etapa (2ª Etapa) abrangeu o estudo da estabilidade da alface em dois sistemas de embalagem, ou seja, sua capacidade de conservação em atmosfera modificada ativa a 5 e 8°C. Por intermédio dos dados coletados no experimento respiratório sob atmosfera controlada (1ª Etapa), com armazenamento a 5 e 8°C na composição gasosa favorável à conservação, o CETEA, Centro de Tecnologia de Embalagens, pertencente ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) localizado em Campinas/SP, especificou os parâmetros funcionais de um filme plástico apropriado ao acondicionamento da alface, constituindo uma embalagem não comercial. A empresa fornecedora deste filme foi a Parnaplast Indústria de Plásticos Ltda, localizada na cidade de Araucária/PR. O outro filme empregado referiu-se a um filme utilizado pela empresa Moinho Verde "Fresh Cut" na comercialização da alface americana minimamente processada.

O projeto foi desenvolvido junto às instituições de pesquisa CETEA e CTAA, Centro de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, EMBRAPA/RJ, através da utilização de seus laboratórios. A empresa Thompson Processadora de Alimentos In Natura Ltda, nome fantasia Moinho Verde "Fresh Cut", situada no município de Itaipava/RJ, respondeu pelo processamento da matéria-prima utilizada na montagem dos experimentos,

disponibilizando sua linha de produção e seus operadores. O órgão executor foi a Faculdade de Engenharia Agrícola, FEAGRI, da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. No CETEA foi utilizado o laboratório de Cromatografia Gasosa, enquanto no CTAA foi empregada a infra-estrutura dos laboratórios de Tecnologia Pós-Colheita, de Análise Sensorial e de Patologia de Pós-Colheita.

4.2 MATÉRIA-PRIMA

A 'Lorca', cultivar pertencente à variedade americana, foi empregada para o desenvolvimento dos experimentos por ser plantada durante o ano todo na região de Itaipava/RJ. A cultivar selecionada apresenta tolerância à queimadura da borda das folhas e é menos suscetível a doenças em geral, com ciclo vegetativo médio de 65 dias. A lavoura fornecedora da matéria-prima localizava-se a 10 km da indústria de processamento.

Anteriormente à colheita referente à 1ª Etapa desta pesquisa, em meados de agosto de 2000, foi efetuada a determinação da qualidade da água utilizada na lavoura produtora, tanto da fonte como a de irrigação, coletada junto ao aspersor, considerando-se a quantificação do Grupo Coliformes, fecais e totais. A contagem para os coliformes totais, tanto da fonte quanto do aspersor, resultou em 1,5NMP/100mL, enquanto para os fecais a contagem foi inferior a 0,3 e 0,9NMP/100mL, respectivamente, para as amostras colhidas na fonte e no aspersor. Os dados obtidos comprovaram a boa qualidade sanitária da água empregada pelo produtor.

4.2.1 COLHEITA

As colheitas destinadas à execução da 1ª Etapa, constituindo os experimentos estocados a 5 e 8°C em atmosfera controlada, foram realizadas em outubro e novembro de 2000, respectivamente, estando as cabeças de alface 'Lorca' com 65 dias após a semeadura.

A colheita da matéria-prima empregada na instalação do experimento respiratório ocorreu em setembro de 2001, enquanto a colheita para a execução do experimento em atmosfera modificada, 2ª Etapa, procedeu-se em dezembro de 2002 e em ambos os experimentos as cabeças de alface também encontravam-se com 65 dias.

Para as colheitas, ocorridas no final da tarde, utilizou-se faca e nesta operação foram descartadas as cabeças mal formadas (deformadas) e aquelas que apresentavam defeitos graves, como podridão e lesões decorrentes de pragas e doenças, descoloração e queimadura de sol, além de terem sido eliminadas as folhas mais externas e sujas

(superficiais), reduzindo a fonte de inóculo. As cabeças de alface selecionadas foram acondicionadas em caixas plásticas e rapidamente transportadas à empresa Moinho Verde. Chegando à empresa, a matéria-prima foi imediatamente colocada em câmara fria de recepção, com temperatura em torno de 12°C, visando à redução do calor de campo do produto, permanecendo sob refrigeração até o momento do processamento mínimo, realizado a partir das 20:30h.

4.3 PROCESSAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA

O processamento foi realizado em linha de produção comercial, na empresa Moinho Verde, devido à elevada quantidade de alface minimamente processada requerida por experimento, aproximadamente 90kg, considerando-se o acondicionamento de 4kg de produto por microcâmara constituinte do sistema automatizado de atmosfera controlada.

A linha de processamento apresentava ambiente climatizado, com temperatura variando de 12 a 16°C, e englobava as seguintes operações: pré-lavagem e/ou pré-resfriamento em água com temperatura em torno de 9 a 12°C e com adição de 1% de tensoativo, à base de gordura de coco e óleo de soja; corte, em formato quadrangular de 30x30mm, aproximadamente, através de fatiador com esteira móvel e lâminas circulares; sanificação por 3min em dois banhos, sob agitação, utilizando tanques de lavagem de 600L, com a temperatura da água na faixa de 9 a 12°C e com o pH inferior a 6,8, sendo o primeiro banho com hipoclorito de sódio, em concentração variando de 150 a 200µL/L de Cl livre, através de tanque basculante com turbilhonamento da solução, e o segundo banho com ozônio, a 5ppm, em um lavador contínuo com esteira de enxágüe adaptada para operar com água ozonizada; centrifugação em centrífuga com capacidade aproximada de 7kg, sendo operada com 3,5kg de alface por aproximadamente 80 a 90s em 750rpm, com força centrífuga relativa equivalente a 2,77g; seleção, realizada em mesas de aço-inox; pesagem e embalagem, com emprego de atmosfera modificada, sendo realizado vácuo parcial.

O resfriamento do sistema de água, assim como as dosagens do hipoclorito de sódio e do ozônio, foram 'de linha', sendo constante o monitoramento do ozônio residual próximo à lavadora. Anteriormente à entrada da matéria-prima na linha de processamento, os funcionários, que trabalharam com tocas e luvas descartáveis, botas e aventais, lavaram e sanificaram todos os equipamentos, assim como trocaram as luvas de manipulação, além de sanificarem as mesmas no decorrer do processo com sabão bactericida e álcool em gel a 70%.

Na ocasião do início do processamento da matéria-prima e antes desta ser submetida à operação de pré-lavagem e/ou pré-resfriamento, as caixas plásticas foram pesadas, para o cálculo do rendimento do processamento, e a temperatura do centro de 16 cabeças de alface foi mensurada. Em seguida, as cabeças de alface sofreram a operação de toalete, sendo retiradas as folhas mais externas e sujas, além do coração, e foram imersas nos tanques de pré-lavagem. As folhas mais internas, amarelecidas, foram descartadas posteriormente no decorrer da operação de seleção, em mesas de aço-inox.

Nos tanques de sanificação foram colocados em torno de 7kg de alface processada, constituindo um lote de produto a ser sanificado, permanecendo o lote nos banhos com hipoclorito de sódio e ozônio por aproximadamente 3min. Durante a operação de sanificação foi realizado o monitoramento da temperatura, dos valores de pH e da concentração de hipoclorito de sódio da solução, antes e após a entrada de um lote do produto processado nos tanques de sanificação, havendo também a determinação do residual de ozônio próximo da lavadora. No decorrer de 1h30min de processamento, este monitoramento foi realizado no início do processo, antes da entrada do primeiro lote de produto nos banhos, e a cada 45min, constituindo três medições. Os valores de pH foram estimados através de kit colorimétrico da marca Genko-Genkit Cl/pH, o qual não se mostrou apropriado devido a sua ampla escala colorimétrica, enquanto o teor de Cl livre foi estimado com papel indicador Blue Ridge, com escala abrangendo as concentrações de 50, 100, 150 e 200ppm. Foram cronometrados os tempos dos banhos de sanificação e do intervalo de centrifugação. De acordo com SASAKI (2000), KONDO (1998) e PSILLAKIS (1999), a operação de sanificação varia de 3 a 5min em linhas de processamento.

Após as operações de pré-lavagem e de sanificação, foram coletadas cerca de 200g de amostra de alface para a determinação qualitativa de *Salmonella* spp e quantitativa de *Pseudomonas* spp, microrganismos psicrotóxicos e do grupo Coliformes. As amostras, colhidas com pinça estéril e lamparina, foram acondicionadas em frascos estéreis e herméticos e transportadas em caixas de poliestireno expandido, que continha gelo, até o Laboratório de Microbiologia e Patologia de Pós-Colheita, localizado no CTAA. Por intermédio de placas de PCA, foi avaliado o grau de contaminação do ambiente de processo e da luva de manipulação de um operador da mesa de seleção, através da abertura das placas por 20min e do “toque” nas mesmas.

A alface minimamente processada foi acondicionada em filmes plásticos com capacidade de 1kg e com a utilização de atmosfera modificada, sendo efetuado um vácuo parcial. Após o acondicionamento foi realizada a pesagem do produto final e o valor

obtido, associado ao valor da pesagem das caixas plásticas com as cabeças de alface no início do processo, foi usado para o cálculo do rendimento da operação de processamento. As embalagens foram armazenadas em câmara fria de estocagem durante a noite, estando a temperatura em torno de 4 a 5°C, aproximadamente, e na manhã seguinte foram transportadas até o CTAA por veículo refrigerado. Na chegada ao CTAA, às 6:00h, a temperatura registrada no veículo variou de 6 a 7°C.

4.4 ESTUDO EM ATMOSFERA CONTROLADA – 1ª ETAPA

Na 1ª Etapa desta pesquisa foi empregado um sistema automatizado de atmosfera controlada constituído por microcâmaras herméticas, com capacidade de 145L e dimensões de 700x520x400mm, por unidade. As microcâmaras, dotadas de porta acrílica transparente para permitir a visualização do produto em seu interior, foram instaladas em câmaras frias e encontravam-se conectadas ao sistema computadorizado e a cilindros de gases acoplados a três fluxômetros, dois com fluxo de 25L/min e um com fluxo de 5L/min, além de um analisador de O₂ e CO₂ que fornecia as concentrações destes gases em porcentagem. Ainda com relação às microcâmaras, cada uma apresentava um ventilador interno, responsável pela homogeneização da atmosfera durante as injeções gasosas e no decorrer da leitura do analisador, além de possuir externamente um 'respiro', uma válvula que permitia o escape do excesso de pressão, aberto apenas nas circunstâncias de purgação, eliminação da atmosfera existente com N₂, e de injeções manuais longas. Para o caso de injeções curtas ou automáticas, desencadeadas pelo sistema, havia um sifão acoplado à porta transparente, impedindo o excesso de pressão e a contaminação da atmosfera interna, controlada, pela externa, ambiente.

O sistema apresentava um software responsável pelo funcionamento de cada microcâmara, sendo o acionamento baseado na configuração destas em relação à composição gasosa requerida e à histerese desejada para o O₂ e o CO₂ (concentrações máximas e mínimas estipuladas), além dos tempos determinados para a injeção automática dos gases N₂, O₂ e CO₂, e o intervalo para a adsorção do CO₂, respondendo pela correção automática das mesmas. O sistema realizava esta adsorção de CO₂ através de uma solução de hidróxido de potássio em concentração de 30%. Por intermédio da configuração, o software também estipulava o tempo gasto pelo analisador para a leitura das microcâmaras e, por conseguinte, especificava o intervalo de tempo para o retorno da operação de leitura à primeira microcâmara, após percorrer as demais. Desta forma, as atmosferas das microcâmaras foram monitoradas continuamente através do analisador de gases. No caso da atmosfera lida encontrar-se fora da histerese para CO₂, o sistema

ordenava o acionamento do adsorvedor de CO₂, concentração acima da histerese, ou a injeção de CO₂ (puro) com fluxo de 5L/min, concentração abaixo da histerese, de acordo com os tempos configurados para adsorção ou alimentação (injeção) deste gás. No caso da concentração lida de O₂ estar fora da histerese, o sistema acionava a injeção de N₂, com fluxo de 25L/min, concentração acima da histerese, ou a injeção de O₂, concentração abaixo da histerese. Após verificar, através da leitura do analisador, que a atmosfera encontrava-se fora da histerese, o procedimento do sistema era corrigir primeiro o CO₂ e posteriormente o O₂, fazendo a primeira correção, relendo a atmosfera, fazendo a segunda correção, se necessária, e passando, em seguida, à próxima microcâmara.

Havia a possibilidade de utilizar o sistema manual para a correção da atmosfera das microcâmaras, porém, este se fazia realmente necessário na ocasião da instalação do experimento, tanto para purgar a atmosfera ambiente predominante nas microcâmaras quanto para injetar as misturas gasosas em estudo. Na instalação dos experimentos, a operação preliminar referia-se à configuração do sistema, subseqüentemente e através da utilização dos fluxômetros de 25L/min, realizava-se a operação de purgação (injeção de N₂) das microcâmaras e, em seguida, a injeção das misturas gasosas a serem estudadas, contidas em cilindros de gases acoplados ao sistema.

4.4.1 INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE ARMAZENAMENTO

A alface minimamente processada foi armazenada por 15 e 13 dias em microcâmaras herméticas mantidas a 5 e 8°C, sendo exposta a atmosferas constituídas por diferentes concentrações dos gases O₂ e CO₂, estabelecendo-se quatro tratamentos por temperatura de estocagem. As misturas de gases selecionadas para o experimento a 5°C foram 3%O₂ + 10%CO₂ (**310**), 3%O₂ + 12%CO₂ (**312**), 5%O₂ + 10%CO₂ (**510**) e ar atmosférico (**controle**) (LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 1996a; BARRIGA et al., 1991), enquanto as aplicadas no experimento a 8°C foram 1%O₂ + 10%CO₂ (**110**), 1%O₂ + 12%CO₂ (**112**), 3%O₂ + 12%CO₂ (**312**) e ar atmosférico (**controle**) (LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 1996a; CANTWELL, 1995; BALLANTYNE et al., 1988; CANTWELL, 2000). Os termos que se encontram em negrito referem-se às denominações usadas para os diferentes tratamentos no item Resultados e Discussão. A tentativa de estocagem do produto por 15 dias foi decorrente de artigos científicos que relatam o armazenamento da alface americana minimamente processada, seja em atmosfera controlada (AC) ou em atmosfera modificada ativa (AMA), por períodos de 12, 14 e 15 dias sob 5°C, segundo BARRIGA et al. (1991), BALLANTYNE et al. (1988) e LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996a), respectivamente. Com relação às temperaturas utilizadas, a alface processada é

estocada e distribuída por veículos refrigerados sob temperaturas variando de 4 a 6°C, além de 5°C referir-se à temperatura limite ideal para a conservação desta hortaliça. A temperatura de 8°C foi escolhida por representar uma temperatura comum em gôndolas de venda a varejo para vegetais minimamente processados. Segundo WATADA et al. (1996), muitos produtos minimamente processados são preparados e armazenados a 5°C, enquanto a temperatura de comercialização, normalmente, encontra-se na faixa de 8 a 10°C.

Em decorrência das avaliações microbiológicas, dois dias antes da instalação dos experimentos, as câmaras frias e as microcâmaras foram sanificadas com água sanitária, em concentração de 300ppm de Cl livre, e após a secagem destas, no interior das microcâmaras foi aplicado álcool 70%. Posteriormente à operação de sanificação, a temperatura das câmaras frias foi ajustada. Na manhã do processamento, o sistema de atmosfera controlada foi configurado, de acordo com as atmosferas previamente selecionadas e considerando os tempos de leitura e injeção de gases utilizados em pré-testes. A histerese fixada para o O₂ e CO₂ foi de 0,3 e 0,6%, respectivamente, e o tempo de leitura do analisador foi estipulado em 350s, para cada microcâmara. Os tempos configurados para injeções (O₂, CO₂ e N₂) e adsorção (CO₂) automáticas variaram em função da atmosfera requerida, assim como de acordo com o funcionamento de cada microcâmara, considerando a alteração das atmosferas internas no decorrer dos primeiros dias de experimento.

Chegando ao CTAA, a alface foi removida das embalagens e distribuída em caixas plásticas perfuradas no fundo e nas laterais, possibilitando a circulação da mistura gasosa através do produto, sendo acondicionados 2kg por caixa. Posteriormente, foram colocadas duas caixas plásticas por microcâmara, uma sobre a outra, sendo as portas acrílicas fechadas hermeticamente com silicone e várias arruelas e parafusos. A operação seguinte referiu-se a purgação de cada microcâmara com N₂ durante 750s, em fluxo de 20L/min e com o 'respiro' da microcâmara aberto, resultando em uma atmosfera residual de 3%O₂ e 0,3%CO₂, aproximadamente. Subseqüentemente, conectou-se aos fluxômetros os cilindros das misturas gasosas e procedeu-se a injeção das mesmas por 900s, em suas respectivas microcâmaras, com fluxo de 20L/min e permanecendo o 'respiro' aberto. Após as operações de purgação e injeção das misturas gasosas, os 'respiros' foram fechados e a atmosfera interna de cada microcâmara foi lida pelo analisador de gases. Os cilindros das misturas foram desconectados dos fluxômetros e os cilindros de N₂ e CO₂, conectados. Os sifões, destinados ao escape do excesso de pressão interna proveniente das injeções manuais ou automáticas curtas, foram

acoplados na porta das microcâmaras. Posteriormente à instalação dos experimentos, o monitoramento das atmosferas foi automático e realizado pelo analisador de O₂ e CO₂, porém, quando a atmosfera encontrava-se demasiadamente diferente da pré-determinada e no caso da demora excessiva do sistema em sua autocorreção, foram realizados ajustes manuais das mesmas.

As avaliações foram executadas na ocasião da instalação dos experimentos e após 4, 8, 11, 13 e 15 dias de estocagem, constituindo seis épocas de avaliação, exceção feita ao experimento a 8°C, composto por cinco épocas de avaliação, com período de estocagem equivalente a 13 dias. Em cada época de avaliação, foram abertas quatro microcâmaras, uma por tratamento e, nesta ocasião, em virtude das avaliações microbiológicas, foi utilizada pinça estéril e lamparina para a coleta de aproximadamente 300g de alface. Em seguida, foram retiradas 500g para as análises químicas e 800g para a avaliação sensorial. Considerando-se que foram colocadas duas caixas plásticas por microcâmara, com 2kg de alface por caixa, as amostras destinadas às diversas análises foram compostas por alface retirada de ambas as caixas plásticas, constituindo-se amostras compostas.

As análises químicas foram realizadas em triplicata, enquanto as sensoriais e microbiológicas, em duplicata. Os parâmetros químicos avaliados referiram-se a valores de pH e teores de acidez titulável, sólidos solúveis e clorofila total, enquanto os parâmetros sensoriais estudados foram intensidade da cor verde, turgidez, escurecimento de nervuras, escurecimento de bordas, aspecto cozido, aparecimento de manchas escuras e impressão global da aparência. As análises microbiológicas compreenderam análises quantitativas de coliformes totais e fecais, bactérias psicrotróficas e do gênero *Pseudomonadaceae*, além da avaliação qualitativa de *Salmonella* spp.

4.4.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO RESPIRATÓRIO

Na ocasião da instalação do experimento respiratório, observou-se constante oscilação da pressão de entrada no analisador de gases, acarretando instabilidade e imprecisão na leitura das atmosferas das microcâmaras. Como a leitura do analisador comanda o sistema automático e contínuo de correção das atmosferas, tornou-se inviável o monitoramento e a correção destas através do mesmo. Portanto, a execução do experimento respiratório em atmosfera controlada, que contemplou a aplicação das atmosferas mais promissoras à conservação da alface, provenientes dos experimentos anteriores, tornou-se impraticável pelo sistema automatizado. A realização deste experimento foi possível através do controle e da correção manual das atmosferas por

intermédio da leitura em cromatografia gasosa. Em contrapartida, considerando-se o tempo de corrida do cromatógrafo, correspondente à 15min por amostra, e a realização das análises em duplicata, além do tempo requerido para a correção da atmosfera dos tratamentos após a leitura, a execução desta avaliação demandou muito tempo. Por conseguinte, estipulou-se uma histerese mais ampla para este experimento, sendo de 0,6% para o O₂ e de 1% para o CO₂. Houve a necessidade de se adaptar um sistema para a coleta das alíquotas injetadas no cromatográfico. Para tanto, foi acoplada uma mangueira flexível e revestida por silicone na parte posterior do analisador de gases, com aproximadamente 7cm de comprimento e trocado a cada época de avaliação.

Em decorrência da semelhança de notas atribuídas pela equipe sensorial as misturas de gases 1%O₂ + 10%CO₂ e 1%O₂ + 12%CO₂, aplicadas em regime controlado no armazenamento a 8°C, optou-se pela aplicação de ambas as atmosferas no experimento respiratório. A montagem deste experimento foi efetuada da mesma maneira descrita para os experimentos anteriores, empregando-se 30kg de alface minimamente processada e estabelecendo-se seis tratamentos, três por temperatura de estocagem, sendo estes: 1%O₂ + 10%CO₂ (**110**), 1%O₂ + 12%CO₂ (**112**) e ar atmosférico (**controle**). Após a injeção das misturas de gases, foram coletadas alíquotas de 0,5mL, em duplicata, de cada microcâmara e injetadas no cromatógrafo para a verificação e correção, se necessária, da atmosfera estabelecida. As microcâmaras que se encontravam fora das concentrações pré-determinadas foram corrigidas manualmente, sendo em seguida coletadas novas alíquotas de 0,5mL, em duplicata, para aplicação no cromatógrafo. O procedimento descrito ocorreu até o estabelecimento da atmosfera requerida e, nesta ocasião, a leitura do cromatógrafo foi considerada a leitura inicial do tratamento.

A princípio, as avaliações foram realizadas a cada 24h, porém, em virtude da mudança mínima das atmosferas neste período de tempo, o intervalo de avaliação passou para 48h. De uma época de avaliação para outra, as microcâmaras permaneceram desligadas, sendo religadas apenas na ocasião da retirada de uma nova alíquota para leitura em cromatografia. As injeções no cromatógrafo foram realizadas sempre no mesmo horário e, após as duas injeções por microcâmara, a mesma foi corrigida manualmente, obedecendo à histerese estipulada. Em seguida, foram realizadas mais duas injeções da mesma microcâmara no cromatógrafo, visando conferir a correção realizada e o estabelecimento da atmosfera requerida. No caso da atmosfera estar dentro da histerese estipulada, a microcâmara foi desligada até a época de avaliação subsequente. As análises sensoriais, executadas em duplicata, foram realizadas na instalação do experimento (amostra inicial) e no 15^o dia, no término do mesmo.

4.5. INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO DA 2ª ETAPA

O projeto de pesquisa abrangeu o acondicionamento da alface minimamente processada em dois filmes plásticos laminados e sob atmosfera modificada ativa, constituindo dois sistemas de embalagem armazenados a 5 e 8°C por 14 dias, estabelecendo-se quatro tratamentos.

A atmosfera injetada na ocasião do acondicionamento referiu-se à mistura gasosa constituída por 1%O₂ + 10%CO₂ (**110**), determinada através dos estudos em atmosfera controlada como a mais propícia à conservação da alface 'Lorca'. O filme da empresa Parnaplast foi composto por polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade linear (BOPP/PEBDL), com 85µm de espessura total e área útil de 20x24cm, o qual foi denominado HP. O outro filme, empregado comercialmente, foi constituído por polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade (BOPP/PEBD), com 65µm de espessura total e área útil de 20x26cm, sendo nomeado MV.

Embora semelhantes na composição polimérica, os filmes utilizados apresentaram diferenças consideráveis quanto à espessura total e, por conseguinte, à permeação ao O₂ e CO₂. As taxas de permeabilidade dos filmes encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros funcionais dos filmes plásticos empregados no acondicionamento da alface americana 'Lorca' minimamente processada

Composição Polimérica	Características		
	TPCO ₂ ⁽³⁾	TPO ₂ ⁽⁴⁾	Espessura (µm)
BOPP/PEBDL ⁽¹⁾	4205,5	841,1	85
BOPP/PEBD ⁽²⁾	7506,0	1409,3	65

(1) BOPP/PEBDL, polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade linear, designado HP;

(2) BOPP/PEBD, polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade, designado MV;

(3) Taxa média de permeabilidade ao CO₂, expressa em cm³ (CNTP)/m².dia;

(4) Taxa média de permeabilidade ao O₂, expressa em cm³ (CNTP)/m².dia.

Posteriormente à operação de sanificação das câmaras frias, realizada de forma equivalente à descrita para os experimentos anteriores, e após o ajuste da temperatura, foi colocado um termohigrógrafo no interior das mesmas.

Na instalação do experimento, foram empregados 60kg de alface minimamente processada. Para tanto, lotes de 200g de alface foram acondicionados em ambos os filmes plásticos, HP e MV, totalizando 300 embalagens (amostras), com 150 unidades de cada filme. As embalagens foram submetidas à injeção da mistura gasosa pré-

estabelecida, 1%O₂ + 10%CO₂, e seladas a quente. Com a finalidade de ajustar a seladora quanto ao nível de vácuo parcial e à pressão da injeção, assim como ao tempo da injeção da mistura gasosa, foi utilizado um analisador de O₂ e CO₂ portátil e similar ao empregado no sistema automatizado de atmosfera controlada, fornecendo as concentrações dos gases em percentagem. Após aderir septos de silicone à superfície das embalagens, na porção superior, e adaptar uma agulha de seringa ao filtro de ar do aparelho, foi possível a especificação da atmosfera de acondicionamento e, por conseguinte, o ajuste da seladora. As concentrações médias de O₂ e CO₂ no espaço-livre das embalagens, subseqüentemente à selagem, foram equivalentes a 0,8 e 10,5, respectivamente, sendo estes valores médios considerados a composição gasosa inicial no espaço-livre das embalagens. Subseqüentemente à selagem, as embalagens foram estocadas, por uma noite, na câmara fria da empresa processadora, com temperatura na faixa de 5°C, e na manhã seguinte transportadas ao CTAA por veículo de transporte refrigerado, com temperatura correspondente a 6,5°C. Chegando ao CTAA às 6:30h, as 150 embalagens de cada filme foram separadas em dois lotes de 75 unidades, e cada lote estocado em câmara fria a 5 e 8°C. Portanto, em cada câmara fria foram estocadas 75 embalagens de cada filme (HP e MV), constituindo dois tratamentos por temperatura de armazenamento. Antes da estocagem refrigerada, as embalagens foram acondicionadas em caixas plásticas perfuradas no fundo e nas laterais.

Os efeitos dos tratamentos sobre os atributos de qualidade foram determinados em duplicata para as análises químicas e bioquímica, sensoriais e microbiológicas. As avaliações ocorreram na ocasião da montagem do experimento e aos 2, 5, 8, 12 e 14 dias de armazenamento. O maior intervalo entre a quarta e a quinta época de avaliação (8º e 12º dia) e o encerramento do experimento no 14º dia de estocagem, foi decorrente da pouca disponibilidade da equipe sensorial no período.

4.6 ANÁLISES REALIZADAS

4.6.1 TAXA RESPIRATÓRIA

As determinações da taxa respiratória, 1ª Etapa, foram realizadas através de cromatógrafo a gás, modelo Finigann 9001, operando com detector de condutividade térmica a 100°C, detetor de ionização de chama a 300°C, forno (colunas Peneira Molecular e Porapaq N) a 50°C e injetor a 70°C, utilizando como gás de arraste o hidrogênio. As amostras foram constituídas por alíquotas de 0,5mL, obtidas por seringa hermética, própria para cromatografia gasosa. As taxas de produção de CO₂, obtidas em

duplicata com base em curvas padrões feitas com gases de calibração, foram expressas em mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

4.6.2 ANÁLISES QUÍMICAS

As análises químicas e bioquímicas foram realizadas através de um homogenato obtido primeiramente pela trituração das amostras da alface minimamente processada em centrífuga doméstica da marca Walita, modelo Tutti Frutti - HL3242, originando uma porção sólida (bagaço) e outra líquida (suco), sendo as mesmas trituradas e homogeneizadas por 3min em Blender, “Waring Commercial Blendder Laboratory”, na velocidade 5.

- Acidez titulável: o teor de acidez foi determinado de acordo com FREIRE JUNIOR (1999). Foram pesadas 10g do homogenato em bécher de 100mL, houve a diluição em 30mL de água descarbonizada (livre de CO₂) e, subseqüentemente, a transferência quantitativa para balão volumétrico de 100mL, sendo avolumado com água descarbonizada. Para retirar o CO₂ da amostra a ser titulada, o balão foi submetido por 15min a um aparelho de ultra-som, da marca Branson e modelo 2210, e em seguida, a amostra foi filtrada. Foram pipetados 50mL da amostra em becher de 80mL e a acidez titulável determinada através de titulador automático, marca Schott Gerate e modelo Titoline96, com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,01N, até o potenciômetro atingir o valor de pH 8,1, com anterior calibração do equipamento em solução tampão de pH 4,0 e 7,0. Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico;
- pH: foi medido por potenciometria através do titulador automático Tritoline96, com a imersão do eletrodo na amostra de 50mL utilizada para a determinação da acidez titulável;
- Sólidos solúveis: o teor foi determinado através da leitura do homogenato em refratômetro de Abbé, marca Carl-Zeiss - JENA, com precisão de 0,1, segundo BOLIN & HUXSOLL (1991). Os resultados foram expressos em °Brix, após a devida correção da leitura de acordo com a temperatura do homogenato;
- Clorofila Total: o teor de clorofila total foi obtido conforme BRUINSMA (1963). Foram pesadas 2g do homogenato e adicionados 30mL de acetona 80%, com posterior homogeneização em homogeneizador do tipo politron, “Omni Mixer Line”, por 2min na

velocidade 5. Em seguida, procedeu-se a filtração, em papel Whatman nº1, para balão volumétrico de 50mL. Lavou-se por 3 vezes o resíduo da filtração e avolumou-se o balão com acetona 80%. A leitura do extrato foi realizada em espectrofotômetro a 645nm e os resultados foram expressos em mg de clorofila total/100g de amostra. No decorrer desta análise a iluminação do laboratório foi desligada e os balões volumétricos foram envoltos com papel alumínio.

4.6.3 ANÁLISES SENSORIAIS

4.6.3.1 TREINAMENTO DA EQUIPE SENSORIAL

A equipe sensorial foi constituída por oito provadores, de ambos os sexos, inclusos pesquisadores, técnicos e estagiários do CTAA. Anteriormente ao início dos experimentos, no Laboratório de Análise Sensorial, foi realizado o treinamento da equipe sensorial. O treinamento objetivou o reconhecimento dos sintomas relacionados a senescência da alface minimamente processada ou à depreciação de sua qualidade, visando o levantamento dos atributos relevantes aos olhos dos provadores, além da familiaridade da equipe com os mesmos. Nesta ocasião, os provadores tiveram a oportunidade de discutir e chegar a um consenso sobre os atributos avaliados.

Para a avaliação dos experimentos em atmosfera controlada, 1ª Etapa, o treinamento abrangeu atributos relacionados à percepção visual, considerando a aparência da alface. Amostras de 80g, aproximadamente, da alface 'Lorca' minimamente processada em diferentes estádios de conservação foram oferecidas codificadas aos membros da equipe em bandejas de aço-inox, dimensões de 0,28x0,19x0,05m, com fundo forrado por folha de sulfite branca e cobertas com filme de PVC esticável (cloreto de polivinila). No treinamento destinado a avaliação do experimento em atmosfera modificada ativa, 2ª Etapa, foram acrescentados atributos relativos à percepção olfativa, compreendendo o aroma da alface. A equipe sensorial foi treinada para avaliação dos atributos de aroma de forma similar a empregada para os atributos de aparência, através de embalagens, com 200g cada, de alface 'Lorca' minimamente processada em diferentes estádios de conservação. As embalagens foram revestidas com papel alumínio e codificadas, sendo abertas na extremidade superior na ocasião da avaliação. A cobertura externa da embalagem objetivou a não interferência do aspecto do produto e da embalagem na avaliação sensorial. A Tabela 2 apresenta os referidos atributos e suas definições.

Tabela 2: Atributos sensoriais referentes a aparência e aroma da alface ‘Lorca’ minimamente processada, e as respectivas definições apresentadas pelos provadores.

ATRIBUTOS	DEFINIÇÕES
APARÊNCIA - PERCEPÇÃO VISUAL	
Intensidade da cor verde	Tonalidade do verde característico da alface americana ‘Lorca’;
Turgidez	Aspecto viçoso e saudável da alface fresca;
Escurecimento de nervuras	Áreas avermelhadas e/ou amarronzadas localizadas na região de corte da nervura central;
Escurecimento de bordas	Áreas avermelhadas e/ou amarronzadas localizadas na extremidade das folhas ou na região de corte do limbo foliar;
Cozido	Aspecto amolecido, deteriorado, enegrecido e melado, apresentando exsudação;
Aparecimento de manchas escuras	Sintomas da “russet spotting”, pontuações uniformes e avermelhas localizadas na nervura central;
Impressão Global da aparência	Aspecto geral, abrangendo todos os demais atributos que conferem qualidade;
AROMA – PERCEPÇÃO OLFATIVA	
Aroma característico	Aroma da alface fresca;
Aroma fermentado	Cheiro desagradável da alface fermentada ou em estágio avançado de deterioração.

Depois da definição dos atributos e da diferenciação dos graus de depreciação destes, considerando amostras com diferentes intensidades de cada parâmetro, procedeu-se o treinamento nas escalas sensoriais. Utilizou-se escalas não estruturadas de nove pontos, sendo os termos empregados nas mesmas definidos pela equipe de provadores. Foram desenvolvidas duas fichas sensoriais, a primeira para o treinamento dos atributos vinculados a aparência, utilizada nos experimentos em atmosfera controlada (Anexo 1), enquanto a segunda foi empregada para o treinamento dos parâmetros do aroma, empregada no experimento em atmosfera modificada ativa (Anexo 2).

No período de março a junho de 2000 procedeu-se o treinamento da equipe em relação aos atributos sensoriais da aparência, enquanto de setembro a novembro de 2001 foi executado o treinamento referente aos atributos correspondentes ao aroma, sendo

estes avaliados apenas no experimento abrangendo atmosfera modificada ativa. Após a familiarização com as fichas sensoriais e com a avaliação de várias amostras concomitantemente, e estando as notas atribuídas pelos diferentes provadores próximas umas das outras, foram iniciados os respectivos experimentos.

4.6.3.2 AVALIAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

As avaliações sensoriais foram executadas em cabines de prova do Laboratório de Análise Sensorial, sob iluminação branca (simulando a luz do dia), após as amostras entrarem em equilíbrio com a temperatura ambiente. A cada época de avaliação, as amostras dos tratamentos, constituídas por 130g cada, foram codificadas com números aleatórios de três dígitos e colocadas em bandejas de aço-inox, da mesma forma que foi empregada no treinamento, sendo avaliadas através das fichas sensoriais, havendo uma ficha para cada amostra. A avaliação sensorial foi realizada através das escalas numéricas utilizadas nos treinamentos, ressaltando-se que os experimentos em atmosfera controlada contemplavam apenas atributos da aparência (Anexo 1), enquanto o experimento em atmosfera modificada ativa abrangeu também parâmetros de aroma (Anexo2). Para cada amostra, a intensidade do atributo em questão foi indicada marcando-se uma linha vertical ao longo da escala linear, com posterior transformação em valores numéricos (MONTEIRO, 1984; JELLINEK, 1985; MEILGAARD et al., 1987).

Nos experimentos da 1ª Etapa, com estocagem em atmosfera controlada, as avaliações foram realizadas no tempo zero, dia da montagem dos experimentos, e aos 4, 8, 11, 13 e 15 dias de armazenamento. No experimento da 2ª Etapa, armazenagem em atmosfera modificada ativa, as avaliações ocorreram na montagem do experimento e aos 2, 5, 8, 12 e 14 dias.

As amostras correspondentes aos tratamentos da 2ª Etapa não foram avaliadas nas embalagens, pois um dos polímeros empregados, o utilizado comercialmente e doado pela indústria processadora (filme denominado MV), encontrava-se impresso, podendo influenciar a avaliação dos participantes. Assim, anteriormente à avaliação das características da aparência, os atributos relativos à percepção olfativa foram avaliados nas embalagens, revestidas por papel alumínio, codificadas e abertas na porção superior para a referida análise. Em seguida, as embalagens foram totalmente abertas e as amostras, após pesadas 130g e novamente codificadas, foram oferecidas aos membros da equipe nas bandejas de aço-inox para a avaliação dos atributos relacionados a aparência.

4.6.3.3 TESTE DE CONSUMIDOR – 2ª ETAPA

O teste de consumidor determina a preferência ou a intenção de compra em relação a um produto específico, refere-se à análise realizada pelo público alvo do produto. Trata-se de avaliação importante pois possibilita detectar o momento que o consumidor começa a preferir o produto avaliado, ocasião em que o mesmo perde seu valor comercial ou sua vida útil.

Nas épocas de avaliação do experimento da 2ª Etapa, foram fornecidas a 80 funcionários do CTAA consumidores de alface, excluindo-se os membros da equipe treinada, 130g de cada amostra em bandejas de aço-inox forradas com sulfite branca e recobertas com PVC esticável. A avaliação ocorreu em cabines de prova, sob iluminação branca, e após as amostras entrarem em equilíbrio com a temperatura ambiente, sendo as mesmas codificadas com três números aleatórios. A intenção de compra foi avaliada em escala não estruturada de nove pontos, marcada nas extremidades com os termos “definitivamente não compraria” e “definitivamente compraria” (Anexo 3). As avaliações procederam na ocasião da instalação do experimento e aos 5, 8, 12 e 14 dias de armazenamento, sendo para cada amostra e em cada época de avaliação a intenção de compra indicada marcando-se uma linha vertical ao longo da escala linear, com posterior transformação em valores numéricos. Na última época de avaliação, 14^o dia, dados demográficos dos participantes foram coletados, através da ficha do perfil do consumidor (Anexo 4), para auxiliar na interpretação dos resultados.

4.6.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas, relacionadas aos experimentos em atmosfera controlada a 8°C (1ª Etapa) e em atmosfera modificada ativa (2ª Etapa), foram executadas no Laboratório de Patologia de Pós-Colheita (CTAA). A avaliação da população contaminante da alface ‘Lorca’ minimamente processada abrangeu a quantificação de microrganismos deterioradores e patogênico, sendo estes:

- Contagem total - microrganismos psicrotróficos deterioradores: em cada época de avaliação 25g de alface foram assepticamente transferidas para jarra de triturador previamente esterilizada, tipo Waring Blender, e homogeneizadas por 3min com 225mL de água peptonada estéril a 0,1%, obtendo-se uma fina e homogênea pasta. Subseqüentemente, diluições decimais em série foram preparadas usando 1mL da primeira diluição em 9mL de água peptonada a 0,1%. As placas, com meio de cultura próprio para contagem total, Plate Count Agar/Difco - PCA, foram incubadas por 10 dias a

7°C, para a contagem de psicrotóxicos, e por 48h a 35°C, para a contagem de mesófilos, considerados apenas na determinação da contaminação do ambiente de processamento. A leitura foi realizada em aparelho contador de colônias Quebec, modelo 3327, fabricado pela American Optical. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g).

- Coliformes totais e fecais (enterobactérias) e *Pseudomonas* spp.: o preparo das amostras foi similar ao descrito para a Contagem total, utilizando-se diluições sucessivas em tubos contendo 9mL do meio de cultura apropriado para cada caso. Para a contagem de *Pseudomonas* spp. foi utilizado caldo King B, com incubação a 30°C por 48h. Para as enterobactérias foi usado meio Fluorocult caldo LMX modificado, para identificação simultânea de coliformes totais e fecais, sendo que, após 48h de incubação a 35°C, o aparecimento de coloração azul esverdeada implicou na presença dos coliformes totais, enquanto a confirmação de fluorescência em luz ultra violeta indicou a população de coliformes fecais. A quantificação destes microrganismos foi realizada de acordo com procedimentos descritos por SPECK (1984) e HITCHINS et al. (1992), através da técnica do Número Mais Provável (NMP). Os resultados foram expressos em número mais provável por grama de amostra, NMP/g.

- *Salmonella* spp.- microrganismo patogênico: a determinação da presença ou ausência deste patógeno foi realizada por plaqueamento seletivo, segundo as técnicas descritas no “Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods” (VANDERZANT & SPLITTSLOSSER, 1992).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os principais métodos utilizados foram estatísticas descritivas, ajuste de modelos de delineamento e respectivas análises de variância (KEMPTHORNE, 1979), comparações de médias sucessivas pelo teste T-Student e correlações de Spearman (HOLLANDER, 1973), sendo empregado software SAS (1985).

As causas de variação nos experimentos foram:

1. Experimentos Químicos: tempo de armazenamento; amostra; interação dupla, amostra X tempo de armazenamento; erro e total. O delineamento foi em blocos incompletos.
2. Experimentos Sensoriais: provador; tempo de armazenamento; amostra; repetição; interação dupla, amostra X tempo de armazenamento; erro e total.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXPERIMENTO EM ATMOSFERA CONTROLADA A 5°C – 1ª ETAPA

5.1.1 MONITORAMENTO DO PROCESSAMENTO

Por ocasião da colheita das cabeças da cv. Lorca, foram processados 280kg de alface “in natura” no decorrer de 90min, dos quais obteve-se 117kg de produto minimamente processado, constituindo um rendimento de processo equivalente a 42%, aproximadamente. Antes de serem encaminhadas à linha de processamento, a temperatura média de 16 cabeças de alface foi 15,7°C, estando a câmara fria de recepção da matéria-prima a 14°C e o ambiente de processamento a 15°C.

O monitoramento das variáveis dos banhos de sanificação, constituído pelas medições da temperatura, do valor de pH e do teor de Cl livre destas soluções, foi realizado a cada 45min e compreendeu duas medições, além da inicial obtida antes da entrada do primeiro lote de produto nos banhos, sendo cada lote composto por aproximadamente 7kg de alface minimamente processada. Na medição inicial do banho de hipoclorito de sódio foram obtidos os valores de 10,6°C para a temperatura, teor de Cl na faixa de 150ppm e pH inferior a 6,8, sendo o valor de pH constante nas 3 medições em virtude da ampla escala colorimétrica do kit empregado, o qual não se mostrou eficiente. No momento da remoção do produto correspondente ao primeiro lote (medição inicial), após 3min, a temperatura elevou-se a 14,3°C, enquanto o teor de Cl e o pH não sofreram alteração. Após a retirada do lote final, decorridos 90min de processo, o valor da temperatura foi 15,5°C e o teor de Cl foi inferior a 100ppm, não atingindo a faixa colorimétrica equivalente a 50ppm. O valor inicial obtido para a temperatura do banho ozonizado foi de 9,5°C e o valor de pH foi inferior a 6,8, permanecendo constante. Decorrido 1min de imersão, aproximadamente, e após a remoção do primeiro lote de alface, a temperatura atingiu 10,2°C, e na retirada do último lote o valor mensurado foi de 10,7°C. No término desta sanificação, o teor residual de ozônio próximo à lavadora foi de 5ppm. O tempo de centrifugação empregado para cerca de 3,5kg de alface processada foi 80s.

5.1.2 ASPECTOS QUÍMICOS

Os valores médios referentes aos parâmetros pH, acidez titulável, sólidos solúveis e clorofila total encontram-se expostos na Tabela 3. Foram detectados efeitos

significativos ($p \leq 0,05$) do período de armazenamento e das atmosferas controladas (tratamentos) em todos os parâmetros químicos avaliados. Houve também efeitos da interação período de armazenamento X tratamentos, indicando que cada tratamento apresentou comportamento diferente dependendo do período de armazenamento.

O pH não apresentou um comportamento regular durante o armazenamento (Tabela 3). Todos os tratamentos exibiram diferença significativa em relação à amostra inicial no 4º dia, ocasião que as diferentes atmosferas controladas evidenciaram acréscimo dos valores do pH. De modo geral, os valores oscilaram no decorrer do armazenamento, porém, observou-se à tendência de acréscimo do 4º ao 13º dia, exceção feita ao tratamento controle que exibiu decréscimo contínuo do pH no referido período. Segundo KADER (1986), o acréscimo dos valores do pH para os produtos minimamente processados pode ser consequência do efeito do metabolismo do CO_2 ou o resultado de uma reação direta do tecido vegetal que eliminando o CO_2 , encaminhando-o para os vacúolos ou ao ambiente, visa diminuir o efeito acidificante proveniente do mesmo. Esta afirmação é coerente, visto que, no tratamento controle, com valores ínfimos de CO_2 , foi obtido decréscimo dos valores do pH do 4º ao 13º dia, além de exibir as menores médias para o parâmetro. O mesmo comportamento foi observado por SEABRA (1999) em brócolis minimamente processado e exposto à atmosfera ambiente a 5°C, notificando os menores valores do parâmetro além do decréscimo destes em comparação ao acréscimo obtido nas atmosferas controladas. Os tratamentos 510 (5% O_2 + 10% CO_2) e 312 (3% O_2 + 12% CO_2) apresentaram acréscimo significativo do pH do 8º ao 11º dia, enquanto no tratamento 310 (3% O_2 + 10% CO_2) a elevação ocorreu do 11º ao 13º dia, sugerindo um metabolismo mais lento na alface submetida a esta composição gasosa. A ausência de significância das médias em relação à amostra inicial no 8º dia do controle e no 15º dia do tratamento 310, provavelmente, pode ser atribuída a heterogeneidade das amostras no momento de sua coleta. Os valores de pH obtidos neste experimento foram inferiores aos relatados por BOLIN & HUXSOLL (1991) para a alface 'Iceberg' minimamente processada, embalada e estocada a 2°C, com valores equivalentes a 6,0, em média.

Os teores da acidez titulável apresentaram tendência a elevação com o decorrer do armazenamento, com a intensidade do acréscimo variando de acordo com o tratamento (Tabela 3). O controle respondeu pela maior alteração do parâmetro, exibiu as maiores médias e diferiu da amostra inicial no 4º dia de armazenamento, enquanto nos demais tratamentos a diferenciação com a avaliação inicial ocorreu no 8º dia. O comportamento relatado permitiu inferir sobre a maior atividade metabólica da alface exposta ao tratamento controle. SEABRA (1999) verificou que o brócolis armazenado sob

atmosfera ambiente apresentou os maiores valores da acidez, em comparação com os armazenados em atmosferas controladas. Observou-se que os teores da acidez foram coerentes com os valores do pH, visto que, o tratamento 310, responsável pelas maiores médias obtidas para o pH, exibiu os menores teores da acidez, enquanto o tratamento controle, que apresentou os menores valores do pH, mostrou as maiores médias para a acidez. Os teores da acidez titulável relatados neste experimento foram inferiores aos valores descritos por BOLIN & HUXSOLL (1991) para a alface 'Iceberg' pré-cortada, embalada e exposta a 2°C, com teores da ordem de 0,49%, e semelhantes aos descritos por FREIRE JR. (2000) na alface hidropônica 'Regina' minimamente processada, embalada e exposta a 2°C por 14 dias, com teores variando de 0,09 a 0,11%. A diferença observada em relação aos resultados reportados por BOLIN & HUXSOLL (1991), podem provavelmente ser atribuídos às condições edafo-climáticas pré-colheita e às características intrínsecas da cultivar em questão (VAROQUAUX et al., 1996).

Observou-se um comportamento irregular dos teores de sólidos solúveis (Tabela 3), embora tenha prevalecido a tendência de queda dos mesmos, considerando-se o valor inicial e o obtido na última época de avaliação, 15^o dia. A tendência de queda dos teores de sólidos solúveis é esperada, pois na tentativa de manter suas funções vitais, os açúcares, constituintes predominantes dos sólidos solúveis, são utilizados como substrato respiratório no decorrer da fase de senescência do produto. Em contrapartida pode ocorrer o acréscimo deste teor em decorrência da perda de água do produto estocado, havendo concentração dos sólidos solúveis e, por conseguinte, o aumento de seu teor, fato que pode explicar o aumento observado após o 8^o dia. Todos os tratamentos diferiram significativamente da amostra inicial no 4^o dia de estocagem, exceção feita a amostra 310 que apresentou alteração do teor de sólidos solúveis no 8^o dia de armazenamento. Os valores descritos foram superiores aos relatados por BOLIN & HUXSOLL (1991) para a alface 'iceberg' acondicionada e estocada a 2°C, com teores em torno de 2,8.

Em virtude da ativação da enzima clorofilase, verificou-se a tendência de perda do teor da clorofila total no decorrer do armazenamento, refletindo a evolução do processo de senescência do produto (Tabela 3). Todos os tratamentos no 4^o dia de estocagem diferiram da avaliação inicial, com exceção do tratamento 510 que exibiu esta variação no 13^o dia. Os menores teores da clorofila foram obtidos no tratamento controle, que apresentou decréscimo contínuo para o parâmetro, indicativo de atividade metabólica acelerada. De modo geral, as maiores médias foram exibidas pelos tratamentos 310 e 312, mostrando-se mais eficientes na retenção da clorofila, possivelmente em decorrência

da desaceleração do metabolismo, assim como em função da baixa concentração de oxigênio. Segundo MATILE et al. (1996), durante a degradação da clorofila a atividade da 'feide a oxigenase', enzima altamente dependente do oxigênio e que atua no composto feofórbio, subproduto da clorofila com coloração marrom esverdeada, pode representar o ponto chave na via de degradação do pigmento, justificando os maiores teores observados nos tratamentos 310 e 312 e os menores no controle. O tratamento 310 destacou-se por mostrar menor diferenciação entre as médias, exibindo uma degradação mais gradual deste teor. CARNELOSSI (2000), acondicionando couve minimamente processada e armazenando por 7 dias a 5°C, obteve acréscimo nos teores da clorofila total, atribuindo a manutenção dos níveis do pigmento à baixa taxa de permeação das embalagens ao oxigênio e, por conseguinte, a exposição do produto a baixas concentrações deste gás, limitando a atividade da 'feide a oxigenase'. Vale ressaltar que, com o corte do tecido vegetal há liberação de ácidos orgânicos dos vacúolos, acarretando a redução do pH e estimulando a atividade de enzimas proteolíticas, elevando a taxa de degradação do complexo proteína-clorofila (HEALTON & MARANGONI, 1996). A afirmação é concordante com os dados obtidos, pois os tratamentos que exibiram os maiores valores para o pH, 310 e 312, responderam pelos maiores teores da clorofila, enquanto o controle, que após o 4º dia mostrou decréscimo contínuo do pH, apresentou os menores teores da clorofila total. O acréscimo verificado para os teores no 15º dia, em todos os tratamentos, pode estar associado à formação do composto feofitina, sintetizado durante a degradação da clorofila e de coloração verde oliva, que pode ter sido detectado na leitura óptica sob o mesmo comprimento de onda utilizado para a clorofila. De acordo com HEALTON & MARANGONI (1996), com a diminuição do pH ocorre também uma substituição do Mg^{++} (átomo central da estrutura da clorofila) por H^+ , havendo formação da feofitina. FREIRE JR. (2000) relatou para a alface hidropônica 'Regina' minimamente processada, o acréscimo do teor da clorofila total após o 7º dia de armazenamento sob 10°C.

Tabela 3: Variação das médias atribuídas aos parâmetros químicos obtidos na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Tratamento	Dia ^b	Clorofila Total (mg/g amostra)		Acidez Titulável (% ác. cítrico)		pH		SS (°Brix)					
		Co ^c	C1 ^d	Co	C1	Co	C1	Co	C1				
Inicial	0	6,73	-	-	0,088	-	-	5,41	-	-	3,85	-	-
	4	5,77	*	A	0,099	*	A	5,48	*	A	3,41	*	A
	8	5,06	*	B	0,116	*	B	5,45		A	3,00	*	B
	11	4,88	*	B	0,138	*	C	5,16	*	B	3,81		C
	13	2,46	*	C	0,185	*	D	4,95	*	C	3,07	*	D
	15	3,35	*	D	0,209	*	E	5,19	*	D	3,35	*	E
510	4	6,39		A	0,085		A	5,55	*	A	3,52	*	A
	8	6,69		A	0,098	*	B	5,46	*	B	3,21	*	B
	11	6,48		A	0,114	*	C	5,51	*	C	3,70	*	C
	13	2,70	*	B	0,140	*	D	5,54	*	C	3,01	*	D
	15	4,70	*	C	0,163	*	E	5,12	*	D	3,32	*	E
	310	4	7,93	*	A	0,087		A	5,64	*	A	3,85	
8		5,86	*	B	0,098	*	B	5,64	*	A	3,25	*	B
11		5,52	*	B	0,113	*	C	5,56	*	B	3,62	*	C
13		4,51	*	C	0,126	*	D	5,71	*	C	3,18	*	D
15		4,94	*	C	0,144	*	E	5,44		D	3,32	*	E
312		4	5,78	*	A	0,083		A	5,51	*	A	3,41	*
	8	7,44	*	B	0,103	*	B	5,40		B	3,16	*	B
	11	5,74	*	C	0,124	*	C	5,69	*	C	3,51	*	C
	13	4,03	*	D	0,137	*	D	5,67	*	C	3,00	*	D
	15	5,30	*	E	0,153	*	E	5,15	*	D	3,21	*	E

a: Controle – 21%O₂ + 0,03%CO₂; 510 – 5% O₂ + 10%CO₂; 310 – 3%O₂ + 10%CO₂; 312 – 3%O₂ + 12%CO₂;

b: Período de armazenamento;

c: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

d: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$);

e: SS – Sólidos solúveis.

5.1.3 ASPECTOS SENSORIAIS

No decorrer do armazenamento observou-se perda da intensidade da cor verde e turgidez, decréscimo da impressão global da aparência, progressão dos escurecimentos de nervuras e bordas e acréscimo do aspecto cozido e do aparecimento de manchas escuras. A análise estatística referente à avaliação sensorial, com as médias das notas atribuídas pela equipe de provadores, encontra-se na Tabela 4. Foram detectados efeitos significativos ($p \leq 0,05$) do período de armazenamento, dos tratamentos e através da sua interação. De modo geral, os tratamentos 310 e 312 mantiveram-se sem alterações significativas pelos maiores períodos de tempo e mostraram-se mais eficientes na

retenção da turgidez e aparência, além de limitarem os escurecimentos de nervuras e bordas.

5.1.3.1 Intensidade da cor verde

As notas fornecidas a este parâmetro decaíram com o decorrer do tempo (Tabela 4), possivelmente em virtude da degradação da clorofila e da síntese de seus subprodutos, como a feofitina e o feofórbio, com coloração verde oliva ou verde amarronzada, respectivamente, alterando a intensidade da cor verde da alface. No tratamento controle, as médias obtidas para a intensidade da cor verde decaíram continuamente e foram as menores atribuídas pelos provadores, estando de acordo com as determinações químicas do teor da clorofila total. No 4º dia, o controle diferiu da amostra inicial e no 15º dia respondeu pela menor média, encontrando-se descaracterizado em relação à tonalidade verde da alface, apesar das médias sucessivas não variarem significativamente durante a estocagem. Comportamento semelhante foi apresentado pelo tratamento 312, que não mostrou alteração significativa da coloração entre as sucessivas médias obtidas no decorrer do armazenamento. Portanto, no tratamento 312 a alteração da coloração da alface foi gradual, havendo diferenciação com a amostra inicial no 8º dia. Os tratamentos 510 e 310 exibiram variação significativa da coloração no 13º e no 11º dia, respectivamente, e diferiram da amostra inicial no 11º dia de estocagem. Observou-se nos tratamentos 510 e 310 o acréscimo das médias do 13º ao 15º dia, fato também relatado nas determinações químicas, apesar de não ter havido diferença estatística entre as médias.

5.1.3.2 Turgidez

O tratamento controle, que respondeu pelas menores médias, no 4º dia de armazenamento apresentou decréscimo significativo da turgidez, diferindo da amostra inicial, e apresentou, através das médias sucessivas, maior alteração do parâmetro em questão, possivelmente em virtude da geração de maior calor respiratório, refletindo na maior perda de umidade (Tabela 4). O tratamento 312 diferiu significativamente da amostra inicial no 15º dia, enquanto as suas médias sucessivas não mostraram diferença estatística, indicando que a mistura gasosa equivalente a 3%O₂ + 12%CO₂ favoreceu a retenção da turgidez durante todo o período de estocagem, permitindo inferir sobre a baixa atividade metabólica neste tratamento. Nos tratamentos 510 e 310 a turgidez sofreu alteração significativa no 13º e no 11º dia de armazenamento, respectivamente, ocasião em que as médias foram diferentes da amostra inicial e variaram significativamente entre

si. No decorrer do armazenamento, as maiores médias foram atribuídas aos tratamentos 312 e 310, destacando-se o primeiro por ter exibido alteração em relação à avaliação inicial somente no 15^o dia.

5.1.3.3 Escurecimento de nervuras

O tratamento controle diferiu da avaliação inicial no 4^o dia de armazenamento e recebeu as maiores médias, exibindo rápida progressão para o parâmetro (Tabela 4). No 15^o dia, a alface submetida ao controle encontrou-se com a 'qualidade visual' totalmente comprometida pelo escurecimento das nervuras centrais, confirmando este atributo como um dos mais limitantes à extensão da vida útil. LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996), reportaram o escurecimento de nervuras e bordas como os principais fatores depreciadores da aparência da alface minimamente processada. Novamente, destacou-se o tratamento 312 por apresentar as menores médias e manter o atributo sem alteração significativa no decorrer da estocagem, além de diferir da amostra inicial apenas no 13^o dia e responder pela menor média na ocasião do término do experimento. Os tratamentos 510 e 310, que mostraram acréscimo lento para o atributo, receberam médias semelhantes até o 11^o dia, quando apresentaram alteração em relação à amostra inicial.

5.1.3.4 Escurecimento de bordas

O escurecimento de bordas, se comparado ao escurecimento de nervuras, foi consideravelmente menos limitante à conservação da qualidade da alface, exibindo médias menores (Tabela 4). O controle foi significativamente diferente da amostra inicial no 4^o dia de armazenamento e apresentou a maior variação para o atributo, considerando-se a diferença entre as médias. O tratamento 310 mostrou a menor variação para o parâmetro em questão, não havendo diferenciação entre as médias sucessivas, e diferiu da amostra inicial no 15^o dia. Os tratamentos 510 e 312 apresentaram comportamento semelhante e o mesmo nível de variação entre as médias, exibindo alteração do escurecimento de bordas no 13^o dia, considerando-se a avaliação inicial.

5.1.3.5 Cozido

O maior nível de variação do parâmetro cozido foi apresentado pelo tratamento controle, sendo diferente da amostra inicial no 8^o dia de armazenamento e respondendo pelas maiores médias (Tabela 4). Os demais tratamentos exibiram alteração similar para o atributo, com a mesma diferenciação entre as médias sucessivas, embora os

tratamentos 310 e 312 tenham respondido pelas menores médias, apresentando diferenciação com a avaliação inicial no 15^o dia, enquanto no tratamento 510, esta alteração ocorreu no 13^o dia de armazenamento.

5.1.3.6 Aparecimento de manchas escuras

Novamente, o tratamento controle alcançou as maiores médias e exibiu alteração do atributo no 8^o dia (Tabela 4). Entretanto, o aparecimento de manchas escuras não interferiu na perda do valor comercial deste tratamento em virtude das baixas médias de notas recebidas, considerando-se a baixa incidência e severidade das manchas. Os demais tratamentos apresentaram comportamento similar, não diferiram da amostra inicial e a tendência de acréscimo do atributo nas comparações sucessivas não foi significativa, pois as médias, nas diferentes épocas de avaliação, não apresentaram alterações efetivas. Vale ressaltar que, nestes tratamentos, o parâmetro em questão não foi alterado no decorrer da estocagem. Segundo LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996), o nível de injúrias mecânicas impostas ao tecido vegetal é determinante na incidência e severidade da “russet spotting”, visto que o corte representa um estresse aos tecidos e sob condições de estresse há síntese de etileno. Portanto, é precoce a afirmação que a cv Lorca apresenta resistência a esta injúria; em contrapartida, excetuando-se a atmosfera atuante sobre o controle, as misturas de gases empregadas neste experimento mostraram-se eficientes em inibir o desenvolvimento dos sintomas da “russet spotting” na cv Lorca armazenada por 15 dias sob 5°C.

5.1.3.7 Impressão global da aparência

No tratamento controle o atributo impressão global da aparência recebeu as menores médias e foi alterado no 4^o dia de armazenamento, momento que apresentou metade da média exibida pela amostra inicial, aproximadamente, diferindo estatisticamente da mesma (Tabela 4). As melhores médias foram atribuídas aos tratamentos 310 e 312, com destaque ao 310 que não exibiu alteração em relação à avaliação inicial, apesar de ter havido diferenciação entre as médias sucessivas. No tratamento 312, embora tenha ocorrido alteração com a amostra inicial no 11^o dia, as comparações sucessivas das médias não foram significativas e na ocasião do término do experimento este tratamento apresentou a melhor performance para este atributo.

Considerando-se os parâmetros sensoriais analisados, pode-se dizer que os tratamentos 310 e 312 propiciaram a retenção das características de qualidade da alface por 15 dias de armazenamento a 5°C, provavelmente em decorrência da baixa atividade

metabólica do produto, incluso as atividades enzimáticas depreciativas da qualidade, quando submetido às atmosferas empregadas. Este resultado foi semelhante ao descrito por LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1996a) para alface 'Iceberg' minimamente processada e armazenada sob atmosfera controlada composta por 3%O₂ + 10%CO₂, que relataram a manutenção da 'qualidade visual' da alface por 16 dias a 5°C, apresentando média equivalente a 6,3. BARRIGA et al. (1991), aplicando atmosfera controlada composta por 3%O₂ + 10%CO₂ em alface 'Iceberg' minimamente processada, descreveram média equivalente a 6,0 para o atributo 'qualidade visual' no 12^o dia de estocagem a 4°C.

Tabela 4: Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Tratamento ^a	Dia ^b	Cor Verde	Co ^c		Turgidez	Co		EN ^e	Co		EB ^f	Co		Cozido	Co		Manchas Escuras	Co		Impressão Global Aparência ^g		
			C1 ^d	*		A	Co		C1	Co		C1	Co		C1	Co		C1	Co	C1	Co	C1
Inicial	0	8,29	-	-	8,42	-	-	0,02	-	-	0,02	-	-	0,07	-	-	0,02	-	-	8,49	-	-
Controle	4	7,11	*	A	6,14	*	A	3,42	*	A	1,82	*	A	0,58		A	0,20		A	4,71	*	A
	8	6,21	*	A	5,68	*	A	5,67	*	B	4,12	*	B	1,30	*	B	1,62	*	B	3,35	*	B
	11	6,00	*	A	4,18	*	B	6,83	*	C	6,00	*	C	4,23	*	C	1,39	*	B	1,82	*	C
	13	6,22	*	A	3,61	*	B	7,37	*	C	5,50	*	C	6,26	*	D	1,08	*	B	1,46	*	C
	15	5,53	*	A	1,64	*	C	7,35	*	C	5,45	*	C	6,24	*	D	1,73	*	C	0,81	*	C
510	4	8,09		A	7,39		A	0,45		A	0,12		A	0,07		A	0,01		A	7,78		A
	8	8,02		A	7,87		A	0,66		A	0,29		A	0,24		A	0,07		A	7,58		A
	11	7,63	*	A	7,04		A	2,00	*	B	0,49		A	0,40		A	0,37		A	6,26	*	B
	13	6,95	*	B	6,29	*	B	3,80	*	C	1,28	*	B	1,06	*	A	0,25		A	5,30	*	C
	15	7,31	*	B	5,65	*	B	2,89	*	C	1,07	*	B	1,36	*	B	0,38		A	4,64	*	C
310	4	8,46		A	7,54		A	0,44		A	0,24		A	0,04		A	0,09		A	7,86		A
	8	8,01		A	8,06		A	0,54		A	0,22		A	0,19		A	0,52		A	7,81		A
	11	7,38	*	B	6,45	*	B	1,78	*	B	0,57		A	0,46		A	0,24		A	6,16		B
	13	7,02	*	B	7,11		B	3,17	*	B	0,69		A	0,33		A	0,14		A	5,71		B
	15	7,07	*	B	6,09	*	B	3,14	*	B	0,98	*	A	1,07	*	B	0,48		A	5,03		B
312	4	8,04		A	7,69		A	0,09		A	0,11		A	0,02		A	0,03		A	7,88		A
	8	7,36	*	A	7,97		A	1,07		A	0,39		A	0,24		A	0,18		A	7,24		A
	11	7,37	*	A	7,02		A	1,48		A	0,26		A	0,36		A	0,21		A	6,66	*	A
	13	7,38	*	A	6,72		A	2,64	*	A	1,01	*	B	0,53		A	0,19		A	5,68	*	A
	15	6,98	*	A	5,77	*	A	2,49	*	A	0,88	*	B	1,51	*	B	0,42		A	5,15	*	A

a: Controle – 21%O₂ + 0,03%CO₂; 510 – 5% O₂ + 10%CO₂; 310 – 3%O₂ + 10%CO₂; 312 – 3%O₂ + 12%CO₂;

b: Período de armazenamento;

c: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

d: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$);

e: EN – Escurecimento de nervuras;

f: EB – Escurecimento de bordas.

5.1.4 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

5.1.4.1 Avaliação microbiológica na linha de processamento

As Tabelas 5, 6 e 7 apresentam os resultados das avaliações microbiológicas nas diversas etapas do processamento, sendo as amostras necessárias as avaliações retiradas do primeiro lote de matéria-prima e no término das operações.

A avaliação microbiológica da alface acusou a ausência de coliformes fecais em todas as operações consideradas (Tabela 5). Com relação aos coliformes totais, foi obtida a redução de 1 ciclo logarítmico da pré-lavagem ao primeiro banho de sanificação, com a utilização de hipoclorito de sódio a 150ppm (Tabela 5). Do primeiro para o segundo banho de sanificação, realizado com ozônio (O₃), os resultados acusaram uma leve diminuição da contagem. Do banho ozonizado à mesa de seleção, houve recontaminação do produto, sendo da ordem de 4 a 23NMP/g, respectivamente. A contaminação cruzada pode ter ocorrido devido à falta de higienização das luvas de manipulação das funcionárias responsáveis pela operação de seleção do produto processado, visto que, após o banho ozonizado, o produto é recolhido diretamente no cesto da centrífuga sendo, em seguida, despejado na mesa de seleção, onde trabalharam três funcionárias. O ocorrido pode ser atribuído também ao fato das operadoras da mesa de seleção manterem conversação, sem a utilização de máscaras, durante a operação de seleção. A recontaminação citada não foi proveniente da falta de higienização do cesto da centrífuga e da mesa de seleção, uma vez que os mesmos foram sanificados antes do início do processamento.

Tabela 5: Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa no NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.

OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO	GRUPO COLIFORMES	
	<i>Coliformes Totais</i>	<i>Coliformes Fecais</i>
Pré-lavagem	93	<3
Banho Clorado	9	<3
Banho Ozonizado	4	<3
Seleção	23	<3

A contagem da população microbiana contaminante total (Tabela 6), constituída por bactérias psicrotróficas, revelou a redução de meio ciclo logarítmico, aproximadamente, da pré-lavagem a sanificação clorada, com 150ppm de hipoclorito de

sódio, como também, da sanificação clorada a ozonizada. Pelo exposto, da pré-lavagem ao segundo banho de sanificação (ozonizado), obteve-se redução de um ciclo logarítmico da população contaminante total, sendo o nível de redução considerado baixo. Segundo KIM et al. (1999), a sanificação ozonizada responde pela redução de dois ciclos logarítmicos da população microbiana contaminante, enquanto o banho clorado apresenta capacidade de redução equivalente a 1 ciclo logarítmico. Os valores obtidos no segundo banho e na mesa de seleção, novamente acusaram uma recontaminação da alface processada. A quantificação do Gênero *Pseudomonas* spp. (Tabela 6) mostrou redução de um ciclo logarítmico do banho clorado ao ozonizado. Os valores obtidos no segundo banho e na mesa de seleção confirmaram a ocorrência de uma contaminação cruzada na operação de seleção.

Tabela 6: Variação da contagem da população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero *Pseudomonadaceae*, expressa no NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.

OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO	BACTÉRIAS PSICROTÓFICAS	GÊNERO <i>Pseudomonadaceae</i>
Pré-lavagem	3,6x10 ⁴	150
Banho Clorado (150ppm)	7,5x10 ³	120
Banho Ozonizado (5ppm)	1,6x10 ³	20
Seleção	1,3x10 ⁴	100

Em todas as amostras coletadas o plaqueamento seletivo para *Salmonella* spp., bactéria patogênica, foi negativo. Portanto, não houve indício da presença deste microrganismo patogênico na alface 'Lorca' minimamente processada.

Com relação à determinação da contaminação do ambiente de processamento (Tabela 7), realizada através da abertura de placas de PCA por 20min, foi obtida maior contagem de colônias aeróbias mesófilas na área de recepção da matéria-prima, 5UFC/placa, sendo este resultado coerente em virtude da matéria-prima, nesta área, ainda encontrar-se suja. A placa aberta ao lado do tanque da pré-lavagem, com abertura durante a operação de toalete da matéria-prima, mostrou uma contaminação correspondente a 4UFC/placa. Na placa instalada na área de corte, operação anterior aos banhos de sanificação, não foi verificada contaminação, ressaltando-se que as operações de toalete e pré-lavagem foram realizadas em uma ante-sala separada da área de

processamento. As placas colocadas ao lado da mesa de seleção e na área de acondicionamento da alface processada, acusaram contaminação de 8 e 4UFC/placa, respectivamente. A contaminação equivalente a 8UFC/g pode ser atribuída ao fato das funcionárias da mesa de seleção não empregarem máscara e manterem conversação durante a operação. Na placa de 'toque' foi obtida contaminação equivalente a 4UFC/placa, sendo assim, possivelmente, a recontaminação observada na operação de seleção da alface processada pode ser atribuída a higienização deficiente das luvas de manipulação das operadoras da mesa de seleção, podendo ter sido agravada pelo fato das funcionárias não utilizarem máscaras e conversarem no decorrer da operação.

Tabela 7: Variação da contagem das colônias de mesófilos aeróbios nas diferentes áreas da linha de processamento da alface americana 'Lorca' e contagem proveniente do 'toque' de manipulador da mesa de seleção, expressas em UFC/placa.

Linha de Processamento	Contaminação do Ambiente de Processo
Área de Recepção	5
Área de Pré-lavagem	4
Área de Corte	0
Área de seleção	8
Área de Acondicionamento	4
Placa de 'toque' – mesa de seleção	
Área de seleção	4

5.2 EXPERIMENTO EM ATMOSFERA CONTROLADA A 8°C – 1ª ETAPA

5.2.1 MONITORAMENTO DO PROCESSAMENTO

Devido à grande incidência de chuvas antes da colheita da matéria-prima, as cabeças da cv. Lorca encontraram-se menos atrativas e apresentaram menor peso médio, visto que o descarte das folhas mais externas em nível de campo foi maior. Por conseguinte, tornou-se necessária a colheita de um maior número de cabeças. Foram pesados 335kg de alface “in natura”, dos quais obteve-se no decorrer de 90min, 123kg de produto minimamente processado, constituindo um rendimento de processo equivalente a 37%.

Logo após a remoção da câmara de recepção, 13°C, e antes do início do processamento, foi obtido o valor equivalente a 14,1°C como temperatura média de 16 cabeças, estando o ambiente de processamento a 14,6°C. Anteriormente ao início da operação de sanificação clorada do primeiro lote de alface processada, 7kg, os valores obtidos para a temperatura e para o teor de Cl da solução foram de 9,3°C e 200ppm, enquanto o valor do pH foi inferior a 6,8 e, novamente, não se alterou durante o processamento. Decorridos 3min, o produto foi retirado e a temperatura mensurada foi de 12,7°C, permanecendo o teor de Cl na faixa de 200ppm. Na ocasião da remoção do último lote de produto, a temperatura da solução foi de 14°C e o teor de Cl estava na faixa de 100ppm. Em relação ao banho com ozônio, antes do início da sanificação a temperatura da água foi de 8,9°C e após 1min de imersão do produto foi elevada a 9,5°C. No término do processamento a solução encontrava-se a 10°C. O tempo de centrifugação de lotes de aproximadamente 3,5kg de alface processada foi 90s.

5.2.2 ASPECTOS QUÍMICOS

Os valores médios relativos aos parâmetros pH, acidez titulável, sólidos solúveis e clorofila total encontram-se expostos na Tabela 8. Houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) do período de armazenamento, das atmosferas controladas (tratamentos) e da interação período de armazenamento X tratamentos sobre os valores dos parâmetros químicos avaliados.

Em todos os tratamentos houve alteração do pH no 4º dia de armazenamento, com diferença significativa em relação à amostra inicial (Tabela 8). No tratamento controle as médias sucessivas acusaram variação significativa em cada época de avaliação e no término do experimento foi obtido o maior valor do pH. Nos tratamentos 110 (1%O₂ +

10%CO₂) e 112 (1%O₂ + 12%CO₂) as médias dos valores do pH variaram significativo do 8^o ao 11^o dia, evidenciando um metabolismo mais lento na alface exposta a estas misturas gasosas, visto que, no tratamento 312 observou-se alteração do 4^o ao 8^o dia. As médias obtidas para o pH foram levemente inferiores às relatadas por FREIRE JR. (2000) para a alface hidropônica 'Regina' acondicionada e exposta a 10°C por 14 dias, com valores variando de 5,8 a 6,3. Diferentemente do exposto no experimento a 5°C, observou-se o acréscimo contínuo do pH a partir do 11^o dia, sugerindo que sob uma maior temperatura de armazenamento ocorreu o favorecimento de todas as reações metabólicas decorrentes do processo de deterioração e, por conseguinte, elevou-se os valores de pH. Este comportamento também foi descrito por FREIRE JR. (2000) na alface hidropônica 'Regina', com elevação contínua do pH a partir do 7^o dia de armazenamento sob 10°C. De acordo com KADER (1986), o aumento do pH tem sido observado durante o armazenamento de diversos produtos minimamente processados.

Em todos os tratamentos o teor da acidez diferiu da avaliação inicial no 4^o dia de armazenamento (Tabela 8). Novamente, o tratamento controle apresentou maior variação das médias, enquanto os tratamentos 110 e 112 exibiram menor, ocorrendo nestes, alteração da acidez no 11^o dia, coincidindo com a variação do pH. Os teores obtidos para a acidez foram concordantes com os valores do pH, fato comprovado através do controle, que exibiu as menores médias para o pH e apresentou os maiores teores para a acidez, e do tratamento 112, onde observou-se os maiores valores do pH e os menores teores da acidez. Os valores determinados para a acidez titulável foram semelhantes aos relatados por FREIRE JR. (2000) para a alface 'Regina' pré-cortada, embalada e exposta a 10°C por 14 dias, com teores variando de 0,09 a 0,13%. O comportamento irregular da acidez titulável, com decréscimo do 4^o ao 8^o dia e subsequente acréscimo, foi relatado por SEABRA (1999) em brócolis minimamente processado e exposto à atmosfera controlada.

Os teores determinados para os sólidos solúveis tenderam a um ligeiro acréscimo (Tabela 8), comportamento esperado em virtude da maior temperatura de armazenamento e da maior perda de umidade apresentada pelo produto processado, havendo concentração dos sólidos solúveis. Segundo BRECHT (1995), a perda d'água dos tecidos cortados é favorecida, podendo ser acrescida de três a dez vezes dependendo do tipo de órgão ou corte. Os tratamentos controle e 312 exibiram alteração dos sólidos solúveis no 13^o dia, ocasião que apresentaram diferença significativa com a amostra inicial e a variação das médias sucessivas, destacando-se o tratamento controle por responder pelos maiores teores, indicativo de maior atividade respiratória. A variação obtida nos tratamentos 110 e 112 foi inferior à verificada nos demais, havendo ausência

de diferenciação com a avaliação inicial. Portanto, nestes tratamentos, o teor de sólidos solúveis foi mantido durante 13 dias de armazenamento a 8°C, com destaque ao tratamento 110 por exibir as menores médias e não apresentar variação entre as mesmas.

Os teores da clorofila total foram consideravelmente menores neste experimento, possivelmente em virtude das condições edafoclimáticas prévias à colheita, além do fato da maior temperatura de armazenamento favorecer a atividade de enzimas e, conseqüentemente, acentuar a degradação da clorofila. Observou-se a tendência de decréscimo dos teores no decorrer do armazenamento (Tabela 8). O tratamento controle, que respondeu pela menor média no término do experimento, exibiu queda intensa e contínua do parâmetro, provavelmente em reflexo à maior atividade enzimática. O controle repete o comportamento relatado no experimento anterior e, juntamente ao tratamento 312, apresentou os menores teores da clorofila total. As maiores médias foram apresentadas pelos tratamentos 110 e 112, com destaque ao 112 que exibiu menor variação das médias, com alteração significativa no 13º dia, momento que diferiu da amostra inicial. Na via de degradação da clorofila, o ponto chave pode ser a enzima 'feide a oxigenase', altamente dependente do oxigênio (MATILE et al., 1986). A afirmação sustenta os maiores teores obtidos nos tratamentos 110 e 112, dotados com menor concentração de oxigênio. Nestes tratamentos, observou-se o acréscimo do parâmetro no 11º dia, comportamento relatado também por FREIRE JR (2000) na alface 'Regina' pré-cortada, embalada e submetida por 14 dias a 10°C, sendo o aumento descrito após o 7º dia. CARNELOSSI (2000) obteve acréscimo dos teores da clorofila, na couve pré-cortada e embalada, no decorrer de sete dias de armazenamento a 5°C, atribuindo o fato à baixa taxa de permeação das embalagens ao oxigênio, o que pode ter limitado a atividade da 'feide a oxigenase'. Em contrapartida, com o corte do tecido vegetal ocorre a redução do pH, pois há liberação de ácidos orgânicos dos vacúolos e estímulo à atividade de enzimas proteolíticas, elevando a taxa de degradação do complexo proteína/clorofila. Os dados confirmam a afirmação, pois os tratamentos que exibiram os maiores valores para o pH, 110 e 112, responderam pelos maiores teores da clorofila. De acordo com HEALTON & MARANGONI (1996), com a diminuição do pH ocorre uma substituição do Mg^{++} (átomo central da estrutura da clorofila) por H^+ , havendo a formação da feofitina. A afirmação poderia, também, justificar o aumento dos teores verificados nos tratamentos 110 e 112 no 11º dia, sendo atribuídos à formação e acúmulo de feofitinas, sub-produto da degradação da clorofila, que poderiam ter sido detectadas na leitura óptica sobre o mesmo comprimento de onda empregado para o pigmento em estudo. Os teores obtidos

para a clorofila foram superiores aos descritos por FREIRE JR (2000) para a alface 'Regina' embalada e submetida a 10°C, com valores variando de 2,1 a 1,2mg/g de amostra no decorrer de 14 dias de estocagem.

Tabela 8: Variação das médias atribuídas aos parâmetros químicos obtidos na alface 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Tratamento ^a	Dia ^b	Clorofila Total ^e (mg/g amostra)		Acidez Titulável (% ác. cítrico)		pH		SS (°Brix)					
		Co ^c	C1 ^d	Co	C1	Co	C1	Co	C1				
Inicial	0	2,50	-	-	0,076	-	-	4,93	-	-	2,77	-	-
	4	2,37		A	0,129	*	A	5,37	*	A	2,82		A
	8	2,19	*	A	0,114	*	B	5,13	*	B	2,78		A
	11	1,56	*	B	0,146	*	C	5,39	*	C	2,76		A
	13	1,02	*	C	0,128	*	D	6,26	*	D	3,22	*	B
312	4	2,24		A	0,116	*	A	5,52	*	A	2,75		A
	8	2,51		A	0,105	*	A	5,62	*	B	2,73		A
	11	1,81	*	B	0,131	*	B	5,48	*	C	2,75		A
	13	1,13	*	C	0,149	*	C	5,51	*	C	3,11	*	B
	4	2,57		A	0,096	*	A	5,67	*	A	2,67		A
112	8	2,44		A	0,090	*	A	5,66	*	A	2,68		A
	11	2,67		A	0,118	*	B	5,45	*	B	2,86		B
	13	1,83	*	B	0,123	*	B	5,68	*	C	2,73		B
	4	2,53		A	0,108	*	A	5,56	*	A	2,64		A
110	8	2,07	*	B	0,098	*	A	5,65	*	A	2,63		A
	11	2,82	*	C	0,120	*	B	5,46	*	B	2,71		A
	13	1,45	*	D	0,132	*	B	5,70	*	C	2,75		A

a: Controle – 21%O₂ + 0,03%CO₂; 312 – 3% O₂ + 12%CO₂; 112 – 1%O₂ + 12%CO₂; 110 – 1%O₂ + 10%CO₂;

b: Período de Armazenamento;

c: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

d: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$);

e: SS - Sólidos solúveis.

5.2.3 ASPECTOS SENSORIAIS

As médias das notas atribuídas pela equipe de provadores, expostas na Tabela 9, foram significativamente influenciadas ($p \leq 0,05$) pelo período de armazenamento, pelas misturas gasosas empregadas (tratamentos), e pela sua interação (período de armazenamento X tratamentos). Portanto, os tratamentos se comportaram de maneira diferente em relação ao período de armazenamento, com as médias sofrendo o efeito conjunto de ambos. Em comparação com o experimento a 5°C, a amostra inicial recebeu

menor média para todos os atributos avaliados, o que pode ser reflexo das condições edafoclimáticas, incluso o extenso período de chuvas que precedeu a colheita, refletindo na menor qualidade visual do produto processado, apesar do alto nível de descarte na ocasião do processamento. Em virtude da maior temperatura de armazenamento e da menor qualidade da matéria-prima, as médias fornecidas aos diferentes atributos foram menores neste experimento.

Com o decorrer da estocagem, houve a perda da intensidade da cor verde e da turgidez, depleção da impressão global da aparência, acréscimo dos escurecimentos de nervuras e bordas, e progressão do aspecto cozido e do aparecimento de manchas escuras (Tabela 9). Os tratamentos 110 e 112 mantiveram-se sem alterações significativas pelos maiores períodos de tempo e mostraram-se mais eficientes na conservação da qualidade visual da alface 'Lorca', considerando-se todos os parâmetros em questão. Considerando-se os tratamentos controle e 312, neste experimento observou-se a maior alteração das médias sucessivas, apesar do menor período de avaliação, indicando rápida variação dos atributos de qualidade em virtude da maior temperatura de estocagem.

5.2.3.1 Intensidade da cor verde

Durante o armazenamento observou-se o decréscimo contínuo da intensidade da cor verde da alface (Tabela 9). As menores médias foram atribuídas ao tratamento controle, o qual diferiu da amostra inicial no 8^o dia, havendo concordância com as determinações químicas. Os tratamentos 312 e 110 exibiram alteração do parâmetro no 11^o dia, ocasião em que diferiram da avaliação inicial, com destaque ao tratamento 110, que recebeu as melhores notas e não apresentou variação das médias sucessivas, mostrando-se eficiente na retenção da coloração no decorrer dos 13 dias de armazenamento. O tratamento 112 sobressaiu-se por receber as melhores notas e exibir variação do atributo no 13^o dia, momento em que houve alteração das médias sucessivas e diferenciação com a amostra inicial.

5.2.3.2 Turgidez

Os tratamentos controle e 312 mostraram-se diferentes da amostra inicial no 4^o dia e receberam as menores notas (Tabela 9). A influência da temperatura sobre a conservação da turgidez tornou-se evidente através do controle que no 13^o dia de armazenamento a 5^oC recebeu média 3,61, enquanto a média atribuída ao mesmo período sob exposição a 8^oC, foi correspondente a 1,19. O reflexo da temperatura sobre a

manutenção desta característica de qualidade confirmou-se também através do tratamento 312 que, neste experimento, exibiu alteração do atributo no 4^o dia, enquanto no experimento a 5°C, a variação em relação à amostra inicial ocorreu no 15^o dia. No tratamento 110 a turgidez foi alterada no 8^o dia, ocasião que diferiu da amostra inicial, enquanto no 112 a variação ocorreu no 11^o dia. Tanto no tratamento 110, que apresentou a melhor média no término do experimento, quanto no 112, não ocorreu diferenciação entre as médias sucessivas. Portanto, a alface submetida a estas composições gasosas, exibiu menor grau de perda para a turgidez, ou ainda, menor amplitude de variação do parâmetro durante 13 dias de armazenamento, resultados estes que podem ser atribuídos à menor taxa respiratória da alface, gerando menor calor respiratório e limitando a perda d'água do produto armazenado.

5.2.3.3 Escurecimento de nervuras

Em todos os tratamentos obteve-se um acréscimo significativo para o escurecimento de nervuras no 4^o dia, com diferenciação em relação à amostra inicial (Tabela 9). A intensa variação nas médias no 4^o dia do experimento pode ser atribuída ao favorecimento da maior temperatura de armazenamento sobre a atividade das enzimas FAL e PFO, refletindo na rápida alteração do atributo. A importância da temperatura é decorrente de sua influência direta na atividade respiratória e, conseqüentemente, na atividade metabólica que rege a velocidade das reações enzimáticas e estas, por sua vez, determinam a longevidade do produto estocado. O tratamento controle apresentou maior alteração para o referido atributo, ou seja, sob atmosfera ambiente o escurecimento de nervuras exibiu intenso aumento e rápida progressão. No término do experimento, o controle apresentou a maior média, estando a aparência da alface totalmente comprometida. A influência da maior temperatura de armazenamento sobre as médias obtidas para o atributo torna-se evidente também por intermédio do tratamento 312 que, no experimento a 5°C exibiu variação em relação à avaliação inicial no 13^o dia, enquanto neste, a diferenciação ocorreu no 4^o dia. Novamente, os tratamentos 110 e 112 destacaram-se por receberem as menores médias e manterem o atributo sem alteração intensa durante o armazenamento, uma vez que não houve diferenciação entre as médias sucessivas. A atividade enzimática, responsável pelo escurecimento dos tecidos, está diretamente relacionada à atividade metabólica do produto, portanto, deve-se inferir sobre a atuação de um metabolismo mais lento na alface exposta a estas misturas de gases.

Em virtude do efeito sinérgico proveniente da combinação do baixo nível de O₂ com o alto de CO₂, desacelerando o metabolismo da alface armazenada, assim como,

devido à alta concentração de CO₂ utilizada, por apresentar efeito inibitório sobre a atividade da enzima PFO, as novas misturas empregadas mostraram-se extremamente eficientes em limitar o escurecimento de nervuras, apesar da maior temperatura de estocagem. Segundo CANTWELL (2000), atmosferas compostas por teores de O₂ em torno de 0,5% e concentrações de CO₂ superiores a 7% garantem a ausência do precoce escurecimento enzimático em muitas saladas prontas. GORNY (1997a) relatou a redução da atividade respiratória e o decréscimo do escurecimento enzimático na alface 'Icerbeg' minimamente processada e armazenada à 10°C, por intermédio da aplicação de atmosferas compostas por 0,5 a 1%O₂ e 10 a 15%CO₂.

5.2.3.4 Escurecimento de bordas

Em virtude da maior temperatura, o escurecimento de bordas sob armazenamento a 8°C mostrou-se mais limitante para a manutenção da qualidade visual da alface do que a 5°C, semelhante aos resultados relatados ao escurecimento de nervuras. Os tratamentos controle e 312, que alcançaram as maiores médias, exibiram alteração do atributo no 4º dia e atingiram o 13º dia com as respectivas médias 8,67 e 3,85 (Tabela 9); já no experimento a 5°C apresentaram as médias 5,50 e 1,01 para a mesma época de avaliação, explicitando a influência da maior temperatura sobre a perda das características de qualidade da alface. Os tratamentos 110 e 112 exibiram menor escurecimento de bordas, diferiram da avaliação inicial no 8º dia e não apresentaram diferenciação entre as médias sucessivas, destacando-se o tratamento 112, que respondeu pelas menores médias.

5.2.3.5 Cozido

O atributo cozido determinou a alteração dos tratamentos controle e 312 no 4º e no 8º dia, respectivamente, com diferenciação da avaliação inicial (Tabela 9). Nestes tratamentos observou-se aumento considerável das médias do 8º para o 11º dia, destacando-se o controle que recebeu as maiores notas, com maior alteração das médias sucessivas. O pico de acréscimo descrito indicou a proximidade do término da vida útil do produto em decorrência da evolução do seu processo de senescência. No final do experimento o controle exibiu média 8,92, estando a alface totalmente deteriorada, com aspecto umedecido e sem apelo comercial, enquanto a média obtida na mesma época de avaliação do experimento a 5°C, foi 6,26, expondo a decisiva atuação da temperatura sobre a longevidade do produto armazenado. Os tratamentos 110 e 112 não exibiram diferenciação em relação à avaliação inicial, mantendo para este atributo o aspecto da

amostra inicial.

5.2.3.6 Aparecimento de manchas escuras

O tratamento controle apresentou alteração do parâmetro no 4^o dia (Tabela 9), momento que diferiu da amostra inicial, e no 13^o dia respondeu pela maior média 4,48, havendo considerável acréscimo dos sintomas da “russet spotting” em virtude da maior temperatura de armazenamento, visto que, no experimento a 5°C, na mesma ocasião, exibiu média 1,08. Em contrapartida, o aparecimento de manchas escuras não determinou a perda do valor comercial do controle. O tratamento 312 diferiu da avaliação inicial no término do experimento, com variação das médias sucessivas. Os tratamentos 110 e 112 destacaram-se por não diferirem da amostra inicial e apresentarem as menores médias, além da ausência de variação entre as médias sucessivas. Portanto, os tratamentos 110 e 112 mostraram-se eficientes em inibir os sintomas da “russet spotting” na alface ‘Lorca’.

5.2.3.7 Impressão global da aparência

Neste experimento, o parâmetro impressão global da aparência, em virtude da qualidade inicial da matéria-prima e da maior temperatura de armazenamento, recebeu menores médias. Todos os tratamentos alteraram-se no 4^o dia, momento que diferiram da amostra inicial (Tabela 9). Novamente, o controle mostrou as piores notas e exibiu alteração significativa das médias a cada época de avaliação. No término do experimento, foi atribuída ao controle a média 0,5, estando a aparência da alface totalmente descaracterizada, apresentando alta intensidade dos parâmetros escurecimento de nervuras e bordas, aspecto cozido e aparecimento de manchas, além do elevado grau de perda da turgidez. Segundo WATADA et al. (1996), produtos mantidos sob temperaturas não apropriadas a sua conservação, exibiram rápida deterioração, com elevada depreciação das características de qualidade em reflexo a aceleração da atividade metabólica. A influência da temperatura sobre o maior grau de perda do atributo confirmou-se no tratamento 312 que recebeu média correspondente a 3,48 no 13^o dia, enquanto no experimento a 5°C, na mesma ocasião, apresentou média equivalente a 5,68. No tratamento 312 tornou-se evidente que a maior perda da impressão global da aparência ocorreu entre o 8^o e o 11^o dia, período que o tratamento exibiu significativo acréscimo do aspecto cozido e dos escurecimentos de nervuras e bordas, além do decréscimo efetivo da turgidez. FREIRE JR. (2000), embalando alface hidropônica ‘Regina’ e armazenando por 14 dias a 10°C, relatou a diminuição intensa das notas da

aparência após o 7^o dia de armazenamento, com perda expressiva da qualidade visual. As melhores médias foram atribuídas aos tratamentos 110 e 112 que, mostrando queda lenta para o atributo, responderam pela melhor retenção da impressão global da aparência durante os 13 dias de armazenamento, recebendo as médias 5,53 e 5,13, respectivamente, no término do experimento. O tratamento 110 apresentou a melhor média no 13^o dia e, apesar de diferir da amostra inicial no 4^o dia, destacou-se, pois suas médias sucessivas não exibiram variação significativa.

GORNY (1997a) e CANTWELL (2000) recomendaram para a alface 'Iceberg' minimamente processada e armazenada de 5 a 10°C, a aplicação de atmosferas compostas por 0,5 a 1%O₂ e 10 a 15%CO₂, com eficiência na redução do escurecimento enzimático e, por conseguinte, na retenção da 'qualidade visual'. Em contrapartida, de acordo com WATADA et al. (1996) o benefício proveniente da utilização da atmosfera otimizada em associação a temperaturas refrigeradas adequadas ao produto minimamente processado, e o reflexo sobre a atividade fisiológica, varia consideravelmente com as espécies e cultivares empregadas.

Neste experimento pode-se inferir sobre o benefício das atmosferas compostas por 1%O₂ + 10%CO₂ e 1%O₂ + 12%CO₂ sobre a atividade fisiológica da alface 'Lorca', pois mantiveram o apelo comercial do produto por 13 dias, apesar da maior temperatura de armazenamento.

Tabela 9: Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface ‘Lorca’ minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Tratamento ^a	Dia ^b	Cor Verde	Co ^c C1 ^d		Turgidez	Co C1		EN ^e	Co C1		EB ^f	Co C1		Cozido	Co C1		Manchas Escuras	Co C1		Impressão Global Aparência	Co C1	
			Co	C1		Co	C1		Co	C1		Co	C1		Co	C1		Co	C1			
Inicial	0	7,20	-	-	7,65	-	-	0,01	-	-	0,19	-	-	0,02	-	-	0,22	-	-	8,02	-	-
Controle	4	6,76		A	5,60	*	A	6,46	*	A	4,11	*	A	1,79	*	A	1,41	*	A	4,87	*	A
	8	6,17	*	A	5,03	*	A	6,18	*	A	5,09	*	B	2,96	*	B	2,27	*	B	2,65	*	B
	11	5,86	*	A	4,22	*	B	7,39	*	B	6,46	*	C	6,68	*	C	1,30	*	C	1,54	*	C
	13	4,19	*	B	1,19	*	C	8,82	*	C	8,67	*	D	8,92	*	D	4,48	*	D	0,50	*	D
312	4	6,54		A	6,09	*	A	3,08	*	A	1,64	*	A	0,36		A	0,23		A	5,84	*	A
	8	7,33		B	6,61	*	A	2,44	*	A	1,46	*	A	0,79	*	A	0,73		A	5,32	*	A
	11	5,88	*	C	4,84	*	B	5,60	*	B	4,30	*	B	4,53	*	B	0,70		A	2,86	*	B
	13	6,14	*	C	5,09	*	B	4,78	*	B	3,85	*	B	1,42	*	C	1,36	*	B	3,48	*	B
112	4	6,87		A	7,04		A	1,77	*	A	0,64		A	0,21		A	0,16		A	6,44	*	A
	8	7,35		A	7,28		A	1,79	*	A	0,95	*	A	0,40		A	0,64		A	6,27	*	A
	11	6,93		A	6,56	*	A	1,96	*	A	1,18	*	A	0,60		A	0,31		A	6,10	*	A
	13	6,23	*	B	5,69	*	A	2,54	*	A	1,84	*	A	0,58		A	0,44		A	5,13	*	B
110	4	6,83		A	6,96		A	1,86	*	A	0,67		A	0,37		A	0,30		A	5,88	*	A
	8	6,81		A	6,37	*	A	1,72	*	A	1,23	*	A	0,22		A	0,57		A	6,24	*	A
	11	6,37	*	A	6,71	*	A	1,90	*	A	1,49	*	A	0,24		A	0,12		A	5,90	*	A
	13	6,38	*	A	5,86	*	A	1,98	*	A	1,81	*	A	0,41		A	0,73		A	5,53	*	A

a: Controle – 21%O₂ + 0,03%CO₂; 312 – 3% O₂ + 12%CO₂; 112 – 1%O₂ + 12%CO₂; 110 – 1%O₂ + 10%CO₂;

b: Período de armazenamento;

c: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

d: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$);

e: EN – Escurecimento de nervuras;

f: EB – Escurecimento de bordas.

5.2.4 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

5.2.4.1 Avaliação microbiológica na linha de processamento

Os resultados da avaliação microbiológica nas diversas operações de processamento da matéria-prima empregada no experimento a 8°C, encontram-se expostos nas Tabelas 10 e 11.

Nas avaliações microbiológicas referentes ao Grupo Coliformes (Tabela 10), não foi detectada a presença de coliformes fecais, enquanto para os coliformes totais, as contagens obtidas foram efetivamente inferiores as registradas no processamento da matéria-prima do experimento a 5°C. Observou-se a baixíssima contagem de coliformes totais após a operação de pré-lavagem e, entre a pré-lavagem e o banho clorado, com hipoclorito de sódio a 200ppm, houve a eliminação total destes microrganismos, com a redução da contagem de 7 para <3NMP/g. A ausência de coliformes totais, detectada após o banho clorado, foi mantida até a operação de seleção. Portanto, este processamento não acusou recontaminação da alface processada na mesa de seleção.

Tabela 10: Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa no NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.

OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO	GRUPO COLIFORMES	
	<i>Coliformes Totais</i>	<i>Coliformes Fecais</i>
Pré-lavagem	7	<3
Banho Clorado (200ppm)	<3	<3
Banho Ozonizado (5ppm)	<3	<3
Seleção	<3	<3

Em contrapartida, o resultado da quantificação inicial da população contaminante total, obtido após a operação de pré-lavagem, foi de $>3,0 \times 10^5$ UFC/g, correspondendo a um valor incontável (Tabela 9). A contagem destas bactérias psicrotróficas da pré-lavagem ao banho clorado, acusou a redução de um ou mais de um ciclo logarítmico, com a variação de $>3,0 \times 10^5$ a $4,2 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente. O decréscimo verificado para esta população da sanificação clorada a ozonizada, com 5ppm de O_3 (segundo banho), foi de $4,2 \times 10^4$ a $9,5 \times 10^3$ UFC/g, respectivamente, o que equivale a meio ciclo logarítmico, aproximadamente. Pelo exposto, a quantificação da população contaminante total revelou a redução de pelo menos dois ciclos logarítmicos da operação de pré-lavagem ao

segundo banho de sanificação e, se comparado a qualquer operação de sanificação, o resultado foi bom, apesar de ter sido esperado o decréscimo de dois ciclos logarítmicos através da sanificação ozonizada. De acordo com KING (1991), a eficiência da operação de sanificação é diretamente proporcional ao nível da contaminação inicial. Os valores obtidos no segundo banho e na mesa de seleção, respectivos a $9,5 \times 10^3$ e a $7,2 \times 10^3$ UFC/g, diferentemente do experimento anterior, não acusaram nova contaminação da alface processada durante a operação de seleção.

A quantificação do Gênero *Pseudomonas* spp. (Tabela 11), acusou redução de dois ciclos logarítmicos, aproximadamente, da operação de pré-lavagem ao banho clorado, sendo os valores correspondentes a 210 e 64NMP/g, respectivamente. O decréscimo observado para esta população da sanificação clorada a ozonizada, não foi efetivo, com valores equivalentes a 64 e 23NMP/g, respectivamente, enquanto o valor verificado na mesa de seleção foi de 15NMP/g. Os resultados indicaram a ocorrência de uma influência específica do sanificante em relação à população contaminante presente, devido ao banho ozonizado ter exibido redução de meio ciclo logarítmico para as bactérias psicotróficas, enquanto para a população de *Pseudomonas* spp. não foi efetivo. Portanto, a eficiência do sanificante variou com a população a ser eliminada, além de variar em razão do grau de contaminação.

Tabela 11: Variação da contagem referente a população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero Pseudomonadaceae, expressa no NMP/g, nas diferentes operações de processamento mínimo da alface americana 'Lorca'.

OPERAÇÕES DE PROCESSAMENTO	BACTÉRIAS PSICOTRÓFICAS	GÊNERO Pseudomonadaceae
Pré-lavagem	$>3,0 \times 10^5$	210
Banho Clorado (200ppm)	$4,2 \times 10^4$	64
Banho Ozonizado (5ppm)	$9,5 \times 10^3$	23
Seleção	$7,2 \times 10^3$	15

O plaqueamento seletivo para *Salmonella* spp foi negativo em todas as amostras coletadas, sendo assim, não houve indício da presença deste microrganismo patogênico na alface 'Lorca' minimamente processada.

As menores contagens microbianas obtidas neste experimento podem ser decorrentes da maior concentração do hipoclorito de sódio, 200ppm, no primeiro banho

sanificante, ou ainda, da menor temperatura da solução clorada favorecendo a maior solubilização do cloro. Ressalta-se aqui, a primordial importância da aplicação de matérias-primas dotadas de qualidade, tanto visual quanto microbiológica, no processamento mínimo, assim como, a eficácia das operações de processamento, incluindo a qualidade e a temperatura da água, por refletirem na conservação das características de qualidade da alface, podendo compensar o uso de uma maior temperatura de estocagem.

5.2.4.2 Avaliação microbiológica do experimento

Os resultados referentes à quantificação inicial da microflora contaminante na alface minimamente processada (amostra inicial), foram superiores aos relatados na avaliação microbiológica realizada na linha de processamento. Considerando que a coleta de amostras, nas operações analisadas, procedeu no primeiro lote de alface, a menor quantificação nesta avaliação foi esperada, em virtude do primeiro lote usufruir a maior concentração do sanificante clorado e a menor temperatura da solução, além de passar pelos equipamentos recém higienizados. Com o passar do produto em lotes consecutivos pelas operações de processamento, há o desgaste da concentração do sanificante e o acréscimo da temperatura da solução, fora o fato dos equipamentos poderem acumular sujidades e microrganismos no decorrer do processo, estando o primeiro lote de alface a entrar na linha de processamento isento destas influências.

A avaliação da amostra inicial acusou baixa contagem de coliformes totais e ausência de coliformes fecais (Tabela 12), comprovando a boa qualidade da matéria-prima empregada e a eficiência do processamento em termos microbiológicos. Esta eficiência foi resultante da utilização de adequados parâmetros de processo, especialmente na operação de sanificação, cuja adequação foi comprovada pelo monitoramento da temperatura, do pH e da concentração do sanificante, além da fundamental manutenção da 'cadeia do frio' nas etapas de processamento, armazenamento e distribuição. Todos estes fatores, em associação, respondem por um produto minimamente processado dotado com baixa contaminação microbiana inicial e, por conseguinte, capaz de manter as características de qualidade por um maior período de tempo. Na presente pesquisa, todos estes parâmetros foram checados e forneceram subsídio para garantir a qualidade do produto em questão, incluindo-se também a avaliação da qualidade da água de irrigação que apresentou resultados de 1,5 e <3NMP/g para os coliformes totais e fecais, respectivamente.

A contagem inicial do Grupo Coliformes, tanto totais quanto fecais, foi baixa e, no decorrer do armazenamento, os resultados variaram de acordo com os tratamentos (Tabela 12), com o controle respondendo pelos maiores populações. Após o 4^o dia de estocagem, o tratamento controle apresentou nível populacional incontável de coliformes totais. Observou-se a influência da composição gasosa sobre a proliferação destes contaminantes, pois os tratamentos compostos por baixos níveis de O₂ e altas concentrações de CO₂, responderam pelas menores contagens de coliformes totais, destacando-se os tratamentos 110 e 112 por atingirem o término do experimento com populações correspondentes a 210 e 126NMP/g, respectivamente, enquanto no tratamento 312 foi obtida população equivalente a $1,1 \times 10^3$ NMP/g. Todos os tratamentos apresentaram a ausência de coliformes fecais até o 11^o de armazenamento, ocasião em que o tratamento controle exibiu contagem de 11NMP/g, chegando ao término do experimento com população correspondente a 25NMP/g. Apesar de presente, a população de fecais encontrou-se dentro do limite estabelecido pela legislação vigente para hortaliças frescas (“in natura”), portaria 451 do Ministério de Saúde, com limite máximo permitido equivalente a 200NMP/g. No tratamento 112 foi detectada a ausência de coliformes fecais durante os 13 dias de armazenamento. Os demais tratamentos exibiram presença destas enterobactérias no 13^o dia, com contagens de 4 e 9NMP/g, respectivas aos tratamentos 110 e 312, embora estes níveis populacionais sejam, praticamente, equivalentes a zero. A contagem inicial obtida para os coliformes foi semelhante a relatada por FREIRE JR (2000) na alface ‘Regina’ pré-cortada, embalada e estocada por 14 dias a 10°C, com valores 93 e <3NMP/g, respectivos aos totais e fecais. Em contrapartida, o autor obteve no 3^o dia população de totais superior a $1,1 \times 10^3$ NMP/g, e no 7^o dia contagem de fecais correspondente a 280NMP/g, estando fora da legislação vigente. Portanto, os dados descritos neste experimento foram inferiores aos relatados pelo autor, permitindo concluir sobre a menor proliferação do Gênero Coliformes, tanto totais quanto fecais, nas misturas gasosas dotadas com menor nível de O₂ (1%) e alta concentração de CO₂ (10 ou 12%).

Devido ao valor de pH dos tecidos vegetais e à necessidade de refrigeração para conservação, a população contaminante predominante na alface refere-se às bactérias psicrótróficas, produtoras de enzimas pectinolíticas e capazes de causar o colapso dos tecidos colonizados, conduzindo-os rapidamente a deterioração (BRACKETT, 1996). A quantificação inicial da população contaminante total, representada pelas bactérias psicrótróficas, foi baixa, com nível populacional equivalente a $3,3 \times 10^4$ UFC/g (Tabela 13). GARG et al. (1996), relataram como baixo o nível de contaminação correspondente a

10^4 UFC/g, obtido nas folhas mais internas da alface americana. FREIRE JR (2000) relatou na alface hidropônica 'Regina' contagem inicial de psicotróficas correspondente a $7,3 \times 10^3$ UFC/g. O menor nível populacional descrito pelo autor pode ser atribuído ao meio de cultivo que naturalmente proporciona menor grau de contaminação, em virtude da matéria-prima não ser cultivada em contato direto com o solo, que representa alta fonte de contaminação.

O tratamento controle mostrou acréscimo efetivo, superior a um ciclo logarítmico, das bactérias psicotróficas no 4º dia, revelando nível populacional $>3 \times 10^5$ UFC/g, correspondente a população incontável. Na mesma época, os tratamentos 110 e 112 apresentaram os menores níveis populacionais, exibindo acréscimo de meio ciclo logarítmico, aproximadamente, com contagem $8,4 \times 10^4$ e $7,1 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente, enquanto no tratamento 312, obteve-se aumento equivalente à cerca de um ciclo, sendo o valor $1,2 \times 10^5$ UFC/g. Todos os tratamentos mostraram população incontável de bactérias psicotróficas a partir do 8º dia, valor $>3 \times 10^5$ UFC/g. Os resultados obtidos foram concordantes ao relatado por NGUYEN & PRUNIER (1989), que reportaram para a alface processada e armazenada por 8 dias a 10°C , uma população contaminante total na faixa de 10^5 a 10^8 UFC/g. O dado $2,1 \times 10^4$ UFC/g descrito por FREIRE JR (2000), referente a população de psicotróficas na alface 'Regina' embalada e estocada por 3 dias a 10°C , foi levemente inferior aos obtidos no 4º dia para os tratamentos 110 e 112. O mesmo autor, no 7º dia, relatou população $>3 \times 10^6$ UFC/g, sendo esta possivelmente superior às populações descritas para os tratamentos 110 e 112 no 8º dia, pois nesta ocasião, as amostras receberam boas médias de notas para os atributos sensoriais, além de exibirem médias baixas para o escurecimento de nervuras e bordas.

Tabela 12: Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa no NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Dias de Estocagem	<i>Coliformes Totais</i>				<i>Coliformes Fecais</i>			
	110 ^a	112	312	Controle	110	112	312	Controle
Inicial			43				<3	
4	11	7	150	210	<3	<3	<3	<3
8	28	15	240	>2,4x10 ³	<3	<3	<3	<3
11	93	63	460	>2,4x10 ³	<3	<3	<3	11
13	210	126	1,1x10 ³	>2,4x10 ³	4	<3	9	25

a: 110 - 1%O₂ + 10%CO₂; 112 - 1%O₂ + 12%CO₂; 312 - 3%O₂ + 12%CO₂; Controle - 21%O₂ + 0,03%CO₂.

Segundo GUERZONI et al. (1996), uma população superior a 10^6 UFC/g propicia a oxidação de polifenóis nos tecidos injuriados, trazendo como consequência o precoce escurecimento. Desta forma, pode-se inferir sobre uma população inferior a 10^6 UFC/g no 8º dia de estocagem dos tratamentos 110 e 112. Vale ressaltar o efeito benéfico proveniente das atmosferas constituídas por baixo nível de O_2 e elevado teor de CO_2 , proporcionando menor proliferação das bactérias psicotróficas, o que pode ser verificado através das maiores populações encontradas no tratamento controle. A redução da atividade respiratória, ocasionada por concentrações baixas de O_2 e altas de CO_2 , responde pela desaceleração da senescência natural do produto, minimizando a colonização e a proliferação das bactérias psicotróficas e pectinolíticas, devido a retenção da integridade das membranas celulares e a manutenção da consistência dos tecidos vegetais por um maior período de tempo, visto que, com o avanço da senescência ocorre a maior suscetibilidade à proliferação e a contaminação microbiana. De acordo com BARRIGA et al. (1991), a utilização da atmosfera controlada composta por 3% O_2 + 10% CO_2 no armazenamento da alface 'Iceberg', proporcionou uma menor contagem de psicotróficas e favoreceu a conservação da aparência por 12 dias a 4°C, provavelmente por limitar a atividade das enzimas, sendo o CO_2 inibidor competitivo da PFO, e dos microrganismos. Os mesmos autores relataram que a menor população de deteriorantes foi correlacionada com a melhor 'qualidade visual' do produto. A menor vida útil apresentada pelo tratamento 312, em comparação aos 12 dias sob 4°C obtidos por BARRIGA et al. (1991), possivelmente pode ser atribuída a maior temperatura de estocagem utilizada neste experimento. Em contrapartida, os tratamentos 110 e 112 mantiveram o apelo comercial durante os 13 dias de armazenamento a 8°C, apresentando, no término do experimento, boas médias para os atributos impressão global da aparência, turgidez, escurecimentos de nervuras e bordas, apesar da incontável população de bactérias psicotróficas. GUERZONI et al. (1996), relataram que níveis populacionais na faixa de 10^7 a 10^8 UFC/g determinam a perda do valor comercial do produto. Portanto, presume-se que os tratamentos 110 e 112 atingiram o término do experimento com população de psicotróficas menor que 10^7 a 10^8 UFC/g. BRACKETT (1996), mencionou que o emprego de atmosferas pode mudar o perfil microbiano, embora estes efeitos sejam pouco estudados. Esta afirmativa é coerente com os resultados obtidos, pois a alface submetida ao tratamento controle exibiu população incontável e apresentou-se sem valor comercial no 4º dia de estocagem, obtendo baixa média de notas para o atributo impressão global da aparência, estando a aparência comprometida pelo alto nível de escurecimento das nervuras e bordas.

Em todas as épocas de avaliação do tratamento controle, o Gênero *Pseudomonadaceae* apresentou contagem $>2,4 \times 10^3$ NMP/g (Tabela 13). A alta população de *Pseudomonas* spp. certamente favoreceu a rápida depreciação da 'qualidade visual' da alface controle, acarretando a perda do valor comercial no 4º dia, devido ao alto nível de escurecimento de bordas e nervuras. De acordo com NGUYEN-THE & PRUNIER (1989), a perda do valor comercial em saladas prontas é atribuída, predominantemente, ao escurecimento de nervuras e bordas, decorrente de atividade enzimática com oxidação bioquímica de fenóis, podendo ser antecipada pelo ataque de microrganismos em alta população. Os dados foram concordantes com os autores, principalmente os provenientes do controle, que no 4º dia exibiu alto grau de escurecimento associado ao nível populacional incontável de *Pseudomonas* spp. Portanto, tanto a atividade fisiológica quanto a microbiológica promovem mudanças bioquímicas que conduzem a rápida perda do valor comercial dos produtos minimamente processados (KING & BOLIN, 1989).

Com exceção do controle, os demais tratamentos no 4º dia apresentaram baixo acréscimo da população de *Pseudomonas* spp. No período do 4º ao 8º dia, foi detectada maior elevação desta população, destacando-se os tratamentos 110 e 112 por responderem pelas menores contagens, respectivas a $1,5 \times 10^3$ e $1,1 \times 10^3$ NMP/g, enquanto no tratamento 312, foi obtida população de $1,9 \times 10^3$ NMP/g. Segundo BRACKETT (1992), teores de CO₂ variando de 10 a 15% inibem o crescimento de muitos microrganismos. Em contrapartida, a efetividade do gás, considerando suas propriedades antimicrobianas, depende da sua concentração e da temperatura de exposição do produto (WILEY, 1996). No 11º dia, todos os tratamentos exibiram população $>2,4 \times 10^3$ NMP/g, valor considerado incontável. FREIRE JR. (2000), mencionou para a alface 'Regina' baixa população de *Pseudomonas* spp. até o 3º dia de estocagem a 10°C, 15NMP/g, e a partir do 7º dia foi obtida população incontável, $>1,1 \times 10^4$ NMP/g, encontrando-se fora da legislação devido ao elevado conteúdo de coliformes fecais (280NMP/g). Confrontando os dados coletados neste experimento com os de FREIRE JR (2000), verificou-se que o acréscimo populacional desta bactéria nas atmosferas controladas foi menos intenso que o descrito pelo autor em atmosfera modificada passiva, sugerindo que as misturas gasosas empregadas, em atmosfera controlada, foram adequadas ao produto estocado e, conseqüentemente, apresentaram capacidade de reter a proliferação bacteriana por 8 dias de estocagem a 8°C. O mesmo autor relatou a perda significativa da qualidade da alface 'Regina' no 7º dia de armazenamento a 10°C, com perda acentuada do frescor e da impressão global da aparência, além do aumento considerável no nível dos escurecimentos de nervuras e bordas.

Segundo NGUYEN-THE & PRUNIER (1989), o produto com baixa população de deteriorantes mantém a 'qualidade visual' por maior período de tempo, existindo uma clara relação entre a rápida deterioração de saladas prontas e a contagem de bactérias psicotróficas, com destaque a *Pseudomonas marginalis*, pois representa a bactéria deteriorante predominante após 10 dias de estocagem a 10°C. Os dados obtidos nos tratamentos 110 e 112 discordaram dos autores, pois a alface submetida às referidas condições manteve o apelo comercial por 13 dias de armazenamento a 8°C apesar das altas populações de contaminantes totais e *Pseudomonas* spp. Entretanto, o tratamento 312 perdeu o valor comercial do 8º para o 11º dia, ocasião que apresentou população incontável de *Pseudomonas* spp. e recebeu baixa média de notas para o atributo impressão global da aparência e altas médias para os atributos escurecimento de nervuras e bordas, além do aspecto cozido. Provavelmente, os tratamentos 110 e 112 mantiveram o apelo comercial em virtude das apropriadas atmosferas empregadas, dotadas com teores baixos de O₂ e altos de CO₂, desacelerando o metabolismo e limitando as atividades oxidativas, ou ainda, retardando a ativação de enzimas, tanto as presentes nos tecidos vegetais quanto as provenientes dos microrganismos deteriorados. Além disso, a alta concentração de CO₂ deve inibir a atividade da PFO e apresentar propriedades antimicrobianas. O comentário sugere o alto benefício proveniente da aplicação de condições adequadas de acondicionamento e estocagem em produtos minimamente processados, refletindo no prolongamento da vida útil dos mesmos e compensando a alta população deteriorante presente.

O resultado do plaqueamento seletivo para *Salmonella* spp. foi negativo na amostra inicial e em todos os tratamentos. A flora normal deteriorante apresenta vantagem na competição com os microrganismos patogênicos por utilizar melhor as fontes de carbono e nitrogênio (CANTWELL, 1992; BARRIGA et al., 1991).

Tabela 13: Variação da contagem da população contaminante total, expressa em UFC/g, e do Gênero Pseudomonadaceae, expressa no NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 13 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Dias de Estocagem	Gênero Pseudomonadaceae				Bactérias Psicrótróficas			
	110 ^a	112	312	Controle	110	112	312	Controle
Inicial	430				3,3x10 ⁴			
4	460	460	480	>2,4x10 ³	8,4x10 ⁴	7,1x10 ⁴	1,2x10 ⁵	>3x10 ⁵
8	1,5x10 ³	1,1x10 ³	1,9x10 ³	>2,4x10 ³	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵
11	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵
13	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵	>3x10 ⁵

a: 110 - 1%O₂ + 10%CO₂; 112 - 1%O₂ + 12%CO₂; 312 - 3%O₂ + 12%CO₂; Controle - 21%O₂ + 0,03%CO₂.

5.3 EXPERIMENTO RESPIRATÓRIO A 5 E 8°C EM ATMOSFERA CONTROLADA – 1ª ETAPA

5.3.1 ASPECTOS FISIOLÓGICOS

Os dados referentes à respiração da alface 'Lorca' minimamente processada e armazenada em diferentes atmosferas controladas sob 5 e 8°C, encontram-se nas Figuras 11 e 12, respectivamente. A presença de etileno não foi detectada em nenhum tratamento, provavelmente em decorrência do grande volume das microcâmaras de atmosfera controlada (140L), assim como, em virtude da baixa atividade respiratória apresentada pela cultivar 'Lorca', indicando baixa atividade fisiológica.

Em todos os tratamentos, independente da temperatura, a atividade respiratória da alface tendeu ao decréscimo no decorrer do armazenamento e foi diretamente proporcional à temperatura de exposição, com os maiores valores registrados para os tratamentos expostos a 8°C. A taxa respiratória é regulada por enzimas cuja atividade é fortemente influenciada pela temperatura à qual o produto encontra-se submetido (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Os tratamentos expostos a 5°C responderam pelas menores taxas obtidas e pela baixa variação das mesmas, possivelmente em decorrência da temperatura de armazenamento, visto que, refere-se ao limite máximo da temperatura recomendada a conservação da alface minimamente processada. De acordo com CANTWELL (1995), a temperatura indicada para conservação da alface processada varia de 0 a 5°C. Portanto, os tratamentos submetidos a 8°C, se comparados aos expostos a 5°C, apresentaram atividade respiratória consideravelmente maior. Segundo KADER et al. (1989), qualquer mudança na temperatura provocará reflexo imediato na respiração do produto hortícola. CANTWELL (1992), avaliando repolho minimamente processado, relatou o decréscimo contínuo da taxa respiratória e a influência da temperatura de armazenamento sobre a mesma.

Os tratamentos controle, independente da temperatura, responderam pelos maiores valores determinados a taxa respiratória, destacando-se o submetido a 8°C por expor a maior atividade média, equivalente a $10,16 \text{ mLCO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (controle-8), enquanto a obtida sob 5°C foi correspondente a $5,46 \text{ mLCO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (controle-5). Em virtude da mudança da temperatura de 5 para 8°C, os resultados evidenciaram um nível de acréscimo da ordem de 86% para respiração do controle. De acordo com a lei de Van't Hoff, com o acréscimo de 10°C na temperatura de armazenamento de um produto hortícola, a taxa respiratória poderá dobrar ou mesmo triplicar. De um modo geral, os dados obtidos foram concordantes com a afirmação, priorizando a importância da

aplicação de baixas temperaturas no armazenamento dos minimamente processados, tendo-se em vista a extensão de sua vida útil. Os valores descritos para a taxa respiratória média, nos tratamentos controle, foram semelhantes aos relatados por GORNY (1997a) para cultivares de alface pré-processadas da variedade 'Iceberg', estocadas a 5 e 7,5°C, com taxas variando de 8 a 14 e de 12 a 17mLCO₂/kg/h, respectivamente. A variedade 'Iceberg', equivalente à variedade americana no Brasil, constitui a mais recomendada ao processamento. Por serem os dados mostrados neste experimento semelhantes aos menores dados apresentados por cultivares da 'Iceberg', relatados por GORNY (1997a), permite-se inferir sobre o grande potencial da cv Lorca para o processamento mínimo, pois o requisito básico para escolha de cultivares destinadas a este fim, refere-se à menor atividade respiratória. Vale ressaltar que o benefício proveniente da aplicação da refrigeração e da atmosfera otimizada ao minimamente processado, refletindo em menor atividade fisiológica, varia em função do nível de processamento do tecido vegetal, da espécie e da cultivar empregada (WATADA et al., 1996). Transformando-se a taxa respiratória média exibida pelos tratamentos controle, submetidos a 5 e 8°C, a condições normais de temperatura e pressão (CNTP), tem-se como atividade respiratória média os valores 10,7 e 19,8mgCO₂kg⁻¹h⁻¹, respectivamente. Os resultados expostos foram superiores aos descritos por Cantwell, citada por WATADA et al. (1996), para alface pré-processada e armazenada a 5 e 7,5°C, com taxas respiratórias respectivas a 8,5 e 12,6mgCO₂kg⁻¹h⁻¹.

O comportamento respiratório irregular apresentado pelo tratamento controle em ambas as temperaturas, exibindo decréscimo contínuo até o 5º dia e subsequente aumento no 7º dia de armazenamento, pode indicar a aceleração do processo de senescência, visto que, no 4º dia de armazenamento dos experimentos anteriores, este tratamento apresentou decréscimo significativo para a maioria dos atributos sensoriais, refletindo na perda do seu valor comercial. O maior nível de atividade observado no 15º dia a 5°C pode ser decorrente da alta taxa de deterioração dos tecidos vegetais, requerendo maior quantidade de energia, advinda da respiração, para propiciar a continuidade do metabolismo e das reações degradativas, características da fase de senescência. SEABRA (1999) também relatou acréscimo na respiração do brócolis minimamente processado após o 11º dia de armazenamento a 5°C, tanto em atmosfera ambiente como em atmosfera controlada (3%O₂ + 9%CO₂). Diferentemente do observado a 5°C, no controle exposto a 8°C foi obtido decréscimo da atividade respiratória do 13º para o 15º dia, possivelmente indicando o colapso e morte dos tecidos devido a alta temperatura de exposição associada ao longo período de armazenamento. O mesmo

comportamento foi relatado por CARNELOSSI (2000) em couve minimamente processada após 12 dias exposta a 10°C. Com o avanço da senescência as reações degradativas conduzem à deterioração e morte das células, e nesta fase, o processo respiratório continua a fornecer energia, porém, com o decréscimo sucessivo do nível energético (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Os menores níveis de atividade respiratória foram observados no tratamento 110 (1%O₂ + 10%CO₂), tanto a 5 quanto a 8°C, com taxas médias de 1,98 e 3,21 mLCO₂ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente, enquanto o tratamento 112 (1%O₂ + 12%CO₂), nas mesmas temperaturas, apresentou as taxas médias 2,22 e 3,76 mLCO₂kg⁻¹h⁻¹. Comparando-se estas taxas com as do controle, a 5 e 8°C, verificou-se um nível de decréscimo correspondente a 64 e 68%, aproximadamente, na atividade respiratória do tratamento 110, respectivamente, e a diminuição equivalente a 59 e 63%, aproximadamente, na respiração da alface exposta ao tratamento 112. Os níveis de redução observados nas atmosferas otimizadas, em comparação aos valores obtidos nas atmosferas ambiente (controle), foram superiores ao relatado por SEABRA (1999) em brócolis minimamente processado e armazenado por 15 dias a 5°C em atmosfera ambiente e controlada, com nível de decréscimo correspondente a 33%, aproximadamente.

A menor atividade respiratória verificada nos tratamentos 110 e 112, reflete a desaceleração do metabolismo da alface em decorrência da aplicação de misturas gasosas benéficas à conservação. Com a alteração da temperatura de armazenamento de 5 para 8°C, as taxas respiratórias nestes tratamentos exibiram acréscimos na faixa de 62% e 69%, respectivamente. Observou-se no tratamento 110-5 a estabilização da respiração após o 2º dia de armazenamento a 5°C, demonstrando a obtenção de uma atividade respiratória e metabólica constante, além de baixa, condição ideal a manutenção das características de qualidade. O baixo nível de atividade e a constância respiratória podem ser atribuídos a utilização da temperatura indicada ao armazenamento da alface, embora em seu limite máximo, em associação a aplicação de uma atmosfera controlada favorável à conservação da mesma. CARNELOSSI (2000), relatou a estabilização da taxa respiratória da couve minimamente processada e embalada, do 3º ao 15º dia de armazenamento sob 5°C. Comportamento similar foi descrito por SEABRA (1999) em brócolis pré-processado e submetido à atmosfera controlada por 15 dias, obtendo constância da taxa respiratória do 3º ao 11º dia de estocagem a 5°C. A ausência da estabilidade respiratória no tratamento 110-8, em comparação ao tratamento 110-5, provavelmente foi decorrente da influência da maior temperatura de armazenamento. Em contrapartida, sob a temperatura de 8°C, o tratamento 110 respondeu pelos menores

valores até o 7^o dia de armazenamento. No tratamento 112, independente da temperatura, a taxa respiratória decaiu continuamente, não exibindo indícios de estabilização, havendo maior alteração e atividade sob 8°C. O decréscimo contínuo verificado para a respiração no tratamento 112, em ambas as temperaturas, pode ser decorrente do maior teor de CO₂ pois, segundo KADER (1986), concentrações elevadas de CO₂ exercem efeito inibitório direto na taxa respiratória de produtos hortícolas, por afetar a atividade de enzimas específicas do metabolismo respiratório, além de inibir a fosforilação oxidativa. O tratamento 110 exposto a 8°C e o tratamento 112, em ambas as temperaturas, mostraram elevação da respiração do 13^o ao 15^o dia, podendo indicar a aceleração do processo de senescência. SEABRA (1999) descreveu o acréscimo da atividade respiratória do brócolis minimamente processado no 15^o dia e após o 13^o dia de estocagem em atmosfera controlada a 5 e 8°C, respectivamente.

Independente da temperatura, o tratamento 110 destacou-se por ter apresentado maior decréscimo da atividade respiratória na ocasião da comparação com o controle e por ter mostrado menor acréscimo das taxas quando exposto a maior temperatura de armazenamento, além de responder pelos menores níveis de atividade.

Os resultados revelaram a importância da utilização de baixas temperaturas no armazenamento do minimamente processado, em associação a aplicação da atmosfera controlada, ou modificada, adequada ao mesmo. Verificou-se que a armazenagem sob 5°C em atmosfera controlada otimizada reduziu a atividade respiratória e, por conseguinte, o metabolismo, trazendo a possibilidade do prolongamento da vida útil. Portanto, quanto maior a atividade respiratória, maior a atividade metabólica, com rápida transição da fase de maturação a senescência e, em decorrência, menor a vida útil em virtude da depreciação acelerada das características de qualidade do produto, refletindo em sua rápida deterioração.

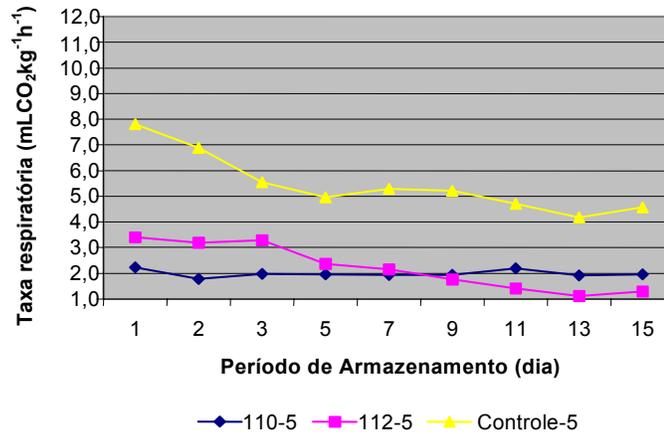


Figura 1: Taxa respiratória da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

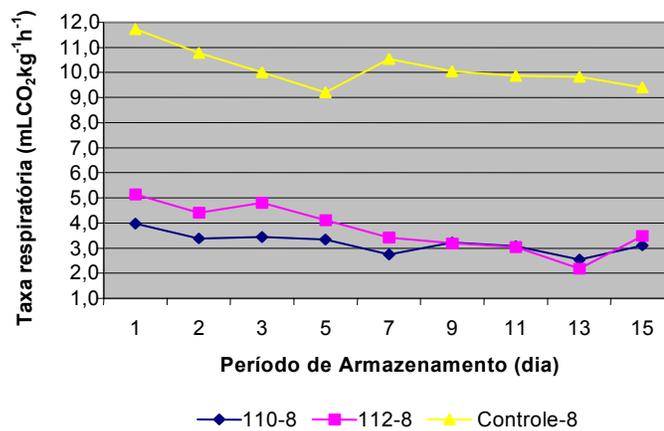


Figura 2: Taxa respiratória da alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

5.3.2 ASPECTOS SENSORIAIS

As notas foram atribuídas pela equipe de provadores na instalação (avaliação inicial) e no término do experimento (15º dia), de maneira similar à descrita para os experimentos anteriores (Tabela 14). Observou-se perda da intensidade da coloração verde e da turgidez, decréscimo da impressão global da aparência, aumento no escurecimento de nervuras e bordas, e acréscimo do aspecto cozido e do aparecimento de manchas escuras. Os tratamentos submetidos a 8°C, apresentando maior atividade

respiratória que os tratamentos expostos a 5°C, receberam notas menores para os atributos avaliados. Os resultados confirmaram a influência da menor temperatura na melhor retenção das características de qualidade da alface, em virtude da desaceleração do metabolismo e da deterioração natural do produto armazenado.

Os tratamentos controle, com elevada atividade respiratória, exibiram maior depreciação dos atributos sensoriais de qualidade e, no 15^o dia de estocagem apresentaram total descaracterização da alface em relação à coloração e aparência, com as piores médias obtidas sob 8°C. As atmosferas otimizadas à conservação exibiram melhor retenção dos parâmetros de qualidade, sendo as melhores médias fornecidas aos tratamentos armazenados a 5°C. Em contrapartida, independente da temperatura, os tratamentos 110 e 112 mantiveram o 'apelo comercial' da alface. Apesar da menor atividade respiratória verificada no tratamento 110, em ambas as temperaturas as melhores médias foram fornecidas ao tratamento 112, provavelmente devido ao efeito inibitório do maior teor de CO₂ sobre o escurecimento enzimático dos tecidos vegetais, inclusos os escurecimentos de nervuras e bordas, como os provenientes dos atributos cozido e aparecimento de manchas escuras. Vale ressaltar, que o CO₂ refere-se ao inibidor competitivo da PFO, enzima diretamente responsável pelo escurecimento do tecido vegetal, juntamente com a FAL, que responde pelo início da via fenólica. Portanto, quanto maior a concentração de CO₂, maior será o efeito benéfico da mistura gasosa sobre a inibição do escurecimento dos tecidos.

5.3.2.1 Intensidade da cor verde

Os tratamentos controle responderam pelas menores médias fornecidas à intensidade da cor verde, destacando-se o exposto a 8°C (Controle-8) por apresentar maior perda da coloração, fato condizente com a maior atividade respiratória verificada no mesmo. A maior média foi exibida pelo tratamento 110 a 5°C (110-5), responsável pela melhor retenção da coloração da alface, provavelmente, em reflexo a menor taxa respiratória e, por conseguinte, a menor atividade enzimática da clorofilase. Os tratamentos 110 e 112 expostos a 8°C (110-8 e 112-8), receberam médias semelhantes. Com exceção dos controles, os tratamentos mostraram boa retenção da coloração verde da alface, exibindo pequena alteração em relação à avaliação inicial.

5.3.2.2 Turgidez

O atributo turgidez mostrou-se mais limitante no controle armazenado a 8°C, possivelmente devido à alta taxa respiratória exibida pelo mesmo, proporcionando a maior

geração de calor respiratório e induzindo o maior nível de perda de umidade (vapor d'água) da alface. Embora tenha apresentado menor estabilidade da taxa respiratória, o tratamento 112 exposto a 5°C (112-5), respondeu pela maior média atribuída ao parâmetro, o que pode ser consequência da menor atividade respiratória verificada no mesmo após o 7^o dia de armazenamento. Em decorrência da menor atividade respiratória, tem-se a baixa geração de calor respiratório e, por conseguinte, a menor taxa de transpiração, refletindo na maior retenção da turgidez.

5.3.2.3 Escurecimento de nervuras

Observou-se a influência da maior temperatura sobre o acréscimo do escurecimento de nervuras, uma vez que este é proveniente da atividade de enzimas, sofrendo efeito direto da temperatura. Os tratamentos controle receberam as piores notas e exibiram, no 15^o dia, alto grau de escurecimento, destacando-se o submetido a 8°C por responder pela maior média atribuída ao parâmetro. Nestes tratamentos, o escurecimento de nervuras foi limitante à conservação da 'qualidade visual' da alface que, no término do experimento, encontrou-se totalmente comprometida, confirmando este atributo como um dos mais críticos a extensão da vida útil. As maiores médias atribuídas aos tratamentos controle refletem a alta atividade respiratória e enzimática, conduzindo os tecidos a um elevado grau de escurecimento. As menores médias foram fornecidas aos tratamentos 112, com destaque ao exposto a 5°C que respondeu pela melhor média. A menor intensidade de escurecimento de nervuras atribuída aos tratamentos 112, em comparação aos 110, pode ser decorrente da maior concentração de CO₂ empregada, pois o CO₂ representa um inibidor competitivo da enzima PFO. Portanto, pressupõe-se uma possível compensação, em termos visuais, proveniente da aplicação da atmosfera mais adequada à conservação da alface, em relação à submissão do produto a temperaturas superiores, visto que, a intensidade do escurecimento exibida pelo tratamento 110-8 foi maior que a apresentada pelo 112-8, que recebeu nota similar à fornecida ao tratamento 110-5. Neste caso, em específico, parece que o acréscimo correspondente a 2% na concentração de CO₂, foi o diferencial.

5.3.2.4 Escurecimento de bordas

O escurecimento de bordas, em comparação ao escurecimento de nervuras, foi menos limitante à conservação da 'qualidade visual' da alface. Os tratamentos controle responderam pelas piores médias, destacando-se o submetido a 8°C por ter apresentado acréscimo de 61% para o parâmetro, em comparação ao exposto a 5°C. Os tratamentos

112, em ambas as temperaturas, exibiram as melhores médias e mostraram baixa alteração do parâmetro no decorrer de 15 dias de armazenamento. As maiores médias recebidas pelos tratamentos 110, possivelmente refletiram o menor teor de CO₂ empregado.

5.3.2.5 Cozido

As maiores médias referentes ao aspecto cozido foram atribuídas aos tratamentos controle, com destaque ao mantido a 8°C que apresentou acréscimo equivalente a 65% para o atributo, aproximadamente, em comparação ao submetido a 5°C. Os resultados comprovaram a eficiência da aplicação de menores temperaturas na desaceleração da deterioração natural da alface e, por conseguinte, na inibição deste atributo. A temperatura de estocagem pareceu influenciar o desenvolvimento do aspecto cozido apenas no tratamento controle, pois nos demais tratamentos as notas fornecidas às mesmas atmosferas nas diferentes temperaturas, foram praticamente similares. Novamente, pode-se inferir sobre uma possível compensação proveniente da utilização da atmosfera otimizada à conservação da alface, em relação ao armazenamento desta em temperatura maiores. O tratamento 112 obteve as melhores médias, provavelmente em decorrência do maior teor de CO₂ e sua influência sobre o escurecimento enzimático.

5.3.2.6 Aparecimento de manchas escuras

Os tratamentos controle, após 15 dias de armazenamento, exibiram baixo acréscimo das médias atribuídas às manchas escuras, podendo-se inferir sobre a possível resistência da cv. Lorca a “russet spotting”. Portanto, este parâmetro não foi considerado limitante à conservação da qualidade da alface. As notas fornecidas ao controle exposto a 8°C, foram maiores em decorrência da maior atividade metabólica, propiciada pela maior temperatura e, provavelmente, induzindo a maior produção de etileno. As menores médias foram fornecidas aos tratamentos 112, podendo, novamente, refletir a utilização do maior teor de CO₂, visto que, com o decorrer do armazenamento, as lesões tendem a coalescer, tornando-se mais escuras.

5.3.2.7 Impressão global da aparência

O atributo impressão global da aparência foi limitante ao valor comercial dos tratamentos controle. Os controle, tanto a 5 quanto a 8°C, exibiram baixas médias no término do experimento e, nesta ocasião, a alface encontrou-se totalmente descaracterizada em relação a aparência. Os tratamentos 112, independentes da

temperatura de armazenamento, apresentaram as melhores médias, conseqüência provável da influência do maior teor de CO₂ sobre o menor nível de escurecimento dos tecidos vegetais. As atmosferas controladas otimizadas mostraram-se eficientes em manter a aparência da alface 'Lorca' por 15 dias de estocagem a 5 e a 8°C.

O presente experimento evidenciou a importância da aplicação de baixas temperaturas de armazenamento e o emprego de atmosferas otimizadas a conservação da 'qualidade visual' do produto minimamente processado, visando à extensão da vida útil do mesmo. De acordo com WATADA et al. (1996), a elevada atividade respiratória apresentada pelo produto hortícola, quando armazenado em temperaturas inadequadas, encontra-se associada, ou mesmo determina, a rápida deterioração. Os resultados apresentados confirmam a afirmação dos autores.

Tabela 14: Médias das notas sensoriais atribuídas a alface americana 'Lorca' minimamente processada, armazenada por 15 dias a 5 e a 8°C e submetida a diferentes misturas de gases sob atmosfera controlada.

Tratamen- to ^a	Tempera- tura (°C)	Intensidade da cor verde	Turgidez	Escurecimento de nervuras	Escurecimento de bordas	Aspecto Cozido	Manchas escuras	Impressão global da aparência
Inicial	-	7,96	8,79	0,02	0,05	0,0	0,02	8,89
Controle-5	5	6,33	5,03	5,59	1,69	2,14	1,90	3,46
112-5	5	7,24	7,27	0,96	0,19	0,37	0,16	7,14
110-5	5	7,41	6,95	1,64	0,49	0,58	0,20	6,18
Controle-8	8	5,46	4,12	7,42	4,38	6,07	2,69	1,78
112-8	8	7,33	6,96	1,64	0,37	0,36	0,45	6,55
110-8	8	7,34	7,00	2,20	0,68	0,59	0,86	5,59

a: Controle – 21%O₂ + 0,03%CO₂; 110 – 1%O₂ + 10%CO₂; 112 – 1%O₂ + 12%CO₂.

5.4 EXPERIMENTO EM ATMOSFERA MODIFICADA ATIVA - 2^A ETAPA

5.4.1 ESPECIFICAÇÃO DA PERMEABILIDADE DO FILME PLÁSTICO E DA ATMOSFERA ATIVA

A especificação dos filmes plásticos, considerando as taxas de permeação ao O₂ e CO₂, a espessura e a composição polimérica, foi realizada após a determinação da atividade respiratória da alface, enquanto submetida às temperaturas empregadas no armazenamento e às atmosferas otimizadas à conservação. A taxa respiratória é específica a cada espécie e cultivar e sofre alteração com a temperatura, assim como com a atmosfera à qual o produto encontra-se exposto. De acordo com GORNY (1997b), o sucesso proveniente da aplicação da atmosfera modificada ativa, como técnica efetiva à conservação, é baseado primordialmente na especificação da atmosfera otimizada ao produto a ser acondicionado e no rápido estabelecimento da atmosfera de equilíbrio benéfica à manutenção das características de qualidade do mesmo. A atmosfera otimizada a ser injetada no momento do acondicionamento, constituindo uma atmosfera modificada ativa, em associação a atividade respiratória apresentada pelo produto, quando submetido a esta atmosfera, em determinada temperatura de estocagem, irão especificar a permeabilidade do filme plástico. A taxa de permeação do polímero ao O₂ e CO₂ que possibilitará a obtenção e a manutenção, no espaço-livre da embalagem, de uma atmosfera de equilíbrio o mais próxima possível da ideal à conservação.

Por intermédio da aplicação, em atmosfera controlada, de diferentes misturas de gases no armazenamento da alface 'Lorca', foram selecionadas duas atmosferas constituídas por 1%O₂ + 10%CO₂ e 1%O₂ + 12%CO₂, por terem sido as mais benéficas à retenção das características de qualidade da alface, com a escolha da primeira atmosfera para injeção no acondicionamento.

A atmosfera 1%O₂ + 10%CO₂ foi selecionada por propiciar menor atividade respiratória a alface até o 7^o dia, em 5 e 8°C, exibindo um comportamento respiratório estável durante o armazenamento, e também por representar menor risco de anaerobiose, pois quanto maior a diferença entre as concentrações de O₂ e CO₂, maior será o risco da inversão do metabolismo para a condição anaeróbia. Além disso, não foram obtidas diferenças expressivas entre as médias atribuídas pela equipe de provadores à alface submetida às atmosferas 1%O₂ + 10%CO₂ e 1%O₂ + 12%CO₂ no decorrer de 15 e 13 dias de armazenamento a 5 e 8°C, respectivamente. A atmosfera escolhida concorda com GORNY (1997a) e CANTWELL (2000), que recomendaram para a alface 'Iceberg' minimamente processada e armazenada entre 5 e 10°C, a aplicação de

atmosferas compostas por 0,5 a 1%O₂ e 10 a 15%CO₂, revertendo na desaceleração da respiração e na redução do nível de escurecimento enzimático dos tecidos, além de inibir o desenvolvimento de bactérias psicotróficas deteriorantes.

Através dos resultados referentes à atividade respiratória da alface, enquanto exposta a atmosfera controlada com 1%O₂ + 10%CO₂ sob 5 e 8°C, correspondentes a 1,98 e 3,19cm³CO₂/kg.h, o CETEA indicou um polímero constituído por polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade linear (BOPP/PEBDL), com 85µm de espessura total e taxas de permeabilidade ao O₂ e CO₂ equivalentes a 841,1 e 4205,5cm³(CNTP)/m²dia, respectivamente, sendo denominado HP. O outro polímero referiu-se a um filme comercial, utilizado na comercialização da alface minimamente processada, dotado com taxas de permeabilidade ao O₂ e CO₂ correspondentes a 1409,3 e 7506,0 cm³(CNTP)/m²dia, respectivamente, com 65µm de espessura total e composto por polipropileno biorientado laminado com polietileno de baixa densidade (BOPP/PEBD), sendo chamado MV.

5.4.2 MONITORAMENTO DO PROCESSAMENTO

Por ocasião da colheita das cabeças da cv. Lorca, com 65 dias, foram processados 315kg de alface “in natura” no decorrer de 90min, revertendo em 108kg de produto minimamente processado, representando um rendimento de processo correspondente a 34,3%, aproximadamente. Como o ocorrido no segundo experimento em atmosfera controlada, 1ª Etapa com estocagem a 8°C, devido a grande incidência de chuvas anterior a colheita, as cabeças de alface encontravam-se menos atrativas. Após a remoção da câmara de recepção, 15,2°C, e antes de serem encaminhadas a linha de processamento, a temperatura média de 16 cabeças foi 16,5°C, estando o ambiente de processo a 15,5°C.

Anteriormente ao início da operação de sanificação clorada do primeiro lote de alface processada, 7kg, os valores obtidos para o teor de Cl e para a temperatura da solução foram, respectivamente, 200ppm e 10°C, enquanto o valor do pH foi inferior a 6,8 e permaneceu inalterado durante o processamento, como observado nos experimentos anteriores. Decorridos 3 min e após a retirada do primeiro lote de produto, o teor de Cl encontrava-se na faixa de 150ppm e a temperatura foi elevada a 13,6°C. No momento da remoção do último lote de produto, a temperatura da solução foi 14,7°C e o teor de Cl encontrava-se na faixa de 100ppm. Na sanificação ozonizada, o valor inicial obtido para a temperatura foi 9,7°C e após a remoção do primeiro lote de alface, decorrido 1min, aproximadamente, a temperatura da solução foi elevada a 10,2°C, e no momento da

retirada do último lote de produto, atingiu o valor 10,8°C. O tempo de centrifugação empregado para 3,5kg, aproximadamente, de alface processada foi 80s.

5.4.3 ASPECTOS QUÍMICOS

Considerando a temperatura de 5°C, foi detectado efeito significativo ($p \leq 0,01$) e conjunto, por intermédio da interação, das embalagens (tratamentos 5HP e 5MV) e do período de armazenamento para os parâmetros acidez titulável, sólidos solúveis e clorofila total, enquanto para o pH foi obtido efeito isolado e significativo ($p \leq 0,01$) do período de armazenamento. Portanto, as médias dos valores de pH não sofreram efeito das embalagens, mas foram alteradas no decorrer do período de armazenamento (Tabela 15). As médias dos teores de acidez titulável, dos sólidos solúveis e da clorofila total foram alteradas de acordo com a embalagem empregada e o período de estocagem (Tabela 16). No geral, os tratamentos submetidos a 5°C exibiram menor nível de variação para os parâmetros químicos, havendo a menor diferenciação entre as médias sucessivas e a tendência à estabilização. A baixa variação observada pode ser atribuída a aplicação da temperatura ideal ao armazenamento da alface, induzindo a baixa atividade metabólica da mesma.

Na temperatura de 8°C, foi obtido efeito significativo ($p \leq 0,01$) das embalagens (tratamentos 8HP e 8MV) e do período de armazenamento conjuntamente, através da sua interação, para os parâmetros acidez titulável, pH e clorofila total (Tabela 17). Os teores de sólidos solúveis sofreram a influência das embalagens ($p \leq 0,05$) e do período de armazenamento ($p \leq 0,01$) isoladamente, não havendo interação, com suas médias variando segundo o período de armazenamento (Tabela 18) e as embalagens (Tabela 19).

De modo geral, os valores obtidos para o pH foram superiores aos descritos nos experimentos em atmosfera controlada, independente da temperatura. Na temperatura de 5°C, não houve efeito das embalagens sobre os valores do pH, em contrapartida, observou-se alteração no decorrer do armazenamento, com o acréscimo dos valores até o 5º dia, obtendo-se diferença significativa em relação à amostra inicial no 2º dia de estocagem (Tabela 15). A partir do 5º dia, verificou-se a estabilização do parâmetro até o 12º dia, não havendo alteração significativa entre as médias sucessivas durante este período. Os resultados obtidos foram semelhantes aos relatados por BOLIN & HUXSOLL (1991), na alface 'Iceberg' minimamente processada, embalada e estocada a 2°C, com a estabilização dos valores em torno de 6,0 após o 6º dia de armazenamento. FREIRE JR

(2000), avaliando a alface 'Regina' pré-cortada, embalada e exposta por 14 dias a 2°C, descreveu a estabilização do pH em valor correspondente a 5,9, estando de acordo com o verificado neste experimento. Na última época de avaliação, 14^o dia, o pH sofreu novo acréscimo, com diferenciação das médias sucessivas. Segundo IZUMI et al. (1996), a elevação do pH em produtos minimamente processados, em especial no término de sua vida útil, pode estar relacionada com o aumento na contagem microbiológica.

Os sistemas de embalagem submetidos a 8°C, tratamentos 8HP e 8MV, exibiram maior variação do pH e os menores valores, se comparados aos obtidos a 5°C (Tabela 17). Observou-se o acréscimo do parâmetro no 2^o dia de estocagem e, nesta ocasião, o pH diferiu da amostra inicial, em ambas as embalagens. Diferentemente do observado a 5°C, a partir do 2^o dia obteve-se o decréscimo do pH, havendo maior variação das médias sucessivas na embalagem 8MV que respondeu pelo menor valor no término do experimento, sugerindo a ocorrência de uma maior atividade metabólica na alface acondicionada neste sistema de embalagem. A diferença comportamental relatado para o parâmetro a 8°C, considerando-se o decréscimo contínuo e a variação considerável dos valores, pode refletir a influência da maior temperatura de estocagem sobre a aceleração da atividade metabólica da alface, antecipando sua senescência e induzindo a rápida alteração de suas características de qualidade. FREIRE JR (2000), estudando a alface 'Regina' pré-cortada, embalada e exposta por 14 dias a 10°C, mencionou o decréscimo do pH até o 7^o dia de estocagem.

Em ambas as temperaturas, os teores apresentados para a acidez titulável foram inferiores aos descritos nos experimentos em atmosfera controlada, seguindo a tendência do pH de ser inversamente proporcional ao teor da acidez. Em virtude da menor temperatura de estocagem, nos sistemas de embalagem expostos a 5°C, a acidez exibiu os mais baixos teores e a menor alteração das médias sucessivas (Tabela 16). No 2^o dia de armazenamento, o teor de acidez dos tratamentos 5HP e 5MV foi similar, diferindo significativamente da amostra inicial. Entre o 2^o e o 8^o dia de estocagem, observou-se à estabilização dos teores e, assim, à ausência de diferenciação entre as médias sucessivas, concordando com a constância descrita aos valores de pH. Durante este período, os tratamentos apresentaram teores similares para a acidez. BOLIN & HUXSOLL (1991), avaliando a alface 'Iceberg' minimamente processada, embalada e estocada por 21 dias a 2°C, relataram a estabilização da acidez após o 6^o dia de armazenamento. Destacou-se o sistema de embalagem 5MV, que apresentou valores levemente superiores para o pH e respondeu pelos menores teores da acidez, além de não ter exibido variação das médias sucessivas, ocorrência que pode ser atribuída à baixa

atividade metabólica da alface.

Os maiores teores da acidez, associados a maior variação das médias sucessivas, foram obtidos nos sistemas de embalagem expostos a 8°C (Tabela 17), provavelmente, em decorrência da maior temperatura de estocagem, proporcionando maior nível de alteração ao parâmetro em virtude da aceleração do metabolismo da alface. Os tratamentos 8HP e 8MV também confirmaram a tendência da acidez mostrar-se inversamente proporcional ao pH, pois os mesmos responderam pelos menores valores de pH. O teor da acidez foi alterado no 2º dia, ocasião que ambos os tratamentos diferiram da amostra inicial. Apesar dos tratamentos exibirem o mesmo nível de variação para as médias sucessivas, os maiores teores foram atribuídos ao tratamento 8MV, permitindo inferir sobre a ocorrência de uma atividade metabólica mais acelerada na alface submetida ao mesmo. Os valores determinados para a acidez foram inferiores aos relatados por BOLIN & HUXSOLL (1991), para a alface 'Iceberg' minimamente processada, embalada e submetida a 2°C, e semelhantes aos descritos por FREIRE JR. (2000), para a cv. Regina pré-cortada, embalada e armazenada por 14 dias a 10°C, com teores variando de 0,09 a 0,13%.

Os teores de sólidos solúveis tenderam ao decréscimo contínuo, a partir do 12º dia na temperatura de 5°C (Tabela 16) e após o 5º dia na temperatura de 8°C (Tabela 18), evidenciando a influência da maior temperatura de estocagem na aceleração do metabolismo da alface. O decréscimo contínuo do parâmetro na fase de senescência do produto pode ser proveniente da utilização dos açúcares como substrato respiratório. Na temperatura de 5°C (Tabela 16), o tratamento 5MV respondeu pelos menores teores do 2º ao 8º dia, não havendo variação das médias sucessivas, a alteração destas ocorreu na mesma ocasião que diferiram da amostra inicial, no 12º dia de armazenamento. A baixa amplitude de variação apresentada pelo parâmetro, nos sistemas de embalagem submetidos a 5°C, provavelmente, foi reflexo da menor temperatura de estocagem. Este fato associado à atmosfera ativa, dotada com baixo teor de O₂, pode ter promovido a baixa atividade respiratória da alface, refletindo na menor utilização dos açúcares no processo respiratório e, por conseguinte, na retenção dos altos teores do parâmetro. BOLIN & HUXSOLL (1991), citaram a baixa alteração dos sólidos solúveis na alface 'Iceberg' pré-cortada, embalada e estocada por 21 dias a 2°C, com teores variando de 2,8 a 2,4ºBrix, sendo estes pouco inferiores aos descritos neste experimento.

Na temperatura de 8°C, os teores de sólidos solúveis foram os menores, mostraram acentuado decréscimo e alta variação das médias sucessivas, alteradas significativamente a cada época de avaliação (Tabela 18). O acentuado nível de variação

observado para o parâmetro no decorrer do armazenamento pode ser decorrente da influência da maior temperatura de estocagem, propiciando a aceleração do metabolismo e ocasionando a maior utilização dos açúcares como substrato respiratório. Após o 8º dia de armazenamento observou-se maior decréscimo dos teores, podendo refletir o avanço da senescência e as inúmeras reações degradativas características desta fase. Os sistemas de embalagem não diferiram entre si, porém, destacou-se o tratamento 8HP que, no decorrer de 14 dias de armazenamento, não diferiu da sua amostra inicial (Tabela 19).

Os sistemas de embalagem expostos a 5°C exibiram baixa variação dos teores da clorofila durante o armazenamento (Tabela 16). Vale ressaltar que a temperatura de 5°C refere-se ao limite máximo da temperatura indicada a conservação da alface minimamente processada e, por conseguinte, deve favorecer a manutenção de suas características de qualidade por incitar a desaceleração de seu metabolismo (CANTWELL, 1995). O tratamento 5MV, que apresentou os maiores teores, sofreu alteração no 8º dia, havendo diferenciação em relação à avaliação inicial e a alteração das médias sucessivas. O tratamento 5HP, que diferiu da amostra inicial no 5º dia, se destacou por mostrar no término do experimento o maior teor e apresentar menor variação das médias sucessivas, fato relacionado, provavelmente, a sua menor taxa de permeação ao O₂. A ausência de queda significativa dos teores no tratamento 5HP, e o acréscimo verificado para o parâmetro no decorrer da estocagem, em ambos os sistemas de embalagem, podem ser atribuídos à concentração de O₂. A baixa percentagem de O₂ no espaço-livre das embalagens, resultante da atmosfera injetada no acondicionamento e da baixa permeação dos filmes a este gás, associada à temperatura de estocagem, refletiu na inibição da atividade da 'feide a oxigenase' e na limitação da degradação do pigmento. A atividade desta enzima, altamente dependente do oxigênio, foi relatada como a mais importante no processo de degradação da clorofila (MATILE et al., 1996). O aumento ou a retenção dos teores da clorofila, também, pode estar relacionado à formação e o acúmulo da feofitina, subproduto da clorofila, que seria detectada na leitura óptica sobre o mesmo comprimento de onda empregado para a clorofila. CARNELOSSI (2000) obteve acréscimo nos teores da clorofila total da couve pré-cortada, embalada e armazenada por 7 dias a 5°C, atribuindo o fato a baixa taxa de permeabilidade das embalagens ao O₂ e, conseqüentemente, a exposição do produto a baixa concentração deste gás, limitando a atividade da 'feide a oxigenase'. Os resultados obtidos foram superiores aos relatados por FREIRE JR (2000) para a alface 'Regina' processada, embalada e estocada por 14 dias a 2°C, com teores variando de 2,1 a 1,6mg/g amostra.

Na temperatura de 8°C, independente do tratamento, observou-se à tendência de decréscimo dos teores da clorofila, havendo queda acentuada após o 8º dia (Tabela 17). O decréscimo significativo dos teores pode ter sido consequência da maior temperatura de armazenamento e dos menores valores de pH. Temperaturas elevadas exercem influência direta sobre a atividade metabólica, refletindo na maior atividade enzimática e na aceleração do processo de senescência do produto. A diminuição do pH pode iniciar processo proteolítico e, por conseguinte, aumentar a taxa de degradação do complexo proteína-clorofila (HEALTON & MARANGONI, 1996). A afirmação foi coerente com os resultados que manifestaram decréscimo significativo da clorofila do 8 ao 12º dia, período onde foi obtida queda efetiva dos valores de pH, com destaque ao tratamento 8MV que apresentou a maior diminuição do pH, acompanhada pelo menor teor da clorofila. A constância do teor do 12º ao 14º dia, observada no tratamento 8MV, poderia ser justificada pela detecção da feofitina na leitura óptica da clorofila, devido ao seu acúmulo durante a degradação do pigmento. Considerando o teor obtido na primeira e na última época de avaliação, o tratamento 8MV apresentou maior variação das médias e acentuada alteração da clorofila. O tratamento 8HP, embora tenha se alterado no 2º dia, diferindo da avaliação inicial, mostrou estabilidade do parâmetro até o 8º dia, havendo igualdade das médias do 2º ao 8º dia, portanto, este sistema de embalagem respondeu pela melhor retenção da clorofila a 8°C. Os teores descritos neste experimento foram superiores aos obtidos por FREIRE JR (2000) na alface 'Regina' minimamente processada, acondicionada e armazenada a 10°C por 14 dias, com teores na faixa de 2,1 a 1,2mg/g amostra. O mesmo autor mencionou a diminuição dos teores até o 7º dia e, subseqüentemente, relatou o acréscimo destes, supondo que a elevação dos teores pudesse estar associada à formação da feofitina.

Através dos parâmetros químicos avaliados pode-se concluir que a temperatura de 8°C foi limitante ao armazenamento da alface, e determinou alterações químicas significativas entre o 8º e o 12º dia de armazenamento, considerando-se os teores de clorofila total e acidez titulável. Entre os tratamentos, destacou-se o 8HP por ter apresentado menor variação das médias e por ter exibido ausência de diferenciação com a amostra inicial, no caso dos sólidos solúveis, portanto, pode-se inferir sobre uma menor atividade metabólica da alface submetida a este sistema de embalagem. Na temperatura de 5°C, o tratamento 5MV manteve-se por mais tempo inalterado e apresentou menor diferenciação entre as médias.

Tabela 15: Variação das médias do pH da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.

Período de Armazenamento (dia)	(média)	pH	
		Co ^a	C1 ^b
Inicial	5,48	-	-
2	5,75	*	A
5	5,91	*	B
8	5,91	*	B
12	5,90	*	B
14	6,00	*	C

a: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

b: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

Tabela 16: Variação das médias dos parâmetros químicos da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.

Tratamento	Dia ^a	Clorofila Total (mg/g amostra)		Acidez Titulável (% ác. cítrico)		SS ^d (°Brix)					
		Co ^b	C1 ^c	Co	C1	Co	C1				
5HP	Inicial	0	2,96	-	-	0,056	-	-	2,80	-	-
	2	3,04		A	0,062	*	A	3,22	*	A	
	5	3,80	*	B	0,064	*	A	3,05	*	B	
	8	3,65	*	B	0,064	*	A	3,10	*	B	
	12	3,80	*	B	0,076	*	B	2,65		C	
	14	3,76	*	B	0,067	*	C	2,72		C	
5MV	Inicial	0	3,58	-	-	0,055	-	-	3,05	-	-
	2	3,54		A	0,062	*	A	3,10		A	
	5	3,33		A	0,062	*	A	3,00		A	
	8	3,98	*	B	0,060	*	A	3,05		A	
	12	4,30	*	B	0,064	*	A	2,85	*	B	
	14	3,28	*	C	0,062	*	A	2,77	*	B	

a: Período de Armazenamento;

b: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

c: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$);

d: SS - Sólidos solúveis, °Brix.

Tabela 17: Variação das médias dos parâmetros químicos da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.

Tratamento	Dia ^a	Clorofila Total (mg/g amostra)		Acidez Titulável (% ác. cítrico)		pH					
		Co ^b	C1 ^c	Co	C1	Co	C1				
8HP	Inicial	0	2,96	-	-	0,056	-	-	5,46	-	-
		2	3,83	*	A	0,061	*	A	5,72	*	A
		5	3,68	*	A	0,083	*	B	5,56	*	B
		8	3,44	*	A	0,074	*	C	5,55	*	B
		12	2,02	*	B	0,088	*	D	5,22	*	C
		14	1,37	*	C	0,136	*	E	4,69	*	D
8MV	Inicial	0	3,58	-	-	0,055	-	-	5,50	-	-
		2	3,32		A	0,061	*	A	5,90	*	A
		5	4,23	*	B	0,087	*	B	5,44	*	B
		8	3,14	*	C	0,068	*	C	5,59	*	C
		12	1,70	*	D	0,110	*	D	4,85	*	D
		14	1,70	*	D	0,148	*	E	4,54	*	E

a: Período de Armazenamento;

b: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

c: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

Tabela 18: Variação do teor dos sólidos solúveis, expressas em °Brix, da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.

Período de Armazenamento (dias)	SS ^a		
	(média)	Co ^b	C1 ^c
Inicial	2,92	-	-
2	2,92		A
5	3,10	*	B
8	2,78	*	C
12	2,40	*	D
14	2,10	*	E

a: SS - Sólidos solúveis, °Brix;

b: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

c: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

Tabela 19: Variação do teor dos sólidos solúveis, expressa em °Brix, da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 8°C.

Tratamentos	SS ^a	
	(média)	C1 ^b
8MV	2,63	a
8HP	2,68	ab
0HP (inicial)	2,80	b
0MV (inicial)	3,05	c

a: SS - Sólidos solúveis, °Brix;

b: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

5.4.4 ASPECTOS SENSORIAIS – EQUIPE SENSORIAL

Comparando-se os resultados sensoriais respectivos ao armazenamento da alface a 8°C em atmosfera modificada ativa, na composição gasosa 1%O₂ + 10%CO₂, com os provenientes do experimento em atmosfera controlada, sob as mesmas condições, observou-se a melhor eficiência e o maior benefício do controle atmosférico em relação à conservação das características sensoriais de qualidade. Na temperatura de 8°C, os atributos mais prejudicados através da estocagem em atmosfera modificada ativa foram impressão global da aparência, turgidez, escurecimento de bordas e aspecto cozido que, neste experimento, exibiram médias sensoriais efetivamente inferiores às obtidas em atmosfera controlada, principalmente após o 8º dia de armazenamento (Tabelas 9 e 22). Segundo SCHLIMME & ROONEY (1996), a atmosfera controlada apresenta eficácia superior à das atmosferas modificadas, seja passiva ou ativa. Em contrapartida, a alface submetida à temperatura de 5°C revelou capacidade de preservar os parâmetros turgidez, escurecimento de nervuras, aparecimento de manchas escuras e aroma fermentado, não sendo obtido efeito do tempo de armazenamento sobre as médias. A afirmação evidenciou que nas condições deste experimento, o acondicionamento foi benéfico para a conservação dos atributos descritos, sendo a constância destes, por 14 dias na temperatura de 5°C, provavelmente atribuída à baixa temperatura em associação à utilização de uma atmosfera benéfica na estocagem, além dos adequados filmes plásticos testados. Pelo exposto, a temperatura respondeu pela preservação das características sensoriais que conferiam qualidade à alface e, assim, interferiu efetivamente na vida útil

da mesma, atribuindo um período de comercialização equivalente a 14 dias para a alface submetida a 5°C, enquanto para a estocada a 8°C, determinou um prazo entre 8 a 12 dias para a venda, havendo a alteração significativa das médias dos diferentes atributos no referido período.

Independente da temperatura de estocagem, nenhum parâmetro sensorial sofreu o efeito da interação tratamentos x período de armazenamento, sendo significativo apenas o efeito isolado do período de armazenamento. Portanto, na mesma época de avaliação, verificou-se que os diferentes sistemas de embalagem, submetidos à mesma temperatura, receberam médias equivalentes para cada parâmetro avaliado, havendo alteração destas em função do período de estocagem. O aroma característico foi o único atributo que sofreu a influência, isolada, tanto da embalagem quanto da estocagem.

5.4.4.1 Aroma característico

O aroma característico, atributo da alface fresca, decresceu ao longo da estocagem devido ao processo de deterioração natural (senescência). Independente da temperatura e do sistema de embalagem, da instalação do experimento até o 8º dia de armazenamento, os tratamentos apresentaram pequena variação das médias do aroma característico e, do 8º ao 12º dia mostraram queda efetiva do atributo, sendo mais acentuada na temperatura de 8°C (Tabela 21). Os tratamentos a 5°C, receberam as maiores médias e diferiram da amostra inicial no 12º dia, além de exibiram menor variação das médias sucessivas, refletindo a baixa alteração do parâmetro durante a estocagem. A embalagem 5HP se destacou, pois não diferiu da amostra inicial no decorrer de 14 dias de armazenamento, respondendo pela preservação do aroma (Tabela 20).

Na temperatura de 8°C, a alteração do atributo ocorreu no 8º dia, ocasião em que houve diferenciação em relação à avaliação inicial e a variação das médias sucessivas (Tabela 21). No período compreendido entre o 8º e o 12º dia, os tratamentos mostraram queda drástica e significativa do aroma característico, possivelmente indicando o término da vida útil da alface. Na última época de avaliação, a média fornecida ao atributo foi baixíssima, se comparada com a apresentada a 5°C.

5.4.4.2 Aroma fermentado

O aroma fermentado foi acrescido durante a estocagem e a tendência deste mostrar-se inversamente proporcional ao aroma característico foi confirmada. Os tratamentos expostos a 5°C responderam pelas menores médias e não exibiram alteração

significativa com a avaliação inicial, e nem a diferenciação entre as médias sucessivas (Tabela 21). A ausência de diferenciação com a amostra inicial indica que o parâmetro foi preservado durante o período de estocagem. O fato pode ser decorrente do benefício da baixa temperatura de armazenamento, associada à atmosfera ativa e à permeação dos filmes que, favorecendo a manutenção de uma adequada atmosfera de equilíbrio no interior das embalagens, reverteram na ausência de alteração do aroma fermentado.

Nos sistemas de embalagem submetidos a 8°C, observou-se baixa variação do aroma fermentado até o 8º dia, momento em que obteve-se diferença com a amostra inicial (Tabela 21). Após o 8º dia, houve acréscimo acentuado e significativo das médias fornecidas ao atributo, coincidindo com o decréscimo significativo das médias referentes ao aroma característico. A maior alteração do parâmetro, obtida do 8º ao 12º dia, coincidiu também com a diminuição significativa da intensidade da cor verde, da turgidez e da impressão global da aparência, assim como, com a progressão significativa das médias dos atributos escurecimento de bordas, aspecto cozido e aparecimento de manchas escuras, reforçando a afirmação que atribuí a este período a perda do valor comercial da alface armazenada a 8°C (Tabela 22).

Os resultados descritos, novamente confirmam a importância da utilização de temperaturas específicas e adequadas ao produto minimamente processado, pois a alface sob a temperatura de 5°C não mostrou variação dos atributos aroma fermentado, turgidez, escurecimento de nervuras e aparecimento de manchas escuras, além de ter havido baixa variação dos demais atributos, se comparados ao produto armazenado a 8°C. Portanto, a temperatura mostrou-se um fator de primordial importância na conservação e, por conseguinte, no prolongamento da vida útil da alface minimamente processada.

Tabela 20: Variação das médias referentes ao aroma característico da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera ativa e armazenada por 14 dias a 5°C.

Tratamentos	Aroma Característico	
	(média)	C1 ^a
Inicial	8,65	a
5HP	8,31	a
5MV	7,94	b

a: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

Tabela 21: Variação das médias atribuídas ao aroma característico e aroma fermentado da alface 'Lorca' minimamente processada, embalada em atmosfera modificada ativa e estocada por 14 dias a 5 e 8°C.

Período de Armazenamento (dias)	Aroma Característico	Aroma Fermentado		Co	C1
		Co ^a	C1 ^b		
TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO - 5±1°C; 80%UR					
Inicial	8,65	-	-	0	-
2	8,31	-	A	0,21	A
5	8,72	-	B	0,20	A
8	8,58	-	B	0,27	A
12	7,85	*	C	0,72	A
14	7,50	*	C	0,66	A
TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO - 8±1°C; 74%UR					
Inicial	8,62	-	-	0	-
2	8,23	-	A	0,39	A
5	8,55	-	A	0,49	A
8	7,69	*	B	0,86	* A
12	3,22	*	C	6,35	* B
14	2,12	*	D	8,18	* C

a: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

b: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$).

5.4.4.3 Intensidade da cor verde

As médias fornecidas a intensidade da cor verde tenderam ao decréscimo com o passar do tempo, sendo observada alteração acentuada das médias nos tratamentos submetidos a 8°C (Tabela 22).

Em virtude da menor temperatura de armazenamento e, por conseguinte, da menor atividade metabólica e respiratória da alface, induzindo baixa atividade enzimática, observou-se as maiores médias e a menor perda da intensidade da cor verde na temperatura de 5°C. Os tratamentos expostos a 8°C mostraram maior alteração para a coloração e respondem pelas menores médias, possivelmente refletindo a aceleração do metabolismo da alface e, assim, propiciando a maior atividade enzimática da clorofilase. A diferenciação com a amostra inicial foi obtida no 8º dia e, a partir do 12º dia observou-se perda significativa da intensidade da cor verde, destacando-se os tratamentos a 8°C por exibirem as menores médias. A acentuada redução das médias da coloração do 8º ao 12º dia, foi concordante com a queda dos teores da clorofila total, no referido período.

5.4.4.4 Turgidez

A turgidez diminuiu durante o armazenamento, provavelmente, incitada pela aceleração da atividade respiratória com o avanço da senescência, refletindo na geração de calor respiratório e na perda de umidade (Tabela 22).

Os tratamentos a 5°C receberam as maiores médias devido a menor temperatura de estocagem e sua influência direta sobre a menor atividade respiratória da alface, gerando baixo calor respiratório e, em decorrência, minimizando a perda de umidade, diretamente relacionada ao atributo em questão. Apesar de não ter havido variação entre as médias sucessivas, os tratamentos exibiram decréscimo significativo da turgidez no 5º dia, momento que diferiram da avaliação inicial. A ausência de variação significativa entre as médias sucessivas pode indicar que este parâmetro, na temperatura de 5°C, não foi limitante a vida útil da alface. O decréscimo da turgidez na temperatura de 8°C foi mais intenso, havendo variação significativa das médias, possivelmente em decorrência da aceleração da atividade respiratória com a maior temperatura de estocagem. Os tratamentos a 8°C exibiram queda do parâmetro no 5º dia, ocasião em que diferiram da amostra inicial, e até esta época de avaliação, apresentaram médias pouco inferiores às atribuídas na temperatura de 5°C. Observou-se diminuição drástica e significativa da turgidez do 8º ao 12º dia, indicando a perda do valor comercial da alface, e na última época de avaliação obteve-se baixíssima média para o parâmetro.

Comparando-se as médias apresentadas pelos sistemas de embalagem nas duas temperaturas, observou-se que a diferença entre as médias não foi gritante até o 8º dia, porém, a partir deste período, as médias dos tratamentos a 5 e a 8°C diferiram intensa e significativamente, permitindo inferir sobre a perda do valor comercial da alface. Portanto, comprova-se a eficácia dos sistemas de embalagem que, reduzindo a atividade respiratória da alface, limitaram a perda da turgidez do produto até o 8º dia, independente da temperatura de estocagem.

5.4.4.5 Escurecimento de nervuras

O escurecimento de nervuras aumentou com o período de estocagem, apresentando maiores médias e maior nível de variação na temperatura de 8°C, indicativo de maior atividade enzimática (Tabela 22).

Na temperatura de 5°C, o escurecimento de nervuras não foi alterado no decorrer dos 14 dias de armazenamento, fato comprovado pela ausência de diferença significativa entre as médias e em relação à amostra inicial. O comportamento descrito indica a influência benéfica da baixa temperatura e dos sistemas de embalagem na diminuição da

atividade metabólica, acarretando na redução da velocidade das reações enzimáticas, responsáveis diretas pelo grau de escurecimento dos tecidos vegetais. Os tratamentos submetidos a 8°C até o 8º dia, apresentaram médias semelhantes às expostas a 5°C. Os resultados permitiram inferir sobre uma possível compensação, embora temporária, proveniente da benéfica atmosfera ativa injetada no acondicionamento, associada à escolha dos filmes plásticos adequados, sobre a maior temperatura de armazenamento, devido ao baixo nível de acréscimo do atributo até o 8º dia. Curiosamente, as médias atribuídas a este parâmetro, em específico, foram melhores no experimento em atmosfera controlado, considerando-se o tratamento 110-8 que, submetido às mesmas condições de estocagem do presente experimento, revelou maior grau de escurecimento e mostrou alteração do parâmetro já no 4º dia (Tabelas 9 e 22). O comentário pode ser decorrente da melhor qualidade apresentada pela matéria-prima neste experimento, fato comprovado pelas maiores médias fornecidas a amostra inicial, ou ainda, resultado da atmosfera de equilíbrio estabelecida na atmosfera ativa, sendo extremamente benéfica à desaceleração da atividade das enzimas oxidativas. No 12º dia observou-se o aumento não significativo das médias sucessivas, reforçando o estabelecimento da vida útil da alface, sob estocagem a 8°C, entre 8 e 12 dias, apesar do parâmetro diferir da avaliação inicial apenas no 14º dia, momento em que houve variação das médias sucessivas.

A retenção do acréscimo do escurecimento de nervuras constituiu um dos propósitos desta pesquisa, em virtude do parâmetro referir-se a um dos principais fatores limitantes ao prolongamento da vida útil da alface processada. Independente da temperatura, as atmosferas de equilíbrio estabelecidas foram eficientes na limitação do escurecimento de nervuras, provavelmente em decorrência da alta concentração do CO₂ e sua influência sobre a atividade da PFO, assim como, em virtude do baixo teor de O₂ e sua ascendência sobre a atividade respiratória e enzimática. Portanto, os sistemas de embalagem empregados mostraram-se efetivos em inibir a progressão do parâmetro em questão, considerando-se a adequação dos fatores constituintes dos mesmos, como as temperaturas de estocagem, o peso acondicionado e a mistura gasosa injetada, além da composição polimérica, da espessura e da permeabilidade a gases dos filmes plásticos testados. Os resultados confirmam o relatado por CANTWELL (2000) e GORNY (1997a), que recomendam para a alface 'Iceberg' a aplicação de atmosferas compostas por concentrações de O₂ variando de 0,5 a 1% e teores de CO₂ na faixa de 10 a 15%, em virtude da eficiência na redução da respiração e na limitação do escurecimento enzimático devido, principalmente, ao efeito inibitório dos altos teores de CO₂ sobre a atividade da PFO, associado à atuação das baixas concentrações de O₂ sobre o decréscimo da

atividade respiratória e a inibição das reações oxidativas. Neste experimento, apesar da maior temperatura de estocagem, o escurecimento de nervuras não se mostrou limitante a vida útil da alface 'Lorca' minimamente processada. A afirmação, decorrente da aplicação de uma mistura gasosa otimizada para conservação, concorda com KADER et al. (1986), que relataram a obtenção de menor grau de escurecimento enzimático e, por conseguinte, a extensão da vida útil do produto, por intermédio da utilização da atmosfera modificada ativa, otimizada e específica ao mesmo, em associação ao uso da refrigeração.

5.4.4.6 Escurecimento de bordas

O escurecimento de bordas foi acrescido com o avanço da estocagem e, em reflexo a maior temperatura, mostrou progressão consideravelmente maior a 8°C, indicando a aceleração do metabolismo e da atividade enzimática. Comparado ao escurecimento de nervuras, o escurecimento de bordas revelou-se mais limitante a preservação da 'qualidade visual' da alface, por exibir maior nível de acréscimo durante a estocagem, além de receber maiores médias, especialmente na temperatura de 8°C (Tabela 22).

Os tratamentos submetidos a 5°C responderam pelas menores médias e mostraram aumento lento para o parâmetro até o 12º dia, período em que não foi obtida alteração entre as médias e nem a diferenciação com a amostra inicial, evidenciando a influência positiva da utilização da temperatura ideal ao armazenamento da alface, além da benéfica atmosfera ativa, sobre a desaceleração das reações enzimáticas (Tabela 22). O acréscimo verificado do 12º ao 14º dia foi significativo, havendo diferenciação com a avaliação inicial e a variação das médias sucessivas, revelando alteração do grau de escurecimento e, possivelmente, indicando o avanço da senescência e, assim, a aceleração das reações enzimáticas responsáveis pela depreciação do valor comercial. Na temperatura de 8°C, os tratamentos apresentaram as maiores médias e a maior amplitude de variação para as mesmas, havendo a alteração do parâmetro no 8º dia de armazenamento, momento em que foi obtida diferença significativa com a amostra inicial. No 12º dia observou-se o aumento acentuado do escurecimento de bordas, com a variação das médias sucessivas, confirmando a perda do valor comercial da alface, submetida a 8°C, entre 8º e o 12º dia de estocagem. A obtenção do maior grau de escurecimento de bordas na maior temperatura, provavelmente foi decorrente da elevação do metabolismo, revertendo na aceleração das reações enzimáticas e proporcionando rápida e intensa progressão do parâmetro.

Por intermédio da comparação das médias atribuídas ao tratamento 110-8, correspondente ao experimento em atmosfera controlada (Tabela 9), com as médias fornecidas aos tratamentos do presente experimento, o escurecimento de bordas apresentou maior nível de acréscimo na alface acondicionada em atmosfera modificada ativa (Tabela 22), diferindo do observado para o escurecimento de nervuras. Portanto, a atmosfera ativa parece ter favorecido um maior nível de acréscimo para o escurecimento de bordas, tornando-o mais limitante a vida útil da alface 'Lorca' do que o escurecimento de nervuras.

5.4.4.7 Cozido

Os tratamentos submetidos a 5°C apresentaram aumento discreto do aspecto cozido até o 8º dia, mantendo as características da amostra inicial. No 12º dia, exibindo variação das médias sucessivas, o atributo diferiu da amostra inicial e, em seguida, manteve-se estável até o término do experimento (Tabela 22). Em virtude do baixo acréscimo apresentado, pode-se inferir sobre a reduzida atividade metabólica atuante na alface exposta a 5°C, trazendo como conseqüência à desaceleração do processo de senescência e a baixa progressão do parâmetro. Portanto, nos tratamentos sob 5°C, o aspecto cozido não constituiu um fator limitante ao valor comercial da alface durante os 14 dias de estocagem. Na temperatura de 8°C, o aspecto cozido foi um dos mais alterados pelo período de armazenamento, revelando-se mais limitante que o escurecimento de bordas a vida útil da alface (Tabela 22). A alteração do parâmetro ocorreu no 8º dia, ocasião em que houve diferenciação com a amostra inicial e variação das médias sucessivas. Após este período, os tratamentos mostraram rápida e considerável progressão do atributo, com variação significativa das médias a cada época de avaliação. O comentário reforça a suspeita da perda do valor comercial da alface entre o 8º e o 12º dia de armazenamento a 8°C. No término do experimento, a alface estava com a coloração descaracterizada (enegrecida) e a aparência totalmente comprometida pelo elevado nível de escurecimento e deterioração dos tecidos, refletindo o avançado do estágio de senescência do produto. O baixo teor de O₂ existente no espaço-livre das embalagens, pode ter propiciado a inversão do metabolismo a condição anaeróbia, promovendo o processo fermentativo e depreciando ainda mais o aspecto da alface. Portanto, no 14º dia de estocagem a 8°C, a alface encontravam-se em fase avançada de deterioração e, talvez, em processo de fermentação. Os resultados revelaram a importância da temperatura, devido a sua influência direta sobre a atividade metabólica e, por conseguinte, sobre a velocidade das reações degradativas e o avanço do processo de

senescência, estimulando a deterioração natural e delimitando a vida útil da alface. Vale ressaltar que, em comparação ao tratamento 110-8 sob atmosfera controlada (Tabela 9), a aplicação da atmosfera modificada ativa, favoreceu o acréscimo intenso do aspecto cozido na temperatura de 8°C, tornando-o um fator limitante ao prolongamento da vida útil da alface.

5.4.4.8 Aparecimento de manchas escuras

O aparecimento de manchas escuras, independente da temperatura, não foi um fator limitante à conservação da alface 'Lorca' em virtude da baixa incidência e severidade exibidas no decorrer da estocagem. Os tratamentos expostos a 5°C não exibiram variação das médias sucessivas e não diferiram da avaliação inicial, mantendo as características do início do experimento para o atributo em questão (Tabela 22). Portanto, o acréscimo não significativo das médias atribuídas ao aparecimento de manchas escuras, evidenciou a influência positiva da temperatura e dos sistemas de embalagem na diminuição da atividade metabólica e respiratória e, conseqüentemente, na redução da produção e ativação do etileno, hormônio responsável pelo desenvolvimento da "russet spotting". A composição gasosa presente no espaço-livre das embalagens, possivelmente, desfavoreceu a produção e ativação deste hormônio. Em contrapartida, as baixas médias para este parâmetro foram esperadas, visto que não foi detectado etileno no armazenamento da alface 'Lorca' em atmosfera controlada sob 5 e 8°C. Na temperatura de 8°C, os tratamentos apresentaram maior nível de variação para o atributo, porém, até o 8º dia, as médias foram equivalentes as atribuídas a 5°C. Os tratamentos exibiram alteração do atributo no 12º dia, quando diferiram da avaliação inicial e apresentaram variação das médias sucessivas, havendo em seguida, a estabilização destas até o término do experimento. As médias foram inferiores as determinadas no experimento em atmosfera controlada, considerando-se o tratamento 110-8 (Tabela 9), repetindo o comportamento relatado para o escurecimento de nervuras. O menor nível de acréscimo obtido para o atributo na atmosfera modificada ativa pode ter sido favorecido pela atmosfera de equilíbrio. Os resultados permitiram inferir sobre a resistência da cv. 'Lorca' a esta injúria fisiológica, em virtude da baixa e lenta progressão do aparecimento de manchas escuras, tanto em atmosfera controlada quanto em atmosfera modificada ativa, considerando-se o extenso período de armazenamento sob uma temperatura inadequada à conservação, 8°C.

5.4.4.9 Impressão global da aparência

O atributo impressão global da aparência, que foi considerado um dos mais relevantes e limitantes a preservação do valor comercial da alface, foi acrescido durante o armazenamento e, independente da temperatura, sofreu alteração no 2º dia, diferindo da amostra inicial (Tabela 22).

As melhores médias foram fornecidas aos tratamentos a 5°C que, exibindo baixa variação das médias sucessivas, responderam pela menor intensidade de perda do atributo no decorrer do armazenamento (Tabela 22). No término do experimento, os tratamentos apresentaram boas médias e boa aparência, exibindo eficiência na retenção do atributo e, conseqüentemente, revelando a capacidade de manter o valor comercial da alface por 14 dias de armazenagem a 5°C. Os resultados reforçam a importância da utilização da temperatura adequada e específica ao produto, em associação a aplicação da composição gasosa otimizada à conservação das características de qualidade, sobre a extensão da vida útil do mesmo. Em reflexo a maior temperatura, os tratamentos submetidos a 8°C responderam pelas piores médias e mostraram intenso e rápido decréscimo da impressão global da aparência, havendo a maior alteração das médias sucessivas e o alto nível de variação do atributo. A queda do parâmetro foi baixa até o 5º dia, com ausência de diferenciação entre as médias, e no 8º dia observou-se decréscimo significativo, com variação das médias sucessivas, indicando a aproximação do término da vida útil. No 12º dia os tratamentos exibiram intensa diminuição para o atributo, com o decréscimo acentuado e significativo da média. Portanto, na temperatura de 8°C, os tratamentos evidenciaram a influência negativa da maior temperatura sobre o maior grau de perda da aparência, indicando a aceleração da atividade metabólica e a rápida transição a fase de senescência, incitando uma série de reações degradativas e promovendo a depreciação das características de qualidade da alface que, associadas, compõem o atributo em questão. Segundo GORNY (1997 a) e KADER et al. (1989), a atmosfera modificada refere-se a um complemento da 'cadeia do frio' e não um substituto desta, tendo-se em vista, a alta influência das baixas temperaturas na redução da atividade metabólica e respiratória. Comprovou-se a superioridade da atmosfera controlada sobre a conservação do atributo impressão global da aparência, em relação à atmosfera ativa, pois as notas atribuídas ao tratamento 110-8, correspondente ao experimento em atmosfera controlada, foram efetivamente superiores.

Tabela 22: Variação das médias atribuídas aos parâmetros sensoriais da alface ‘Lorca’ minimamente processada, embalada em atmosfera modificada ativa e armazenada por 14 dias a 5 e a 8°C.

Período de Armazenamento (dia)	Cor Verde	Co _a C _b		Turgidez		EN ^c	Co C1		EB ^d	Co C1		Cozido		Manchas Escuras		Co C1		Impressão Global Aparência		Co C1	
		Co _a	C _b	Co	C1		Co	C1		Co	C1	Co	C1	Co	C1	Co	C1	Co	C1	Co	C1
Inicial	7,50	-	-	8,10	-	-	0		0	-	-	0	-	-	0	-	-	8,74	-	-	
TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO - 5±1°C; 80%UR																					
2	7,21		A	7,68		A	0,05		A	0,14		A	0,08		A	0,02		A	7,78	*	A
5	7,13		A	7,35	*	A	0,08		A	0,22		A	0,16		A	0,02		A	7,45	*	A
8	7,04	*	A	7,18	*	A	0,05		A	0,28		A	0,21		A	0,05		A	7,36	*	A
12	6,65	*	B	6,94	*	A	0,10		A	0,28		A	0,40	*	B	0,05		A	6,86	*	B
14	6,82	*	B	6,88	*	A	0,17		A	0,73	*	B	0,42	*	B	0,06		A	7,06	*	B
TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO - 8±1°C; 74%UR																					
2	6,74		A	7,48		A	0,09		A	0,28		A	0,16		A	0,02		A	6,98	*	A
5	7,04		A	7,18	*	A	0,12		A	0,40		A	0,26		A	0,05		A	7,16	*	A
8	6,50	*	A	6,40	*	B	0,12		A	0,78	*	A	0,98	*	B	0,04		A	5,70	*	B
12	5,24	*	B	2,70	*	C	0,36		A	2,46	*	B	7,88	*	C	0,24	*	B	1,54	*	C
14	4,84	*	B	1,36	*	D	1,03	*	B	2,11	*	B	8,66	*	D	0,28	*	B	1,09	*	D

a: Comparações de médias com a amostra inicial, com comparações significativas ($p \leq 0,05$) notadas por *;

b: Comparações de médias 2 a 2, médias sucessivas com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$);

c: EN – Escurecimento de nervuras;

d: EB – Escurecimento de bordas.

5.4.5 ASPECTOS SENSORIAIS – TESTE DE CONSUMIDOR

Independente da temperatura, a intenção de compra decresceu continuamente (Figura 3), refletindo a perda gradual do interesse do consumidor na aquisição da alface em virtude da depreciação de sua aparência com o decorrer do armazenamento. De modo geral, os resultados correspondentes à avaliação da intenção de compra foram concordantes com os provenientes da avaliação sensorial realizada pela equipe treinada, com as maiores médias fornecidas aos tratamentos sob 5°C e as menores atribuídas àqueles expostos a temperatura de 8°C. Novamente em concordância com a equipe treinada, até o 5^o dia de armazenamento as médias atribuídas aos tratamentos a 8°C não mostraram diferenças marcantes em relação às exibidas pelos tratamentos a 5°C. Após o 8^o dia, as médias divergem consideravelmente com a temperatura de armazenamento, permitindo inferir sobre a perda do valor comercial da alface neste período, considerando-se a temperatura de 8°C.

O teste de consumidor confirmou o melhor desempenho dos sistemas de embalagem a 5°C na preservação das características relativas a 'qualidade visual' da alface, por receberem as maiores médias e exibirem menor amplitude de variação da intenção de compra, considerando-se o valor das médias no início e no término do experimento. O tratamento 5HP se destacou por apresentar as melhores médias e no término do experimento responder pela maior média, 5,1, mostrando-se capaz de preservar por 14 dias o valor comercial da alface.

Na temperatura de 8°C, as médias mostraram queda contínua e foram efetivamente reduzidas no decorrer do armazenamento, apesar dos tratamentos apresentarem boas médias até o 8^o dia, permitindo pressupor sobre uma possível compensação proveniente da adequada composição gasosa presente nas embalagens, e otimizada à conservação, em relação a maior temperatura de estocagem. Após o 8^o dia, as médias sofreram redução abrupta e, se comparadas às atribuídas aos tratamentos submetidos a 5°C, foram consideravelmente inferiores. No 12^o dia os tratamentos exibiram decréscimo intenso das médias, o que determinou a exclusão destes da referida avaliação, estando a alface com a aparência totalmente comprometida em virtude da baixa turgidez, do alto nível de escurecimento dos tecidos, além do elevado grau de umidade presente, conferindo um aspecto cozido ao produto, indicativo de processo fermentativo. Desta forma, confirmou-se, em definitivo, a perda do valor comercial da alface submetida a 8°C, no período correspondente ao 8^o e o 12^o dia de estocagem. A queda drástica observada para a intenção de compra entre o 8^o e o 12^o dia, foi coincidente com a alteração significativa de todos os atributos sensoriais avaliados pela

equipe treinada, excetuando-se o escurecimento de nervuras. No término do experimento, o sistema de embalagem MV foi preterido ao HP, respondendo pela menor intenção de compra.

Portanto, prevaleceu a intenção de compra sobre o sistema de embalagem HP, que manteve por 14 dias o apelo comercial da alface exposta a 5°C, enquanto a 8°C mostrou melhor eficiência na conservação da aparência no decorrer dos 12 dias de estocagem. A afirmação pode ser comprovada por intermédio das médias referentes à intenção de compra e, possivelmente, explicada pela menor taxa de permeabilidade desta embalagem que, permitindo menor nível de troca gasosa entre o ambiente externo e o circundante ao produto, proporcionou melhor conservação das características sensoriais de qualidade da alface. Em contrapartida, esta baixa taxa de permeação das embalagens tornou-se arriscada quando a alface foi exposta a temperatura de 8°C por um período de estocagem superior a 8 dias, podendo favorecer o metabolismo anaeróbico possivelmente em virtude da baixa concentração de oxigênio presente no espaço-livre das embalagens.

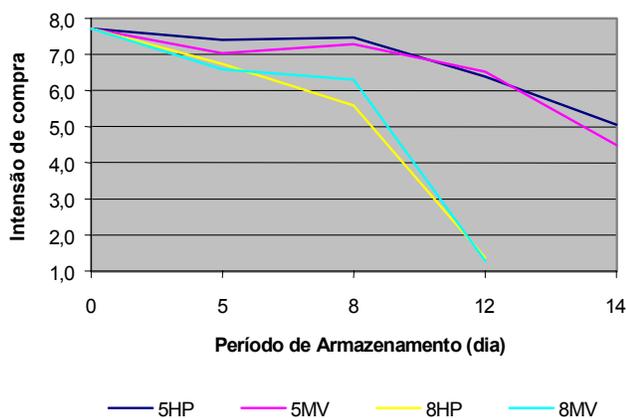


Figura 3: Variação das médias sensoriais referentes a intenção de compra da alface americana 'Lorca' minimamente processada, acondicionada nos filmes HP e MV sob atmosfera modificada ativa, 1%O₂ + 10%CO₂, e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.

Nos testes de consumidor torna-se importante à caracterização dos participantes, permitindo validar ainda mais a análise à medida que o perfil dos mesmos for adequado ao produto em questão. Na última época de avaliação, os participantes preencheram um questionário, cujas perguntas e respectivas opções de resposta, além das percentagens obtidas em cada uma destas, encontram-se descritas na Tabela 23.

De acordo com os dados coletados, observou-se que 62,5% dos participantes consumiam alface freqüentemente, com 39,3% de preferência pelo consumo da variedade lisa, enquanto 24,8% optaram pela variedade americana (Tabela 23). Considerando-se o

número total de participantes, 54,7% destes eram mulheres, estando 32,8% do total de participantes em idade variando de 26 a 35 anos, e 29,7% apresentaram renda familiar na faixa de 5 a 10 salários mínimos. Vale ressaltar que 37,5% dos participantes possuíam Titulação, Curso de Pós-graduação. Embora a alface da variedade americana tenha representado 24,8% do consumo, o perfil dos participantes pareceu favorável ao produto avaliado, em virtude de consumirem com frequência alface e serem em sua maioria mulheres, costumeiramente responsáveis pela aquisição dos produtos domésticos. Além disso, a baixa faixa etária e o alto grau de instrução, provavelmente indicam ausência de preconceito em relação à aquisição de novos produtos, como os minimamente processados. Entretanto, a maioria dos participantes, em virtude da renda familiar mensal, apresentou baixo poder de compra para a classe dos produtos minimamente processados.

Tabela 23: Perfil dos 80 participantes do teste de consumidor da alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O₂ + 10%CO₂, e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.

Questões		Respostas
Perguntas	Alternativas	n = 80 (%)
Com que frequência você consome alface?	Nunca	0
	Raramente	3,1
	Esporadicamente	9,4
	Freqüentemente	62,5
	Nunca	25
Indique entre os tipos de alface, qual você consome	Alface americana	24,8
	Alface lisa	39,3
	Alface crespa	26,9
	Alface roxa	9
	Outras	0
Sexo	Feminino	54,7
	Masculino	45,3
Grau de instrução	1º Grau	1,6
	2º Grau incompleto	1,6
	2º Grau completo	20,3
	Universitário incompleto	20,3
	Universitário completo	18,7
	Pós-graduação	37,5
Idade	< 18 anos	1,6
	18 a 25 anos	26,6
	26 a 35 anos	32,8
	36 a 45 anos	21,9
	46 a 55 anos	17,1
	56 a 65 anos	0
	> 66 anos	0
Renda familiar mensal (em número de salários mínimos)	1 a 5 salários	15,6
	> 5 a 10 salários	29,7
	> 10 a 20 salários	25
	> 20 a 30 salários	21,9
	> 30 salários	7,8

5.4.6 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

A contagem de enterobactérias, que representa a população contaminante do Gênero Coliformes, inclusos os coliformes totais e fecais, visa a caracterização da flora microbiana e a especificação do seu nível de contaminação (SPECK, 1984). A contagem inicial da alface acusou baixa população de coliformes totais, com resultados 4 e <3NMP/g, respectivamente, nos sistemas de embalagem HP e MV (Tabela 24). Os resultados iniciais relativos aos coliformes fecais mostraram ausência, com valor <3NMP/g, independente do filme plástico empregado. Os valores iniciais obtidos para o Gênero Coliformes evidenciaram a inquestionável qualidade microbiológica da matéria-prima, além de comprovarem a eficiência dos parâmetros de processamento na redução da população contaminante inicial, considerando-se os fatores: qualidade da água; temperatura e higiene da linha de processamento, em relação aos manipuladores e os equipamentos; valor do pH; temperatura da água; concentração de cloro dos banhos de sanificação. Ressalta-se que a qualidade microbiológica inicial é determinante a extensão da vida útil do produto. No decorrer de 5 dias de armazenamento, todos os tratamentos apresentaram contagem baixíssima para os coliformes totais. No 8º dia foi detectada diferença de um ciclo logarítmico entre os tratamentos submetidos as diferentes temperaturas de estocagem, destacando-se os filmes expostos a 5°C, com menor contagem. No 12º dia e no término do experimento, todos os tratamentos exibiram incontável contagem de coliformes totais, possivelmente em virtude do início da fase de senescência da alface, trazendo como consequência a maior susceptibilidade a contaminação microbiológica. Em contrapartida, a alta população de totais não foi à causa primária do término da vida útil do produto, pois os tratamentos a 5°C exibiram população incontável a partir do 12º dia e mantiveram o apelo comercial por 14 dias. Através da comparação dos resultados observados neste experimento com os obtidos para alface exposta a 8°C e submetida à mesma atmosfera de estocagem (1%O₂ + 10%CO₂) em regime controlada (Tabela 9), observou-se que na atmosfera modificada ativa, embora a menor contagem inicial, foram obtidas maiores contagens de totais no decorrer do armazenamento, sugerindo uma maior taxa de reprodução destes contaminantes em atmosferas ativas.

Durante o armazenamento, os coliformes fecais foram praticamente ausentes em todos os tratamentos (Tabela 24), visto que, os resultados equivalentes a 4 e 7NMP/g representam a quase inexistência destes contaminantes, podendo tais contagens serem atribuídas a amostras isoladas, pois nas últimas épocas de avaliação, 12º e 14º dia, comprova-se a ausência de fecais. Os resultados obtidos foram discordantes de FREIRE

JR. (2000), que mencionou, para a alface processada Regina, a obtenção de um nível população de fecais fora da legislação, 200NMP/g, após 7 dias sob 10°C.

A contagem inicial do Gênero *Pseudomonadaceae* foi correspondente a 10 e 19UFC/g, respectivamente para os filmes HP e MV (Tabela 25), confirmando a boa qualidade microbiológica da matéria-prima e a realização de operações de processamento apropriadas, em virtude da baixa população inicial determinada. De modo geral, os tratamentos armazenados a 5°C respondem pelas menores populações de *Pseudomonas* spp., possivelmente em consequência da menor temperatura de estocagem, visto que, as baixas temperaturas diminuem a taxa de reprodução e elevam o tempo de geração de muitos microrganismos, classificando a refrigeração como o principal meio de controle da deterioração microbiana. Na segunda época de avaliação, 2º dia, foi obtida diferença de um ciclo logarítmico entre os tratamentos expostos nas diferentes temperaturas, destacando-se os submetidos a 5°C, que mantiveram a população praticamente inalterada até esta ocasião. A partir do 5º dia estocagem a 5°C até o 12º dia, o tratamento HP respondeu pelas menores contagens de *Pseudomonas* spp, com diferença de um ciclo logarítmico em relação às populações determinadas no tratamento 5MV. No 12º dia, o sistema de embalagem 5HP atingiu o nível populacional $4,1 \times 10^5$ UFC/g, enquanto o tratamento 5MV apresentou contagem $4,4 \times 10^6$ UFC/g. No término do experimento, as populações encontradas nos tratamentos a 5°C foram incontáveis, $>3 \times 10^8$ UFC/g, independente do filme plástico utilizado.

No decorrer do experimento, os tratamentos expostos a 8°C, praticamente, não apresentaram diferenças populacionais de *Pseudomonas* spp. e também exibiram nível populacional incontável no 14º dia de estocagem. NGUYEN-THE & PRUNIER (1989) mencionaram existir uma clara relação entre a deterioração de saladas prontas e a contagem de *Pseudomonas marginalis*. De acordo com as médias de notas provenientes do teste de consumidor e da equipe de provadores, a alface armazenada a 8°C perdeu o apelo comercial do 8º para o 12º dia de armazenamento, justamente na ocasião que a população de *Pseudomonas* spp sofreu acréscimo equivalente a três ciclos logarítmicos. A elevação da contagem desta bactéria na temperatura de 8°C, pode justificar a perda do valor comercial da alface do 8º para o 12º dia, pois neste mesmo período, os tratamentos receberam notas consideravelmente menores para os atributos sensoriais aparência e turgidez, e médias efetivamente maiores para os parâmetros escurecimento de bordas e nervuras, aspecto cozido e aroma fermentado, confirmando o relatado por NGUYEN-THE & PRUNIER (1989). A sugestão de Izumi et al., citado por CARNELOSSI (2000), referente à queda do pH no término da vida útil de minimamente processados estar relacionada

com o acréscimo do nível populacional de microrganismos deterioradores, também foi confirmada, pois do 8º ao 12º dia a 8°C, os valores de pH foram efetivamente decrescidos. Tanto a atividade fisiológica quanto à microbiológica promovem mudanças bioquímicas que conduzem a rápida depreciação das características de qualidade (KING & BOLIN, 1989). Portanto, o aumento da atividade da PFO do 8º para o 12º dia e do 12º ao 14º dia, respectivamente, nos tratamentos a 8 e a 5°C e, por conseguinte, o maior nível de escurecimento dos tecidos detectado pela avaliação sensorial da equipe de provadores, no decorrer destes períodos, pode ser conseqüência do acréscimo na contagem desta bactéria.

FREIRE JR. (2000), que armazenou alface Regina processada por 14 dias a 10°C em atmosfera passiva, relatou que a depreciação da qualidade visual coincidiu com o acréscimo do nível populacional de coliformes totais e *Pseudomonas* spp., confirmando o observado neste experimento. Comparando-se os valores populacionais obtidos nos tratamentos a 8°C com os exibidos em atmosfera controlada (Tabela 10), foi observada a propensão da atmosfera ativa no acréscimo da população de *Pseudomonas* spp., apesar da menor contagem inicial.

Tabela 24: Variação da contagem do Grupo Coliformes, expressa em NMP/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O₂ + 10%CO₂, e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.

Período de Armazenamento (dias)	Coliformes Totais				Coliformes Fecais			
	5HP	5MV	8HP	8MV	5HP	5MV	8HP	8MV
0	4	<3	4	<3	<3	<3	<3	<3
2	4	<3	4	4	<3	<3	4	<3
5	28	43	75	43	4	<3	7	4
8	150	210	1,1x10 ³	>2,0x10 ³	<3	4	<3	<3
12	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	<3	<3	<3	<3
14	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	<3	<3	<3	<3

Em virtude do pH dos tecidos vegetais e da necessidade do armazenamento sob refrigeração, as bactérias psicotróficas representam a população contaminante predominante na alface (BRACKETT, 1996). Os níveis populacionais iniciais dos contaminantes totais, referentes às bactérias psicotróficas, foram 210 e 190UFC/g, correspondentes aos filmes plásticos HP e MV, respectivamente (Tabela 25). Considerando-se o relatado por GUERZONI et al. (1996), que mencionou um nível máximo de contaminação inicial em vegetais crus aproximado a 10^6 UFC/g, os resultados obtidos foram consideravelmente inferiores. A população de psicotróficos em 12 dias de armazenamento a 4°C sob atmosfera controlada, composta por 3%O₂ + 10%CO₂, segundo BARRIGA et al. (1991), aumentou de 10^4 a 10^7 UFC/g, sendo este nível de acréscimo levemente inferior ao verificado neste experimento para os tratamentos a 5°C, após 12 dias de armazenamento. A afirmação sugere a alta eficiência da atmosfera ativa empregada (1%O₂+10%CO₂) no controle da população contaminante total, visto que, para as demais populações microbianas avaliadas confirmou-se a disparada superioridade da atmosfera controlada na contenção da proliferação microbiana.

Durante o armazenamento, as maiores populações foram atribuídas aos tratamentos a 8°C, destacando-se o tratamento 8HP, que respondeu pelos menores níveis populacionais de psicotróficos e, no 12º dia de armazenamento apresentou contagem $2,6 \times 10^7$ UFC/g, enquanto no filme MV foi obtido nível populacional incontável, $>3 \times 10^8$ UFC/g. Os microrganismos deterioradores psicotróficos e produtores de enzimas pectinolíticas são capazes de causar o colapso dos tecidos colonizados, exercendo influência marcante sobre a depreciação das características de qualidade e, em decorrência, encontram-se intimamente relacionados à deterioração. De acordo com GUERZONI et al. (1996), níveis populacionais equivalentes a 10^7 a 10^8 UFC/g alteram as características sensoriais, determinando a perda do valor comercial. Os mesmos autores relataram que em níveis populacionais superiores a 10^6 UFC/g há formação de metabólitos secundários como etanol e ácido láctico, com oxidação de polifenóis em tecidos injuriados, trazendo como consequência o precoce escurecimento dos tecidos. Os resultados obtidos foram concordantes com as afirmações, pois os tratamentos a 8°C, segundo a equipe de provadores e o teste de consumidor, perderam o apelo comercial no 12º dia, quando foram verificadas populações correspondentes a $2,6 \times 10^7$ e $>3 \times 10^8$, respectivamente, nos sistemas de embalagem HP e MV. No 12º dia, a equipe de provadores atribuiu médias consideravelmente maiores para os parâmetros aroma fermentado, aspecto cozido, escurecimento de bordas e escurecimento de nervuras, coincidindo com o acréscimo da atividade da PFO. NGUYEN-THE & PRUNIER (1989),

citam que a perda do valor comercial da alface é determinada pelo escurecimento de bordas e nervuras, sendo reflexo direto da atividade enzimática que, por sua vez, pode ser favorecida pelo ataque de microrganismos em altas populações.

Entretanto, os tratamentos a 5°C, que atingiram o 14º dia de armazenamento com nível populacional incontável, apresentaram boas notas para os atributos sensoriais aparência, turgidez, escurecimento de bordas e nervuras, aspecto cozido e aroma fermentado. Estes resultados positivos possivelmente podem ser decorrentes da associação da menor temperatura de armazenamento com a eficiente atmosfera de acondicionamento, com destaque ao tratamento 5HP, que no 12º dia apresentou população de $8,9 \times 10^6$, enquanto no tratamento 5MV foi verificada população de $1,5 \times 10^7$.

NGUYEN-THE & PRUNIER (1989), relataram para alface minimamente processada valores da ordem de 10^5 a 10^8 UFC/g para a população contaminante total após 8 dias de estocagem a 10°C. As populações de psicrotróficos obtidas no 8º dia de armazenamento a 8°C foram concordantes com os autores, sendo equivalentes a $4,7 \times 10^6$ e $1,0 \times 10^7$ UFC/g, respectivamente nos filmes HP e MV. GUERZONI et al. (1996), avaliando a população contaminante total em alface minimamente processada e armazenada a 5°C por 11 dias, registraram população psicrotrófica correspondente a 10^6 células/g e determinaram um período de 8 a 11 dias para a comercialização do produto. Os tratamentos HP e MV a 5°C, apresentaram no 12º dia de armazenamento níveis populacionais de psicrotróficos correspondentes a $8,9 \times 10^6$ e $1,5 \times 10^7$ UFC/g, respectivamente, sendo levemente superiores ao descrito por GUERZONI et al. (1996).

O resultado do plaqueamento seletivo para *Salmonella* spp. foi negativo para todos os tratamentos e nas diferentes épocas de avaliação, estando de acordo com CANTWELL (1992) e BARRIGA et al. (1991), que relataram o improvável crescimento de microrganismos patogênicos em vegetais crus devido a flora microbiana deterioradora apresentar vantagem na competição.

Tabela 25: Variação da contagem da população contaminante total e do Gênero Pseudomonadaceae, expressas em UFC/g, na alface americana 'Lorca' minimamente processada, embalada sob atmosfera modificada ativa, 1%O₂ + 10%CO₂, e armazenada por 14 dias a 5 e 8°C.

Período de Armazenamento (dias)	Bactérias Psicrotróficas				Gênero Pseudomonadaceae			
	5HP	5MV	8HP	8MV	5HP	5MV	8HP	8MV
0	210	190	210	190	10	54	10	54
2	320	930	5,9x10 ³	1,2x10 ⁴	78	29	700	920
5	1,1x10 ⁴	6,9x10 ⁴	2,8x10 ⁵	7,9x10 ⁴	79	500	1,8x10 ³	1,3x10 ³
8	8,1x10 ⁵	2,6x10 ⁵	4,7x10 ⁶	1,0x10 ⁷	8,1x10 ³	1,9x10 ⁴	2,3x10 ⁴	5,2x10 ⁴
12	8,9x10 ⁶	1,5x10 ⁷	2,6x10 ⁷	>3x10 ⁸	4,1x10 ⁵	4,4x10 ⁶	1,0x10 ⁷	2,0x10 ⁷
14	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸	>3x10 ⁸

5.6 CORRELAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS QUÍMICOS E OS SENSORIAIS

Considerando os parâmetros químicos, as únicas correlações significativas foram observadas entre os valores de pH e os teores da acidez titulável, sendo negativa, e entre os teores de sólidos solúveis e os da clorofila total, com correlação positiva (Tabela 26). O maior coeficiente foi determinado sobre os teores da clorofila total e dos sólidos solúveis. Os mais altos teores destes atributos foram obtidos na amostra inicial ou nas amostras correspondentes as primeiras épocas de avaliação, e decresceram com o decorrer da estocagem em virtude do avanço da deterioração natural e do processo de senescência. Observou-se a perda gradativamente da coloração verde característica da alface à medida que os sólidos solúveis foram empregados na continuidade do metabolismo, sendo provavelmente utilizados como substrato respiratório no término da vida útil da mesma, fato comprovado especialmente nos tratamentos submetidos a 8°C. A correlação determinada entre o pH e os teores da acidez titulável foi baixa, apesar dos valores do pH terem exibido a tendência de serem inversamente proporcionais aos teores da acidez, novamente a correlação relatada foi predominante nos tratamentos expostos a maior temperatura de armazenamento.

Os teores da clorofila total e as médias sensoriais da intensidade da cor verde apresentaram um grau de correlação considerável, demonstrando consistência entre a determinação química da clorofila e a avaliação realizada pela equipe sensorial treinada, confirmando o bom treinamento da equipe e a alta capacidade de percepção dos seus membros, além de reforçar a efetividade e a valiosa contribuição deste tipo de avaliação. Através do alto grau de correlação verificado entre os teores da acidez e o escurecimento de nervuras, pode-se inferir sobre a influência da acidez sobre a atividade enzimática da PFO e da FAL, responsáveis diretas pelo nível de escurecimento observado nas nervuras da alface.

Entre os atributos sensoriais, diversas foram as correlações expressivas encontradas, destacando-se a impressão global da aparência que mostrou os mais altos graus de correlação com os demais atributos, confirmando o atributo 'aparência global' como o mais relevante a este tipo de avaliação. Todos os atributos influenciaram, em maior ou menor intensidade, a 'aparência global', ou ainda, a mesma refere-se a somatória dos demais parâmetros e, intrinsecamente, os engloba na ocasião de sua avaliação. As maiores correlações observadas para a impressão global da aparência foram relativas ao escurecimento de bordas e ao aspecto cozido, que mostraram-se limitantes a vida útil da alface e comprometeram seu valor comercial, sendo estas associações negativas, além da turgidez que exibiu a maior influência sobre a aparência,

sendo diretamente proporcional a mesma. Ainda com relação à aparência, as menores associações foram observadas para os atributos aparecimento de manchas e o escurecimento e nervuras, sendo inversamente proporcionais ao atributo, além da intensidade da cor verde, com efeito positivo sobre a aparência. A turgidez também apresentou alto nível de correlação com vários atributos, destacando a associação negativa com o aroma fermentado, o escurecimento de bordas e o aspecto cozido, além de ter sido altamente relacionada com o aroma característico, com correlação positiva. O comportamento do escurecimento de bordas foi associado positivamente ao escurecimento de nervuras, apesar do primeiro ter sido considerado mais limitante a vida útil da alface. Com relação aos atributos de percepção olfativa, o aroma característico mostrou-se inversamente proporcional ao fermentado, com nível de correlação considerável.

Tabela 26. Coeficientes de correlação de Spearman entre os parâmetros químicos e sensoriais determinados na alface americana 'Lorca' minimamente processada e submetida a atmosfera controlada e modificada ativa, no decorrer de diferentes períodos de armazenamento em 5 e 8°C.

Parâmetros	Clorofila	Acidez	pH	SST	Cor Verde	Turgidez	E.Nervuras	E.Bordas	Cozido	Manchas	Aparência	Característico	Fermentado
Clorofila	1,00000	-0,24271	0,10203	<u>0,74255</u> *	<u>0,75709</u> *	0,60866 *	-0,26578 *	-0,62345 *	-0,51287 *	-0,39850 *	0,56467 *	0,49774 *	-0,47386 *
Acidez		1,00000	<u>-0,53217</u> *	0,03361	-0,29602 *	-0,65298 *	<u>0,82148</u> *	0,68050 *	0,65907 *	0,76164 *	-0,71958 *	-0,41296	0,70637 *
pH			1,00000	-0,02911	0,21380	0,39576 *	-0,35686 *	-0,41488 *	-0,47707 *	-0,40288 *	0,46064 *	0,38195 *	-0,46634 *
SST				1,00000	0,53812 *	0,35877 *	0,02725	-0,33709 *	-0,25221	-0,12453	0,29037 *	0,63855 *	-0,88512 *
Cor Verde					1,00000	0,78475 *	-0,42225 *	-0,77220 *	-0,71615 *	-0,43399 *	<u>0,75958</u> *	0,69774 *	-0,75014 *
Turgidez						1,00000	-0,71739 *	<u>-0,90350</u> *	<u>-0,89613</u> *	-0,69611 *	<u>0,95387</u> *	<u>0,83253</u> *	<u>-0,92003</u> *
E. Nervuras							1,00000	<u>0,83084</u> *	0,71091 *	0,85729 *	<u>-0,79144</u> *	-0,73318 *	0,85011 *
E. Bordas								1,00000	<u>0,88757</u> *	0,80275 *	<u>-0,94248</u> *	-0,71998 *	0,79559 *
Cozido									1,00000	0,67060 *	<u>-0,94832</u> *	-0,52415 *	0,77140 *
Manchas										1,00000	<u>-0,73178</u> *	-0,69080 *	0,68350 *
Aparência											1,00000	0,64163 *	-0,79853 *
Característico												1,00000	<u>-0,82825</u> *
Fermentado													1,00000

*: correlação significativa ($p \geq 0,05\%$);

6. CONCLUSÕES

- Para os atributos sensoriais, exceção feita ao escurecimento de nervuras e ao aparecimento de manchas escuras, as médias na atmosfera modificada ativa mostraram alteração rápida e expressiva e foram efetivamente inferiores, se comparadas às verificadas em atmosfera controlada, comprovando a maior eficiência desta técnica de conservação;
- Os filmes plásticos testados, BOPP/PEBD com 65 μ m e BOPP/PEBDL com 85 μ m, não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) em relação aos atributos sensoriais em estudo;
- A mistura gasosa aplicada em atmosfera modificada ativa, composta por 1%O₂ + 10%CO₂, mostrou capacidade de preservar as características sensoriais da alface por 14 dias de armazenamento a 5°C e limitou o aumento das populações microbianas;
- A atmosfera modificada ativa na temperatura de 8°C determinou a perda do valor comercial da alface entre o 8º e o 12º dia, havendo o acréscimo considerável das populações microbianas;
- O escurecimento de nervuras mostrou-se um fator limitante a vida útil da alface submetida à atmosfera controlada, enquanto em atmosfera modificada ativa, os atributos limitantes foram o escurecimento de bordas e o aspecto cozido;
- A conservação das características sensoriais foi inversamente proporcional as contagens das bactérias psicrotróficas e *Pseudomonas* spp.;
- Foi observada, na temperatura de 8°C, a influência das maiores contagens microbiológicas sobre o maior nível de escurecimento dos tecidos e sobre a perda da aparência da alface;
- Entre todas as correlações significativas encontradas, destacou-se a obtida entre a turgidez e a impressão global da aparência.

7. LITERATURA CITADA

- AWAD, M. *Fisiologia pós-colheita de frutos*. São Paulo: Nobel, p. 75-8, 1993.
- BALLANTYNE, R., STARK, R., SELMAN, J.D. Modified atmosphere packaging of shredded lettuce. *International Journal of Food science and Technology*, n.23, p. 267-74, 1988.
- BANZATTO, D.A., KRONKA, S.N. *Experimentação Agrícola*. 3. ed Jaboticabal: Funep, p.53-199, 1995.
- BARBOZA, L. Perdas na agropecuária brasileira. *MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA*. 17p. 1993. (Relatório Preliminar).
- BARRIGA, M.I. et al. Microbial changes in shredded iceberg lettuce storage under controlled atmospheres. *J. Food Sci.*, v.56, n.6, p.1586-99, 1991.
- BARTZ, J.A., ECKERT, J.W. Bacterial diseases of vegetables crops after harvest. In: WEICHMANN, J. *Postharvest Physiology of vegetables*. Marcel Dekker, Inc. New York, p.351-75. 1987.
- BENZI, L. Frutas e legumes ganham novas opções em embalagem. *Frutas e Legumes*, set/out, p.21-3, 1999.
- BEUCHAT, L.R., BRACKETT, R.E. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on lettuce as influenced by shredding chlorine treatment, modified atmosphere packaging and temperature. *J. Food Science*, v.66, p.755-8, 1990.
- BLEINROTH, E.W. Preparo das hortaliças e verduras para comercialização e frigoconservação. In: *Curso de pós-colheita e armazenamento de hortaliças*. Campinas: ITAL, cap. II, p.1-14. 1982.
- BOLIN, H.R., HUXSOLL, C.C. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. *J. Food Sci.*, v.56, n.1, p.60-7, 1991.
- BRACKETT, R.E. Microbiological change and pathogenic microorganisms of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall, New York. 1.ed., p.263-304, 1996.
- BRACKETT, R.E. Microbiological safety of chilled foods current issues. *Trends Food Science & Technology*, n.3, p.81-5, 1992.
- BRECHT, J.K et al. Hypochlorite inhibition of enzymic browning of cut vegetables and fruits. *Acta Horticulturae*, n.343, p.341-4, 1993.
- BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, v.30, n.1, p.18-22, 1995.
- BRUINSMA, J. The quantitative analysis of chlorophylls A and B in plant extracts.

- Photochemistry and Photobiology*, Elmsford, v.2, p.241-9, 1963.
- CABRAL, A.C.D., MADI, L.F.C., SOLER, R.M., ORTIZ, S.A. *Embalagens de produtos alimentícios*. Piracicaba: FEALQ, 1984. 338p.
- CAMARGO F^o, L.S. *As hortaliças e seu cultivo*. Fundação Cargill. 2. ed. Campinas, 1984. 448p.
- CAMARGO, W.P., MAZZEI, A.R. A produção e os preços de hortaliças no Mercosul. *Informações Econômicas*, v.26, n.12, 1996.
- CANTWELL, M. Fresh-cut product biology and requirements. *Perishables handling newsletter issue*. n. 80, p. 4-6. 1995.
- CANTWELL, M. Preparation and quality of fresh cut produce. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2, Viçosa-MG, 2000. *Palestras...*, Viçosa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 8 a 10 de novembro de 2000, p. 156-182.
- CARNELOSSI, M.A.G. Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. acephala) minimamente processadas. Viçosa, MG: UFV, 2000. 75p. Tese – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- CARVALHO, C.R.L. et al. *Análises químicas de alimentos*. Campinas: ITAL, 1990. 121p. (Manual Técnico).
- CASTRO, J.V. Colheita de hortaliças e determinação do ponto de colheita. In: BLEINROTH, E.W. *Curso de pós-colheita e armazenamento de hortaliças*. Campinas: ITAL, cap.I, p.1-28, 1982.
- CHITARRA, M.I.F., CHITARRA, A.B. *Pós-colheita de frutos e hortaliças - fisiologia e manuseio*. Lavras: Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990. 293p.
- COUTURE, R. et al. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. *HortScience*, v.28, n.7, p. 723-5, 1993
- DAVIS et al. A shigellosis outbreak traced to a commercially distributed shredded lettuce. *Amer. J. Epidemiol.*, v. 128, p. 1312-21, 1988.
- DURIGAN, J.F. Fresh-cut: a modernidade. Jaboticabal: *Rev. Unesp Rural*, n.9, p.10-1, 1996.
- FANTUZZI et al. Atividade microbiana em repolho (*Brassica oleraceae* cv. capitata) minimamente processado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20, Salvador/BA, 1999. *Resumos...*, Salvador: 24 a 28 de Outubro, 1999, p.380.
- FERREIRA, Marcos David (SVS do Brasil Sementes Ltda. - Estação Experimental de Hortaliças/Paulínia-SP, Engenheiro Agrônomo). Comunicação Pessoal, 1998.
- FILGUEIRA, F.A.R. *Manual de Olericultura: cultura e comercialização de hortaliças*. Ed.

- Agrônômica Ceres. 2. ed. São Paulo, v.2, p. 77-86, 1982.
- FREIRE JR., M. *Efeito da temperatura de armazenamento e da atmosfera modificada na qualidade do alface hidropônico minimamente processado*. Lavras, MG: UFLA, 2000. 106p. Tese (Doutorado em Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade Federal de Lavras, 2000.
- GARCIA, A.E. et al. *Novas tecnologias de acondicionamento de alimentos*. Campinas: CETEA-ITAL, 1988. 162p.
- GARG, N., CHUREY, J.J., SPLITTSTOESSER, D.F. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. *J. Food Protection*, v.53, n.8, p.701-3, 1990.
- GOMES, P. *Curso de Estatística Experimental*. 9.ed. Piracicaba: Ed. Nobel, p.150-74, 1981.
- GORNY, J.R. A summary of CA and MA recommendations for selected fresh-cut fruits and vegetables. Postharvest Horticultural Series, n. 19, University of California – Davis, CA' 97 Proceedings, v. 5, p. 30-66, 1997a.
- GORNY, J.R. Modified atmospheres packing and the fresh-cut revolution. *Perishables handling newsletter issue*. N. 90, p.4-5, 1997b.
- GUERZONI, M.E. et al. Shelf-life modelling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, n.9, p.195-207, 1996.
- HARDENBURG, R.E. Effect of in package environment on keeping quality of fruits and vegetables. *HortScience*, Alexandria, v.8, n.3, p. 198-201, 1971.
- HEATON, J.W., MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent tissues. *Trends Food Sci. Technol.*, v.7, p.8-15, 1996.
- HITCHINS, A.D., HARTMAN, P.A., TODD, E.C.D. Coliforms-*Escherichia coli* and its toxins. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, p. 325-69, 1992.
- HOLLANDER, M. *Nonparametric statistical methods*. 1.ed. New York: Wiley, 1973. 503p.
- HOW, R.B. Marketing system for fresh produce in the United States. In: SHEWFELT, R.L., PRUSSIA, S.E. *Postharvest Handling: a systems approach*. Academic Press, California. 1.ed., p.1-26, 1993.
- HURST, W. Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, v.30, n.1, p. 22-4, 1995.
- HYODO, H., KURODA, H., YANG, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of Russet Spotting by ethylene. *Plant Physiol.*, n.62, p.31-5, 1978.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.1, 1985. 371p.
- JELLINEK, G. *Sensory evaluation of food: theory and practice*. Ellis Horwood Ltd., Inglaterra. 1.ed., p.23-161. 1985.
- JORDAN, J.L. et al. Estimating the price of quality characteristics for tomatoes: Aiding the evaluation of the postharvest system. *Hort Science*, v.20, p.203-5. 1985.
- KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmosphere on fruits and vegetables. *Food Technology*, v.40, n.5, p.99-100, 102-4, 1986.
- KADER, A.A. Postharvest biology and technology: an overview. In: *Postharvest technology of horticultural crops*. 2.ed. Univ. of California. Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland. Publ. 3311, p.15-20, 85-92, 1992.
- KADER, A.A., ZAGORY, D., KERBEL, E.L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical reviews in food science and nutrition*, v.28, p.1-30, 1989.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. *Physiologia Plantarum*, n.76, p.412-8, 1989d.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Carbon dioxide-induced Brown Stain development as related to phenolic metabolism in Iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.114, n. 5, p.789-94, 1989c.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Developmental control of Russet Spotting, phenolic enzymes, and IAA oxidase in cultivars of Iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.114, n.3, p.472-7, 1989a.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *HortScience*, v.21, p.1169-71, 1986.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of Russet Spotting in Iceberg lettuce. *Plant Physiol.*, n.88, p.1136-40, 1988.
- KE, D., SALTVEIT, M.E. Regulation of Russet Spotting, phenolic metabolism, and IAA oxidase by low oxygen in Iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.114, n.4, p.638-42, 1989b.
- KEER et al. Prevalence of *Listeria* spp. on the hands of food workers. *J. Food Protection*, v.56, p.525-27, 1993.
- KEMPTHORNE, O. *The design and analysis of experiments*. 1. ed. Huntington: Robert E. Krieger, 1979. 631p.

- KING, A.D. et al. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce. *J. Food Sci.*, v.56, p. 459-61, 1991.
- KING, A.D., BOLIN, H.R. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, p.132-9, 1989.
- KONDO, Edson Luís Hiromitsu (Refricon Mercantil Ltda., supervisor de campo do McDonald's Comércio de Alimentos Ltda./Itapeceira da Serra-SP). Comunicação Pessoal, 1998.
- LEAL, P.A.M., CORTEZ, L.A.B. Métodos de pré-resfriamento de frutas e hortaliças. In: // *Curso de atualização em tecnologia de resfriamento de frutas e hortaliças*. Campinas: UNICAMP. p.81-124, 1998.
- LÓPEZ-GÁLVEZ, G., SALVEIT, M., CANTWELL, M. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with emphasis on romaine and iceberg types. *Postharvest Biology and Technology*, n.8, p.179-90, 1996a.
- LÓPEZ-GÁLVEZ, G., SALVEIT, M., CANTWELL, M. Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biology and Technology*, n.9, p.223-33, 1996b.
- MATEOS, M. et al. Differential responses of intact and minimally processed lettuce to high carbon dioxide atmospheres. *Acta Horticulturae*, n.343, p.171-4, 1993.
- MATILE, P. et al. Chlorophyll breakdown in senescent leaves. *Plant Physiol*, n.4, v.112, p. 1403-9, 1996.
- MATSUNO, H., URITANE, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. *Plant and Cell Physiology*, Tóquio, v.13, p.1091-101, 1972.
- MCDONALD, R.E., RISSE, L.A. BARMORE, C.R. Bagging chopped lettuce in select permeability films. *HortScience*, v.25, n.6, p. 671-3, 1990.
- MEILGAARD, M., CIVILLE, G.V., CARR, B.T. *Sensory evaluation techniques*. Flórida: CRC Press. 2. ed. 1988. 280p.
- MEIRELLES, J.C.S. Classificação de alface. *Ministério da Agricultura e do Abastecimento/ETSP-CEAGESP*, 1998. (Folheto Informativo).
- MONTEIRO, C.L.B. *Técnicas de avaliação sensorial*. Curitiba: CEPPA-Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos da Universidade Federal do Paraná. 2. ed. p.1-10, 54-77, 1984.
- MORALES-CASTRO, J. et al. Modified atmosphere packaging of head lettuce. *Journal of Food Processing and Preservation*, n.18, p. 295-304, 1994.

- MYERS, R.A. Packaging considerations for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, p.129-31, 1989.
- NEVES F^o, L.C. Controle da umidade e temperatura em câmaras frigoríficas. In: *Tecnologia pós-colheita de frutas tropicais*. Campinas: ITAL. 1.ed. p. 173-200, 1992.
- NGUYEN-THE, C., PRUNIER, J.P. Involvement of pseudomonads in deterioration of "ready-to-use" salads. *Intl. J. Food Sci. Technol.*, v.24, p.47-58, 1989.
- PARK, D.L., RUA Jr, S.M., ACKER, R.F. Direct application of a new hypochlorite sanitizer for reducing bacterial contamination on foods. *J. Food Protection*, v.54, n.12, p.960-5,1991.
- PETRAN, R.L., SPERBER, W.H., DAVIS, A.B. *Clostridium botulinum* toxin formation in Romaine lettuce and shredded cabbage: Effect of storage and packing conditions. *J Food Protection*, v.58, n.6, p.624-7, 1995.
- PSILLAKIS, Cristiano (Hydro Salads – Vegetables Specialites/São Roque-SP, presidente da agroindústria). Comunicação pessoal, 1999.
- QI, L., WATADA, A.E. Quality changes of fresh-cut fruits in CA storage. Postharvest Horticultural Series, n. 19, University of California – Davis, CA' 97 Proceedings, v. 5, p. 116-20, 1997.
- RABELLO, T. Processamento mínimo, lucro máximo. *Frutas & Legumes*, set/out, p.13-20, 1999.
- REID, M.S. Ethylene in postharvest technology. In: KADER, A.A. *Postharvest technology of horticultural crops*. 2.ed. Univ. of California. Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland. Publ. 3311, p.97-9, 1992.
- REYES, V.G. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. *Food Australia*, v.48, n.2, p.87-90, 1996.
- RHODES, M.J.C., WOOLTORTON, L.S.C. The effect of ethylene on the respiration and on the activity of phenylalanine ammonia lyase in swede and parship root tissue. *Phytochemistry*, v.10,p.1989-97, 1971
- RHODES, M.J.C., WOOLTORTON, L.S.C., HILL, A.C. Changes in phenolic metabolism in fruits and vegetables tissue under stress. In: FRIEND, J., RHODES, M.J.C. *Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables*. Academic Press, London. 1. ed., p.193-220. 1981.
- RITENOUR, M.A., AHRENS, M.J., SALTVEIT, M.E. Effects of temperature on ethylene-induced phenylalanine ammonia lyase activity and Russet Spotting in harvested Iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.120, n.1, p.84-7, 1995.
- SAS. *SAS User's Guide: Statistics*. Cary: SAS Institute, 1985. 956p.

- SASAKI, Ricardo (Moinho Verde – Fresh cut/Petrópolis-RJ, supervisor de produção). Comunicação pessoal, 2000.
- SCHLIMME, D.V., ROONEY, M.L. Package of minimally processed fruits and vegetables. In: WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall, New York. 1.ed., p.131-78, 1996.
- SEABRA, G.F.S. Efeito da temperatura, atmosfera controlada e modificada na fisiologia e qualidade do brócolis (*Brassica oleracea*). Seropédica, RJ: UFRRJ, 1999. 90p. Dissertação – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1999.
- SEELIG, R.A. *Fruit & vegetables facts & pointers*. United Fresh Fruit & Vegetables Association. New York: 3. ed. publication 20005. October 1970. 27p.
- SHEWFELT, R.L. Quality of minimally processed fruits and vegetables. *J Food Quality*, v.10, p.143-56, 1987.
- SIGRIST, J.M.M. Manuseio pós-colheita de frutas e hortaliças. In: *Curso de Atualização em tecnologia de resfriamento de frutas e hortaliças*, 2, p. 11-8. 1998.
- SIRIPHANICH, J., KADER, A. A. Effects of CO₂ on total phenolics phenylalanine ammonia lyase, and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.110, n.2, p.249-53, 1985.
- SNOWDON, A.L.A. *A colour atlas of postharvest of fruits and vegetables*. Cambridge: Wolfe, v.2, p.215-6. 1991.
- SOLOMOS, T. Physical and biological principles of package in modified atmosphere. In: WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall, New York. 1.ed., p.179-262, 1996.
- SPECK, M.L. *Compendium of methods for the microbiological - Examination of foods*. American Public Health association. Washington DC., p.62, 1984.
- STONE, H., SIDEL, J.L. Sensory evaluation practices. Academic Press. California. 2. ed. p.18-64, 66-93, 143-200. 1993.
- SUSLOW, T. *Postharvest chlorination – Basic properties and key points for effective disinfection*. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 8003. 1997. 8p.
- TANAKA, Miguel (Da Roça – Verduras e Legumes/Mogi das Cruzes-SP, supervisor de produção). Comunicação pessoal, 1999.
- TEISSON, C. Le Brunissement interne de l'ananas. I-Historique. II-Material et méthodes. *Fruits*, Paris, v.34, n.4, p.245-81, 1979.
- THOMPSON, J.F. Temperature management I: cooling, storage and distribution. *Perishables handling newsletter issue*. n. 80, p. 7-9. 1995.

- VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3.ed. Washington: American Public Health Association, p.371-422, 637-63, 1992.
- VAROQUAUX, P., MAZOLLIER, J., ALBAGNAC, G. The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butterhead lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, v.9, p.127-39, 1996.
- VAROQUAUX, P., WILEY, R.C. Biologicals and biochemicals changes of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall, New York. 1.ed., p.221-304, 1996.
- WANG, C.Y. Physiological and biochemical effects of controlled atmosphere on fruits and vegetables. In: *Food preservation by modified atmosphere*, cap.11, p.209-11. 1987.
- WATADA, A.E., KO, N.P., MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, v.9, p.119-25, 1996.
- WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. 1.ed. Chapman & Hall, New York, p.1-14, 65-130, 1996.
- WILLS, R.B.H. et al. *Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables*. Van Nostrand Reinhold: New York, 3. ed., p.29, 34, 35, 52-60, 1989.
- XU,L. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *FoodTechnology*, v.53, n.10, p.58-62, 1999.
- YILDIZ, F. Initial preparation, manipulation and distribution of fruits and vegetables minimally processed and refrigerated. In: WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall, New York. 1.ed., p.25-60, 1996.
- ZAGORY, D. et al. *Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry*. International Fresh-cut Produce Association. 3. ed., p.67-70, 1993.
- ZAGORY, D., KADER, A.A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technol.*, v.42. p.70-77,1988.

8. ANEXOS

ANEXO 1

Avaliação de alface americana

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

Por favor avalie esta amostra de alface quanto à **aparência**, marcando nas escalas abaixo.

Intensidade da cor verde |-----|
pouco | muito

Turgidez |-----|
pouco | muito

Escurecimento da nervura |-----|
nenhum | muito

Escurecimento das bordas (queimado) |-----|
nenhum | muito

Cozido |-----|
nenhum | muito

Manchas escuras |-----|
nenhum | muito

Impressão global da aparência |-----|
muito ruim | muito boa

Comentários: _____

ANEXO 2

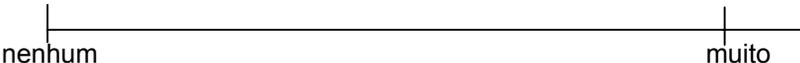
Avaliação de alface americana

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

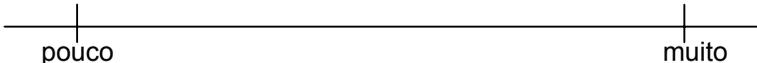
Por favor avalie esta amostra de alface quanto ao **aroma** e a **aparência**, marcando nas escalas abaixo.

Aroma

Característico  pouco muito

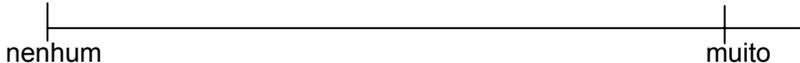
Fermentado  nenhum muito

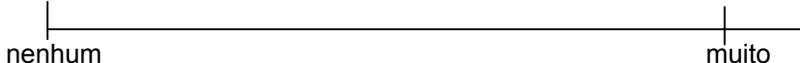
Aparência

Intensidade da cor verde  pouco muito

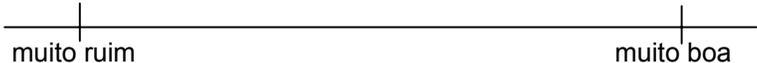
Turgidez  pouco muito

Escurecimento da nervura  nenhum muito

Escurecimento das bordas (queimado)  nenhum muito

Cozido  nenhum muito

Manchas escuras  nenhum muito

Impressão global da aparência  muito ruim muito boa

Comentários: _____

ANEXO 3

ESTUDO SOBRE ALFACE AMERICANA – TESTE DE CONSUMIDOR

Consumidor: _____

Amostra: _____

Considere que você precisa de alface em sua casa e está por comprá-la. Você poderia, por favor, marcar na escala abaixo sua intenção de compra para o produto.

Intenção de compra: ————|—————|—————
definitivamente não compraria definitivamente compraria

ANEXO 4

PERFIL DO CONSUMIDOR

Consumidor nº: _____

1. Com que frequência você consome alface?

nunca raramente esporadicamente frequentemente diariamente

2. Indique entre os tipos de alface abaixo, qual(is) você já consumiu ou consome?

alface americana alface lisa alface crespa alface roxa outra

3. Sexo:

masculino feminino

4. Grau de Instrução:

1º Grau 2º Grau incompleto 2º Grau Universitário incompleto
 Universitário completo Pós graduação

5. Idade:

<18 18-25 26-35 36-45 46-55 56-65 ≥66 anos

6. Renda familiar mensal (considerando 1 salário mínimo = R\$ 181,00)

1 a 5 >5 a 10 >10 a 20 >20 a 30 >30 salários mínimos

ANEXO 5



Figura 4. Fotos da alface 'Lorca' minimamente processada e submetida a atmosfera modificada ativa aos 8, 12 e 14 dias de armazenamento a 5°C..

Figura 5. Fotos da alface 'Lorca' minimamente processada e submetida a atmosfera modificada ativa aos 8, 12 e 14 dias de armazenamento a 8°C..