



**QUALIDADE DE ALFACE AMERICANA
MINIMAMENTE PROCESSADA CV.
RAIDER: EFEITO DO HIPOCLORITO DE
SÓDIO, PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E
ÁCIDO ASCÓRBICO**

ÉLLEN CRISTINA DE SOUZA

2005

ÉLLEN CRISTINA DE SOUZA

**QUALIDADE DE ALFACE AMERICANA
MINIMAMENTE PROCESSADA CV. RAIDER: EFEITO
DO HIPOCLORITO DE SÓDIO, PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO E ÁCIDO ASCÓRBICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Souza, Éllen Cristina de

Qualidade de alface americana minimamente processada CV. Raider: efeito do hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico / Éllen Cristina de Souza. -- Lavras : UFLA, 2005.

83 p. : il.

Orientador: Admilson Bosco Chitarra.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Alface. 2. Processamento mínimo. 3. Sanificação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-664.80552


ÉLLEN CRISTINA DE SOUZA

**QUALIDADE DE ALFACE AMERICANA
MINIMAMENTE PROCESSADA cv. RAIDER: EFEITO
DO HIPOCLORITO DE SÓDIO, PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO E ÁCIDO ASCÓRBICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 8 de junho de 2005

| | |
|--|----------------|
| Profa. Dra. Maria Isabel Fernandes Chitarra | UFLA |
| Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle | UFLA |
| Prof. Dr. José da Cruz Machado | UFLA |
| Dr. Murilo Freire Júnior | Embrapa |


Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

À Deus

Aos meus queridos pais,

Manoel Jacinto de Souza e

Maria Nazaré de Souza pelo exemplo de vida, esforço e apoio dedicado
a minha formação

As minhas queridas irmãs Beth, Elaine, Regina e ao meu querido sobrinho
Lucas que sempre me apoiaram.

OFEREÇO

As pessoas que dão brilho a minha vida,
meu marido Eduardo e meu filho Luis Eduardo

DEDICO

Senhor,

Concedei-me serenidade para aceitar as coisas
que não posso modificar;

Coragem para modificar aquelas que posso;

E sabedoria para perceber a diferença

(Oração da Serenidade)

AGRADECIMENTOS

À Deus, caminho, verdade e vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade e pelo imensurável apoio.

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Aos Professores Adimilson Bosco Chitarra e Maria Isabel Fernandes Chitarra, por terem me concedido a honra de ser um de seus orientados, pela amizade, paciência, confiança e pelos ensinamentos transmitidos que contribuíram sobremaneira para a melhoria de minha formação profissional.

À Professora Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle, pela co-orientação, apoio, paciência e sincera amizade, que colaboraram tanto para a concretização deste trabalho.

Ao Professor Eduardo, que tantas vezes me atendeu gentilmente, muito obrigado pelos ensinamentos, sugestões, atenção, paciência e amizade.

Ao Professor Luis Carlos, pelos ensinamentos, sugestões e amizade.

À professora Maria das Graças Cardoso, pelo aprendizado, amizade e por ter me iniciado na pesquisa e sempre me incentivado .

À Professora Vânia Déa, pelas sugestões valiosas, ensinamentos e sincera amizade

Ao Professor David Lee Nelson, pelas sugestões, amizade e atenção.

Ao Professor Augusto Ramalho, pelas sugestões nas análises estatísticas.

A todos os professores do DCA, pela atenção e amizade.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Pós-Colheita: Adriana Cornélio, Alessandra, Ana Carla, Brígida, Camila, Daniel, Daniela, Elisângela,

Luizinho, Mônica, Nélio, Simone e Waltemir que muito contribuíram para a conclusão deste trabalho.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Micro: Adenilde, Alexandre, Cleube, Helga, Odívia e Simone.

Às laboratoristas Sandra, Tina, Eliane, Mércia e Cidinha, pelo apoio nas análises laboratoriais, amizade e apoio durante o curso.

Ao meu querido marido Eduardo, pela compreensão, sinceridade e apoio durante o tempo que subtraí do convívio familiar para desenvolver esta obra e a importante ajuda nos abstracts e formatação.

À minha querida madrinha Maria Aparecida Vilas Boas e Fátima Vilas Boas Rodrigues, que sempre estiveram presentes em minha vida.

Ao amigo e irmão Luis José Rodrigues, pela importante ajuda na busca das alfases e na montagem dos vários experimentos. Obrigada pela sincera contribuição a este trabalho.

À amiga Ana Carla, pela amizade, prazeroso convívio, sugestões e montagem do experimento.

Aos colegas do curso de pós-graduação, pela amizade e convivência

Aos meus sogros, Jander e Daurene, pelo apoio à minha família nos momentos em que me mantive ocupada desenvolvendo este trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ciência de Alimentos da UFLA

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| RESUMO..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 01 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 03 |
| 2.1 Alface características gerais..... | 03 |
| 2.2 Tratos culturais..... | 04 |
| 2.3 Aspectos microbiológicos..... | 05 |
| 2.4 Processamento mínimo de vegetais..... | 11 |
| 2.5 Temperatura e umidade relativa..... | 14 |
| 2.6 Escurecimento enzimático..... | 16 |
| 2.7 Atmosfera modificada..... | 21 |
| 2.8 Sanificação..... | 23 |
| 2.9 Agentes sanificantes..... | 24 |
| 2.9.1 Peróxido de hidrogênio..... | 24 |
| 2.9.2 Hipoclorito de sódio..... | 27 |
| 3.0 Resíduos químicos..... | 29 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 32 |
| 3.1 Matéria-prima..... | 32 |
| 3.2 Metodologia..... | 32 |
| 3.2.1 Processamento..... | 32 |
| 3.2.2 Análises físico-químicas, químicas e bioquímicas..... | 35 |
| 3.2.2.1 Acidez Total Titulável (ATT) e Sólidos Solúveis Totais (SST)..... | 35 |
| 3.2.2.2 pH..... | 35 |
| 3.2.2.3 Clorofila..... | 35 |
| 3.2.2.4 Polifenoloxidase (PFO)..... | 35 |
| 3.2.2.5 Fenilalanina amônia-liase (FAL)..... | 36 |
| 3.2.2.6 Peroxidase(POD)..... | 36 |
| 3.2.2.7 Resíduos químicos..... | 37 |
| 3.2.2 Avaliação microbiológica..... | 37 |
| 3.2.2.1 Preparo das amostras..... | 37 |
| 3.2.2.2 Quantificação de coliformes a 35°C e a 45°C..... | 37 |
| 3.2.2.3 Contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos..... | 38 |
| 3.2.2.4 Fungos e leveduras..... | 38 |
| 3.2.2 Avaliação sensorial..... | 38 |
| 3.3 Delineamento experimental e análises..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 41 |
| 4.1 pH..... | 41 |
| 4.2 Acidez total titulável (ATT) e Sólidos Solúveis Total (SST)..... | 42 |
| 4.3 Clorofila..... | 43 |
| 4.4 Polifenoloxidase (PFO)..... | 44 |
| 4.5 Fenilalanina amônia-liase (FAL)..... | 47 |
| 4.6 Peroxidase (POD)..... | 49 |
| 4.7 Resíduos químicos..... | 50 |
| 4.8 Avaliação microbiológica..... | 51 |
| 4.8.1 Quantificação de coliformes a 35°C e a 45°C..... | 54 |
| 4.8.2 Contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos..... | 56 |
| 4.8.3 Fungos e leveduras..... | 59 |
| 4.9 Avaliação sensorial..... | 61 |
| 4.9.1 Cor..... | 61 |
| 4.9.2 Frescor..... | 63 |
| 4.9.3 Aspecto global..... | 65 |
| 5 CONCLUSÕES | 68 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 69 |
| ANEXOS | 81 |

RESUMO

SOUZA, Éllen Cristina de Souza. Qualidade de alface americana minimamente processada cv. Raider: efeito do hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico. Lavras: UFLA, 2005. 83p. (Tese Doutorado em Ciência dos Alimentos)

Visando avaliar a vida de prateleira da alface americana cv. Raider minimamente processada reduzindo a microbiota e quantificando os resíduos químicos, estudou-se a eficiência dos sanificantes hipoclorito de sódio (NaClO) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), com ou sem a presença do aditivo ácido ascórbico, por meio de análises químicas, físico-químicas, bioquímicas, microbiológicas e sensoriais das amostras. Para as variáveis sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT), estatisticamente os tratamentos não promoveram alterações. Os valores para clorofila e pH apresentaram alterações para todos os tratamentos a partir do terceiro dia de armazenamento. Todos os tratamentos diferiram entre si e do controle para as enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), peroxidase (POD), polifenoloxidase (PFO). Os resíduos químicos não foram detectados em nenhum dos tratamentos. Pelas análises microbiológicas, as contagens iniciais e finais foram altas para coliformes a 35°C, a 45°C e aeróbios mesófilos. As concentrações encontradas para fungos e leveduras foram relativamente baixas ao longo do armazenamento. O tratamento NaClO com ácido ascórbico foi o mais eficiente na sanificação, quando comparado aos outros sobre o controle de todos os microrganismos. As alfaces americanas cv. Raider minimamente processadas, armazenadas a 3±1°C e 95%UR, apresentaram vida útil de três dias.

Orientador: Adimilson Bosco Chitarra - UFLA

ABSTRACT

SOUZA, Éllen Cristina. Fresh cut American lettuce cv. Raider quality: effect of sodium hypochlorite, hydrogen peroxide and ascorbic acid. Lavras: UFLA, 2005. 83p. (Thesis Doctorate in Food Science).

Aiming to evaluate the shelf-life of the American lettuce cv. Raider, fresh cut, reducing the microbiota and quantifying the chemical residues, the efficiency of the sanitizers sodium hypochlorite (NaClO) and hydrogen peroxide (H₂O₂) both with or without the presence of the additive ascorbic acid by means of chemical, physicochemical, biochemical, microbiologic and sensorial analyses of the smiles was investigated. For the variables total soluble solids (SST) and total titrable acidity (TTA), statistically, the treatments promoted no alterations. The values for chlorophyll and pH presented alterations for all the treatments from the third day of storage. All the treatments differed among one another and from the control for the enzymes phenyl alanine-lyase (PAL), polyphenol oxidase (PFO), peroxidase (POD). The chemical residues were not detected in any of the treatments. High initial and final counts for the coliforms at 35°C, at 45°C and mesophyllic aerobes were detected by the microbiologic counts. The concentrations found for fungi and yeasts were relatively low along the storage. The NaClO treatment with ascorbic acid was the most efficient in microorganism control as compared with the others upon the control of all the microorganisms. The fresh cut American lettuce cv. Raider, stored in a 3±1°C and 95% UR with a shelf life of three days.

Adviser: Adimilson Bosco Chitarra

1 INTRODUÇÃO

A alface é considerada uma das hortaliças folhosas mais consumidas na alimentação do brasileiro, apresentando, assim, uma expressiva importância, do ponto de vista econômico. A região Sudeste é a maior produtora, com destaque para os estados de São Paulo e Minas Gerais. São vários os tipos de alface disponíveis no mercado, entretanto, a americana vem ganhando importância por possuir folhas mais tenras e crocantes (Coelho, 2001). Por ser altamente perecível, apresenta rápido e irreversível processo de senescência após a colheita. Este fato é importante, sob o aspecto de saúde pública, porque é sempre consumida na forma crua. A qualidade da água utilizada na irrigação pode não ser satisfatória quanto ao aspecto microbiológico, sendo o problema agravado pelo contato direto da planta com o solo e o uso de adubo orgânico, bem como pelo manuseio, colheita e transporte em condições higiênico-sanitárias inadequadas.

O mercado de alimentos está abrindo novas e interessantes oportunidades aos produtores de alface e de hortaliças em geral, com destaque para os minimamente processados, que representam para o consumidor um produto fresco com maior vida útil, boa sanificação e manutenção da qualidade do produto. Os vegetais minimamente processados apresentam a conveniência de não requerer qualquer preparação significativa por parte do consumidor, em termos de seleção, limpeza, lavagem ou cortes. Além disso, o valor agregado ao produto pelo processamento aumenta a competitividade do setor produtivo e propicia meios alternativos para a comercialização. O sucesso deste empreendimento depende do uso de matérias-primas de alta qualidade, manuseadas e processadas com boas condições de higiene.

A sanificação é uma prática de extrema importância, que contribui para a redução de microrganismos alteradores, visando atender aos padrões exigidos pela legislação e aumentando a vida de prateleira. Também melhora

a condição higiênico-sanitária dos alimentos, evitando riscos à saúde do consumidor pela vinculação de patógenos.

A contaminação química também é um ponto muito importante, pois pode acontecer em qualquer etapa da produção e, principalmente, do processamento de alimentos. Os resíduos químicos, quando consumidos em quantidades suficientes, podem inibir a absorção e destruir nutrientes; são carcinogênicos, mutagênicos teratogênicos ou são tóxicos, podendo causar enfermidades severas e, inclusive a morte, devido ao seu efeito biológico no corpo humano.

Observa-se que a maioria dos estudos científicos em hortaliças minimamente processadas está voltada para a qualidade comercial do produto, a qual é avaliada, objetivamente ou subjetivamente, pelas medidas de cor, sabor, aroma, textura e, ainda, pelas determinações microbiológicas. Por outro lado, há necessidade de aumentar os conhecimentos sobre as consequências da sanificação de produtos minimamente processados e seus resíduos químicos que podem ser prejudiciais à saúde do consumidor.

Assim sendo, existe necessidade de desenvolvimento de mais pesquisas relacionadas ao efeito dos diferentes sanificantes, visando o conhecimento da eficiência no seu uso e verificando seus resíduos químicos, resultantes em hortaliças processadas e, conseqüentemente, objetivando a qualidade do produto e a saúde do consumidor dessa gama de alimentos.

Este trabalho teve por objetivo verificar o efeito de diferentes agentes sanificantes em alface americana cv. Raider minimamente processada, visando reduzir os microrganismos alteradores, bem como quantificar os resíduos químicos resultantes do processo de sanificação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Alface - características gerais

A alface é uma das espécies mais antigas, citada, desde 4500 a.C. como planta medicinal. Como hortaliça, já se tem registro desde 2500 a.C. Originária da Ásia, foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI (Meirelles, s.d.).

Pertence à família *Asteraceae* e ao gênero *Lactuca*, sendo a espécie classificada como *Lactuca sativa* L., correspondente à alface selvagem que originou as diversas cultivares atualmente disponíveis no mercado (Mello, 2000). É uma hortaliça tipicamente folhosa, sendo uma planta anual, herbácea com caule muito curto, não ramificado, ao qual se prendem as folhas, formando ou não cabeças. As raízes são do tipo pivotante, com ramificações finas e curtas, que exploram somente os primeiros 25cm do solo (Maluf, 1996).

As alfaces possuem uma fase de crescimento vegetativo, compreendida desde a sementeira até o ponto de colheita comercial (60-90 dias) e uma fase reprodutiva que é estimulada por temperaturas maiores do que 20°C. Esta fase é caracterizada pela emissão da haste floral, que chega a alcançar até 1m de altura, terminando em uma inflorescência ramificada com grande número de flores perfeitas. A transição entre as duas fases é caracterizada pela formação de látex, que provoca a sensação do sabor amargo (Maluf, 1996).

As alfaces americanas, por apresentarem cabeça compacta e possuírem as folhas crocantes, conseguem manter suas características de aparência e sabor, mesmo em contato com alimentos quentes. Elas vêm sendo bastante cultivadas no Brasil, visando atender às redes de “fast food” como o McDonald’s (Bueno, 1998). As principais cultivares de alface americana plantadas no Brasil são Great Lakes, Salinas, Mesa 659, Lucy Brown e Lorca (Gomes, 2001).

A qualidade dos produtos hortícolas origina-se no campo com a aplicação de Boas Práticas Agrícolas (BPA). Assim sendo, imprescindíveis tomam-se, para a obtenção de uma matéria-prima segura e com qualidade, o monitoramento periódico do grau de contaminação da água de irrigação e da compostagem ou fermentação dos adubos orgânicos, por influenciarem diretamente a microbiota da matéria-prima, bem como a sanificação das caixas de colheita e a observação correta quanto ao ponto de colheita da alface que, sendo um produto não climatérico, corresponde ao máximo desenvolvimento da cabeça (60 a 65 dias após a sementeira). No caso de ser colhida em estágio de maturação avançado, a alface perde seu valor comercial, devido ao endurecimento e ao acentuado sabor amargo das folhas. A colheita deve ser realizada nas primeiras horas do dia ou no início da noite, visando a redução do calor que o produto traz do campo e, conseqüentemente, restringindo a elevação de sua taxa respiratória e impedindo a aceleração do seu metabolismo. Na ocasião da colheita, em virtude do contato direto com o solo, sua maior fonte de contaminação, as folhas mais externas devem ser descartadas, deixando algumas para a proteção das cabeças durante o transporte. Recomenda-se o cultivo sobre sacos plásticos, tentando minimizar a fonte de inóculo e limitar a microbiota da matéria-prima (Darezzo, 2000).

2.2 Tratos culturais

De acordo com Coelho (2001) os principais tratos culturais aplicados à cultura da alface são a irrigação e o controle de plantas daninhas. A alface é uma das hortaliças mais exigentes em água durante o seu período de desenvolvimento, o que influencia de forma decisiva na produtividade e na qualidade comercial da cabeça. Quando irrigadas adequadamente, as folhas são tenras e as cabeças grandes. Quanto maior for a disponibilidade de água no solo, maior será a produtividade (Filgueira, 1982).

A irrigação é, em geral, feita por aspersão, embora também se possa irrigar por infiltração (sulcos), por microaspersão ou por gotejamento, sendo estes dois últimos sistemas utilizados quando a cultura é conduzida no interior de estufas. Para a alface americana, a irrigação por gotejamento é a mais utilizada (Maluf, 1996).

O controle de plantas daninhas pode ser realizado pela utilização de cobertura morta, com filmes plásticos pretos ou pela aplicação de herbicidas. A utilização de cobertura morta, além de controlar as plantas daninhas, mantém a umidade do solo, evita o contato das folhas com a terra e diminui as oscilações bruscas de temperatura. Quando o controle é realizado por meio de herbicidas, a aplicação pode ser feita no período de pré-plantação, pré-emergência da cultura, na pós-plantação ou quando a planta estiver bem enraizada, observando-se o período de carência (Sganzerla, 1997).

2.3 Aspectos microbiológicos

Embora não seja uma das melhores fontes de vitaminas e de sais minerais, a alface é indicada para todas as dietas devido ao seu baixo teor calórico – 12 a 13 kcal/100 g (Mello, 2000). É bastante apreciada na elaboração de diversos tipos de saladas e, pelo fato de ser consumida crua, conserva todas as suas propriedades nutritivas (Maciel, 1968; Mello, 2000).

Entretanto, a alface merece consideração quanto ao aspecto de saúde pública porque é uma hortaliça de consumo muito disseminado, sempre na forma crua e sem qualquer tratamento térmico. A qualidade da água utilizada na sua irrigação nem sempre é satisfatória, sob o aspecto microbiológico, sendo o problema agravado pelo contato íntimo da planta com solo e adubo orgânico, bem como pelo manuseio, colheita e transporte em condições inadequadas no que se refere ao aspecto higiênico-sanitário. Sendo assim, é de se esperar que a alface

apresente, com frequência elevada, contaminação por bactérias, bem como contaminação por larvas ou cistos de parasitos intestinais (Leitão et al., 1981).

Pseudomonas spp., *Erwinia herbicola*, *E. carotovora* e *Serratia* spp. são encontradas comumente em alfaces. Uma ampla variedade de espécies de leveduras também pode ser isolada de alfaces frescas, sendo as mais comuns as do gênero *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Torulaspora* e *Trichosporon*. Comparativamente, baixas quantidades de fungos são isoladas (Halász et al., 1994). As bactérias psicrotróficas são de especial importância para os alimentos minimamente processados, uma vez que estas podem crescer em temperaturas de refrigeração, entre 0 e 7°C (Wiley, 1997). Podem estar presentes nos alimentos espécies patogênicas como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila* (Nguyen-The & Carlm, 1994).

A qualidade microbiológica dos vegetais minimamente processados é influenciada pelas operações de descascamento, corte e lavagem (Park et al., 1998). Os vegetais inteiros e frescos são protegidos da invasão microbiana devido as suas superfícies de proteção. Após o processamento, ficam mais sensíveis à contaminação (Nascimento et al., 2000). Os vegetais minimamente processados, por serem uma categoria que em geral possui pH 5,8–6,0; alta umidade e maior superfície exposta devido ao corte, promovem condições ideais para o crescimento dos microrganismos (Ahvenainen, 1996). Portanto, todo o processamento deve ser realizado com critério e no menor período de tempo possível, para que as alterações físicas, químicas e microbiológicas sejam minimizadas.

A grande dificuldade que se tem é que ainda não existe uma legislação específica para vegetais minimamente processados (Nascimento et al., 2000).

A baixa qualidade poderá afetar a confiança dos consumidores já conquistados e diminuir o crescimento do mercado (Durigan, 2000). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da RDC nº12 estabelece

padrões microbiológicos para frutas, produtos de frutas e similares, frescas *in natura* preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas para o consumo direto (Brasil, 2001) que podem servir como referência para os produtos minimamente processados.

Segundo os dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), 76 milhões de pessoas são acometidas todos os anos, nos Estados Unidos, por doenças de origem alimentar. Cerca de 325 mil são hospitalizadas e 5 mil morrem ao exercer o que muitos consideram uma das atividades menos arriscadas da vida: comer. Nos países em desenvolvimento, a contaminação da comida e da água mata 2 milhões de crianças por ano (Ackerman, 2002).

Os avanços no processamento e na sanificação diminuíram ameaças como a cólera e o botulismo, mas novos riscos surgem com a globalização de alimentos, as mudanças na escala de produção, novas formas de processamento e o declínio da prática de cozinhar em casa (Ackerman, 2002).

Segundo o Food and Drug Administration(FDA), os maiores riscos alimentares hoje nos Estados Unidos não provêm de resíduos de pesticidas, aditivos ou ingredientes não especificados nos rótulos, mas sim de patógenos contidos nos alimentos (Ackerman, 2002).

Frutas e hortaliças *in natura* geralmente estão protegidos da invasão microbiana pela casca de superfície que funciona como uma barreira física efetiva à maioria dos microrganismos. Entretanto, os alimentos submetidos ao processamento mínimo constituem meios apropriados para uma diversa microbiota. O aumento na disponibilidade de nutrientes celulares, devido ao processamento, fornece condições apropriadas para que grande número e tipos de microrganismos se desenvolvam e proliferem. Além disso, a grande manipulação dos produtos provê maior oportunidade para acontaminação por organismos patogênicos (Brackett, 1987).

Todos os alimentos possuem uma microbiota natural, concentrada principalmente na região superficial. A microbiota epífita é originada do solo, da água, do ar, de insetos e animais, assim como das técnicas utilizadas no cultivo, colheita e transporte. De acordo com Hobbs (1999), as plantas vivas são normalmente estéreis internamente, possuindo microbiota mista externamente que consiste basicamente, de espécies da família das *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae*, como também de fungos e bactérias ácido lácticas (Beuchat, 1995).

Microorganismos patogênicos podem ocorrer em produtos minimamente processados como consequência da má higiene durante o processamento ou sanificação inadequada. Segundo Cherry (1999), os microrganismos patogênicos de relevância nesses produtos incluem: *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e espécies de *Vibrio*. Dentre os patógenos psicrotróficos, destacam-se *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila*, que são capazes de crescer em produtos minimamente processados mantidos sob refrigeração. Hurst (1995) cita *S. aureus*, *S. sarnei*, *L. monocytogenes*, *E. coli* e *Salmonella* sp. como os principais patógenos envolvidos em surtos relacionados à ingestão de vegetais minimamente processados.

Alguns fatores podem influenciar o desenvolvimento de microrganismos em produtos minimamente processados, destacando-se: a composição do tecido vegetal (se possui algum fator antimicrobiano), o pH (os vegetais com pH ácido são mais suscetíveis ao crescimento de fungos, leveduras e bactérias ácido lácticas), a temperatura de armazenamento; a capacidade de invasão e competição do microrganismo, a atmosfera dentro da embalagem, o grau de contaminação do produto fresco e a higiene e sanificação durante o processamento (Nguyen-the & Carlin, 1994).

Os microrganismos aeróbios mesófilos são de grande importância não só para os produtos minimamente processados, mas para toda a cadeia produtiva alimentar, uma vez que a maioria das bactérias patogênicas é mesófila. A pesquisa destes microrganismos em alimentos tem sido usada como indicador da qualidade higiênica, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número pode indicar matérias-primas excessivamente contaminadas, limpeza e desinfecção insuficientes das superfícies, higiene inadequada na produção e condições inadequadas de tempo/temperatura durante a produção ou comercialização. A contagem deste grupo de bactérias inclui microrganismos que crescem em aerobiose e em temperaturas entre 15 e 45°C, com temperatura média de 37°C (Siqueira, 1995).

Os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* formam o grupo denominado coliforme, que têm em comum características bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos capazes de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados a 35°C e 37°C, por 24-48 horas. O hábitat das bactérias que pertencem a este grupo é o trato intestinal do homem e de outros animais, entretanto, espécies dos gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem se multiplicar em ambientes não fecais. Na contagem de coliformes podem-se diferenciar dois grupos: o de coliformes a 35°C e a 45°C. O índice de coliformes a 35°C (anteriormente denominado coliformes totais) é utilizado para avaliar condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação durante ou pós-processamento e limpeza/sanificação deficientes, não indicando necessariamente contaminação fecal ou ocorrência de enteropatógenos. O índice de coliformes a 45°C (anteriormente denominado coliformes fecais) é empregado como indicador de contaminação fecal, visto presumir-se que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *E. coli*, que tem seu hábitat exclusivamente no trato intestinal. Sua presença indica a possibilidade de ocorrência de outros

enteropatógenos, como *Salmonella* e *Shigella* (Franco & Landgraf, 1996; Siqueira, 1995).

Outro indicador das condições higiênicas de produção e processamento é a determinação do número total de fungos filamentosos e leveduras. Estes microrganismos estão difundidos no solo, ar e água, fazendo parte da microbiota epífita oriunda do local de plantio, sendo freqüentemente associados à deterioração de vegetais *in natura* (Schlimme, 1995). Os fungos filamentosos, em decorrência de sua atividade pectinolítica e celulolítica, causam o amolecimento do tecido vegetal devido à degradação principalmente da pectina, além de outros componentes de sustentação (Jay, 1994). De acordo com Wiley (1997), os gêneros de fungos filamentosos comumente isolados em vegetais são: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. Algumas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Claviceps* produzem em seu metabolismo micotoxinas, que são tóxicas ao homem e animais (Franco & Landgraf, 1996).

Segundo Brackett (1987), distintas espécies de leveduras não fermentativas, principalmente *Cryptococcus* e *Rhodotorula* e leveduras fermentativas, tais como *Candida* e *Kloeckera*, fazem parte da microbiota normal de frutos e hortaliças frescos. O controle destes microrganismos nos produtos minimamente processados é importante, devido à alteração de sabor causada pelos produtos da fermentação.

A maioria dos fungos filamentosos e leveduras é mesófila, com temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 30°C, entretanto, espécies psicotróficas fazem com que, especialmente os fungos filamentosos, sejam deteriorantes de produtos minimamente processados refrigerados (Siqueira, 1995).

2.4 Processamento mínimo de vegetais

O mercado de alimentos está abrindo novas e interessantes oportunidades aos produtores de hortaliças no campo da exploração direta do processamento de vegetais (Junqueira, 2000). O valor agregado ao produto pelo processamento aumenta a competitividade do setor produtivo e propicia meios alternativos para a comercialização. Além disso, torna-se um meio para prolongar a vida de prateleira, que, para a maioria das hortaliças, é muito curta (Coelho, 2001). O sucesso desse empreendimento depende do uso de matérias-primas de alta qualidade, manuseadas e processadas com boas condições de higiene (Chitarra, 2000).

Para os consumidores, além da praticidade dos produtos oferecidos, há maior garantia de regularidade no abastecimento durante todo o ano, com conseqüente regularização dos preços, independente do efeito sazonal. As formas de processamento que vêm sendo mais utilizadas são as hortaliças supergeladas e congeladas, as hortaliças desidratadas e liofilizadas, as conservas vegetais e, mais recentemente, os vegetais minimamente processados (Junqueira, 2000).

Os vegetais minimamente processados são geralmente definidos como produtos que contêm tecidos vivos ou aqueles que foram levemente modificados em suas condições iniciais, aparentando frescor e mantendo sua qualidade. Estes tecidos apresentam diferentes respostas ao meio ambiente e às condições de embalagem em relação ao produto não tratado e inteiro (Wiley, 1994).

A produção de vegetais minimamente processados tem como objetivo entregar ao consumidor um produto fresco, com maior vida útil, garantindo, ao mesmo tempo, a segurança alimentar e a manutenção da qualidade do produto (Freire Jr., 1999). Além disso, os vegetais minimamente processados são produtos que detêm atributos de conveniência, não requerendo qualquer

preparação posterior significativa por parte do consumidor, em termos de seleção, limpeza, lavagem ou cortes (Junqueira, 2000).

A qualidade da matéria-prima utilizada deve ser a melhor possível, sem problemas de doenças ou pragas, com o formato típico de cada espécie e, principalmente, no seu exato ponto de consumo, para não comprometer a vida de prateleira (Nascimento et al., 2000). De acordo com Watada et al. (1990), a maturidade é importante atributo de qualidade em frutas minimamente processadas, pois, frutas imaturas carecem de boa qualidade sensorial e as muito amadurecidas têm menor vida de prateleira. A seleção de variedades que apresentam amadurecimento mais lento, melhor retenção de textura ou melhor característica de sabor também contribui para a extensão da vida de prateleira (Chitarra, 2000).

Um aspecto que tem contribuído fortemente para este crescimento é a expansão dos serviços de comida rápida (fast food), hotéis, restaurantes, hospitais, empresas de refeições para aeroportos e portos, e também no âmbito doméstico, que requerem produtos pré-processados e de qualidade uniforme para simplificar suas operações junto ao consumidor (Freire Jr., 1999; Moretti, 1999).

Assim como todos os vegetais frescos, os minimamente processados são boas fontes de vitaminas, minerais e fibras, que são indispensáveis para manutenção da saúde, completando o suprimento das necessidades nutricionais (Freire Jr. 1999), porém, são mais perecíveis, devido aos danos nos tecidos resultantes das operações do processamento (Nascimento et al., 2000). Estes danos físicos aumentam a respiração e a produção de etileno em minutos e, associados, aumentam as taxas de outras reações bioquímicas responsáveis por mudanças de cor, odor, textura e qualidade nutricional (Cantwell, 1992). Assim sendo, a utilização de vegetais minimamente processados possui limitações, como a rápida deterioração e vida útil diminuída (Park, 1998).

A obtenção dos vegetais minimamente processados envolve operações de seleção e classificação da matéria-prima, pré-lavagem, descascamento, apuramento, corte, sanificação, enxague, centrifugação, embalagem, armazenamento e comercialização (Moretti, 1999). Alguns procedimentos clássicos utilizados para preservar alimentos podem ser utilizados para prolongar a vida útil dos vegetais minimamente processados, como o uso de atmosfera modificada ativa ou passiva, a preservação química e refrigeração. O tratamento térmico, a redução da atividade de água e a irradiação não são sugeridos para os vegetais minimamente processados porque podem causar mudanças indesejáveis na textura e no sabor (Reyes, 1996).

Dentre os fatores críticos para a manutenção da qualidade e da vida de prateleira de vegetais minimamente processados, o primordial é a qualidade da matéria-prima utilizada (Coelho, 2001). Esta deve ser da melhor qualidade possível, sem problemas de doenças ou pragas, com o formato típico de cada espécie e, principalmente, no seu exato ponto de consumo, para não comprometer a vida de prateleira (Nascimento et al., 2000).

Outros fatores a serem considerados são a redução de danos mecânicos antes do processamento, o corte usando lâminas afiadas, o enxague das superfícies cortadas para remover os nutrientes celulares liberados, a centrifugação para remover completamente a água superficial e causar ligeiro ressecamento (Freire Jr., 1999). Durante a comercialização de vegetais minimamente processados, é importante controlar a temperatura de armazenamento, utilizar mecanismos capazes de retardar a perda de umidade, evitar a alteração da composição da atmosfera ao redor do produto, utilizar embalagem apropriada e realizar o controle microbiológico (Schlimme, 1995). Geralmente, a vida de prateleira de uma hortaliça minimamente processada é de 4 a 7 dias (Ahvenainen, 1996; Reyes, 1996).

A adoção de Boas Práticas Agrícolas (BPA) é fundamental, pois se as folhas chegarem excessivamente contaminadas, os procedimentos de higienização correntemente empregados poderão ser insuficientes para reduzir a contaminação a níveis aceitáveis (Guerra, et al., 2004).

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são essenciais para o sucesso na comercialização de frutas e hortaliças minimamente processadas. Sua implantação, bem como a implantação do APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) na inspeção das empresas que produzem frutas e hortaliças minimamente processadas, são medidas que podem prevenir e controlar riscos de contaminação microbiana (Santos, 2003). Estes programas correspondem ao estabelecimento de normas para assegurar a higiene pessoal de funcionários e controles aplicados aos processos e aos produtos para garantir que os mesmos mantenham a qualidade e sejam livres de qualquer tipo de contaminação (Chitarra, 2000).

2.5 Temperatura e Umidade Relativa

Temperatura e umidade adequadas são necessárias para manter a integridade da maioria das hortaliças. Quando altas temperaturas e baixa umidade prevalecem, ocorre rápida transpiração e conseqüente murchamento do vegetal.

O controle da temperatura é a técnica disponível mais usual e importante na minimização dos efeitos do fermento em frutas e hortaliças minimamente processadas. As reações metabólicas nos produtos integros são reduzidas de duas a três vezes para cada 10°C de redução na temperatura. O aumento nas taxas de respiração e produção de etileno, bem como outras reações associadas ao fermento, são minimizadas quando os produtos frescos são processados sob temperaturas baixas. O enxágüe com água fria seguido do processamento pode ser benéfico para diminuir e ajudar a manter a temperatura baixa. A temperatura

da água de enxágüe deve estar o mais próximo possível de 0°C, para que se alcancem os melhores benefícios. Baixas temperaturas durante o transporte, armazenamento e nos pontos de venda retardam o amadurecimento e outros processos metabólicos, reduzem a deterioração e podem minimizar os efeitos do etileno (Brecht, 1995). Watada et al. (1996), estudando o efeito do aumento da temperatura sobre a taxa respiratória de produtos minimamente processados, observaram aumentos de 3,4 a 8,3 vezes na taxa respiratória para cada acréscimo de 10°C na temperatura de armazenamento.

A temperatura é um fator de grande importância na preservação da qualidade das frutas e hortaliças, não só pela influência que exerce na atividade respiratória, como também pela sua influência sobre a velocidade de crescimento microbiano e determinação da biota deteriorante. Em geral, baixas temperaturas reduzem a velocidade de crescimento da maioria das bactérias e fungos, porém tais condições são favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos psicrotóxicos (frio-tolerantes) em lugar dos que só se desenvolvem à temperatura ambiente (Rosa & Carvalho, 2000). Baixas temperaturas retardam também a respiração e a transpiração de frutas e hortaliças frescas. Portanto, o pré-resfriamento dos tecidos da planta que está respirando rapidamente ou alcançando a senescência, como os vegetais folhosos, é necessário para diminuir as mudanças metabólicas (Cantwell, 2000).

A temperatura tem um dos mais pronunciados efeitos sobre a vida de prateleira de produtos minimamente processados. Bolin et al. (1977) observaram que alface minimamente processada, quando armazenada a 2°C permaneceu comercializável durante 26 dias, enquanto que a 10°C a sua vida de prateleira foi de 10 dias.

Baixas temperaturas são necessárias para a redução da taxa respiratória, para retardar o crescimento microbiano e reduzir as alterações como

escurecimento e amaciamento do produto minimamente processado (Cantewell, 2000).

A faixa de temperatura ideal para a conservação da alface varia de 0 a 5°C; em contrapartida, nos estabelecimentos comerciais encontra-se submetida a temperaturas em torno de 8 a 12 °C enquanto a umidade relativa varia de 98 a 100%. (Darezzo, 2000).

Baixas temperaturas durante o transporte, armazenamento e venda retardam o amadurecimento e outros processos metabólicos, reduzindo a deterioração (Santos, 2003). A determinação da temperatura ideal de armazenamento para cada produto deve ser estudada. Frutas e hortaliças são muito diferentes fisiologicamente e respondem a baixas temperaturas de maneiras variadas. Em geral, os produtos minimamente processados devem ser armazenados sob temperaturas entre 0 e 5°C (Brecht, 1995).

A umidade relativa durante o armazenamento deve ser controlada, pois exerce efeito sobre a qualidade do produto minimamente processado. Baixos percentuais de umidade relativa no ambiente de armazenamento causam a transpiração do produto e murchamento. Por outro lado, elevada umidade relativa no armazenamento, com flutuações na temperatura, deve ser evitada por causar condensação de água com formação de gotículas na superfície da embalagem ou do produto, o que facilita o crescimento de microrganismos (Chitarra, 2000), além de depreciar a aparência do produto.

2.6 Escurecimento enzimático

Durante o descascamento e as operações de corte dos vegetais, muitas células são rompidas e o conteúdo intracelular, como as enzimas oxidantes, é liberado (Ahvenaine, 1996). Algumas destas enzimas são responsáveis pelo escurecimento enzimático (Reyes, 1996), que ocorre em presença do ar, devido à oxidação dos derivados de o-diidroxifenol. Por meio da ação de enzimas

denominadas oxigenases, mais conhecidas como polifenoloxidasas, há formação de quinonas que se polimerizam produzindo compostos de coloração marrom. Estas enzimas possuem o cobre como grupo prostético e se distinguem devido aos seus substratos específicos como a tirosinase e a catecolase. Para que ocorra o escurecimento, é necessário, então, que os três componentes, enzima, substrato e oxigênio, atuem em conjunto. Se pelo menos um destes componentes for removido, a reação não ocorrerá (Ahvenaine, 1996; Underkofler, 1968). Outra enzima importante é a lipoxigenase, que catalisa as reações de peroxidação, causando a formação de odores estranhos (Nascimento et al., 2000).

Os fermentos que ocorrem durante as operações de corte e fatiamento dos vegetais, provocam injúria mecânica nos tecidos. Essas injúrias dão início a alterações fisiológicas e bioquímicas, tomando o produto minimamente processado mais suscetível à deterioração diminuindo assim, sua vida de prateleira (Bolin & Huxsol, 1991). O desenvolvimento desse escurecimento é relacionado primariamente à oxidação de compostos fenólicos a o-quinonas, catalizada pela enzima polifenoloxidase. As quinonas, polimerizadas, originam polímeros de coloração marrom.

Vários estudos têm sido conduzidos para inibir ou retardar o aparecimento de escurecimento em alface (Bolin & Huxsol, 1991; Loaiza-Verarde & Salveit, 2001)

Diversos mecanismos têm sido utilizados para prevenir ou retardar o escurecimento enzimático, como a remoção do oxigênio da superfície danificada do vegetal, o abaixamento do pH, o aumento da temperatura, a modificação química dos substratos e a otimização dos parâmetros de processamento. Porém, a maneira mais prática é pelo uso de aditivos capazes de retardar ou inibir a reação que promove o escurecimento. Estas substâncias atuam diretamente sobre a enzima ou sobre os compostos intermediários da formação do pigmento (Ahvenainen, 1996; Araújo, 1995). Dentre os aditivos empregados estão os

ácidos cítrico, ascórbico, fosfórico e málico, capazes de reduzir o pH do sistema abaixo de 3,0, no qual a polifenoloxidase é inativada. Porém, nem sempre isto é possível em produtos frescos, como nos vegetais, pois o sabor pode se tornar ácido. Podem ser utilizadas substâncias quelantes, como EDTA (etileno diamino tetracético), fosfatos e ácido cítrico, que atuam quelando o cobre, presente no sítio ativo da enzima ou reduzindo o nível de cobre disponível para ligação na enzima. Estes agentes reduzem o escurecimento enzimático mas não o inibem completamente (Silva, 1981).

Atualmente, o método considerado padrão na redução deste tipo de escurecimento é o emprego de agentes redutores, como o sulfito (Lambrecht, 1995). O mecanismo de ação do sulfito na prevenção do escurecimento enzimático ainda não é bem conhecido, mas, provavelmente, envolve diferentes tipos de ações, podendo inibir diretamente a enzima ou interagir com intermediários formados durante a ação enzimática, impedindo sua participação na reação de formação dos pigmentos. Pode ser utilizado como forma alternativa nos casos em que a aplicação de calor resulta em mudanças desfavoráveis da textura e no desenvolvimento de “flavor” estranho ao produto. Além disso, possui propriedades anti-sépticas e ajuda na preservação da vitamina C (Araújo, 1995). Entretanto, o excesso de sulfito pode causar efeitos indesejáveis, como a formação de odor desagradável, degradação da cor natural do vegetal, destruição da vitamina B₁, reações alérgicas e crises asmáticas (Araújo, 1995; Lambrecht, 1995).

Segundo Ke & Saltveit (1989b), o fermento aumenta a atividade da fenilalanina amônia liase (FAL), que em função do grau de injúria induz altos níveis da atividade da mesma, não somente nas células próximas ao fermento, mas também nas células localizadas a 2,5 cm de distância. As injúrias aumentam a concentração de diversos compostos fenólicos solúveis (catequinas, ácido clorogênico e ácido caféico) dos tecidos adjacentes, que são facilmente oxidados

em minutos a substâncias marrons pela polifenoloxidase existente nos tecidos de alface.

O ferimento induz o aumento da atividade da FAL (Hanson & Haver, 1979; Hyodo et al., 1978; Ke & Saltveit, 1989), da PFO (Bower & Van Lelyveld, 1985; Kahn, 1977) e de um número de outras enzimas que contribuem direta ou indiretamente para o escurecimento. López-Gálvez et al. (1996) observaram que a atividade da FAL aumentou no tecido das nervuras da alface com ferimentos e armazenadas na presença e na ausência de etileno. Notaram também que a atividade desta enzima aumentou entre 2,5 e 3 vezes a 5 e 15°C, respectivamente, quando o tamanho das nervuras foi reduzido de 2,5 x 15 para 0,5 x 1 cm. Fatores pré e pós-colheita afetaram a atividade da FAL induzida por ferimentos e as subseqüentes variações na qualidade de alface minimamente processado. A taxa de aumento desta enzima e o índice máximo alcançado foram influenciados pela duração do armazenamento antes do processamento.

“Russet spotting” (RS) é a maior desordem fisiológica induzida pelo etileno em cultivares de alface americana, caracterizada pelo aparecimento de numerosas e pequenas (1 a 2 mm de diâmetro) pintas marrons ao longo dos dois lados da nervura central, podendo se espalhar, em casos severos, por toda a folha. Aplicações de cálcio ou auxinas inibem o desenvolvimento de RS e também a atividade da FAL (Ke & Saltveit, 1986). Esses mesmos autores descobriram que a lignificação e o espessamento da parede celular nas lesões dos tecidos afetados pelo RS foram acompanhados pelo acúmulo e oxidação de flavonóides e derivados do ácido clorogênico pela polifenoloxidase. Estas reações podem produzir o escurecimento característico dos tecidos afetados pelo RS (Ke & Saltveit, 1988).

A estreita correlação entre a atividade da FAL, o teor de fenólicos totais e o desenvolvimento de RS suporta a hipótese que uma alta atividade da FAL é

necessária para a contínua produção de compostos fenólicos usados como substratos para o desenvolvimento do 'russet spotting' (Ke & Saltveit, 1988).

Condições pós-colheita que inibem o RS incluem o armazenamento dos pés de alface a 0 °C em atmosferas com baixas concentrações de O₂ e altas concentrações de CO₂ e a diminuição de injúrias físicas (Ke & Saltveit, 1989)

A peroxidase (E.C. 1.11.1.7, POD, hidrogênio peróxido oxireductase) é uma enzima amplamente distribuída nas plantas superiores, estando associada a várias funções metabólicas primárias e secundárias (Lagrimini, 1987; Siddig et al., 1992).

A peroxidase catalisa a oxidação de alguns compostos amínicos aromáticos de certos fenólicos na presença de H₂O₂ com posterior formação de polímeros escuros, tendo sido reportada por Balls e Hale (1934) a necessidade, como substrato, de dois (ou mais) anéis de benzeno substituídos, sendo orto ou para.

Enzimas e substratos estão localizados em diferentes compartimentos celulares e seus transportes entre compartimentos são ativamente controlados. Quando ocorrem lesões nos tecidos, pelo processamento, ocorre destruição das células superficiais e alteração dos tecidos subjacentes (Mello, 2001). As reações enzimáticas produzem alterações sensoriais, como "off-flavor" (aromas estranhos), descoloração e perda de firmeza .

O "off-flavor" é causado principalmente pela peroxidação. A peroxidação enzimática dos ácidos graxos insaturados é o mais grave processo bioquímico modificador do aroma das hortaliças minimamente processadas. A peroxidação é catalisada por enzimas oxidantes de lipídeos com a formação de aldeídos e cetonas.

Diferentes enzimas podem catalisar a degradação do ácido L-ascórbico direta ou indiretamente, como a peroxidase, a polifenoloxidase e a citocromo oxidase. O corte dos tecidos aumenta a atividade enzimática, resultando em

perda rápida de vitamina C pelos produtos minimamente processados (Moretti, 2004).

A utilização de diferentes embalagens não altera a atividade da peroxidase em alface crespa minimamente processada, porém o controle da temperatura é fundamental (Mattos et al., 2004)

2.7 Atmosfera Modificada

A atmosfera modificada passiva se estabelece quando o produto é colocado dentro de uma embalagem selada, permeável a gases, como resultado do consumo de O_2 e produção de CO_2 pela respiração (Zagory & Kader, 1988). Não há controle estrito sobre a atmosfera interna obtida. Para se atingir e manter a composição da atmosfera dentro dos limites desejados, a permeabilidade do filme deve permitir a entrada de O_2 a uma taxa compensada pela respiração do produto (Santos, 2003). Do mesmo modo, a saída de CO_2 deve permitir um equilíbrio com a quantidade de CO_2 produzida pela respiração. Entretanto, se a permeabilidade for demasiadamente alta, a atmosfera dentro da embalagem pode ficar rica em O_2 (acima de 8%) e pobre em CO_2 (menor que 1% a 2%), não causando efeito na redução da respiração e no aumento da durabilidade (Schlimme & Rooney, 1994).

O sistema de embalagem, segundo Manzano et al. (1995), tem influência fundamental na atividade metabólica dos produtos vegetais. Por isso, a escolha das concentrações de O_2 e CO_2 , o tipo de filme e a temperatura de estocagem são importantes. O nível de gás nas embalagens sob atmosfera modificada geralmente está em função da permeabilidade do filme escolhido, do comportamento respiratório e das mudanças nas características do produto (Rosa, 2002).

Na atmosfera modificada ativa, após colocar o produto na embalagem, é criado vácuo parcial, seguido pela injeção da mistura gasosa desejada dentro da

embalagem. A mistura de gases pode conter níveis adequados de O₂, CO₂ ou nitrogênio para produzir o efeito desejado dentro da embalagem (Zagory & Kader, 1988).

O uso de atmosfera controlada e ou modificada pode alterar o perfil da microbiota presente nesses produtos, no que se refere ao desenvolvimento de bactérias gram-positivas anaeróbias e anaeróbias facultativas (Kader, 1992).

O alcance do equilíbrio da atmosfera modificada (passiva ou ativa) irá depender da taxa respiratória intrínseca do produto, mas também será grandemente influenciado por várias características externas, como temperatura, filme da embalagem, umidade relativa, peso de enchimento, volume do pacote, área de superfície do filme e grau de iluminação (Pirovani et al., 1998). Estas características necessitam ser otimizadas para cada produto, a fim de que os benefícios da atmosfera modificada sejam alcançados.

O aumento dos níveis de CO₂ e a redução dos níveis de O₂ podem retardar o amadurecimento dos frutos, reduzir a taxa de respiração e de produção de etileno, desacelerar várias alterações metabólicas ligadas ao amadurecimento, como amaciamento dos frutos (Zagory & Kader, 1988), retardar a perda de clorofila, a perda de umidade e o escurecimento enzimático (Sarantópoulos, 1997). De acordo com Cantwell (1992), baixos níveis de oxigênio e índices elevados de gás carbônico, em conjunto, retardam o crescimento microbiano. Em geral, os efeitos sobre a respiração são considerados como fatores determinantes para o prolongamento da vida útil de frutas e hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada (Lana & Finger, 2000).

O uso de embalagens para produtos MP utilizando poliméricos permeáveis, contentores semi-rígidos, ou ambos, é indicado para reduzir as concentrações de O₂ e elevar a taxa de CO₂ da atmosfera no interior da embalagem. Retarda-se, assim, a degradação da qualidade, não só aumentando a

vida útil como reduzindo ou retardando a ação da microbiota presente no produto (Schlimme, 1995).

Os efeitos de altas concentrações de CO₂ e baixas de O₂ sobre a respiração e o amadurecimento são aditivos. Entretanto, níveis de CO₂ acima do limite de tolerância podem causar injúria e níveis de O₂ abaixo do limite de tolerância podem induzir à respiração anaeróbica com consequente alteração do aroma e do sabor, devido ao acúmulo de acetaldeído e etanol (Zagory & Kader, 1988).

A embalagem também é usada para identificar o produto, a marca de origem e outras importantes informações, como a data de produção e validade, instruções de preparo, informações nutricionais e modo de armazenamento (Schlimme, 1995).

2.8 Sanificação

A sanificação é uma etapa fundamental no processo de higienização nas indústrias de alimentos, já que o objetivo é comercializar produtos em boas condições higiênico-sanitárias

O uso de sanificantes visa reduzir, até níveis seguros, os microrganismos alteradores de alimentos e eliminar patógenos das superfícies de equipamentos e utensílios que entram em contato com os alimentos. Assim, contribuem para a melhoria da qualidade microbiológica dos alimentos produzidos, atendendo-se aos padrões exigidos pela legislação e aumentando-se a vida de prateleira. Também melhoram a qualidade higiênico-sanitária desses alimentos, evitando-se riscos à saúde do consumidor pela veiculação de patógenos (Andrade, 1996).

A escolha e a aplicação adequada do sanificante químico em frutas e hortaliças minimamente processadas são fundamentais para a indústria de alimentos. Estes sanificantes variam em sua habilidade de destruir microrganismos. Sua efetividade depende das características físicas e químicas

do vegetal, do tipo de microrganismo alvo, do tempo de contato e da concentração e temperatura da solução. Alguns sanificantes são apropriados para o uso em lavagem direta das superfícies dos alimentos inteiros ou processados, outros somente para processos de lavagem com água em equipamentos ou recipientes e aparelhos (Elphick, 1998; Sapers & Simmons, 1998).

A ação dos sanificantes sobre os esporos bacterianos é desejável, pois sabe-se que eles podem sobreviver às diversas etapas de processamento dos alimentos e contaminar as superfícies. Dessa forma, é de interesse da indústria de alimentos selecionar formulações dos agentes químicos e sua forma de uso para que, além das células vegetativas, sejam eliminados os esporos bacterianos. Os sanificantes eliminam as células vegetativas, agindo sobre as estruturas bacterianas por um ou mais destes mecanismos: alteração da permeabilidade das membranas, inibição de sistemas enzimáticos essenciais à célula, destruição da estrutura protéica da parede celular e oxidação de componentes celulares (Andrade, 1996).

Encontra-se disponível para a sanificação um grande número de marcas comerciais de compostos à base de cloro, porém, sanificantes alternativos como o peróxido de hidrogênio têm sido sugeridos.

2.9 Agentes sanificantes

2.9.1 Peróxido de hidrogênio

É um forte oxidante, devido à liberação do oxigênio, sendo usado como agente bactericida e esporicida. É aplicado na esterilização de embalagens de produtos aseticamente embalados e na sanificação de equipamentos e utensílios na indústria de alimentos (Macedo, 2000). Em alimentos, são várias as possíveis aplicações de H_2O_2 como agente antimicrobiano, podendo ser destacados a preservação e o controle do apodrecimento pós-colheita de inúmeras frutas e

hortaliças frescas, a pasteurização do leite usado na fabricação de queijos e a preservação de produtos minimamente processados (Sapers & Simmons, 1998).

A Food and Drug Administration (FDA) classifica o peróxido de hidrogênio como agente antimicrobiano seguro para ser usado em alimentos. É inofensivo ao ambiente, pois pode ser rapidamente degradado em produtos inócuos, como água e oxigênio, estando disponível comercialmente em grande variedade de concentrações que vão de 3 a 90% (Juven & Pierson, 1996). Apresenta amplo espectro de eficiência contra vírus, bactérias, leveduras, fungos e esporos bacterianos. Em geral, observa-se maior efetividade em bactérias gram-positivas e negativas; entretanto, a capacidade de síntese de catalase ou outras peroxidases por esses organismos pode aumentar sua tolerância em presença de baixas concentrações de peróxido de hidrogênio. Microrganismos anaeróbios são mais suscetíveis, pois não produzem catalase para degradar o peróxido (Block, 1991).

O peróxido de hidrogênio atua como forte oxidante, atacando os componentes celulares essenciais, incluindo lipídeos e proteínas da membrana celular, polissacarídeos e DNA microbianos (Block, 1991; Brul & Coote, 1999).

A efetividade do peróxido de hidrogênio está relacionada ao tipo, ao número e ao estado fisiológico dos microrganismos, à concentração usada, à temperatura do tratamento, ao pH e à composição do produto, além da atividade natural da catalase. Nambudripad et al. (1951), estudando a ação do peróxido de hidrogênio sobre os microrganismos isolados do leite, verificaram que, em geral, os grupos de bactérias Gram-negativas, especialmente os coliformes são mais suscetíveis à destruição que as espécies gram-positivas esporuladas. Altas concentrações de peróxido de hidrogênio (10 a 30%) e longo tempo de contato são requeridas para a destruição de esporos (Russel & Chopra, 1996), quando aplicado em baixas temperaturas.

Em temperaturas mais elevadas, a ação bactericida do peróxido de hidrogênio aumenta e sua taxa de decomposição é acelerada. A cada aumento de 10°C na temperatura do meio, há aumento de aproximadamente duas vezes na atividade do peróxido de hidrogênio (Roundy, 1958). Por ser estável em altas temperaturas, é aplicado a 125°C na esterelização de embalagens (Tortora et al., 2000). Sapers et al. (2001) estudaram o efeito da sanificação sobre a casca de melão cantaloupe minimamente processado. Os sanificantes testados foram H₂O₂ 5% a 50°C, Cl₂ 100 ppm, formulações de detergentes comerciais contendo ácido sulfônico dodecilbenzeno e ácido fosfórico, fosfato trisódico 4% e soluções surfactantes como sulfato de sódio dodecil, sulfosuccinato de sódio dioctil. O tratamento mais eficiente na melhora da qualidade microbiológica e da vida de prateleira foi o H₂O₂ 5% a 50°C.

A influência do pH na ação do peróxido de hidrogênio é um fator que deve ser considerado. A tendência do peróxido em se decompor é maior com o aumento do pH. Em pH 3 (50°C), o peróxido é muito estável e dotado de grande ação esporicida (Santos, 2003).

Sapers et al. (1999) demonstraram a eficácia do peróxido de hidrogênio na descontaminação de maçãs contendo *Escherichia coli* inoculada. Sua utilização como agente esterelizante de superfícies de maçãs e pêras também eliminou o amolecimento dos frutos causado por fungos (Colgan & Johnson, 1998).

Mões-Oliveira (2001), estudando a influência do peróxido de hidrogênio a 0,5% e 1% na sanificação de mamão minimamente processado observou que as duas concentrações foram eficientes em reduzir o crescimento de fungos, bactérias lácticas, aeróbios mesófilos e psicrotróficos.

Beerli (2002) estudando a influência do dicloro isocianurato de sódio e do peróxido de hidrogênio em cebolas minimamente processadas verificou que

este último foi mais eficiente para controlar o crescimento de aeróbios mesófilos e fungos durante sete dias de armazenamento a 4°C.

O peróxido de hidrogênio é ativo contra uma faixa de organismos: bactérias, fungos, vírus e esporos bacterianos. Microrganismos anaeróbios são mais sensíveis, pois não produzem catalase para degradar o peróxido de hidrogênio (Beerli, 2002).

2.9.2 Hipoclorito de sódio

O cloro é um dos sanificantes mais usados pelas indústrias de alimentos. De acordo com Beuchat (1992), uma solução aquosa de cloro exibe rápida ação microbiana. O efeito letal do cloro ainda não está totalmente esclarecido, mas há várias teorias sobre o assunto. Uma delas refere-se ao radical HOCL, que combina-se com as proteínas da membrana citoplasmática microbiana e forma o N-cloro, componente que interfere no metabolismo das células. A inibição de enzimas sensíveis à oxidação pelo cloro também parece estar envolvida na inativação dos microrganismos.

Estudos de Suslow (1999) com *E.coli* O157:H7 revelaram que este microrganismo é sensível ao cloro, ozônio e outros sanificantes desde que haja contato físico do agente sanificante com a célula bacteriana. Sendo assim, a efetividade do sanificante para o tratamento vegetal provavelmente depende da habilidade e atividade do agente para entrar em contato com o microrganismo.

Beuchat (1992) relata que cerca de 90% dos processadores mínimos de frutos e hortaliças usam cloro ativo na água de lavagem, embora outros produtos possam ser utilizados.

Seo & Frank (1999) alertam que, embora a cloração seja um método largamente usado para desinfecção de produtos vegetais e o ácido hipoclorito seja um potente agente bactericida, a lavagem de vegetais com cloro não remove

ou inativa a bactéria no produto fresco, quando esta penetra os tecidos vegetais em locais que a protegem dos efeitos do cloro.

De acordo com Foegeding (1983), a concentração de hipoclorito de sódio (NaClO) mais usada na sanificação de frutas e hortaliças frescas, bem como produtos minimamente processados, é de 100 a 200 ppm. Sua efetividade depende do pH do meio e da concentração de cloro livre e valores entre 6 e 7 fazem com que a atividade antimicrobiana da água clorada seja adequada para destruir bactérias e fungos.

Ayhan et al.(1998) relatam que, durante a estocagem sob refrigeração, houve aumento da contagem total de psicotróficos para amostras de melões lavadas e não lavadas, quando comparadas àquelas tratadas com cloro.

Relatos de Garg et al. (1990), trabalhando com concentrações mais altas, 300 ppm, demonstraram redução de três ciclos logaritmicos na contagem microbiana de folhas de alface, porém, a essa concentração, o produto teve sua aparência e cor prejudicadas.

A redução de apenas uma a duas unidades log pode ser obtida pela lavagem com cloro. Experiências demonstram que, embora o banho com hipoclorito reduza significativamente a população inicial da microbiota natural de produtos vegetais, as populações finais das amostras tratadas e não tratadas não foram significativamente diferentes após o período de incubação sob refrigeração, mesmo quando as contagens globais de aeróbios mesófilos mostraram-se reduzidas (Beuchat, 1996; Nicholl & Prendeergast, 1998).

A atividade letal da água clorada é muito mais efetiva em tratamento de água ou em superfície sólidas e não porosas como equipamentos do que em frutas e hortaliças cruas, pelo fato do contato da água clorada com matéria orgânica converter o cloro ativo em forma inativa (Beauchat, 1998).

Em seus estudos, Zhang & Farber (1996) concluíram que a eficácia do cloro foi parcial, reduzindo em apenas um ciclo logaritmico o número de

Listeria monocytogenes em couve; o tipo de hortaliça e a temperatura da solução influenciam na eficiência da água clorada, já que soluções a 22°C levaram à maior redução de microrganismos do que a 4°C. Para estes autores quando estudaram folhas de alface, a redução máxima conseguida pelos autores foi de 1,7 ciclos logarítmicos, utilizando 200 ppm de cloro inicial a 22°C.

O fato de o sanificante hipoclorito de sódio não molhar a superfície hidrofóbica da cutícula cerosa dos tecidos vegetais, protegendo os microrganismos contra os efeitos letais do cloro é uma limitação importante no seu uso, uma vez que ele não penetra ou dissolve as ceras presentes (Nguyen-the & Carlin, 1994).

3 Resíduos Químicos

Os contaminantes químicos em alimentos podem ser de ocorrência natural ou ser adicionados durante o processamento do alimento. Químicos prejudiciais, em altos níveis, têm sido associados com casos agudos de enfermidades de origem alimentar e podem ser responsáveis por enfermidades crônicas em níveis mais baixos. A contaminação química pode acontecer em qualquer etapa da produção e do processamento de alimentos.

Os perigos químicos em alimentos incluem os compostos químicos que, quando consumidos em quantidades suficientes, podem inibir a absorção e ou destruir nutrientes; são carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos, ou são tóxicos e podem causar enfermidade severa e, inclusive à morte, devido ao seu efeito biológico no corpo humano.

Algumas vezes, uma substância tóxica em alimentos pode ser controlada (diminuída a um risco mínimo) se o alimento é lavado ou aquecido (cozido) suficientemente. Entretanto, a melhor estratégia para o processador de alimentos é manter as substâncias perigosas fora do alimento, adquirindo ingredientes e

matérias primas de fornecedores controlados ou conhecendo as condições de produção, colheita, processamento e armazenamento.

Os perigos potenciais para a saúde do consumidor aumentam quando os químicos não são controlados ou as proporções recomendadas de uso são excedidas (INPPAZ-OPAS-OMS, 2001).

O maior grupo de químicos usados no processamento de alimentos é a categoria dos aditivos alimentares diretos. Pela definição, estes são produtos químicos que são adicionados intencionalmente ou incorporados diretamente nos alimentos.

Aditivos alimentares indiretos incluem os químicos permitidos para o uso em superfícies que entram em contato com os alimentos de onde podem migrar para o produto alimentício e tornar-se um componente prejudicial deste. Além dos lubrificantes e sanificantes, tintas e outros banhos usados para a manutenção do equipamento e instalações de processamento de alimentos devem ser considerados aditivos alimentares potencialmente perigosos. Além de ser aprovado, nenhum aditivo alimentar indireto pode resultar em odor ou sabor adicional ao produto alimentício, tornando-o impróprio ao consumo humano (INPPAZ-OPAS-OMS, 2001)

Os resíduos de pesticidas em material de embalagem para alimentos processados e os pesticidas usados como conservantes de alimentos processados ou os sanificantes de superfícies que entram em contato com alimentos são considerados aditivos alimentares e devem ser vistos como perigos químicos potenciais (INPPAZ-OPAS-OMS, 2001).

Utilizando tanto sistema Reflectoquant quanto o teste qualitativo de cor proposto por Myamoto et al. (1993), Sapers & Simmons (1998) não detectaram qualquer resíduo de peróxido de hidrogênio em cogumelos tratados com inibidor de escurecimento eritorbato de sódio, ou mesmo trabalhando com pepino e

melão cantaloupe cortados quando estes sofreram enxague ou tratamento com eritorbato.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria - prima

As amostras de alface americana foram coletadas em horta comercial localizada no município de Santana da Vargem, Minas Gerais, localizado a 90 km da cidade de Lavras, MG, com uma altitude de 860 metros. Segundo o escritório local da EMATER-MG, o município apresenta um clima temperado, com temperaturas médias diárias de 20,8°C e temperatura máxima de 26,5°C e mínima de 14,1°C.

A cultivar utilizada foi a Raider, variedade americana, colhida com maturidade comercial (40 dias), cultivada em terreno com córrego próximo, sem condições higiênicas adequadas. Esta cultivar é resistente a patógenos e a condições climáticas adversas. As amostras foram colhidas ao acaso, pela manhã, no mês de outubro de 2002 e selecionadas por sua uniformidade, pesando, em média, 400 gramas cada uma.

3.2 Metodologia

3.2.1 Processamento

Para a remoção do calor vital, foi realizado, no próprio local, um pré-resfriamento das amostras, por imersão em água fria (4-6°C). O produto pré-resfriado foi imediatamente acondicionado em caixas de isopor com água fria e transportado para o local de processamento, Laboratório de Fisiologia Pós-colheita de Frutos e Hortaliças, Departamento de Ciência dos Alimentos, UFLA.

Realizou-se o procedimento de higienização, tanto dos manipuladores (aventais, luvas, etc.) como dos utensílios. Estes foram pré-lavados com água tratada, lavados com solução de detergente alcalino e enxaguados com água tratada. Finalizando a operação de higienização, foram desinfectados com água clorada na concentração de 200 ppm.

As folhas externas foram descartadas e as cabeças lavadas individualmente em água corrente potável. Posteriormente, retirou-se o miolo central antes do corte, o qual foi realizado transversalmente à nervura central das folhas com fatias variadas (4 ± 1 cm). As fatias não tratadas (controle) foram apenas lavadas com água e as tratadas foram imersas em água fria ($4-6^{\circ}\text{C}$) com 100ppm de hipoclorito de sódio (NaClO) ajustada a pH 5,8 e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 4% com pH a 4,3 por 3 minutos. Em seguida, foram imersas em solução contendo ácido ascórbico 2% por 2 minutos e centrifugadas em centrífuga marca Nilma a 750 rpm por 1 minuto.

O produto foi acondicionado manualmente em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade linear, 25x30, específicas para folhosas com taxa de permeabilidade para O_2 $1700\text{ cm}^3/\text{m}^2$ dia.

A Figura 1, ilustra as fases do processamento mínimo da matéria-prima:

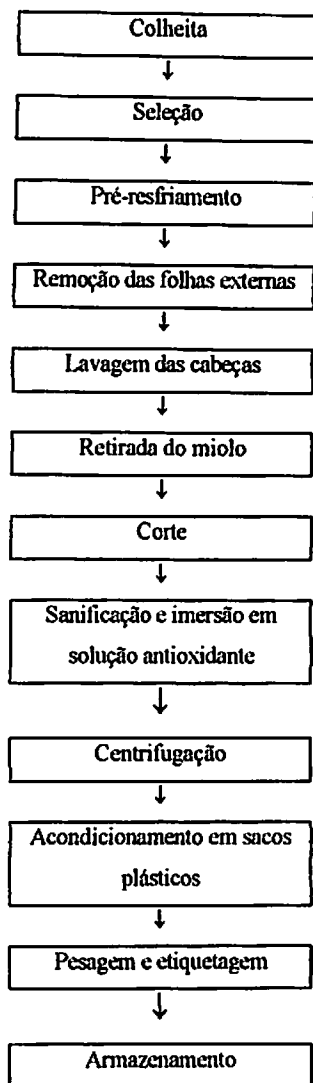


FIGURA 1. Fluxograma do processamento mínimo da alface americana cv. Raider.

As embalagens contendo 200 gramas de alface foram armazenadas em câmaras fria, à temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$. As análises físico-químicas, químicas,

bioquímicas, foram realizadas nos períodos de 0, 3, 6, 9, 12, 15 dias, para todos os tratamentos.

3.2.2 Análises físico-químicas, químicas e bioquímicas

3.2.2.1 Acidez total titulavel e Sólidos solúveis Totais (SST)

A determinação da ATT foi realizada por titulação com solução de NaOH 0,1 N e indicador fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico.

A determinação dos SS foi feita em refratômetro digital (Atago PR-100), com compensação automática de temperatura a 25°C. Os resultados foram expressos em graus (Brix°), segundo a técnica da AOAC(1992).

3.2.2.2 pH

Os valores de pH foram determinados utilizando-se pHmetro HandyLab, segundo técnica da AOAC(1992).

3.2.2.3 Clorofila total

Determinou-se a clorofila, após desintegração das folhas, em um homogeneizador de tecidos, conforme recomendação de Bruinsma (1963), utilizando-se 1 grama do material contendo 10mL de água destilada. Ao volume do extrato, após a homogeneização, adicionou-se acetona p.a. até a completa descoloração, seguida de filtração. A leitura da absorbância foi efetuada no comprimento de onda de 652nm. Os níveis de clorofila total foram determinados em miligramas por 100 gramas de folhas (Engel & Poggiani, 1991).

3.2.2.4 Polifenoloxidase (PFO)

A extração foi realizada de acordo com o método proposto por Matsuno & Uritane (1972) e a atividade expressa em unidade por minuto por grama de

tecido fresco, segundo método proposto por Teisson (1979), com os seguintes procedimentos: para extração, 100 gramas do tecido vegetal fresco foram homogeneizados por 3 minutos em 100mL de tampão fosfato 0,05M, pH 7,0, em um homogeneizador do tipo politron. O produto resultante foi filtrado a vácuo em papel Whatman n° 1 e centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos . O sobrenadante constituiu a fonte enzimática. Todo este procedimento foi realizado a 4°C. Para a determinação da atividade enzimática, adicionou-se 0,5 mL do extrato enzimático a 1,8 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) e a 0,050 mL de catecol 10 nM (recém-preparado). Incubou-se o preparo por 30 minutos, a 30°C. A reação foi interrompida pela adição de 0,8 mL de ácido perclórico 2N. Foram utilizados dois tubos brancos, substituindo-se o extrato enzimático por água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 695 nm.

3.2.2.5 Peroxidase (POD)

A extração e a determinação da peroxidase foram realizadas conforme metodologia preconizada por Flukey & Jen (1978). A atividade enzimática foi expressa em UA.h⁻¹, definida como teor de enzima que produz aumento de 0,1 na absorção 0.1 DO por minuto, a 470 e 420 nm, respectivamente.

3.2.2.6 Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A extração da FAL baseou-se na técnica preconizada por Rhodes e Wooltorton (1971), na qual homogeneizam-se 10 gramas da amostra fresca em 60 mL de meio de extração (Tris/EDTA/sacarose/polivinilpirolidona em 1 litro de água bidestilada, com ajuste a pH 8,0 com HCl 2N) por 3 minutos, pH 8,0, a 4°C. Em seguida, procede-se a centrifugação por 10 minutos a 9500 rpm. Filtra-se e ajusta o pH do extrato a 8,9, com KOH 2N.

A atividade enzimática foi expressa em unidade por hora por grama de tecido fresco, definida como teor de enzima que produz um aumento na absorção a 290 nm de 0,01 por hora (Zucker, 1965).

3.2.2.7 Resíduos Químicos

Os resíduos químicos deixados pelos sanificantes durante a etapa da sanificação foram quantificados no aparelho Reflectoquant Plus da Merck. As fitas dos respectivos sanificantes (NaClO e H_2O_2) ficaram em contato com a superfície das amostras e, posteriormente, foi feita a leitura em mg/L.

3.3 Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas realizadas foram: quantificação de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos, fungos e leveduras (ICMSF, 1983).

3.3.1 Preparo das amostras

Coletaram-se asseticamente 25g de alface americana minimamente processada, que foram homogeneizados em 225 mL de água peptonada 0,1%(p/v). Todas as amostras foram homogeneizadas em liquidificador doméstico durante um minuto, com copo previamente sanificado com etanol (70%).

3.3.2 Quantificação de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C

Os coliformes a 35°C foram quantificados utilizando-se a Técnica do Número Mais Provável (NMP). O teste presuntivo foi realizado com a inoculação de alíquotas da amostra em séries de três tubos, contendo tubos de Durham invertidos e Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo incubados a 37°C por 24-48 horas. Foram considerados tubos positivos para coliformes a 35°C aqueles que apresentaram turvação e formação de gás. Os resultados foram

expressos em NMP/g. Os coliformes a 45°C foram quantificados pela Técnica do Número Mais Provável (NMP). Aliquotas foram transferidas dos tubos positivos de coliformes a 35°C, com o auxílio de uma alça de repicagem, para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 horas. Foram considerados tubos positivos para coliformes a 45°C aqueles que apresentaram turvação e formação de gás.

3.3.3 Contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos

Os microrganismos aeróbios mesófilos foram quantificados pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando o meio Ágar para Contagem Padrão (PCA). As placas foram incubadas a 37°C, por 24-48 horas. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de alface (UFC/g).

3.3.4 Fungos e Leveduras

Fungos filamentosos e leveduras foram quantificados pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando-se meio Batata Dextrose Ágar (BDA) acidificado com ácido tartárico a 10%. As placas foram incubadas em estufa BOD a 25°C por cinco dias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama da amostra (UFC/g).

3.4 Avaliação sensorial

A avaliação da alface americana cv. Raider minimamente processada foi realizada pelo teste afetivo quantitativo constituído por 100 observadores não treinados. Os atributos avaliados e seus significados são mostrados na Tabela 1.

As amostras foram preparadas no mesmo dia da avaliação e mantidas sob refrigeração. Cada amostra de 10 g foi composta utilizando-se bandeja referente a cada tratamento.

TABELA 1: Atributos sensoriais da aparência e suas definições pelos provadores.

| Atributos | Definições |
|-----------------------------|--|
| Cor | Tonalidades de verde-esbranquiçada característica da alface americana, tom homogêneo, uniforme, sem manchas ou áreas descoloradas ou amareladas; |
| Frescor | Aspecto saudável, viçoso, vivo e brilhante; |
| Aspecto global da aparência | Aspecto geral, incluindo todos os atributos juntos, conferindo qualidade ao produto. |

Na realização dos testes propriamente ditos, as amostras foram codificadas com números aleatórios de três dígitos, com o objetivo de não influenciar os observadores. Os participantes da análise observaram cinco amostras correspondentes aos quatro tratamentos mais o controle. As amostras foram apresentadas de 3 em 3 dias e avaliadas, utilizando escala não estruturada de nove pontos, variando de acordo com o atributos sensoriais: cor, frescor, aspecto global (Meilgaard et al., 1991)

Avaliação de alface

Nome:

Data

Amostra

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

Cor

Desgostei muitíssimo

gostei muitíssimo

Frescor

Desgostei muitíssimo

gostei muitíssimo

Aspecto Global

Desgostei muitíssimo

gostei muitíssimo

Os testes foram realizados na Universidade Federal de Lavras e no comércio da cidade, com variação da faixa etária dos observadores.

As notas conferidas pelos observadores foram tabuladas e analisadas pelo programa estatístico Sisvar.

3.5 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um esquema fatorial 5 x 6, ou seja, cinco tratamentos (NaClO com ascórbico, NaClO sem ácido ascórbico, H₂O₂ com ácido ascórbico, H₂O₂ sem ácido ascórbico e controle), seis datas de avaliação (0,3,6,9,12,15), utilizando-se 3 repetições. As análises de variância das características físico-químicas e químicas avaliadas foram efetuadas pelo programa estatístico Sisvar (Ferreira, 1998).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 pH

Pela análise estatística, houve efeito significativo da interação, dos tratamentos e do tempo de armazenamento, com relação ao pH, porém, os modelos lineares e quadráticos para todos os tratamentos apresentaram valores de coeficiente de determinação baixos, indicando grande dispersão dos dados em relação aos modelos. Em virtude deste resultado, optou-se pela representação através de linha de tendência.

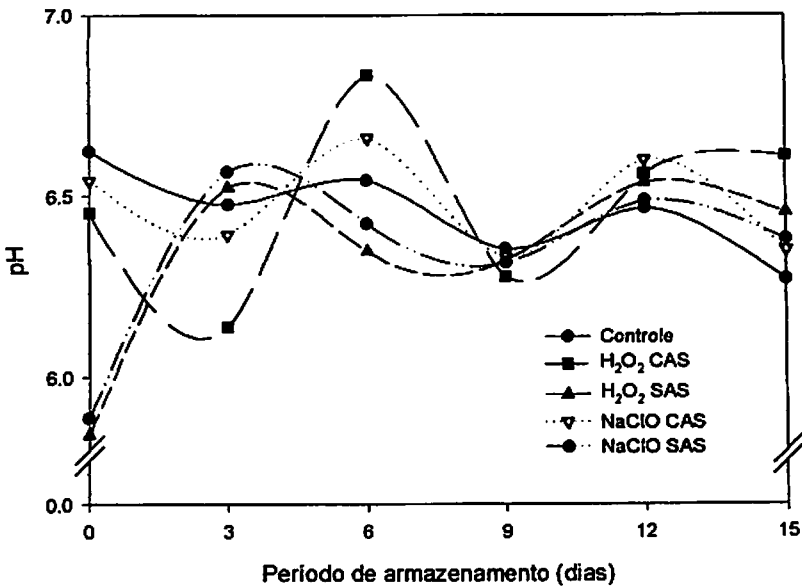


FIGURA 2. pH em alface americana, cv. Raider minimamente processada, submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3±1°C, por um período de 15 dias.

O fator tempo de armazenamento promoveu alterações estatisticamente significativa sobre a variável pH. Os valores de pH durante o período de armazenamento variaram de 5,8 a 6,5 (Figura 2).

O pH da alface cv. Iceberg minimamente processada e armazenada em sacos plásticos a 2°C foi de 6,03 segundo observações de Bolin & Huxsool (1991). Esse valor está bem próximo daqueles obtidos para as amostras do controle do presente trabalho.

Os sanificantes NaClO e H₂O₂ sem a presença do ácido ascórbico apresentaram valores em torno de 5,83 e 6,4, resultados concordantes com os de Souza (2004), que estudando alface cv. Vera minimamente processada, encontrou valores de pH variando em torno de 5,86 e 6,5.

Os tratamentos NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico apresentaram uma certa variação após o sexto dia de armazenamento. Comportamento semelhante foi encontrado por Freire Jr. (1999) que, estudando alface hidrôponica cv. Regina minimamente processada armazenada a 10°C, encontrou valores iniciais de 5,9 e, ao fim de 14 dias de armazenamento, 6,5. Segundo o mesmo autor, essas diferenças foram acentuadas devido à temperatura mais elevada (10°C) ter favorecido todas as reações metabólicas, como uma possível formação de compostos secundários durante o processo de deterioração do produto.

Os vegetais minimamente processados possuem, em geral, pH variável entre 5,8-6,0. Ahvenainen (1996) observou que a sua diminuição pode acarretar desordens fisiológicas e degradação das membranas.

4.2 Acidez total titulável (ATT) e Sólidos solúveis totais (SST)

Estatisticamente, nenhum dos tratamentos promoveu alterações significativas, tanto para acidez total titulável quanto para os sólidos solúveis totais.

Os valores para acidez total titulável (ATT) ficaram em torno 0,64% e, para sólidos solúveis totais, 2,50°Brix.

Bolin & Huxsoll (1991), que trabalharam com alface cv. Iceberg minimamente processada, concluíram que a acidez (0,50%) e os açúcares, nas saladas de alface cortadas, não variaram durante o armazenamento por 21 dias, concordando assim com o presente trabalho, no qual também não foi encontrada variação para acidez durante os quinze dias de armazenamento.

Souza (2004), estudando alface orgânica cv. Vera minimamente processada e armazenada durante 8 dias, encontrou valores de 0,19% para acidez total titulável e 3,29°Brix para sólidos solúveis. Os resultados deste experimento são diferentes dos encontrados pelo referido autor, provavelmente, devido ao tipo de cultivar e as condições pré-colheita.

4.3 Clorofila Total

Os valores encontrados para clorofila total neste experimento com alface americana cv. Raider minimamente processada foram baixos (1,439 e 0,834 mg/100g), devido à coloração verde-esbranquiçada das folhas. Durante o período de armazenamento, observou-se um decréscimo da clorofila total para todos os tratamentos, concordando assim com vários estudos realizados com alface minimamente processada. O declínio se apresentou a partir do terceiro dia armazenamento (Figura 3).

Os tratamentos à base de H₂O₂ com e sem ácido ascórbico apresentaram valores iniciais maiores (3,257 mg). Esta diferença está relacionada a uma possível interferência do peróxido de hidrogênio no método técnico analítico.

Os resultados obtidos neste trabalho não concordam com os de Freire Jr. (1999) que, estudando alface cv. Regina minimamente processada armazenada a 2°C, verificou valores iniciais 213 mg, observando ainda um decréscimo menos acentuado, com menor degradação da clorofila próximos a 150 mg.

Souza (2004) observou que, em alface cv. Vera minimamente processada, os teores de clorofila diminuíram com o tempo de armazenamento.

As vias de degradação da clorofila diferem entre espécies de plantas sendo também ainda desconhecido o papel do etileno na ativação de outras vias de degradação (Watada et al., 1990).

Segundo Freire Jr. (1999), a degradação da clorofila constitui um bom indicador da condição fisiológica do órgão verde.

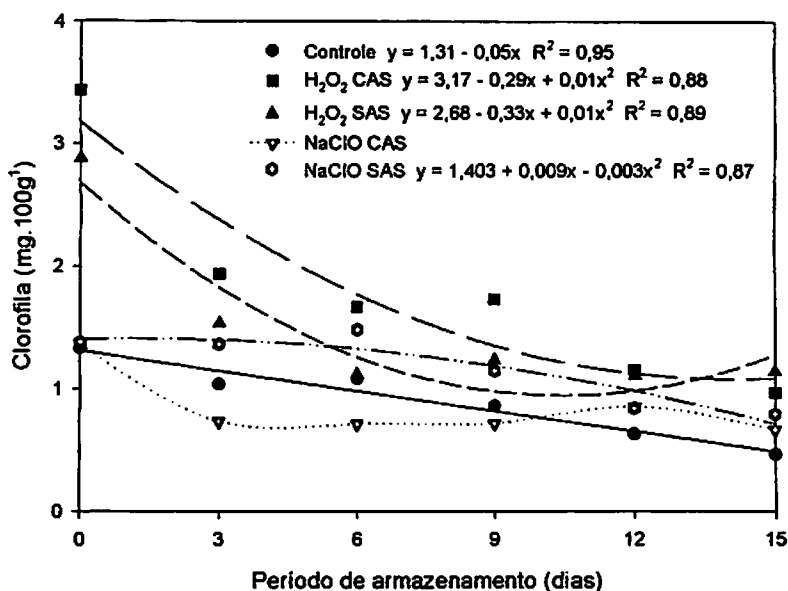


FIGURA 3. Teor de clorofila em alface americana cv. Raider minimamente processada, submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C, por um período de 15 dias

4.4 Polifenoloxidase (PFO)

A análise estatística evidenciou que os tratamentos, o período de armazenamento, assim como a interação, foram significativos.

O tratamento NaClO com ácido ascórbico e o controle apresentaram menor atividade da polifenoloxidase ($86,1 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) ao longo do armazenamento (Figura 4).

O tratamento H_2O_2 com ácido ascórbico proporcionou um aumento na atividade da enzima, com valores iniciais de $75,2 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, atingindo $144,1 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ no final do armazenamento. Possivelmente o ácido ascórbico foi degradado, já que é muito sensível a diversas formas de degradação, tais como a temperatura, a concentração de sal e açúcar, o pH, o oxigênio, as enzimas (ascorbato oxidase), os catalisadores metálicos, a concentração inicial do ácido e a relação ácido ascórbico/ácido dehidroascórbico. Em presença de oxigênio atmosférico e ausência de enzima, o ácido ascórbico, em reação catalisada pelos íons cobre, é oxidado a deidroácido ascórbico e peróxido de hidrogênio, o qual, por sua vez, favorece a destruição do ácido citado (Fennema, 1993).

O comportamento das amostras de alface americana cv. Raider minimamente processada tratadas com H_2O_2 e ácido ascórbico mostrou um aumento na atividade da polifenoloxidase mais acentuado a partir do nono dia de armazenamento.

Freire Jr. (1999), estudando a enzima polifenoloxidase em alface hidropônica cv. Regina minimamente processada armazenada a 10°C , observou que o comportamento da polifenoloxidase estava diretamente correlacionado com o escurecimento da alface, após dez dias de armazenamento.

Coelho (2001) verificou que o aditivo ácido ascórbico mais NaClO inibiu em 79% a atividade da polifenoloxidase em alface americana (cv. Lucy Brown) minimamente processada..

Diferentes cultivares de alface não apresentam idênticas atividades de escurecimento quando cortadas e armazenadas sob atmosfera controlada (Ke & Saltveit, 1989; Couture et al., 1993).

As amostras que foram tratadas com H_2O_2 sem ácido ascórbico apresentaram oscilação e aquelas tratadas com $NaClO$ sem ácido ascórbico, um pequeno aumento linear, ambas a partir do terceiro dia de armazenamento (Figura.4). As injúrias aumentam a concentração de diversos compostos fenólicos solúveis (catequinas, ácido clorogênico e ácido caféico) dos tecidos adjacentes, que são facilmente oxidados, em minutos, a substâncias marrons pela polifenoloxidase existente nos tecidos de alface (Ke & Salveit, 1989).

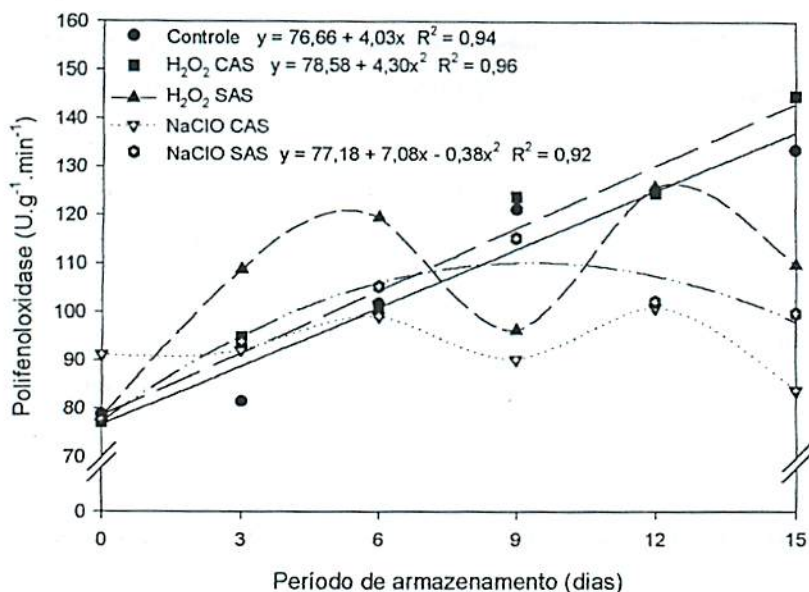


FIGURA 4. Atividade da polifenoloxidase em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com $NaClO$ e H_2O_2 com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a $3 \pm 1^\circ C$, por um período de 15 dias.

4.5 Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A análise de variância mostrou efeito significativo da interação, dos tratamentos e do período de armazenamento sobre a variável fenilalanina amônia-liase (FAL).

Os tratamentos NaClO sem ácido ascórbico e H₂O₂ com ácido ascórbico tiveram comportamentos semelhantes. Os valores iniciais foram de 11,8 U.min/g e 11,3 U.min/g, sendo os finais 22,3 U.min/g e 21,6 U.min/g (Figura 5).

A fenilalanina amônia-liase (FAL), por ser responsável pela regulação do metabolismo fenólico, tem sua atividade rapidamente acrescida pela exposição do produto a níveis de etileno fisiologicamente ativo, cuja produção autocatalítica encontra-se vinculada às injúrias mecânicas (Darezzo, 2000). Ke & Salveit (1989) em seu estudo com células foliares de alface, observaram que o aumento da FAL induzida pelo ferimento ocorreu mais rapidamente do que a induzida pelo etileno, levando-os a concluir que ele é consequência do próprio ferimento, e não da produção de etileno em decorrência dele.

Relatos de Mateos et.al. (1993) descrevem que a exposição de pedaços da nervura central de alface cv. Salinas, a uma temperatura de 2,5°C, a uma atmosfera acima de 20% de CO₂, aumenta a atividade da FAL extraída, quando realizada em seu pH ótimo (8,5). Em pH mais baixo (6,3), a extração desta enzima foi menor.

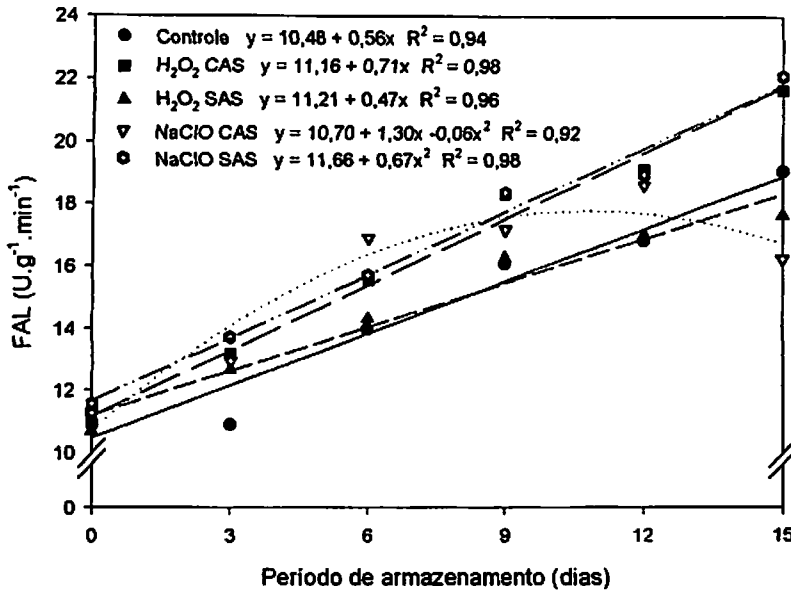


FIGURA 5. Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase em alfaca americana, cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3±1°C, por um período de 15 dias.

As amostras de alfaca americana cv. Raider tratadas com NaClO e ácido ascórbico apresentaram menor atividade da FAL, mostrando-se estáveis a partir do nono dia. O controle e o tratamento com H₂O₂ sem ácido ascórbico evidenciaram aumento da atividade durante os 15 dias de armazenamento.

O tamanho das fatias cortadas de alfaca é importante, pois a atividade da fenilalanina amônia-liase aumenta quando o tamanho das nervuras picadas diminui, podendo atingir um nível máximo entre 6 a 16 horas a 15°C e períodos mais longos para 5°C (López-Gálvez et al., 1996).

Em folhas de alfaca, Ke & Saltveit (1989) constataram que o fermento induziu a alta atividade da FAL nas células localizadas até 2,5 cm de distância

do sítio de ferimento, sugerindo a existência de um sinal para a sua indução, que provavelmente seria transmitido do ferimento para os tecidos não feridos.

4.6 Peroxidase

Houve efeito significativo da interação, dos tratamentos e do período de armazenamento sobre a variável peroxidase (Figura 6).

Todos os tratamentos diferiram do controle, porém, as amostras tratadas com H_2O_2 com e sem ácido ascórbico propiciaram maior atividade da peroxidase (80,6 U.min/g e 136,2 U.min/g). Isso, possivelmente, se deve ao fato desta enzima catalisar a oxidação de alguns compostos aminicos aromáticos de outros fenólicos na presença do peróxido de hidrogênio com posterior formação de polímeros escuros (Balls & Hale, 1934). Em estudos com tecidos injuriados de maçãs, esses autores constataram a capacidade de escurecimento dos tecidos na ausência de ar, diante da adição de H_2O_2 , atribuído à ação da peroxidase.

Quanto ao tratamento com NaClO com ácido ascórbico, observaram-se valores iniciais de 63,8 U.min/g e 108,4 U.min/g ao final do armazenamento (Figura 6). Esta tendência crescente dos valores certamente, são decorrentes da degradação do ácido ascórbico.

Mattos et al. (2004), estudando a atividade da peroxidase em alface crespa cv. Verônica minimamente processada tratada com 100 ppm de NaClO verificaram que a temperatura ideal para o controle da atividade desta enzima é de 5°C.

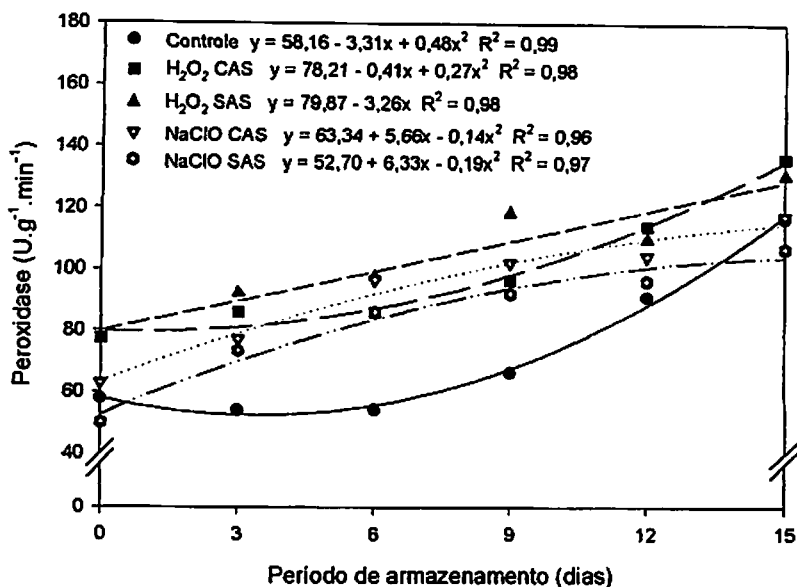


FIGURA 6. Atividade da enzima peroxidase em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C por um período de 15 dias.

Os menores valores observados ao fim dos 15 dias de armazenamento foram atribuídos às amostras tratadas com NaClO sem ácido ascórbico, porém, o controle apresentou menor atividade da peroxidase até o nono dia de armazenamento.

4.7 Resíduos Químicos

Não foi detectado resíduo algum nas amostras de alface americana cv. Raider minimamente processada submetidas aos diferentes tratamentos. Os valores encontrados durante os quinze dias de armazenamento ficaram em torno de 0,1 a 0,3 mg/L, tanto para o hipoclorito de sódio quanto para o peróxido de hidrogênio com e sem ácido ascórbico. Este resultado concorda com o de Sapers

& Simmons (1998), que não detectaram nenhum resíduo em alface cortada e tratada com solução de H_2O_2 a 5 ou 10%, explicando que isso possivelmente se deve à grande produção de gás, indicando a presença da catalase endógena, que degrada o H_2O_2 .

Utilizando tanto sistema Reflectoquant quanto o teste qualitativo de cor proposto por Myamoto et al. (1993), Sapers & Simmons (1998) não detectaram qualquer resíduo de peróxido de hidrogênio em cogumelos tratados com inibidor de escurecimento eritorbato de sódio, ou mesmo trabalhando com pepino e melão cantaloupe cortados, quando estes sofreram enxague ou tratamento com eritorbato.

4.8 Avaliação Microbiológica

4.8.1 Coliformes a 35°C

Pela análise estatística não houve diferença significativa dos tratamentos e do período de armazenamento, porém, por meio dos gráficos, observa-se que os dados do tratamento NaClO com ácido ascórbico apresentaram melhor resultado para coliformes a 35°C em alface americana cv. Raider minimamente processada..

Os resultados microbiológicos dos tratamentos NaClO e H_2O_2 com e sem ácido ascórbico e do controle, inicialmente apresentaram valores elevados para coliformes a 35°C (Figura7).

A carga bacteriana inicial para o controle foi de $1,1 \times 10^4$ NMP/g. Esta concentração pode variar significativamente, de acordo com os métodos utilizados: manuseio na fase pré-colheita, tais como instalação, tipo de adubo utilizado, qualidade da água, operações pré-colheita, bem como remoção das folhas externas, higienização e manuseio pelos operadores.

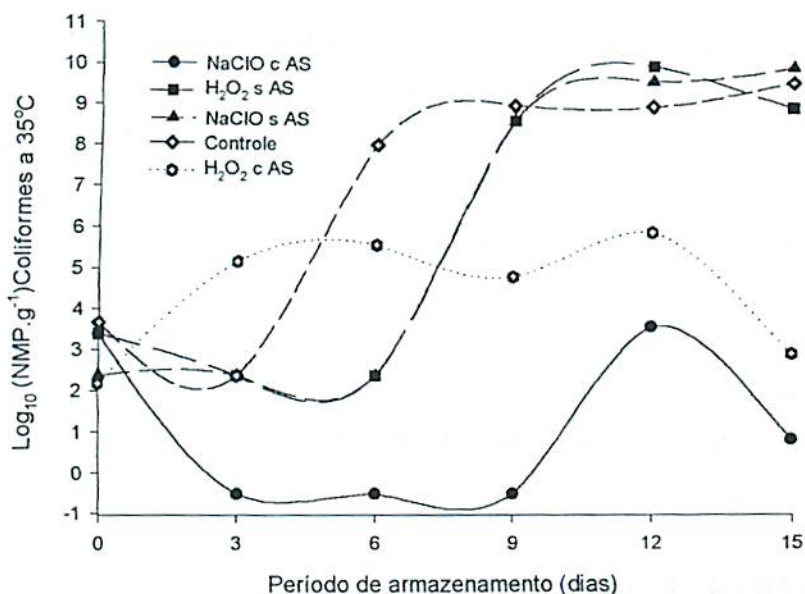


FIGURA 7 Valores médios de coliformes a 35°C em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a diferentes sanificantes, armazenada a 3±1°C, por um período de 15 dias.

Guerra (2004) estudando a eficiência de diferentes agentes químicos na desinfecção de alface crespa minimamente processada também encontrou contagem total inicial em torno de 10⁴NMP/g.

Os fatores extrínsecos podem afetar as contagens microbianas, tendo em vista a possibilidade de contaminação dos vegetais pela terra, água, ar, insetos e animais.

As plantas vivas são normalmente estéreis internamente, possuindo microbiota mista externamente, que consiste basicamente de espécies da família Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae como também de fungos e bactérias ácido-láticas (Beuchat, 1995).

O tratamento à base de NaClO com ácido ascórbico foi mais eficiente no controle dos coliformes a 35°C durante o armazenamento, com valores iniciais de $2,4 \times 10^3$ e finais de 7,0 NMP/g. O ácido ascórbico pode ter ajudado na manutenção do pH da solução de cloro ativo.

O tipo de ácido e o pH interagem para inibir o crescimento microbiano. Estudos sobre as interações de pH com o ácido fosfórico, o ácido cítrico, ou o ácido láctico têm se mostrado efetivos como fatores antimicrobianos sobre *Yersinia enterolítica* e *Salmonella* sp (Scott, 1989).

Estudando o efeito da sanificação em alfaces crespa e lisa, Nascimento (2004), utilizando 100 ppm de NaClO, encontrou valores semelhantes aos do presente trabalho.

Pode-se observar que durante todo o período de armazenamento, as contagens destes microrganismos mantiveram-se altas para os tratamentos H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, NaClO sem ácido ascórbico e controle. No nono dia de armazenamento, os valores, em média, foram de $1,1 \times 10^8$ NMP/g, portanto, este valor encontra-se fora da legislação atual vigente, que estabelece, para vegetais frescos, máximo permitido de 10^2 NMP/g.

Freire Jr. (1999) observou que a alface hidropônica cv. Regina minimamente processada armazenada a 10°C apresentou quantidade elevada de enterobactérias antes de atingir o sétimo dia, e as amostras armazenadas a 2°C após 14 dias de armazenamento.

Em estudos com mamão minimamente processado Mões-Oliveira (2001) observou que o H₂O₂ 0,5% eliminou completamente a carga microbiana inicial de coliformes a 35°C, demonstrando assim a eficiência deste sanificante para frutas minimamente processadas .

King Jr. (1991) verificou que até mesmo em temperaturas de armazenamento relativamente baixas, as contagens de bactérias em alfaces processadas visando aumentar a vida útil destes produtos aumentaram

significativamente. A habilidade de multiplicação das bactérias a baixas temperaturas indicou seu potencial como causa na deterioração das amostras de alface analisadas. Estes microrganismos que se desenvolveram ao longo do armazenamento sob baixas temperaturas devem ser os psicotróficos .

Apesar de todos os cuidados com a higiene e a manipulação adequada, da limpeza e sanificação da alface americana minimamente processada e do armazenamento refrigerado, o crescimento dos coliformes a 35°C sugere que os tratamentos citados não foram suficientes para controlar o crescimento destes microrganismos durante o período de armazenamento estudado.

A implementação das Boas Práticas de Higiene, bem como o controle da qualidade da água a ser utilizada, seja para irrigação ou para fazer o banho de imersão para retirada do calor vital do campo, são fundamentais para a obtenção de contagem inicial menor destas bactérias, retardando a deterioração do produto.

Populações de 10^4 a 10^6 microrganismos/g geralmente são considerados comuns em frutas e hortaliças quando presentes na planta de processamento, bancadas e utensílios. Estes índices são considerados aceitáveis desde que não estejam presentes patógenos toxígenos (Ayhan et al., 1998; Beuchat, 1996).

4.8.2 Coliformes a 45°C

O tratamento NaClO com ácido ascórbico apresentou melhor resultado para coliformes a 45°C em alface americana cv. Raider minimamente processada.

A contaminação de alimentos por alguns membros do grupo coliformes, particularmente produtos vegetais oferecidos crus para o consumo, pode causar severas toxinfecções. Isso ocorre porque estas bactérias são largamente distribuídas, desde os locais de plantio e colheita e são disseminadas pelo processo de preparação para o consumo final. A alface é um veiculador

potencial de microrganismos patógenos, como *E. coli* e *Salmonella* (Maxcy, 1982).

A alface não tratada (controle) apresentou maior contagem inicial para o respectivo microrganismo ($4,6 \times 10^3$ NMP/g).

Para os tratamentos H_2O_2 com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico e NaClO sem ácido ascórbico, as contagens iniciais foram semelhantes, na ordem de 10^3 NMP/g, tendo o número de bactérias até o terceiro dia de armazenamento aumentado de forma acentuada. Após este período, o tratamento com NaClO sem ácido ascórbico diferenciou-se apresentando crescimento menos acentuado no sexto dia, mas, no final do armazenamento, todos atingiram níveis $< 0,3$ NMP/g (Figura 9) .

O pH mais elevado apresentado pela alface (6,3) pode ter propiciado maior desenvolvimento bacteriano.

O possível aumento das contagens de coliformes a $45^\circ C$ durante o armazenamento pode ser devido à presença de microrganismos psicrotópicos, os quais, apesar de terem temperatura ótima de crescimento entre 20 e $30^\circ C$, são capazes de crescer entre 0 a $7^\circ C$.

As amostras tratadas com o NaClO e ácido ascórbico diferiram dos outros tratamentos, sendo o valor da contagem inicial de 4 NMP/g , tendo um declínio até o terceiro dia ($<0,3$ NPM/g) e mantendo-se constante até o fim do armazenamento (Figura 9).

Os coliformes a $45^\circ C$ são sensíveis ao cloro, ozônio e outros sanificantes, desde que haja contato físico do agente sanificante com a célula bacteriana (Suslow, 1999).

Beerli (2002), estudando a influência do dicloro isocianurato de sódio e do peróxido de hidrogênio em cebolas minimamente processadas não verificou a presença de coliformes a $45^\circ C$ durante o período de armazenamento a $4^\circ C$.

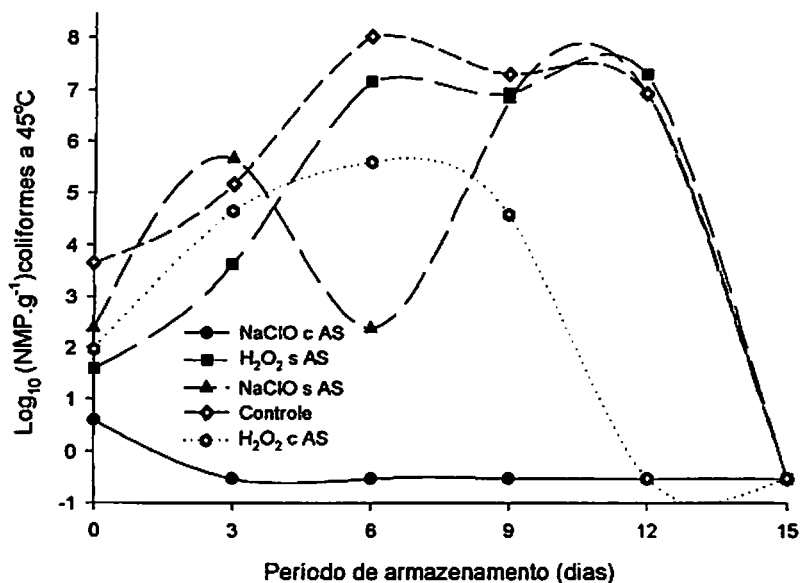


FIGURA 9 Valores médios de coliformes a 45°C em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a diferentes sanificantes, armazenada a 3±1°C, por um período de 15 dias.

Rosa (2002), estudando microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados, verificou que 62,5% tiveram pelo menos um produto positivo para *Escherichia coli* sp. que apresentou altas contagens de coliformes fecais e cepas identificadas como *Klebsiella* sp. Algumas evidências demonstraram que coliformes fecais não entéricos podem originar-se de amostras oriundas de águas tropicais e do solo.

4.8.3 Microrganismos aeróbios mesófilos

As amostras de alface americana tratada com NaClO e ácido ascórbico apresentaram melhor resultado para microrganismos aeróbios mesófilos em alface americana cv. Raider minimamente processada .

As contagens de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas são utilizadas para determinar a qualidade final dos produtos alimentícios. Elas indicam as condições de higiene ambiental, de manipulação e processamento a que estes produtos foram submetidos (Beerli, 2002)

Os índices iniciais das contagens globais de bactérias aeróbias mesófilas obtidas nas análises destas amostras variaram de $1,0 \times 10^2$ a $4,3 \times 10^6$ UFC/g (Figura 10), enquanto as contagens finais alcançaram $9,7 \times 10^9$ UFC/g. Este aumento nas contagens pode ter ocorrido devido à perda de efetividade dos sanificantes, como, por exemplo, a degradação do H_2O_2 com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, pela ação da catalase endógena produzida pelos microrganismos ou pelo seu efeito residual, como também pela volatilização do cloro proveniente do NaClO sem ácido ascórbico.

Na amostra tratada com NaClO com ácido ascórbico, verificou-se melhor controle do crescimento de aeróbios mesófilos. Presente nas concentrações adequadas, o ácido hipocloroso pode rapidamente inativar microrganismos, embora sua eficácia em reduzir os níveis de aeróbios mesófilos varie com o tipo de vegetal (Nicholl & Prendergast, 1998). A ação antimicrobiana é baseada no seu forte efeito oxidante e envolve sua penetração através da parede celular. Neste experimento, o controle foi o que apresentou menor contagem inicial, ou seja, $1,0 \times 10^2$ UFC/g, isso possivelmente, deve-se à falta de homogeneidade das amostras durante a colheita.

Embora as contagens sejam consideradas elevadas e indiquem certo descuido durante o manuseio e processamento, contagens maiores que 10^5 UFC/g são, muitas vezes, aceitas, caso não se encontrem bactérias enteropatogênicas nos produtos. Isto ocorre porque, frequentemente, estas contagens refletem o número de bactérias epífitas, oriundas do campo (Santos, 2003).

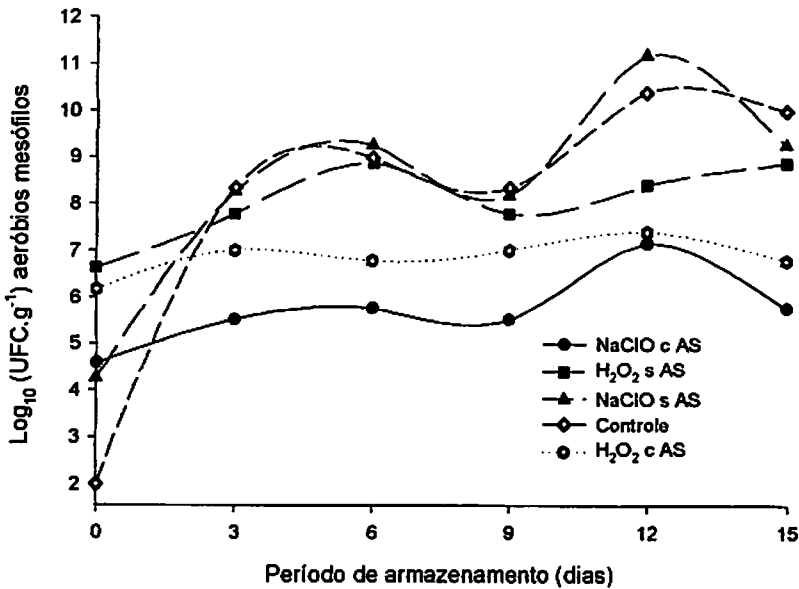


FIGURA 10 Valores médios de aeróbios mesófilos em alface americana cv.Raider minimamente processada submetida a diferentes sanificantes, armazenado a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de 15 dias

Babic & Watada (1996), trabalhando com espinafre minimamente processado, detectaram uma carga inicial de mesófilos variando de 10^7 - 10^8 UFC/g, concordando com o presente trabalho. Isso, provavelmente, deve-se ao pH mais elevado apresentado por ambos os vegetais (5,5-6,3) o que propicia maior desenvolvimento bacteriano.

Os filmes semi-permeáveis são utilizados para evitar a condensação de água e o crescimento de bactérias lácticas, ácidas e gram-positivas (Chitarra, 2001). Todo o processamento deve ser realizado com critério e no menor período de tempo possível para que as alterações microbiológicas sejam minimizadas (Ahvenainen, 1996). Após o processamento, os vegetais ficam mais sensíveis à contaminação. Os vegetais minimamente processados, por

serem uma categoria que em geral possui pH 5,8-6,0, alta umidade e maior superfície exposta devido ao corte, promovem condições ideais para o crescimento dos microrganismos (Coelho, 2001).

4.8.4 Fungos e Leveduras

O tratamento NaClO com ácido ascórbico apresentou melhor resultado para fungos e leveduras em alface americana cv. Raider minimamente processada .

A importância dada à microbiologia de frutas e hortaliças minimamente processados deve-se ao fato de que, sob condições de baixo pH e temperaturas de refrigeração, os fungos podem crescer e se tornar predominantes.

A contagem de fungos e leveduras neste trabalho apresentou inicialmente, valores de 1,0 UFC/g para o tratamento H₂O₂ com ácido ascórbico e 5,0 x10²UFC/g para o controle. Após o terceiro dia, verificou-se aumento até o nono dia, atingindo valores próximos a 7,5x10¹ e 1,9x10² UFC/g. Para os tratamentos NaClO e H₂O₂ sem ácido ascórbico, as contagens iniciais foram mais altas (8,0 x 10² UFC/g e 1,0x10³ UFC/g) tendo, ao final do armazenamento, abaixado, respectivamente, para 5,0x10 UFC/g e 1,5x10 UFC/g (Figura 11).

Embora a imersão em solução com NaClO reduza significativamente a população inicial da microbiota natural de produtos vegetais, as populações finais de amostras tratadas e não tratadas não foram significativamente diferentes após o período de incubação sob refrigeração (Beuchat, 1996; Nicholl & Prendergast, 1998).

As amostras tratadas com NaClO e ácido ascórbico tiveram redução da microbiota com valores iniciais de 2,5x10²UFC/g e finais 0,0UFC/g (Figura 11).

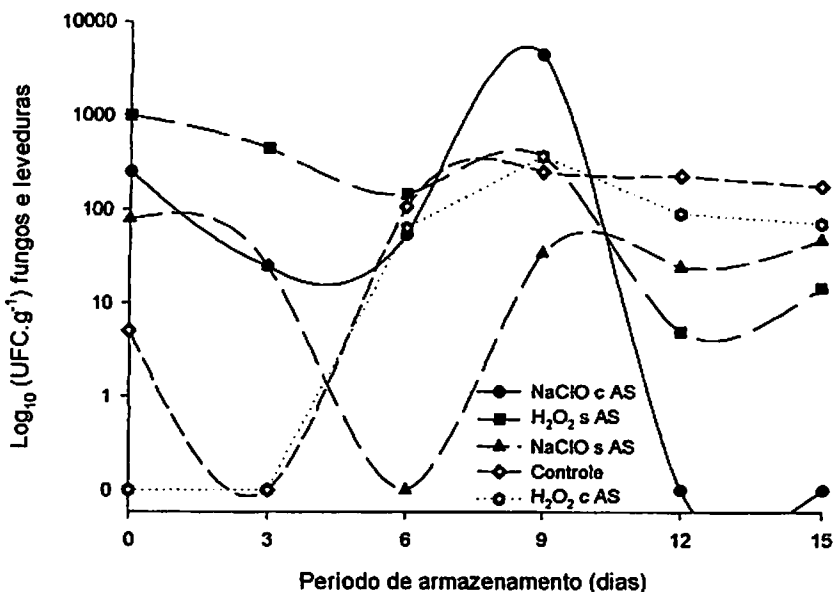


FIGURA 11 Valores médios de fungos e leveduras em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a diferentes sanificantes, armazenada a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$, por um período de 15 dias

Os resultados de fungos filamentosos e leveduras indicam condições de higiene que se desenvolvem com a umidade dentro da embalagem. Neste trabalho, as amostras de alface minimamente processada foram centrifugadas para retirar o excesso de umidade. Pode-se considerar que as contagens encontradas durante o período de armazenamento foram relativamente baixas para estes microrganismos.

Embora não exista legislação padrão para fungos e leveduras em produtos minimamente processados, são utilizados os padrões para produtos vegetais frescos prontos para o consumo segundo a RDC nº12 (Brasil, 2001), que estabelece índices $<10^2$, os quais irão refletir na sua qualidade final.

Brackett (1994) relata que tanto as leveduras como os fungos são normalmente isolados de hortaliças frescas, embora se disponha de pouca informação sobre as leveduras. As taxas de leveduras em espinafre minimamente processado foram consideradas baixas por Babic & Watada (1996), quando permaneceram entre 10^3 - 10^4 UFC/g, durante todo período de armazenamento, tanto em ar circulante como sob atmosfera controlada em temperatura a 5°C e 10°C.

Rosa (2002) observou que as contagens médias de fungos e leveduras em cenoura, beterraba, salada brisa, salada primavera e tri-salada, embora inicialmente elevadas, mantiveram-se mais ou menos constantes durante o período de estocagem, não apresentando aumento ou redução significativa.

As altas contagens de fungos e leveduras refletem, principalmente as condições inadequadas de armazenamento dos produtos, uma vez que estes fazem parte de uma microbiota epífita oriunda do local de plantio destes vegetais. As condições de temperatura, o uso de sanificantes adequados e o manuseio durante a produção e transporte dos vegetais, assim como da umidade e aeração no interior das embalagens, irão determinar sua qualidade final.

4.9 Análise Sensorial

4.9.1 Cor

Houve efeito estatisticamente significativo da interação, dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre a variável cor.

Observou-se a tendência de decréscimo nas notas atribuídas à cor, principalmente pelo controle e os tratamentos H_2O_2 e $NaClO$ com ácido ascórbico a partir do terceiro dia (Figura 12).

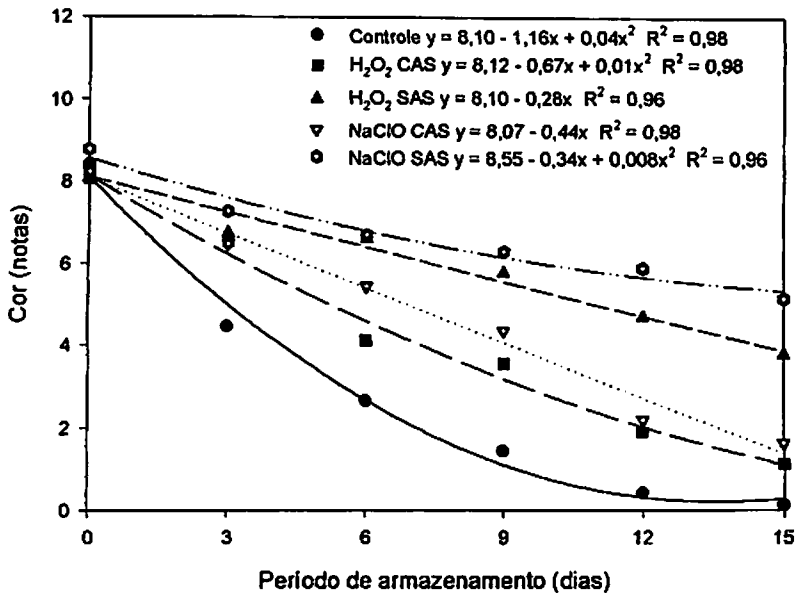


FIGURA 12. Evolução da cor em alface americana cv. Raider minimamente processada, submetida a tratamentos com NaClO e H_2O_2 com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a $3 \pm 1^\circ C$, por um período de 15 dias.

A qualidade do produto está associada à cor. A alteração dessa característica pode ser atribuída à degradação da clorofila e à formação de compostos secundários.

Coelho (2001) estudando o efeito de diferentes aditivos sobre a qualidade da alface americana cv. Lucy Brown minimamente processada, observou que as amostras tratadas com ácido ascórbico 2,5% apresentaram coloração semelhante à do controle.

As amostras tratadas com NaClO e H_2O_2 sem ácido ascórbico mantiveram a cor até o décimo segundo dia, apresentando uma pequena alteração no décimo quinto dia (Figura 12).

Estudando o efeito da temperatura de armazenamento na alface hidropônica minimamente processada, Freire Jr. (1999) verificou que, a 2°C, não houve diferença significativa na cor do produto e que, a 10°C, após o sétimo dia, houve uma queda na cor característica da alface, evidenciando uma perda da qualidade.

As características sensoriais do brócolis minimamente processado em especial a cor foram mantidas à temperatura de 5°C, quando o produto foi submetido à combinação de gases 1%O₂+12% CO₂ (Deliza, 2004).

Nas provas sensoriais ou na escolha de um alimento pelo consumidor „uma cor desagradável pode ser associada, inconscientemente, a um sabor ou textura desagradável (Santos, 2003). Sendo assim, é fundamental que o produto minimamente processado tenha cor esperada e conhecida.

4.9.2 Frescor

Os tratamentos diferiram durante o armazenamento, apresentando alteração no frescor a partir do terceiro dia.

As condições ambientais durante o armazenamento influenciam na microbiota e no tempo de duração do frescor do produto (Muller, 1981).

Verificou-se acentuada variação no frescor da alface americana cv. Raider minimamente processada para os tratamentos NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico, até o nono dia.

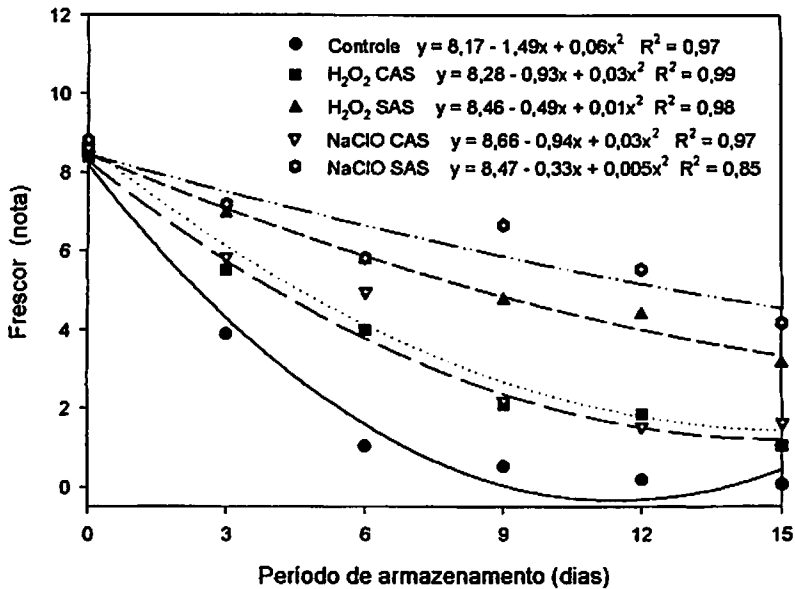


FIGURA 13. Alteração do frescor em alface americana cv. Raider minimamente processada, submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C, por um período de 15 dias

Coelho (2001), em experimento para verificação do frescor da alface americana cv. Lucy Brown minimamente processada tratada com ácido ascórbico 2,5% e armazenada durante 10 dias, não observou diferença do controle.

As notas atribuídas ao tratamento H₂O₂ sem ácido ascórbico foram piores (6,0) a partir do sexto dia de armazenamento indicando perda de frescor e do valor comercial. O tratamento com NaClO sem ácido ascórbico apresentou pouca variação no frescor da alface americana cv. Raider minimamente processada, até o nono dia de armazenamento (Figura 13).

Para o atributo frescor, Freire Jr. (1999) observou pouca variação do produto até o décimo dia de armazenamento à temperatura de 2°C, tendo em

vista os padrões respiratórios da alface serem tolerantes a temperaturas mais baixas.

Frutas e hortaliças perdem seu frescor típico e firmeza característica quando expostas ao armazenamento sob refrigeração, até mesmo por curtos períodos. Essas alterações são aceleradas quando as células sofrem injúrias pelo descascamento e pelo fatiamento (Bolin & Huxoll, 1989).

4.9.3 Aspecto global

De acordo com os resultados observados, houve efeito significativo da interação dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre a variável aspecto global. As notas atribuídas decresceram com o tempo, variando de muito boa a muito ruim (Figura 14).

As notas dos tratamentos NaClO e H₂O₂ sem ácido ascórbico para fatias de alface não demonstraram diferença significativa até o sexto dia. Porém, o aspecto das amostras tratadas com NaClO sem ácido ascórbico, permaneceram em boas condições até o nono dia e o H₂O₂ sem ácido ascórbico até o sexto dia de armazenamento. Freire Jr. (1999), estudando alface hidropônica cv. Regina minimamente processada, verificou uma vida útil de 10 dias para o produto armazenado a 2°C.

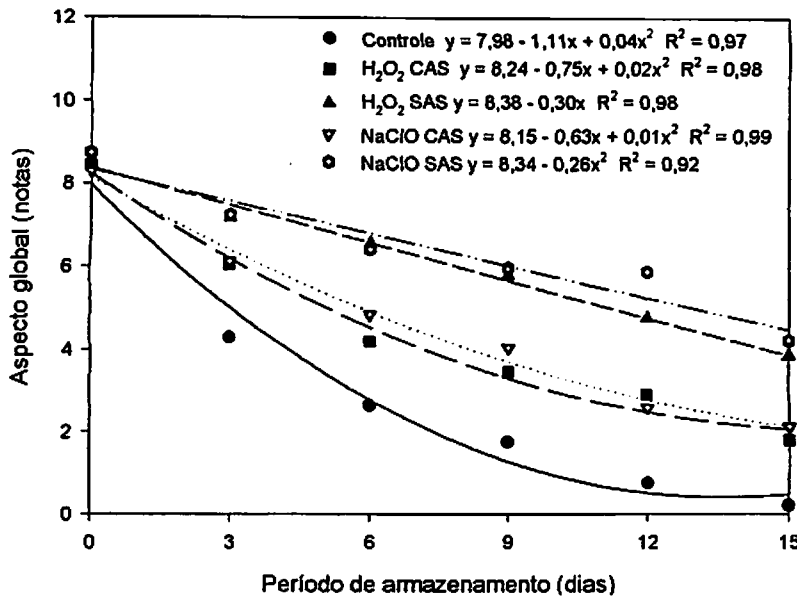


Figura 14. Aspecto global da alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com ácido ascórbico e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C, por um período de 15 dias

Pirovani et al. (1998) em testes com alface minimamente processada, acondicionadas em sacos de polietileno selados e também em bandejas, ambas estocadas a 4°C, observaram que o tipo de acondicionamento foi significativo para as mudanças na composição de gás e atributos sensoriais e visuais.

As fatias submetidas aos tratamentos NaClO e H₂O₂ com ácido obtiveram notas semelhantes ao longo do período de armazenamento. Tanto o controle quanto os tratamentos com ácido ascórbico tiveram decréscimo acentuado a partir do terceiro dia (Figura 14).

Coelho (2001), estudando o aspecto global da alface americana cv. Lucy Brown minimamente processada tratada com ácido ascórbico em relação ao controle, não verificou diferença significativa.

A aparência do produto exerce papel fundamental na decisão de compra do consumidor, uma vez que é pela observação do aspecto global que o consumidor seleciona e consome o alimento.

Os resultados para os tratamentos NaClO e H₂O₂ sem ácido ascórbico sugerem que o tratamento aplicado foi bem aceito pelos observadores, não interferindo nas características sensoriais próprias da alface até o terceiro dia de armazenamento.

6 CONCLUSÕES

Sob as condições experimentais estudadas, pôde-se concluir que:

- as enzimas polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina amônia-liase (FAL) apresentaram menor atividade na alface americana cv. Raider minimamente processada com o tratamento NaClO com ácido ascórbico, em comparação aos demais tratamentos;
- para a enzima peroxidase (POD) o controle apresentou menor atividade na alface americana cv. Raider minimamente processada;
- em nenhum dos tratamentos detectou-se a presença de resíduos;
- o tratamento à base de hipoclorito de sódio (NaClO) com ácido ascórbico foi mais eficiente como sanificante para alface americana cv. Raider minimamente processada do que os outros tratamentos sobre o controle de todos microrganismos;
- conforme as características de qualidade analisadas, observou-se uma vida útil de 3 dias para alface americana cv. Raider minimamente processada armazenada a $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 95% UR para os tratamentos NaClO e H_2O_2 com e sem ácido ascórbico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, J. Comida: é segura? **National Geographic Brasil**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 25, p. 64-87, maio 2002.

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

ANDRADE, N. J. de. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 182 p.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1995. 335 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of Association Official Analytical Chemistry**. 12. ed. Washington, 1992. 2v.

AYHAN, Z.; CHISM, G. W.; RICHTER, E. R. The shelf-life of minimal processed fresh cut melons. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v. 21, n. 1, p. 29-40, Jan. 1998.

BABIC, I.; WATADA, A. E. Microbial populations of fresh-cut spinach leaves affected by controlled atmospheres. **Postharvest Biology Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 187-193, Nov. 1996.

BALLS, A. K.; HALE, W. S. On peroxidase. **Journal of Biological Chemical**, Baltimore, v. 107, p. 767-782, 1934.

BARRIGA M. I. et al. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmospheres. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 6, p. 1586-1588, Nov./Dec. 1991.

BEUCHAT, L. R., NAIL, B. V., ADLER, B. B., CLAVERO, M.R. S. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. **Journal of food Protection**, Georgia, v. 61, n. 10, p. 1305-1311, 1998.

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

BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* in foods treated on supplemented with carrot juice. **Food Microbiology**, London, v. 12, n. 1, p. 73-80, Feb. 1995.

BEERLI, K. M. C. **Influência de sanificantes nas características microbiológicas e físico-químicas de cebola (*Allium cepa* L.) minimamente processada.** 2002. 56 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BLOCK, S. S. Peroxygen compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation.** 4. ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger, 1991. p. 167-181.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Storage stability of minimally processed fruit. **Journal Food Processing Preservation**, v. 13, n. 1, p. 281-289, 1989.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. **Journal Food Science**, Chicago, v. 13, n. 1, p. 281-292, Jan./Feb. 1991.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. **Journal Food Science**, Chicago, v. 13, n. 1, p. 281-292, Jan./Feb. 1991.

BOWER, J. P.; VAN LELYVELD, L. J. The effects of stress history and container ventilation on avocado fruits polyphenol oxidases activity. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 60, n. 4, p. 545-547, Oct. 1985.

BUENO, C.R. Adubação nitrogenada em cobertura via fertirrigação por gotejamento para alface americana em ambiente protegido. Lavras: Universidade Federal de Lavras, UFLA. 1998. 54p (Dissertação de Mestrado).

BRACKETT, R. E. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: Wiley, R.C. (Ed.) **Minimally processed refrigerated fruits & vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. p.269-312.

BRACKETT, R. E. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v. 10, n. 3, p. 195-206, June 1987.

BRACKETT, R. E. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: **WILEY, R. C. (Ed.). Minimally processed refrigerated fruits and vegetables.** New York: Chapman and Hall, 1994. p. 269-312.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº12**, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucoes/12_01.htm>. Acesso em: 2005.

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

BRUINSMA, J. The quantitative analysis of chlorophylls A and B in plant extracts. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, v. 2, n. 2. p. 241-249, 1963.

BRUL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 50, n. 1/2, p. 1-17, Nov. 1999.

CANTWELL, M. Postharvest handling: Minimally processed fruits and vegetables. In: **KADER, A. A. (Ed.). Postharvest Technology of Horticultural Crops.** 2 ed. Davis, 1992. p. 277-281.

CANTWELL, M. Preparation and quality of fresh-cut produce. In: **ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. Palestras...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 156-158.

CENCI, S. A. Desenvolvimento Tecnológico e Industrial no Setor de Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas no Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002, Porto Alegre. Palestras...** Porto Alegre, 2002. 1 CD-ROM.

CHERRY, J. P. Improving the safety of fresh produce with antimicrobial. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 11, p. 54-59, Nov. 1999.

CHITARRA, M. I. F. Alimentos minimamente processados. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 93 p. (Curso pós-graduação “Latu Sensu” (Especialização) a Distância: Tecnologia e Qualidade de Alimentos vegetais).

CHITARRA, M. I. F. Processamento mínimo de frutos e hortaliças. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113 p. (Curso pós-graduação “Latu Sensu”

(Especialização) a Distância: Pós-colheita de Frutos e Hortaliças - Manutenção e Qualidade).

COELHO, A. F. S. **Qualidade da alface (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada.** 2001. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos da Faculdade de Farmácia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COLGAN, R. J.; JOHNSON, D. S. The effects of postharvest application of surface sterilizing agents incidence of fungal rots in stored apples and pears. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 73, n. 3, p. 361-366, May 1998.

COUTURE, R.; CANTWELL, M. I.; KE, D.; SALTVEIT, M. E. Physiological attribut related to quality attribut and storage of minimally processed lettuce. **HortScience**, Alexandria, v. 28, n. 7, p. 723-725, July 1993.

CURRAN, H. R.; EVANS, F. R.; LEVITON, A. The sporicidal and use of crystalline catalase to dissipate residual peroxide. **Journal of Bacteriology**, Oxford, p. 423-434, 1940.

DAREZZO, H. M. P. **Processamento mínimo de alface (*Lactuca sativa* L.).** In: ENCONTRO NACIONAL DE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. **Palestras....** Viçosa: UFV, 2000. p. 117-124.

DELIZA, R.; CENCI, S.A; GONÇALVES, E.B.; SOARES, A.G. Influência das condições de armazenamento na fisiologia e na qualidade sensorial de brócolis minimamente processado In. XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Recife. Anais ... CD-ROM

DURIGAN, F. J. **Processamento mínimo de frutas.** In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., Viçosa, 2000. **Palestras...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 86-88.

ELPHICK, A. **Fruit and vegetable washing systems.** **Food Processing**, Chicago, v. 67, n. 1, p. 22-23, Jan. 1998.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. **Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais.** **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

FENNEMA, R. O. *Química de los alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993. 1095 p.

FERREIRA, D. N. *Sistema de análise estatística para dados balanceados*. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 1998.

FILGUEIRA, F. A. R. *Manual de olericultura*. São Paulo: Ceres, 1982. 357 p.

FLURKEY, W. H.; JEN, J. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 43, n. 6, p. 1826-1828, Nov./Dec. 1978.

FOEGEDING, P. M. Bacterial spore resistance to choline compounds. *Food Technology*, Chicago, v. 37, n. 11, p. 100-104, Nov. 1983.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FREIRE JR, M. *Efeito da temperatura de armazenamento e da atmosfera modificada na qualidade de alface hidropônico cv. Regina minimamente processado*. 1999. 120 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GARG, N.; CHUREY, J. J.; SPLITTSTOESSER, D. F. Effect processing conditions on the microflora of fresh vegetables. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 53, n. 8, p. 701-703, Aug. 1990.

GOMES, E.P. Cultivo da alface (*Lactuca sativa L.*) sob diferentes lâminas de água aplicadas através de irrigação por gotejamento superficial e subsuperficial Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, FCA-UNESP. 2001. 71p (Dissertação, Mestrado em Agronomia na área de Irrigação e Drenagem).

GUERRA, C. A.; LUCHESE, R. H.; BARBOSA, C. G. Eficiência de agente sanitizantes na desinfecção de alface. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19. , 2004, Recife. Anais. . Recife, 2004. 1 CD-ROM.

HALÁSZ, A.; BARÁTH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science Technology*, Oxford, v. 5, n. 2, p. 42-49, Feb. 1994.

HANSON, K. R.; HAVIR, E. A. Na introdução na enzimatologia de fenilpropanoide biosíntese. In. SWAIN, T.; HARBONE, J. B.; SUMERE, C. F. (Ed.). *The biochemistry of Plant Phenolics*. New York: Plenum Press 1979. p. 91-138.

HYODO, H. O.; KURODA, H.; YANG, S. F. Indução de fenilalanina amoníaco liase e aumento de fenólicos em folhas de alface em relação ao desenvolvimento de russet spotting causado por etileno. *Plant Physiology*, Rockville, v. 62, n. 1, p. 31-35, 1978.

HOBBS, B. C. *Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 1999. v. 2, p. 145-280.

HURST, W. C. Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 22-24, Jan. 1995.

INPPAZ-OPAS-OMS. 2001. Disponível em: <<http://www.inppaz.org.br>>. Acesso em: 22 jan. 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, 533 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Técnicas de las análises microbiológicas*. Zaragoza: Acribia, 1983. 430 p.

JAY, J. M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. 3. ed. Zaragoza: Espanha, 1994. 606 p.

JUNQUEIRA, A. H. *Horticultura: hortaliças processadas: mercado em expansão* São Paulo: Agrianual, 2000. p. 34-45.

JUVEN, B. J.; PIERSON, M. D. Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantization. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 59, n. 11, p. 1233- 1241, Nov. 1996.

KAHN, V. Latency properties of polyphenoloxidase in two avocado cultivars differing in their rates of browning. *Journal of Science Food and Agriculture*, Oxford, v. 28, n. 3, p. 233-239, Mar. 1977.

KADER, AA. Postharvest biology and technology: an overview. In: _____. **Postharvest technology of horticultural crops**. 2. ed. California: University of California. Division of Agriculture and Natural Resources, 1992. p. 15-20.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 1136-1140, 1988.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Developmental control of russet spotting, phenolic enzymes, and IAA oxidase in cultivars of iceberg lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 3, p. 472-477, May 1989a.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Wound induced production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 76, n. 3, p. 412-418, July 1989b.

KING JR, A. D.; et al. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce. **Journal Food Science**, Chicago, v. 56, n. 2, p. 459-461, Mar./Apr. 1991.

KING JR, A. D.; BOLIN, H. R. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 43, n. 2, p. 132-135, Feb. 1989.

LAGRIMINI, L. M. Tissue specificity of tobacco peroxidase isoenzymes and their induction by wounding and tobacco mosaic virus infection. **Plant Physiologist**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 438-442, June 1987.

LAMBRECHT, H. S. Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. In: LEE, C. Y.; WHITAKER, J. R. **Enzymatic browning and its prevention**. California: American Chemical Society, 1995. p. 49-61.

LANA, M. M.; FINGER, F. L. **Atmosfera modificada e controlada-Aplicação na conservação de produtos hortícolas**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Embrapa Hortaliças, 2000. 34 p.

LEITÃO, M. F. F.; FILHO, E. M.; DE LAZARI, I.; ANGELUCCI, E. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface (*Lactuca sativa* L.). **Boletim do Instituto de Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 201-226, abr./jun. 1981.

LÓPEZ-GÁLVEZ, G.; SALTVEIT, 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**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 223-233, Nov. 1996.

MACEDO, J. A. B. *Águas & águas*. Belo Horizonte: Ortofarma, 2000. 505 p.

MACIEL, R. F. P. Estudo sobre a influência do espaçamento, níveis de irrigação e adubação na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.). 1968. 48 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, Viçosa, MG.

MALUF, W. R. *Produção de hortaliças - I*. Lavras: Departamento de Agricultura, 1996. 58 p.

MANZANO, M.; CITTERIO, B.; MARFRENI, M.; PAGANESSI, M.; COMI, G. Microbial and sensory quality of vegetables for soup packaged in different atmospheres. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 67, n. 4, p. 521-529, Apr. 1995.

MATEOS, M.; KE, D.; CANTWELL, M.; KADER, A. A. Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO₂ enriched atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 3, p. 225-233, 1993.

MATSUNO, H.; URITANE, I. Physiological behavior of peroxidase enzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or black root. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v. 13, n. 6, p. 1091-1101, 1972.

MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Atividade da Peroxidase em alface crespa minimamente processada. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. *Anais... Redife*, 2004. 1 CD-ROM.

MAXCY, R. B. Fate of microbial contaminants in lettuce juice. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 45, n. 4, p. 335-339, Apr. 1982.

MEILGOARD M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. R. *Sensory evaluation techniques*. 2. ed. Florida USA: CRC Press, 1991. 354 p.

MEIRELLES, J. C. S. *Classificação de alface*. São Paulo: CEAGESP, (s. d).

MELLO, J. C. Vida de prateleira da alface americana (*Lactuca sativa*. L.) minimamente processada sob cultivo orgânico e convencional. 2000. 59 p. Projeto de dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MÕES-OLIVEIRA, E. C. Influência de sanitizantes na qualidade de mamão de safra e entressafra minimamente processado. 2001. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MORETTI, C. L. Panorama do processamento mínimo de hortaliças. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., 2004, Viçosa. Palestras... Viçosa, 2004. 8 p.

MORETTI, C. L. Processamento mínimo de hortaliças: alternativa viável para redução de perdas pós-colheita e agregação de valor ao agronegócio brasileiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 17, n. 2, p. 1, 2000.

MÜLLER, G. Microbiologia de los alimentos vegetais. Zaragoza-Espanha: Acribia, 291 p. 1981.

MYAMOTO, F. , SAEKI, M.; YOSHIZAWA, T. A sensitive qualitative color test for residual hydrogen peroxide in foods. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, Chiba, v. 39, n. 4, p. 336-344, Aug. 1993.

NAMBUDRIPAD, V. K. N.; LAXMINARAYA, H.; IYA, K. K. Bactericidal efficiency of hydrogen peroxide. Part III. Influence of different concentrations of the rate and extent of destruction of some bacteria of dairy importance. *Indian Journal of Dairy Science*, New Delhi, n. 1, p. 38-44, 1951.

NASCIMENTO, E. F.; MOLICA, E. M.; MORAES, J. S. Hortaliças minimamente processadas (mercado e produção). Brasília: EMATER-DF, 2000. 53 p.

NASCIMENTO, M. G.; SIQUEIRA, R. S.; ALCANTRA, I. Efeito da Sanitização-Lavagem e Somente Lavagem de alfaces (*Lactuca sativa*) agroecológicas na carga microbiana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. Anais... Recife, 2004. 1 CD-ROM.

NGUYEN-the, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 4, p. 371-401, 1994.

NICHOLL, P.; PRENDERGAST, M. Disinfection of shredded salad ingredients with sodium dichloroisocyanurate. **Journal Food processing and Preservation**, Connection, v. 22, n. 1, p. 67-79, Mar. 1998.

PARK, P.; S. H.; LEE, D. S. Effect of minimal processing operations on the quality of garlic, green onion, soybean sprouts and watercress. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 77, n. 3, p. 282-286, July 1998.

PIROVANI, M. E.; PIAGENTINI, A. M.; GUEMES, D. R.; DIPENTIMA, J. H. Quality of minimally processed lettuce as influenced by packaging and chemical treatment. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v. 22, n. 6, p. 475-484, Dec. 1998.

REYES, V. G. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. **Food Austrália**, Sydney, v. 48, n. 2, p. 87-90, Feb. 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**, Oxford, v. 10, n. 9, p. 1989-1997, Sept. 1971.

SEO, K. H.; FRANK, J.F. Attachment of *Escherichia coli* O157:h7 to lettuce leaf surface and bacterial viability in response to chlorine Treatment as demonstrated by using confocal scanning laser microscopy. **Journal of food Protection**, v.62, n.1, p.3-9, Jan. 1999.

TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas. I-Historique. II-Materiel et Méthodes. **Fruits**, Paris, v. 34, n. 4, p. 245-281, Apr. 1979.

ROBBS, P. G. Importância da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) no processamento mínimo. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2000. p. 33-43.

ROSA, O. O. **Microbiota associada às alterações da qualidade de produtos hortícolas minimamente processados durante a comercialização em redes de supermercados.** 2002. 155 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 84-92, 2000.

ROUNDY, Z. D. Treatment of milk for cheese with hydrogen peroxide. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 41, n. 10, p. 1460-1465, Oct. 1958.

RUSSELL, A. D.; CHOPRA, I. **Understanding antibacterial action and resistance**. 2. ed. Chichester, England: Ellis Horwood, 1996.

SALTVEIT, M. E.; KE, B. Carbon dioxide-induced brown stain developments as related to phenolic metabolism in iceberg lettuce. **Journal of the American Society For Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 5, p. 789-794, Sept. 1989.

SANTOS, H. P. dos. **Influência da sanificação sobre a qualidade de melão amarelo (*Cucumis melo L*) minimamente processado**. 2003. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L.; MATTRAZZO, A. M. Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in Golden Delicious apples. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 4, p. 734-737, July/Aug. 1999.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L.; PILIZOTA, V.; MATTRAZZO, A. M. Antimicrobial treatments for minimally processed cantaloupe melon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 2, p. 345-349, Mar./Apr. 2001.

SAPERS, G. M.; SIMMONS, G. F. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 52, n. 2, p. 48-52, Feb. 1998.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. I. Especificações para embalagens de vegetais minimamente processados (fresh-cut). **Boletim Técnico do Centro Tecnológico de Embalagens**, Campinas, v. 9, n. 5, p. 8. set./out. 1997.

SCHLIMME, D. V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 15-17, Feb. 1995.

SCHLIMME, D. V.; ROONEY, M. L. Packaging of minimally processed fruits and vegetables. In: WILEY, R. C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 135-182.

SCOTT, V. N. Interaction of factors to control microbial spoilage of refrigerated foods. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 52, n. 6, p. 431-435, Feb. 1989.

SGANZERLA, E. *Nova agricultura: a fascinante arte de cultivar com os plásticos*. Guaíba: Agropecuária, 1997. 342 p.

SIDDIQ, M.; SINHA, N. K.; CASH, J. N. Characterization of polyphenoloxidase from stanley plums. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 57, n. 5, p. 1177-1179, Sept./Oct. 1992.

SILVA, E. *Estudo da atividade enzimática da polifenol oxidase e da peroxidase em algumas frutas e hortaliças "in natura" e processadas*. 1981. 108 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SIQUEIRA, R. S. de. *Manual de microbiologia de alimentos*. Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995. 159p.

SOUZA, M. C.; ARAÚJO, P. G. L.; SILVA, E. de. Qualidade e conservação pós-colheita de alface, cv. Vera, hidropônica minimamente processada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. Anais... Recife, 2004. 1 CD-ROM.

SUSLOW, T. Microbial food safety is your responsibility. *Vegetable Biotechnology*, p. 1-7, Jan. 1999. Disponível em: <<http://vric.ucdavis.edu/vrichoml/html/foodsafety.htm>>. Acesso em: 22 jan. 2005.

TORTORA, G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. 827 p.

WATADA, A.E.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology*, v.50, may 1990, p.116-122.

UNDERKOFER, L. A. Enzymes. In: FURAI, T. E. *Handbook of food additives*. Cleveland: The Chemical Rubber, 1968. p. 51-105.

WATADA, A.; KO, N. P.; MINOTT, A. Factores affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 115-125, Nov. 1996.

WILEY, R. C. (Ed.). *Fruits y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas*. Espanha: Acribia, 1997. 362 p.

ZAGORY, D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial population. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 313-321, Mar. 1999.

ZAGORY, D.; KADER, A. A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. **Food Technology**, Chicago, v. 42, n. 9, p. 70-77, Sept. 1998.

ZHANG, S.; FARBER, J. M. the effects of various disinfectantes against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 13, n. 4, p. 311-321, Aug. 1996.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid syntesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, Baltimore, v. 40, n. 5, p. 779-784, Sept. 1965.

ANEXOS

- TABELA 1A** Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para, SST, pH, ATT e clorofila em alface americana cv. Raider minimamente processada submetido a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3± 1°C, por um período de 15 dias..... 83
- TABELA 2A** Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para FAL, POD, PFO em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3± 1°C, por um período de 15 dias..... 83
- TABELA 3A** Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para coliformes a 35, coliformes a 45 C, aeróbios mesófilos, fungos e leveduras em alface americana cv. Raider minimamente processado submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3± 1°C, por um período de 15 dias..... 84
- TABELA 4A** Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para cor, frescor, aspecto global em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3± 1°C, por um período de 15 dias..... 84

TABELA 1A Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para SST, pH, ATT e clorofila de alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂, com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3±1°C, por um período de 15 dias.

| Causas de Variação | Quadrados médios | | | | |
|--------------------|------------------|----------------------|----------------------|-----------|-----------|
| | GL | SST | ATT | pH | Clorofila |
| Tratamentos | 4 | 0,0443 ^{ns} | 0,0029 ^{ns} | 0,0944 ** | 3,0580** |
| Período | 5 | 0,8967 ^{ns} | 0,0058 ^{ns} | 0,1944 ** | 3,0377** |
| T x P | 20 | 0,0856 ^{ns} | 0,0020 ^{ns} | 0,1175 ** | 0,3663** |
| Erro | 60 | 0,0469 | 0,0012 | 0,0092 | 0,0244 |
| Total | 89 | | | | |
| Média geral | | 2,1311 | 0,6669 | 6,4188 | 1,2449667 |
| CV(%) | | 10,17 | 5,29 | 1,49 | 12,54 |

* / ** Teste de F significativo a 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

TABELA 2A Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância para FAL, POD, PFO e de alface americana cv. Raider minimamente processado submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂, com e sem ácido ascórbico, armazenado a 3±1°C, por um período de 15 dias

| Causas de Variação | Quadrados médios | | | | |
|--------------------|------------------|------------|-------------|-------------|----------------------|
| | GL | FAL | POD | PFO | Resíduo |
| Tratamentos | 4 | 16,6069** | 2553,2529** | 1142,0609** | 0,0797 ^{ns} |
| Período(P) | 5 | 156,6021** | 5782,0052** | 2859,5099** | 0,0062 ^{ns} |
| T x P | 20 | 3,5342** | 238,2666** | 567,6730** | 0,0062 ^{ns} |
| Erro | 60 | 0,5115 | 18,3391 | 73,1845 | 0,0072 |
| Total | 89 | | | | |
| Média geral | | 15,8244 | 92,3335 | 103,9427 | 0,0856 |
| CV(%) | | 4,52 | 4,64 | 8,23 | 99,21 |

* / ** Teste de F significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 3A Quadrados médios da ANOVA e respectivos níveis de significância para coliformes a 35°C, coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos, fungos e leveduras em alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C por um período de 15 dias

| Causas de Variação | GL | Quadrados médios | | | |
|--------------------|----|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| | | Coliformes a 35 °C | Coliformes a 45°C | Aeróbios mesófilos | Fungos e leveduras |
| Tratamentos | 4 | 19,14922 ^{ns} | 14,67394 ^{ns} | 20,98994 ^{ns} | 5,64260 ^{ns} |
| Período(P) | 5 | 18,94354 ^{ns} | 14,75891 ^{ns} | 20,86510 ^{ns} | 5,80609 ^{ns} |
| Erro | 20 | 18,84752 | 14,57287 | 20,84942 | 5,85146 |
| Total | 29 | | | | |
| CV(%) | | 84,63 | 94,58 | 67,13 | 58,28 |

* / ** Teste de F significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 4A Quadrados médios da ANOVA e respectivos níveis de significância para cor, frescor, aspecto global de alface americana cv. Raider minimamente processada submetida a tratamentos com NaClO e H₂O₂ com e sem ácido ascórbico, armazenada a 3 ± 1°C, por um período de 15 dias

| Causas de variação | GL | Quadrados médios | | |
|--------------------|----|------------------|------------|----------------|
| | | Cor | Frescor | Aspecto global |
| Tratamentos T | 4 | 158,2345** | 176,2184** | 136.3322** |
| Período (P) | 5 | 290,4850** | 355,4139** | 280.4008** |
| TxP | 20 | 9,3659** | 10,7510** | 5.9060** |
| Erro | 60 | 0,1817 | 0,1106 | 0.1694 |
| Total | 89 | | | |
| Média Geral | | 4,9069 | 4,4972 | 1,7113 |
| CV(%) | | 8,69 | 7,46 | 26,14 |

* / ** Teste de F significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.