

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**EFEITO DO RECOBRIMENTO DE SOLUÇÕES DE QUITOSANA EM ALFACES
MINIMAMENTE PROCESSADAS**

Moises Jardim Segaspini
Engenheiro Agrônomo / ULBRA

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de concentração Fitotecnia / Ênfase Horticultura

Porto Alegre (RS), Brasil
Outubro de 2014

Ficha catalográfica

Homologação

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e proteção a cada dia até o fim dessa jornada.

Meus pais Osório e Ivete e minha irmã Maria, pelo apoio incondicional.

A minha esposa Jurema por estar comigo em todas as horas.

Ao Prof.º Renar João Bender, pela acolhida, a amizade, confiança e grande apoio para a realização deste trabalho.

Aos professores do departamento de Horticultura e Silvicultura pela amizade e grande contribuição para meu aprendizado.

Aos colegas do Laboratório de Pós-Colheita da UFRGS pela amizade e inestimável contribuição para o andamento deste trabalho: Sandra, Rafael, Fernanda, Gustavo, Letícia, Stefan, Tâmillia, Marília, Rodrigo, Amanda.

Ao ICTA em especial ao Laboratório do Profº Alessandro Rios, pela disponibilidade do espaço e equipamentos.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela ótima convivência e grande troca de conhecimento.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos.

EFEITO DO RECOBRIMENTO DE SOLUÇÕES DE QUITOSANA EM ALFACE MINIMAMENTE PROCESSADA¹

Autor: Moises Jardim Segaspini
Orientador: Renar João Bender

RESUMO

Os produtos minimamente processados constituem um segmento que proporciona uma grande praticidade para o consumidor no consumo de vegetais frescos, uma vez que estes já vêm prontos para o consumo. A alface é uma olerícola muito importante na alimentação humana, sendo a espécie folhosa mais consumida no Brasil por sua importância em uma dieta saudável, todavia é de alta perecibilidade. Quando submetida ao estresse do processamento mínimo, tende a perder qualidade mais rapidamente devido as respostas fisiológicas inerentes ao processo. A busca por alternativas tecnológicas que minimizem este impacto é muito importante para o sucesso de minimamente processados, bem como a manutenção da sanidade e segurança. Biopolímeros à base de quitosana surgem como uma possibilidade de minimizar perdas de qualidade em vegetais frescos, considerando sua capacidade como barreira seletiva para gases, formação de filme comestível, capacidade bacteriostática e bactericida. No presente trabalho foram utilizadas três soluções de quitosana com concentrações de 0,1%, 0,2% ou 0,5% (p/v) e mais um tratamento com solução de 200ppm de cloro com o objetivo de avaliar os efeitos na vida de prateleira de alfaces americana e crespa embaladas com atmosfera modificada e armazenada por nove dias a 3°C. Foram avaliados parâmetros de cor, textura, peso de massa fresca e textura. Nos tratamentos da alface americana cortada observou-se uma perda de qualidade visual devido ao escurecimento das extremidades cortadas. Nos tratamentos aplicados na alface crespa com folha inteira o aspecto visual permaneceu inalterado. As concentrações de 0,2% e 0,5% de quitosana reduziram a perda de massa fresca na comparação com os demais tratamentos, no entanto, a aplicação de quitosana resultou em uma maior redução dos teores de ácidos orgânicos em comparação ao tratamento convencional com cloro indicando menor qualidade e que são necessários estudos continuados para repetibilidade de resultados.

¹Dissertação em Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (52p) Outubro, 2014.

EFFECTS OF THE USE CHITOSAN SOLUTIONS ON MINIMALLY PROCESSED LETTUCE ²

Author: Moises Jardim Segaspini

Adviser: Renar João Bender

ABSTRACT

Minimally processed leafy vegetables confer great convenience to consumers in the intake of fresh vegetables as they are already on the point of consumption. Lettuce, amongst all leafy greens is one of the utmost important vegetables in human diet, being one of the most consumed in the world, due to its value for a healthy diet. Even though, lettuces are of quite high perishability. When submitted to minimal processing, the leaves tend to deteriorate more swiftly due to the physiological responses to processing procedures. The search for alternative technologies, which could minimize that effect is very important to the success of that industry and so, is, as well, the need for maintenance of safety of minimally processed vegetables. Biopolymers based on chitosan come up as a possibility to reduce quality losses of fresh vegetables, because of their capability to selectively block gases and deliver the formation of an edible film with bacteriostatic or bactericidal capacity. In the present work, three chitosan concentrations (0.1%, 0.2% or 0.5%) and 200 ppm chlorine solution were evaluated for their effects on crisphead and iceberg lettuce shelf life packed in modified atmosphere and stored for up to nine days at 3°C. Leaf color, tissue firmness, fresh weight losses and visual quality were appraised after five, seven or nine days of cold storage. Processing of lettuce rendered decreases visual quality at cut ends of iceberg lettuce while on crisphead no visual browning was visualized. Chitosan treatments at 0.2% and 0.5% resulted in lower fresh weight losses in comparison to the lower chitosan concentration and the 200 ppm chlorine treatment. Chitosan treatments did affect acidity, which was slightly lower than in the chlorine treatment. Nonetheless, there is a need for further studies to obtain more reliable results for minimally processed lettuce leaves.

²Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (52p) October, 2014.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Cultura da alface.....	3
2.2 Perdas pós colheita.....	5
2.3 Processamento mínimo de alface.....	6
2.4 Desordens Fisiológicas.....	7
2.5 Biopolímeros	8
2.5.1 Quitosana.....	10
2.6 Atmosfera Modificada.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Preparação de soluções de Quitosana.....	16
3.2 Ensaio preliminar com couve.....	17
3.2.1 Material Vegetal.....	17
3.2.2 Processamento.....	17
3.2.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm.....	17
3.2.4 Aplicação do revestimento.....	17
3.2.5 Análise visual.....	19
3.3 Experimento com alface Americana.....	19
3.3.1 Material vegetal.....	19
3.3.2 Processamento.....	19
3.3.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm.....	21
3.3.4 Aplicação de revestimento.....	21
3.3.5 Análise visual.....	23
3.4 Experimento com alface Crespa.....	24
3.4.1 Material vegetal.....	24
3.4.2 Processamento.....	24
3.4.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm.....	24
3.4.4 Aplicação de revestimento.....	24
3.5 Análises realizadas para alface Americana e Crespa.....	25
3.5.1 Perda de peso.....	25
3.5.2 Cor superficial.....	26
3.5.3 Textura.....	27
3.5.4 Acidez total.....	29
3.5.5. Análise visual.....	30
3.5.6 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32

	Página
4.1 Resultados obtidos com couve.....	32
4.2 Resultados obtidos com alface americana.....	33
4.3 Resultados obtidos com alface crespa.....	37
4.3.1 Cor.....	38
4.3.2 Textura.....	41
4.3.2.1 Força de cisalhamento e resistência a penetração....	41
4.3.3 Acidez total.....	44
5. CONCLUSÕES.....	46
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Peso de massa fresca, em gramas, das unidades experimentais de alface americana embalada em sacos de polietileno e mantida por até nove dias em armazenagem, refrigerada a 3°C. Porto Alegre, RS. 2014.....	33
2. Perdas de massa fresca, em percentual, de alface americana minimamente processada mantida por até nove dias em armazenagem refrigerada a 3°C. Porto Alegre, RS. 2014.....	33
3. Tonalidade (ângulo <i>hue</i>) de folhas de alface americana minimamente processada e tratadas com soluções de diferentes concentrações de quitosana ou cloro e mantidas por até nove dias em armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.....	34
4. Peso de massa fresca, em gramas, de unidades experimentais na instalação do experimento e após cinco, sete ou nove dias de armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.....	37
5. Percentuais de perdas de massa fresca de alfaces minimamente processadas ao longo de nove dias de armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.	38
6. Cor da superfície de folhas de alface crespa ao longo de nove dias de armazenagem e com diferentes recobrimentos de quitosana e cloro. Porto Alegre, RS. 2014.....	39

7. Diferença total de cor em alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3° C. Porto Alegre, RS. 2014. 40
8. Determinação de força (G) de cisalhamento em texturômetro modelo TA – XT2i de folhas de alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3° C. Porto Alegre, RS. 2014..... 42
9. Força de resistência (G) à penetração em texturômetro modelo TA – XT2i no talo da folha de alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3° C. Porto Alegre, RS. 2014..... 43
10. Acidez titulável, expressa em mg de ácido cítrico/100g de material vegetal, de alfaces minimamente processadas ao longo de nove dias de armazenagem a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014..... 44

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Pesagem das folhas de couve em 25 g para posterior colocação em recipiente em atmosfera modificada. Porto Alegre – RS, 2014.....	18
2. Injeção de gas nas concentrações de 5 kPa de O ₂ e 15 kPa de CO ₂ em recipientes com couve. Porto Alegre – RS, 2014.....	18
3. Alface Americana sendo cortada em quatro partes com faca de aço inoxidável. Porto Alegre – RS, 2014.....	20
4. Alface Americana após o corte em quatro partes, para posterior separação das folhas. Porto Alegre – RS, 2014.....	20
5. Folhas inteiras de alface sendo aspergidas com solução de quitosana por borrifador manual. Porto Alegre – RS, 2014.....	22
6. Folhas de alface americana sendo centrifugadas por um minuto para remoção do excesso de solução de quitosana aplicada. Porto Alegre – RS, 2014.....	22
7. Processo de embalamento de alface em seladora. Porto Alegre – RS, 2014.....	23
8. Folhas de alface dispostas em bandejas plásticas e prontas para a aplicação de revestimentos de quitosana. Porto Alegre – RS, 2014.....	25
9. Diagrama CIELAB com a sequência de nuances de cores e orientação do ângulo de nuances (ângulo Hue). (Adaptado de CHITARRA & CHITARRA, 2005).....	27

	Página
10. Preparo de folha de alface para medição de força de cisalhamento em texturômetro modelo TA – XT2i. Porto Alegre – RS, 2014.....	28
11. Texturômetro modelo TA – XT2i, apresentando fragmento de folha de alface para medição da força de cisalhamento na folha de alface. Porto Alegre – RS, 2014.....	29
12. Avaliação da resistência à penetração do talo da folha inteira de alface em texturômetro modelo TA – XT2i. Porto Alegre – RS, 2014.....	29
13. Avaliação visual da couve no quinto dia após aplicação de solução de quitosana nas concentrações 1% e 2% e aplicação de cloro 200 ppm.	32
14. Folhas de alface americana minimamente processada com tratamentos de solução de quitosana nas concentrações 0,1%, 0,2%, 0,5% e cloro 200 ppm, avaliadas aos nove dias de armazenagem em atmosfera de 5 kPa de O ₂ e 15 kPa de CO ₂ em saco de polietileno. Porto Alegre – RS, 2014.....	36

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

OMS	Organização Mundial da Saúde
PROHORT	Programa Brasileiro de Modernização do mercado de Hortigranjeiros
EUA	Estados Unidos da America
PPO	Polifenoloxidase
MP	Minimamente Processado
PAL	Phenylalanine ammonia liase
2,4D	Ácido Diclorofenoxiacético
FDA	Food and Drug Administration
THM	Triometano
GRAS	Generally Recognized as Safe
BPF	Boas Práticas de Fabricação
EAM	Embalagem em Atmosfera Modificada
CO ₂	Dióxido de Carbono
O ₂	Oxigênio
N ₂	Nitrogênio
VMP	Vegetais Minimamente processados
rpm	Rotações por minuto
G	Força da Gravidade
NaOH	Hidróxido de Sódio

1 INTRODUÇÃO

A sociedade contemporânea está passando por grandes mudanças que impactam diretamente no estilo de vida das pessoas e seus hábitos alimentares vêm seguindo essas mudanças. A procura por alimentos prontos para o consumo, aliado a busca de dietas mais saudáveis, traz a necessidade de criação de um mercado forte de frutas e olerícolas prontas para o consumo. O consumo regular de algumas porções diárias destas espécies é indispensável para uma dieta equilibrada.

Tendo em vista as mudanças que nossa sociedade vem passando, é fundamental o surgimento de tecnologias que garantam segurança e praticidade para o consumo de vegetais frescos. Neste contexto se encaixa o segmento dos produtos minimamente processados, vindos de processos de beneficiamento, sem perder suas características e qualidades nutritivas de produto fresco.

Os primeiros registros do comércio de minimamente processados são da década de 30 nos EUA. A grande evolução, no entanto, foi a partir da década de 50. A indústria dos chamados alimentos minimamente processados foi inicialmente introduzida com o objetivo de suprir restaurantes, hotéis, quartéis e instituições similares.

Os vegetais quando submetidos ao processamento mínimo sofrem estresses e suas respostas fisiológicas potencializam a degradação perdendo

mais rapidamente qualidade e diminuindo sua vida útil de prateleira. Para diminuir este impacto é preciso uma organização na cadeia produtiva e devem-se utilizar as tecnologias disponíveis para minimizar esses efeitos indesejados.

Biofilmes comestíveis têm demonstrado interessante potencial para conservação de vegetais frescos. Estes filmes podem formar uma barreira protetora, diminuindo perda de água e oxidação e, desta forma, melhorar a qualidade visual. Os filmes, além disto, podem apresentar atividade bactericida e fungicida.

Esses biofilmes comestíveis são obtidos a partir de biopolímeros produzidos por matérias primas abundantes na natureza. A quitosana é um biopolímero obtido da quitina e apresenta um potencial promissor para conservação de olerícolas minimamente processadas.

A partir destas constatações, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos do recobrimento de alfaces minimamente processadas com soluções em diferentes concentrações de quitosana. Tendo como parâmetro de avaliação cor, textura, acidez total e massa fresca.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da alface

A alface (*Lactuca sativa*) é uma espécie da família Asteraceae originária do Mediterrâneo. É uma espécie olerícola folhosa que pode apresentar formação ou não de cabeça. As folhas podem ser lisas ou crespas e a coloração pode variar do verde-claro ao verde-escuro. Algumas cultivares de alfaces têm pigmentação roxa nas bordas ou na folha como um todo. É a espécie olerícola mais consumida no Brasil como componente básico de saladas seja no uso doméstico ou comercial.

Segundo Luengo & Calbo (2001) a planta para consumo deve apresentar desenvolvimento máximo, sem indício de pendoamento, ou seja, o alongamento do caule que precede o florescimento. A planta no momento da colheita deve apresentar folhas tenras e sem sabor amargo.

O cultivo de alface é um dos mais expressivos em importância econômica na área da olericultura (EMBRAPA, 2007). A alface é uma das hortaliças mais consumidas no mundo. No entanto, no Brasil o consumo médio per capita é de 1,2 kg/ano.

No Rio Grande do Sul, são cultivados mais de 6 mil hectares. A produção é estimada em aproximadamente 97 mil toneladas (Emater/Ascar, 2011). No Brasil,

a estimativa é que a produção seja de mais de 525 mil toneladas, mas não há uma estimativa da área de cultivo (Peixoto Filho *et al.*, 2013).

Devido à diversidade de formatos, tamanhos, cores e texturas da cabeça e das folhas, a preferência por determinado grupo de alface é variável por país ou continente. Similarmente, os grupos de alface têm sido classificados em função das particularidades de cada mercado, não existindo uma classificação unificada para alface.

Segundo HORTIBRASIL (2009), a classificação de alface é feita de acordo com Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiro (PROHORT). As alfaces são classificadas por grupo, relacionado às características varietais de formato das folhas e de cabeça e por subgrupo, relacionado à coloração. As alfaces são classificadas pelo PROHORT por grupo:

a) Crespas, com folhas crespas de bordas recortadas e irregulares e que não formam cabeça;

b) Lisa, com folhas lisas e delicadas de bordas arredondadas, podendo ou não formar cabeça;

c) Americana, com folhas lisas ou crespas, consistentes, quebradiças, verdes esbranquiçadas e curvas, formando cabeça de alta compacidade;

d) Romana, com folhas tipicamente alongadas, duras, com nervuras claras e protuberantes, formam uma cabeça fofa e alongada; e

e) Mimosa, com folhas lisas muito recortadas.

Por subgrupo, as alfaces são classificadas como: Verde, quando a coloração das folhas for, predominantemente verde. Roxa, quando a coloração

das folhas for arroxeadas (somente as bordas ou o todo da folha).

Já nos EUA, os grupos de alfaces estão constituídos pelos tipos: Crisphead ou Iceberg (*Lactuca sativa* L, var *capitata*); Butterhead, Bib ou Boston (*L. sativa*, var *capitata*); Cos ou Romana (*L. sativa*, var *longifolia*); “Leaf”, de folha crespa (*L. sativa*, var *crispa*) e lisa (Saltveit *et al.*, 2005).

2.2 Perdas pós colheita

As espécies olerícolas em seu estado fresco representam um grande risco em potencial para perdas após sua colheita. Segundo a FAO (1981) perda é “alguma mudança na viabilidade, comestibilidade, sanidade ou qualidade do alimento que o impeça de ser consumido pelo povo”. As perdas de volumes de produção são, simplesmente, o resultado do que é colhido e que não atinge o consumidor final. Em algumas espécies e condições as perdas, ou seja, o que não foi consumido pode chegar a ser igual à quantidade colhida.

Aproximadamente um terço dos alimentos produzidos para o consumo humano é perdido ou desperdiçado em todo o mundo, o que equivale a cerca de 1,3 bilhões de toneladas por ano. Isso, inevitavelmente, significa também que grandes quantidades dos recursos utilizados na produção de alimentos foram aplicados em vão (FAO, 2010).

Sabe-se que as perdas começam na colheita e ocorrem em todos os momentos da comercialização até o consumo, ou seja, durante a embalagem, o transporte, o armazenamento, e em nível de atacado, varejo e junto ao consumidor final.

Em estudo realizado no mercado varejista do município de Areia no Estado

da Paraíba as desordens fisiológicas (perda de massa e/ou despigmentação) culminaram nas perdas mais expressivas para a cultura da alface chegando a 10,30% de um total de 14,5% (Almeida *et al.*, 2012). As perdas por problemas fisiológicos podem ocorrer durante as etapas de produção, escoamento e comercialização.

2.3 Processamento mínimo de alface

Na maioria das vezes a alface minimamente processada é fatiada ou dilacerada em pedaços a partir de folhas de alfaces de cabeça compacta do grupo americano. No Brasil, cerca de 90% da demanda de alface “in natura” corresponde aos grupos lisa, crespa ou mimosa. Apenas 10% de alfaces consumidas em fresco são do grupo americano (Sala & Costa, 2005).

As propriedades que tornam os produtos frescos apreciados como alimento dizem respeito à aparência, sabor, odor, textura e valor nutritivo (Maistro, 2001). A redução de tamanho por corte ou qualquer outro procedimento que resulta em exposição de tecidos internos pode resultar em alterações visuais, principalmente escurecimentos.

O escurecimento enzimático em folhas de alface é iniciado pela oxidação de compostos fenólicos, através da enzima polifenoloxidase (PPO), onde quinonas, produtos iniciais, rapidamente condensam-se produzindo polímeros insolúveis de coloração marrom afetando, assim, a qualidade visual e que, conseqüentemente, se reflete na qualidade final do produto (Heimdal *et al.*, 1995).

O segmento de hortaliças minimamente processadas (MP) tem sido estimulado por um mercado crescente, com produtos prontos para consumo,

frescos e de qualidade assegurada. O aumento na produção e consumo de produtos MP vem sendo impulsionado pelas novas tendências do consumo alimentar. Todavia, deve-se ressaltar que esta tendência está presente em praticamente todo o mundo.

Dentre as mudanças de padrão de consumo que levaram ao aumento da participação dos MP na dieta alimentar dos brasileiros pode-se citar o crescimento da participação feminina no mercado de trabalho e o aumento no número de pessoas morando sozinhas. Esta alteração de condição social resulta, entre outros aspectos, na diminuição do tempo disponível para o preparo de refeições (Silva *et al.*, 2009).

2.4 Desordens fisiológicas

Frutas e hortaliças intactas se deterioram alguns dias após a colheita. As mesmas quando minimamente processadas devido a danos físicos como corte, fatiamento, descascamento e centrifugação, possuem uma vida útil ainda menor e exigem maior controle microbiológico. De acordo com Aquino *et al.* (2010) a taxa respiratória dos alimentos minimamente processados é de 3 a 7 vezes maior que o tecido intacto e a produção de etileno incrementada em até 20 vezes.

Nesse sentido, o controle de fatores extrínsecos, como a temperatura e a composição atmosférica no interior das embalagens são fundamentais para retardar desordens fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas que afetam as características sensoriais dos chamados “*fresh cut*”, vegetais minimamente processados (Aquino *et al.*, 2010).

Segundo Santos *et al.* (2010), o prazo médio de validade da alface

minimamente processada é de cinco dias, tanto da folha inteira quanto da folha picada. Isto ocorre devido aos danos físicos, como corte, fatiamento, descascamento e centrifugação. O processamento para um produto pronto para consumo exige também um maior controle microbiológico.

Conforme Barberan (1997), o ferimento no tecido do caule da alface americana induz a atividade da enzima PAL (fenilalanina amônia liase), que atua na síntese e no acúmulo de compostos fenólicos solúveis (derivados do ácido cafeico). A oxidação destes compostos para orto-quinonas pela enzima PPO e a polimerização destas quinonas produz pigmentos de coloração marrom que são insolúveis.

Este processo de escurecimento é inibido pela lavagem do tecido ferido com soluções aquosas de cloreto de cálcio, ácido acético ou ácido diclorofenoxiacético (2,4-D).

2.5 Biopolímeros

Filmes preparados a partir de polímeros naturais não tóxicos têm se firmado como uma nova categoria de materiais de grande potencial para aplicação como revestimentos protetores comestíveis sobre frutos e outros produtos hortícolas. Estes filmes têm o efeito de reduzir perda de massa fresca por criarem uma barreira, selecionando a entrada e saída de compostos voláteis além de vapor de água. Assim também outras coberturas que além de reconhecido efeito na conservação propiciam o prolongamento da vida de produtos minimamente processados após a colheita (Assis *et al.*, 2009).

Os filmes e revestimentos comestíveis são definidos por dois princípios. O

primeiro está relacionado ao termo comestível. A possibilidade de utilização de filmes comestíveis implica em emprego de compostos na elaboração dos revestimentos ou das embalagens que devem ser compostos geralmente reconhecidos como seguros. A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA utiliza o termo GRAS (Generally Recognized as Safe) para designar produtos utilizáveis em alimentos destinados ao consumo humano.

O termo GRAS tem sido utilizado em vários países, mesmo os de língua não inglesa, para indicar que o composto tem padrão para consumo humano. Portanto, não oferece risco quando da ingestão junto com alimentos. Os produtos GRAS devem ser processados dentro das Boas Práticas de Fabricação (BPF), estabelecidas para alimentos.

O segundo princípio indica que estes filmes devem ser feitos a partir de um biopolímero, já que a cadeia longa é necessária para proporcionar certa insolubilidade e estabilidade à matriz da embalagem em meio aquoso. Os filmes e revestimentos comestíveis são apresentados em formas diferentes. Os filmes são uma película formada separadamente do alimento e depois aplicados sobre este alimento.

Como revestimento ou cobertura estes polímeros são uma suspensão ou emulsão aplicada diretamente sobre a superfície do alimento. Após a secagem ocorre a formação de uma fina película sobre o produto, que age como barreira aos elementos externos, como umidade e elementos da atmosfera (Klahorst, 1999).

Os consumidores, estão exigindo o menor uso de aditivos químicos nos alimentos. Não somente em produtos inteiros (não processados) mas, também

em minimamente processados de frutas e olerícolas. De forma que mais atenção tem sido dada à busca de substâncias naturais capazes de atuar como barreiras físicas aos elementos externos.

Assim há um crescente interesse nos anos recentes pelo desenvolvimento de materiais com capacidade de formação de película que juntamente com propriedades antimicrobianas possam auxiliar e melhorar a segurança destes alimentos e aumentar seu prazo de validade (Chitarra & Chitarra, 1990).

Revestimentos comestíveis, formados a partir de materiais GRAS, oferecem várias vantagens sobre os materiais sintéticos. Entre os quais pode ser citado o fato de serem biodegradáveis, portanto, ambientalmente corretos. Além disso, alguns revestimentos comestíveis têm o potencial de melhorar a aparência de alimentos e retardar ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos (Tharanathan, 2003).

2.5.1 Quitosana

Dos muitos polissacarídeos existentes, a celulose e a quitina são os polissacarídeos estruturais mais abundantes. A quitina é obtida de um grande número de organismos vivos e existe principalmente na cutícula do exosqueleto de artrópodes, endosqueletos de lulas e potas (estiletas) ou nas paredes celulares de fungos e leveduras. As principais fontes comerciais de quitina têm sido os exosqueletos de lagosta, camarão e caranguejo .

A quitina não é tóxica nem alergênica e tem múltiplas aplicações. Este polissacarídeo e os seus derivados são aplicáveis em diferentes áreas (Santhosh & Mathew, 2008).

A quitosana é um derivado da quitina. Por ser um produto natural, de baixo custo, renovável, abundante e atóxico, a quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para usos diversos (Azevedo *et al.*, 2007) .

O mercado de minimamente processados tem crescido consideravelmente nas últimas décadas, como resultado de mudanças nos hábitos de consumo, especialmente o consumo de alface minimamente processada, devido ao seu uso em saladas preparadas ou em combinações com outras espécies olerícolas.

Soluções de cloro vêm sendo utilizados para higienizar frutas e hortaliças. No entanto, a associação do cloro com a matéria orgânica causa formação de compostos voláteis potencialmente carcinogênicos conhecidos como trihalometanos (THM). Há uma real necessidade de encontrar alternativas para a preservação de frutas e legumes frescos processados no intuito de melhorar a eficácia dos tratamentos de lavagem.

Várias alternativas ou métodos modificados de sanitização têm sido propostos. A aplicação de antioxidantes, de irradiação, de ozônio, de ácidos orgânicos ou o uso de embalagem de atmosfera modificada entre tantos outros métodos. No entanto, nenhum destes métodos ganhou ampla aceitação por parte da indústria (WHO, 2005).

Revestimentos de quitosana vem sendo utilizados com sucesso em aplicações agrícolas e alimentos, principalmente devido às suas propriedades antimicrobianas e estruturais que permitem seu uso como um revestimento comestível. Um revestimento de quitosana tem a propriedade de criar uma barreira semipermeável que controla a troca gasosa e reduz a perda de água,

mantendo assim a firmeza do tecido e reduzindo carga microbiana de vegetais armazenados por longos períodos (Silva, 2006).

A quitosana é biodegradável e biocompatível com vários outros produtos, pois apesar de não estar presente nos mamíferos, pode ser degradada *in vivo* por várias enzimas proteolíticas como a lisozima e a pepsina. A biodegradação da quitosana leva à liberação de oligossacarídeos de comprimento variável, podendo levar à incorporação de glucosamina em glicoproteínas.

Entre as propriedades funcionais dos revestimentos biodegradáveis podem ser mencionados o efeito nas trocas de gases (oxigênio e gás carbônico) e de solutos, a retenção de compostos aromáticos e a incorporação de aditivos alimentícios, tais como: nutrientes, aromas, pigmentos ou agentes antioxidantes e antimicrobianos (Palmu *et al.*, 2005).

A atividade antimicrobiana da quitosana pode ser devido a natureza policatiônica da molécula, o que permite a interação e formação de complexos de polieletrólitos com polímeros produzido na superfície da célula de bactérias (Durango *et al.*, 2006).

Esta ação antimicrobiana é influenciada por fatores intrínsecos como a desacetilação e grau de polimerização, a composição química ou nutricional do substrato, ou ambos. Além disso as condições ambientais, e a atividade de água, também influenciam a ação antimicrobiana (Devlieghere *et al.*, 2004).

Diversos modelos de interação têm sido propostos na literatura, e para a quitosana o modelo mais aceito é a interação que ocorre entre as cargas protonadas (positivas) com os sítios negativos das paredes celulares das bactérias (Goy *et al.* 2009).

A interferência mais marcante é dada pelas alterações na permeabilidade da membrana da bactéria causando desequilíbrios osmóticos que inibem o crescimento bacteriano. Além disso, a hidrólise dos compostos peptidoglicanos levando ao vazamento de eletrólitos intracelulares das bactérias é outra possibilidade de interferência (Goy *et al.*, 2009).

Segundo Moreira *et al.* (2011) com base no conceito da tecnologia de barreira de proteção, o uso de revestimento de quitosana pode contribuir para melhorar a segurança em brócolis minimamente processados, prolongando assim a sua vida útil. O revestimento poderia ser aplicado sobre frutas e olerícolas minimamente processadas combinando com outros tipos de controles, tais como a qualidade da matéria-prima, higiene das condições de processamento e temperaturas adequadas de armazenamento. A combinação destes tratamentos oferece um maior período de vida útil de prateleira de produtos frescos minimamente processados.

Os resultados obtidos em estudo realizado por Hojo e colaboradores (2011) com lichias (*Litchi chinensis*) permitiram concluir que o tratamento com quitosana a 0,5%, em ácido tartárico a 10% e pH 0,8, mostrou-se efetivo na manutenção da coloração vermelha dos frutos. Outro efeito observado pelos autores foi a prevenção ao escurecimento, conservando a aparência dos frutos.

Conforme outro estudo realizado, desta vez com mandioquinhas-salsa tratadas com quitosana, Buso *et al.* (2014) observaram que o produto não apresentava modificação em suas características físicas e químicas durante o período de armazenamento.

Portanto, com base nos resultados acima observados pode-se afirmar que a aplicação de quitosana, pode ser uma alternativa promissora na pós-colheita de hortaliças.

2.6 Atmosfera Modificada

Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) é uma técnica que prolonga com sucesso o prazo de validade dos alimentos frescos ou minimamente processados. O processamento mínimo aumenta as taxas de respiração e pode provocar transtornos nos tecidos decorrentes de miscigenações, como de enzimas com substratos devido à perdas de compartimentalização ou devido ao extravasamento do conteúdo celular, ocasionando escurecimento enzimático (Sandhya, 2010).

Há uma relação inversa entre a taxa de respiração e a vida de prateleira. Quanto mais elevada for a taxa de respiração do produto fresco, mais curto é o período de vida útil (Garcia & Barrett, 2002).

A eficácia da EAM depende de vários fatores, entre eles: o tipo de alimento, a qualidade inicial da matéria-prima, a mistura de gases utilizada, a temperatura de armazenamento, as condições de higiene durante o processamento e as propriedades de barreira do material utilizado na embalagem (Sivertsvik *et al.*, 2002).

A diferença das frutas e vegetais para outros produtos perecíveis refrigerados embalados em atmosfera modificada é que estes continuam o seu metabolismo após a colheita. Os produtos da respiração aeróbia são dióxido de

carbono (CO₂) e o vapor de água. Na respiração anaeróbia há liberação de produtos da fermentação, especialmente o etanol e o acetaldeído.

Se o alimento está embalado em um filme impermeável aos gases da atmosfera, os níveis de Oxigênio (O₂) no interior da embalagem podem diminuir à ponto de atingir concentrações muito baixas, iniciando-se a respiração anaeróbia e, portanto, com o acúmulo dos produtos resultantes dessa respiração. O etanol, o acetaldeído e os ácidos orgânicos normalmente estão relacionados com odores e sabores desagradáveis e com a deterioração do produto. Além disso, nessas condições, haverá o risco de crescimento de patógenos anaeróbios como *C. botulinum*. Assim, recomenda-se um mínimo de 2-3kPa de O₂.

Se o filme possui alta permeabilidade, haverá pouca ou nenhuma alteração na atmosfera no interior da embalagem e a perda da umidade poderia provocar perda da qualidade das frutas e vegetais pelo murchamento e perda de frescor (Mantilla *et al.*, 2010).

Os principais gases utilizados nas atmosferas modificadas são O₂, Nitrogênio (N₂) e CO₂. A escolha dos gases a serem utilizados é influenciada pela flora capaz de crescer no produto, a sensibilidade do produto ao O₂ e CO₂ e a estabilidade da coloração. O N₂ pode ser ainda utilizado com o intuito de promover atmosfera com baixas concentrações de oxigênio, prevenindo o escurecimento enzimático indesejável do vegetal (Menezes *et al.*, 2005).

Conforme Menezes *et al.* (2005) a EAM em combinação com a refrigeração constitui uma crescente técnica de preservação de Vegetais Minimamente Processados (VMP), visando manter os produtos em atmosfera com reduzido teor de O₂ e enriquecida com CO₂, minimizando a deterioração do VMP.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos e um ensaio preliminar no laboratório de pós-colheita da Faculdade de Agronomia e no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos para avaliar os efeitos do recobrimento com quitosana em alfaces. Nos experimentos foram utilizadas três concentrações de solução de quitosana com 0,5%, 0,2% e 0,1% (v/v) em solução aquosa e uma solução contendo 200 ppm (v/v) de cloro. Este tratamento foi considerado como testemunha por se tratar de tratamento usual e necessário para sanitização de processados.

3.1 Preparação de soluções de Quitosana

A solução de quitosana da marca Polymar (Fortaleza, Ceará) foi purificada por dissolução em ácido acético glacial, deixando-se em agitação magnética por 24 horas até a total dissolução. Na sequência a solução quitosana:ácido acético foi precipitada com solução 1 M de NaOH. O precipitado foi filtrado em papel filtro comum, lavado com água destilada e etanol e deixado secar por 24 horas em estufa a 40 °C. O pó obtido foi utilizado para preparar as soluções utilizadas nos tratamentos.

O pós de quitosana foi diluído em água destilada nas concentrações de 0,1%, 0,2% e 0,5% (p/v) de quitosana. Estas concentrações apresentaram os

seguintes valores de pH: quitosana 0,5% >2,38; quitosana 0,2% > 2,47 e quitosana 0,1% > 2,61.

3.2 Ensaio preliminar com couve

3.2.1 Material vegetal

A couve grupo *Brassica oleracea* foi obtida na CEASA/RS diretamente de um produtor local, e imediatamente transportada para o laboratório de Pós-colheita, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia/UFRGS.

3.2.2 Processamento

As folhas com defeitos e danos foram eliminadas durante a primeira lavagem, em seguida as folhas perfeitas foram dispostas para serem picadas com faca inoxidável, com corte de tiras medindo 5 mm em média.

3.2.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm

As folhas sem defeitos foram sanitizadas por dez minutos em solução clorada a 200 ppm, em seguida enxaguadas com água potável.

3.2.4 Aplicação de revestimento

As folhas picadas de couve foram aspergidas com borrifador manual contendo soluções de quitosana nas concentrações 1% e 2%.

Após aplicação dos tratamentos as folhas de couve picadas foram pesadas em porções de 25 g (Figura 1) para posteriormente serem colocadas em

recipiente com injeção de atmosfera modificada nas concentrações de 5 kPa de O_2 e 15 kPa de CO_2 (Figura 2). Com o fechamento do recipiente estes foram transferidos para refrigeração a uma temperatura de $3^\circ C$ durante cinco dias.



FIGURA 1. Pesagem das folhas de couve em 25 g para posterior colocação em recipiente com atmosfera modificada. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 2 . Injeção de gas nas concentrações de 5 kPa de O_2 e 15 kPa de CO_2 em recipientes com couve. Porto Alegre – RS, 2014.

3.2.5 Análise Visual

Ao final de cinco dias de armazenamento em refrigeração as unidades experimentais foram examinadas visualmente para avaliar imperfeições, alterações de cor especialmente nas áreas de corte expostas e também para a presença de resíduos de tratamentos aplicados.

3.3 Experimento com alface americana

3.3.1 Material vegetal

A alface do grupo americana foi obtida de um produtor do município de São Sebastião do Caí - RS, e imediatamente transportada para o laboratório de Pós-colheita, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia/UFRGS.

Logo após a colheita as cabeças foram acondicionadas em sacos de polietileno, contendo doze plantas e preservadas em caixas de isopor contendo gelo para o transporte até o laboratório.

3.3.2 Processamento

As folhas externas das cabeças de alface com defeitos, danos e necroses foram eliminadas durante a primeira lavagem. Em seguida, as folhas perfeitas que formavam a cabeça foram cortadas com faca de aço inoxidável em quatro partes, posteriormente separadas (Figuras 3 e 4). Após o corte procedeu-se uma segunda seleção e lavagem para eliminar as folhas com danos mecânicos ou com escurecimentos das extremidades. As folhas sem defeitos foram enxaguadas em água potável refrigerada a 10°C, centrifugadas por cinco minutos na rotação de

690 rotações por minuto (rpm), para retirar o excesso de água, e dispostas para a aplicação do revestimento.



FIGURA 3. Alface Americana sendo cortada em quatro partes com faca de aço inoxidável. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 4. Alface Americana após o corte em quatro partes, para posterior separação das folhas. Porto Alegre – RS, 2014.

3.3.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm

As folhas sem defeitos foram sanitizadas por dez minutos em solução clorada a 200 ppm, utilizando em média dez litros de solução clorada para cada quilo de material vegetal. Logo em seguida as folhas foram enxaguadas em água potável refrigerada a 10°C, centrifugadas em rotação de 690 rpm durante cinco minutos, pesadas (50 g/saco) e acondicionadas inteiras em sacos de filmes poliméricos.

3.3.4 Aplicação de revestimento

As folhas inteiras de alface (Figura 5) foram aspergidas com um borrifador manual, contendo soluções de quitosana a 0,1%, 0,2% ou 0,5% (p/v). As folhas foram borrifadas até o ponto de escorrimento utilizando-se, em média 200 mL de solução de quitosana para cada 500 g de alface. Após a aplicação dos tratamentos as folhas foram centrifugadas por um minuto na rotação de 690 rpm para remoção do excesso e formação de película (Figura 6).

Após a aplicação dos tratamentos, as folhas de alface foram colocadas em sacos de filme polimérico de 25 micrometros de espessura. A permeabilidade do filme ao O₂ é de 7000 cm³.m⁻².d⁻¹ e a permeabilidade ao CO₂ é de 20000 cm³.m⁻².d⁻¹. A permeabilidade de vapor de água é de 1 g.m⁻².d⁻¹. Foram colocadas em média 3 folhas de alface por unidade experimental (embalagem plástica contendo 50 g de folhas). As embalagens foram selados em seladora (marca FASTVAC) com injeção de atmosfera modificada em concentração de 5 kPa de O₂ e 15 kPa de CO₂ (Figura 7). Após o fechamento da embalagem estas foram armazenadas

em câmara de armazenamento refrigerado sob temperatura de 3° C durante nove dias.



FIGURA 5. Folhas inteiras de alface sendo aspergidas com solução de quitosana por borrifador manual. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 6. Folhas de alface americana sendo centrifugadas por um minuto para remoção do excesso de solução de quitosana aplicada. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 7. Processo de embalagem de alface em seladora. Porto Alegre – RS, 2014.

As unidades experimentais de alfaces minimamente processadas foram avaliadas no dia zero (dia do processamento) e depois de cinco, sete e nove dias de armazenagem refrigerada.

3.3.5 Análise visual

A cada período de avaliação: na instalação de experimento e aos cinco, sete e nove dias após a instalação do experimento, as unidades experimentais foram examinadas visualmente para imperfeições, alterações de cor, especialmente nas áreas de corte expostas, e para presença de resíduos dos tratamentos aplicados.

3.4 Experimento com alface crespa

3.4.1 Material vegetal

A alface do grupo crespa foi obtida de um produtor no município de Viamão RS, e imediatamente transportada para o laboratório de Pós-colheita, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia/UFRGS. As plantas de alface foram acondicionadas em sacos de polietileno contendo doze plantas e preservadas em caixas de isopor com gelo para o transporte até o laboratório no prazo de 1 h após a colheita.

3.4.2 Processamento

As folhas externas com defeitos, danos e necroses foram eliminadas durante a primeira lavagem. Em seguida, as folhas perfeitas foram destacadas manualmente com faca de aço inoxidável. Após foi feita uma segunda seleção e lavagem para eliminar as folhas com danos mecânicos ou com escurecimentos das extremidades.

3.4.3 Preparação da testemunha com cloro a 200 ppm

As folhas sem defeitos foram sanitizadas por dez minutos em solução clorada a 200 ppm, utilizando em média dez litros de solução clorada para cada quilo de material vegetal, em seguida enxaguadas em água potável refrigerada a 10° C, centrifugadas em rotação de 690 rpm durante cinco minutos, pesadas (50 g/saco) e acondicionadas inteiras em sacos de filmes poliméricos.

As folhas inteiras de alface (Figura 8) foram aspergidas com um borrifador manual, contendo soluções de quitosana a 0,1, 0,2 ou 0,5 % (p/v) e centrifugadas

por um minuto na rotação de 690 rpm para formação de película. As folhas inteiras de alface (Figura 8) foram aspergidas com um borrifador manual, contendo soluções de quitosana a 0,1, 0,2 ou 0,5 % (p/v) e centrifugadas por um minuto na rotação de 690 rpm para formação de película.



FIGURA 8. Folhas de alface dispostas em bandejas plásticas e prontas para a aplicação de revestimentos de quitosana. Porto Alegre – RS, 2014.

As unidades experimentais de alface crespa minimamente processada foram avaliadas no dia zero, dia do processamento e depois nos dias cinco, sete e nove de armazenagem sob refrigeração.

3.5 Análises realizadas para alface Americana e Crespa

3.5.1 Perda de peso

As unidades experimentais de alface americana e crespa foram pesadas no início da instalação do experimento, logo após a aplicação do revestimento e em cada dia de amostragem após cinco, sete e nove dias de armazenamento.

Os resultados foram expressos em gramas de perda em relação ao peso inicial de cada unidade experimental.

3.5.2 Cor superficial

As amostras de cada unidade experimental foram submetidas à análise de cor por reflectância determinada com uso de aparelho medidor de cores (marca Konica/Minolta), modelo Chromameter CR - 400, no espaço de cor $L^* a^* b^*$. A calibração foi realizada com placa branca padrão, seguindo as instruções do fabricante.

Os parâmetros de cor medidos com relação à placa-padrão foram:

L^* (Luminosidade) - varia da cor preta (0) à branca (100);

a^* - varia da cor verde (-60) à vermelha (+60);

b^* - varia da cor azul (-60) à amarela (+60).

Estes parâmetros foram usados em cálculos para a determinação dos índices de cor. O ângulo hue (Figura 9), que é um indicativo de tonalidade foi calculado pela fórmula arco tangente (b^*/a^*).

Os valores numéricos de L^* , a^* e b^* foram utilizados para calcular a diferença de cor (ΔE) entre amostras ao longo do tempo de armazenagem de acordo com a fórmula:

$$(\Delta E) = \sqrt{(a^*_f - a^*_i)^2 + (b^*_f - b^*_i)^2 + (L^*_f - L^*_i)^2}$$

onde o subscrito 'f' indica o valor final da variável e o subscrito 'i' indica o valor inicial desta mesma variável.

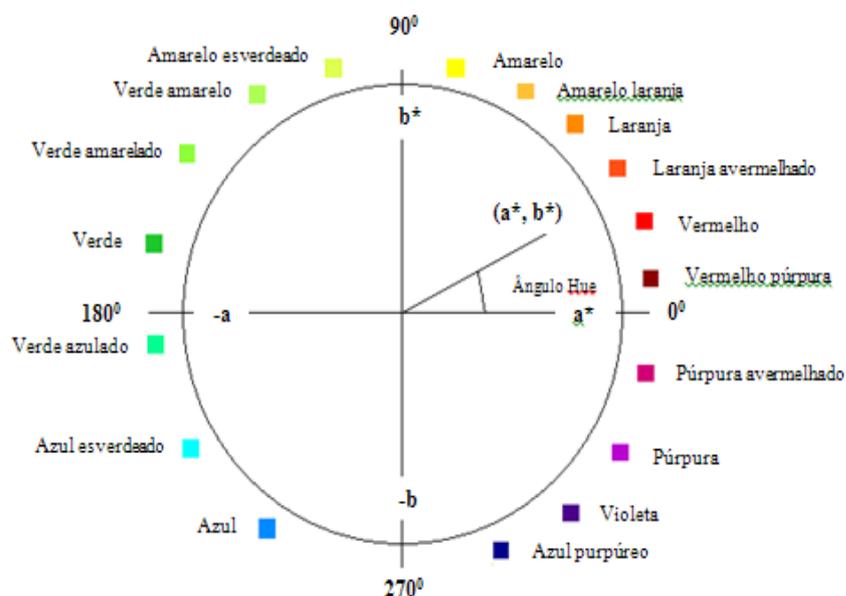


FIGURA 9. Diagrama CIELAB com a sequência de nuances de cores e orientação do ângulo de nuances (ângulo Hue). (Adaptado de CHITARRA & CHITARRA, 2005).

As diferenças totais de cor foram classificadas variando de pequenas diferenças até diferenças muito óbvias de cor conforme citado por Goyeneche *et al.* (2014). Chen & Majumdar (2008) indicam que ΔE entre 0.0 e 0.5 são diferenças quase não perceptíveis de cor. Diferenças entre 0.6 até 1.5 são indelévels de cor; diferenças variando de 1.6 até 3.0 são diferenças visíveis de cor. Índices variando entre 3.1 até 6.0 representam diferenças apreciáveis de cor e índices variando entre 6.1 e 12.0 significam diferenças muito grandes de cor. Índices superiores a 12.1 representam diferenças muito óbvias de cor entre unidades experimentais.

3.5.3 Textura

Os parâmetros para avaliação de textura são a força máxima de cisalhamento e a resistência à penetração do talo. Para tal avaliação foi utilizado

o texturômetro (Stable Micro System, modelo TA – XT2i, Reino Unido) equipado com ponteira Kramer de 5 lâminas, com velocidades de pré-teste, teste e pós-teste de 5, 1,5 e 5 mm/s, respectivamente, com distância de penetração de 50 mm conforme descrito em Sigrist (2002).

Os resultados são expressos em G (força da gravidade), que representam a média de três determinações. Para avaliar a força máxima de cisalhamento as folhas de alface foram cortadas com um canivete de aço em tiras com 2 cm de largura por 7 cm de comprimento (Figuras 10 e 11) e dispostas no texturômetro.

Para avaliar a resistência à penetração ao talo da folha, as folhas foram deixadas inteiras e dispostas para medição no texturômetro conforme pode ser visualizado na figura 12.



FIGURA10. Preparo de folha de alface para medição de força de cisalhamento em texturômetro modelo TA – XT2i. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 11. Texturômetro modelo TA – XT2i apresentando fragmento de folha de alface para medição da força de cisalhamento na folha de alface. Porto Alegre – RS, 2014.



FIGURA 12. Avaliação da resistência à penetração do talo da folha inteira de alface em texturômetro modelo TA – XT2i. Porto Alegre – RS, 2014.

3.5.4 Acidez Total

As análises para determinação da acidez total tiveram como base as recomendações de Carvalho *et al.* (2002). A titulação foi feita com solução de

hidróxido de sódio (NaOH) 0.1 M padronizada com biftalato de potássio. A acidez das unidades experimentais foi determinada em 10 gramas de amostra de alface homogeneizada, diluídas em 75 mL com água destilada, recentemente fervida e resfriada. Agitou-se. Após homogeneização se adicionou 3 gotas de indicador fenolftaleína. Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 M até a coloração rósea com determinação visual do ponto de virada da solução titulada. A concentração da acidez foi obtida pela fórmula que segue; cada 1 mL de solução de NaOH 0,1M equivale a 0,007 gramas de ácido cítrico anidro.

$$\% \text{ de ácido cítrico anidro} = (V \times FC \times M) / P \times 100$$

Onde:

V = volume de solução neutralizadora de NaOH gastos na titulação

FC = fator de miliequivalente para ácido cítrico 0.064

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio padronizada

P = peso da amostra

Os resultados foram expressos em valores percentuais de ácido cítrico em folhas de alface das unidades experimentais.

3.5.5 Análise visual

A cada período de avaliação as unidades experimentais foram examinadas visualmente para imperfeições, alterações de cor, especialmente nas áreas de corte expostas, e presença de resíduos dos tratamentos aplicados.

3.5.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento com alface crespa foi conduzido em delineamentos experimentais completamente casualizados. Os experimentos com alface crespa foram repetidos três vezes com intervalo de uma semana entre cada um.

Cada experimento com esta cultivar foi considerado como um bloco. Sendo então os resultados analisados em blocos casualizados com três repetições para cada tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados obtidos com couve

Os resultados de análise visual em couve minimamente processada indicam que os tratamentos com quitosana provocaram danos nas bordas cortadas, apresentando escurecimento e perda de qualidade em comparação ao tratamento com cloro (Figura 13). Além, de proporcionar aspecto pegajoso.



Quitosana 1%



Quitosana 2%



Cloro 200 ppm

FIGURA 13. Avaliação visual da couve no quinto dia após aplicação de solução de quitosana nas concentrações 1% e 2% e aplicação de cloro 200 ppm. Porto Alegre – RS, 2014.

4.2 Resultados obtidos com alface americana

No experimento com alface americana as perdas de massa fresca não foram significativas ao longo do período de avaliação de nove dias de armazenagem em temperatura de 3° C (Tabela 1). As pesagens das unidades experimentais indicam que as perdas, em termos percentuais, foram aumentando até um máximo de 1,28% do peso inicial. Aos nove dias de armazenagem as perdas variaram de 0,96% a 1,28% (Tabela 2).

TABELA 1. Peso de massa fresca, em gramas, das unidades experimentais de alface americana embalada em sacos de polietileno e mantidas por até nove dias em armazenagem refrigerada a 3°C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	50,00	49,65	48,98	48,78
Quitosana 0,2%	50,00	49,31	48,67	48,72
Quitosana 0,5%	50,00	49,46	49,07	48,96
Cloro 200 ppm	50,00	49,75	48,97	49,04

TABELA 2. Perdas de massa fresca, em percentual, de alface americana minimamente processada mantida por até nove dias em armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação		
	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	-0,35 ns ¹	-1,01 ns	-1,19 ns
Quitosana 0,2%	-0,68	-1,06	-1,28
Quitosana 0,5%	-0,53	-0,93	-1,14
Cloro 200 ppm	-0,40	-1,03	-0,96

¹ ns=não significativo.

Ihl *et al.* (2003) também não encontraram diferenças de perdas de peso em alfaces minimamente processadas e tratadas com diferentes soluções em imersão ao longo de nove dias de armazenagem a 5° C em sacos de polietileno. Os autores atribuem as perdas de massa fresca aos processos de corte favorecendo evaporação e ao catabolismo natural, que nada mais é que a degradação de moléculas em unidades menores para obtenção de energia. Por fim, o metabolismo leva à exaustão de reservas e culminando com a senescência o que está de acordo também com afirmações de Watada & Qi (1999).

A tonalidade das alfaces, indicada pelo ângulo hue determinado por cálculo a partir de valores a* e b* obtidos pelo aparelho medidor de cores não diferiu entre os tratamentos aplicados (Tabela 3).

TABELA 3. Tonalidade (ângulo *hue*) de folhas de alface americana minimamente processada e tratadas com soluções de diferentes concentrações de quitosana ou cloro e mantidas por até nove dias em armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação		
	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	5,16 ns ¹	5,22 ns	6,88 ns
Quitosana 0,2%	4,61	5,93	5,76
Quitosana 0,5%	4,12	4,70	5,45
Cloro 200 ppm	5,31	5,58	6,97

¹ ns=não significativo.

Assim como a tonalidade os valores de índice de brilho (L*) ou seja, a reflexão do feixe de luz em relação ao padrão branco nas alfaces minimamente processadas não diferiu entre os tratamentos. Os valores de L* determinados pelo aparelho medidor de cores variaram de 57,97 a 58,04 no nono dia de armazenagem.

Autores como Ihl *et al.* (2003) também não encontraram diferenças entre valores de L^* ao longo de nove dias de armazenagem em alfaces processadas. Ademais, estes autores indicam que não foi possível estabelecer uma correlação entre tempo de armazenagem e atividade da enzima PPO, sendo que uma maior atividade desta enzima pode ser um indicativo de mais escurecimento, portanto, uma maior perda de brilho. No entanto, Ihl *et al.* (2003) concluíram que havia uma boa correlação com os valores a^* obtidos pelo aparelho medidor de cores e a atividade da enzima PPO. Os autores indicam que já no sexto dia após o processamento os valores de a^* foram menores. Valores menores de a^* indicam uma cor mais verde. Este fato, não foi encontrado nos ensaios com alfaces do presente trabalho.

Todavia, durante as avaliações de tratamento com quitosana e cloro foi observada a intensidade de escurecimento nas extremidades das folhas de alface americana onde houve o corte. O escurecimento das bordas em que foram feitos os cortes para reduzir o tamanho das folhas pode ser consequência de processos oxidativos por atividade da enzima PPO.

Este escurecimento por ação enzimática é uma das causas que resultam em maior rejeição do consumidor aos produtos minimamente processados. Uma das razões é por ser facilmente visualizada. Mattos *et al.* (2007) também informam que associado ao escurecimento pode ocorrer à formação de compostos aromáticos indesejáveis.

As análises das alfaces processadas nos trabalhos preliminares apresentaram escurecimento ao final dos nove dias de avaliação. Este período poderia ser, então considerado, o tempo máximo de vida de prateleira de alface

americana em condições de armazenagem a 3° C e embalada em sacos de polietileno com modificação de atmosfera inicial para 5 kPa de O₂ e 15 kPa de CO₂.

As diferenças visuais nos tratamentos foram perceptíveis apenas no dia nove, último dia de avaliação. No tratamento com quitosana 0,1% e cloro 200 ppm, o escurecimento de borda é menos evidente. Já nos tratamentos com 0,2% e 0,5% de quitosana e, especialmente neste último, o escurecimento de bordas das folhas é mais evidente (Figura 14).



Quitosana 0,1%



Cloro 200 ppm



Quitosana 0,2%



Quitosana 0,5%

FIGURA 14. Folhas de alface americana minimamente processada com tratamentos de solução de quitosana nas concentrações 0,1%, 0,2%, 0,5% e cloro 200 ppm, avaliadas aos nove dias de armazenagem em atmosfera de 5 kPa de O₂ e 15 kPa de CO₂ em saco de polietileno. Porto Alegre – RS, 2014.

A vida de prateleira de alfaces minimamente processadas de acordo com Ares *et al.* (2008) pode ser determinada como o tempo transcorrido entre o processamento e quando um determinado atributo atingir uma determinada intensidade. Tradicionalmente, a qualidade sensorial de alfaces minimamente processadas tem sido estimada como sendo quando 50% do produto atinge um determinado limite de aceitação pelo consumidor. Este limite tem sido estabelecido arbitrariamente. No entanto, há esforços no sentido de determiná-los por meio de avaliações sensoriais qualificadas (Jacxsens *et al.*, 1999).

4.3. Resultados obtidos com alface crespa

As perdas de massa fresca das unidades experimentais chegaram a 3,4% do peso inicial (Tabela 4). O peso das unidades experimentais com as concentrações de quitosana em comparação ao tratamento convencional de desinfecção de alfaces minimamente processadas com cloro não diferiu no decorrer das quatro avaliações de perda de massa fresca.

TABELA 4. Peso de massa fresca, em gramas, de unidades experimentais na instalação do experimento e após cinco, sete ou nove dias de armazenagem refrigerada a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana0,1%	50,00	49,36 ns ¹	48,99 ns	48,38 ns
Quitosana0,2%	50,00	49,27	49,02	49,08
Quitosana0,5%	50,00	49,18	48,99	49,05
Cloro 200 ppm	50,00	49,28	49,34	48,30

¹ ns=não significativo.

Ao examinar os percentuais de perda de massa entre as unidades

experimentais (Tabela 5) observa-se que aos nove dias de armazenagem refrigerada os tratamentos com quitosana 0,1% e 200 ppm de cloro apresentaram os maiores percentuais, em valores absolutos, de perda de massa fresca. Nas demais datas de avaliação os percentuais de perda de massa fresca se assemelharam. Estas perdas mais acentuadas nestes tratamentos podem ser devido a uma cobertura menos eficiente do filme de quitosana a 0,1%. No que concerne ao uso da solução sanitizante com cloro, este produto não apresenta efeito de barreira de vapor permitindo, por conseguinte, uma maior desidratação nas alfaces a que foi aplicado.

TABELA 5. Percentuais de perdas de massa fresca de alfaces minimamente processadas ao longo de nove dias de armazenagem refrigerada a 3°C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação		
	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana0,1%	1,28	2,02	3,24
Quitosana0,2%	1,46	1,96	1,84
Quitosana0,5%	1,64	2,02	1,90
Cloro 200 ppm	1,44	1,32	3,40

4.3.1 Cor

Em alfaces minimamente processadas não ocorreu uma alteração significativa da cor ao longo da armazenagem em resposta aos tratamentos. Especialmente no que se refere ao valor de L* que é um indicativo de brilho do produto, este efeito não foi observado (Tabela 6). Este mesmo resultado também foi observado nos experimentos com alface americana.

Alterações de cor significativas podem se refletir na aceitação final pelo

consumidor. Folhas sem brilho característico e com cores mais opacas podem influenciar negativamente e até prejudicar na intenção de aquisição do produto pelo consumidor. A cor de cobertura tem se configurado como um dos atributos de qualidade mais importantes para este consumidor final mesmo porque na qualidade visual está embutida uma percepção de sabor do produto (Pomerans & Meloan, 1994).

TABELA 6. Cor da superfície de folhas de alface crespa ao longo de nove dias de armazenagem e com diferentes recobrimentos de quitosana e cloro. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana0,1%	-62,15 ns ¹	-62,93 ns	-64,25 ns	-63,98 ns
Quitosana0,2%	-63,56	-63,43	-66,79	-64,40
Quitosana0,5%	-63,52	-62,97	-63,99	-64,04
Cloro 200 ppm	-63,07	-63,83	-62,94	-63,48

¹ ns=não significativo.

A cor superficial foi avaliada com aparelho medidor de cores, e expressa em ângulo *hue*, não apresentou diferenças que pudessem ser atribuídas aos tratamentos nesta variável que se refere à tonalidade das folhas de alface crespa minimamente processada.

O brilho e a tonalidade esverdeada de alfaces minimamente processadas são atributos de qualidade muito importantes. Neste sentido, o escurecimento das bordas e da lâmina foliar em alfaces é, então, uma das principais causas de descarte de minimamente processados de alface. O escurecimento pode ser atribuído ao metabolismo de compostos fenólicos (Hyodo *et al.*, 1971) e a

oxidação deste grande número de compostos, conforme Galvez *et al.* (1996), pode ser, em parte, controlado com atmosferas de 3 kPa de O₂ e de 10 kPa CO₂. No entanto, nos presentes experimentos este efeito de altas concentrações (15 kPa) de CO₂ não foi observado.

Este efeito diferente encontra explicação em Galvez *et al.* (1996). Os autores concluíram que a atividade da PAL variava entre alfaces tipo manteiga e tipo romana. O escurecimento observado com alface americana e crespa no presente experimento não deve ser atribuída às elevadas concentrações de CO₂ ao contrário da afirmação de Ke e Saltveit (1989) que comentaram que o alto CO₂ pode resultar em injúrias aos tecidos que se manifestam em amolecimento dos tecidos e descoloração generalizada das folhas.

Não houve diferença significativa quanto aos parâmetros de cor entre os tratamentos aplicados, no entanto, ao avaliar as diferenças totais de cor que foram determinadas conforme citado por Goyeneche *et al.* (2014) se observa um claro efeito de tratamentos ao final de avaliações (Tabela 7).

TABELA 7. Diferença total de cor em alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3 °C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação		
	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana0,1%	5,14 ns	7,80 ns	8,52 a ¹
Quitosana0,2%	1,86	4,08	2,66 b
Quitosana0,5%	2,17	3,65	3,64 b
Cloro 200 ppm	3,59	3,97	5,62 ab
F (Tratamento)	2,87	1,31	8,66
P	0,1255	0,3528	0,01338

¹Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ns=não significativo.

Nos primeiros dias de armazenagem das alfaces minimamente processadas não há diferenças entre os tratamentos. A primeira indicação deste efeito observado aos nove dias de armazenagem pode sugerir que a vida de prateleira de alfaces minimamente processadas está ao redor destes nove dias. Esta conclusão está de acordo com a determinação de Berbari *et al.* (2001). Os autores concluíram em trabalho com alface americana com tratamentos de cloro que a vida de prateleira era de nove dias.

De acordo com a classificação proposta por Chen & Majumdar (2008), as diferenças de cor observadas na alface crespa ao longo dos nove dias de armazenagem refrigerada variaram de diferenças visíveis de cor até diferenças muito grandes. Esta classificação só foi observada no tratamento com solução de quitosana 0,1% e este tratamento não diferiu do tratamento com cloro 200 ppm na última data de avaliação.

No tratamento com solução de quitosana 0,1% aos cinco e sete dias de armazenamento refrigerado não foi determinada diferença estatística, evidenciando uma tendência a maiores diferenças de cor em relação aos demais tratamentos. Os tratamentos com concentrações de quitosana de 0,2 e 0,5% e o tratamento com cloro, ao longo do período de avaliação apresentaram diferenças de cor.

4.3.2 Textura

4.3.2.1 Força de cisalhamento e resistência à penetração

Na Tabela 8 são apresentados os resultados da medição do texturômetro para força de cisalhamento, expressa em força G, das folhas de alface. Não foi

possível determinar um efeito dos tratamentos sobre a manutenção de firmeza, ou resistência a cisalhamento das folhas de alface. Autores como Marin *et al.* (2010), também concluíram que tratamentos com embalagens ativas para alface americana não resultaram em efeito sobre a firmeza das folhas. Os autores atribuíram a falta de resultados mais conclusivos à grande variação entre amostras para as forças de cisalhamento em 5 gramas de amostras.

TABELA 8. Determinação de força (G) de cisalhamento em texturômetro modelo TA – XT2i de folhas de alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Data de Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	439,09 ns	446,38 ns	547,57 ab ¹	526,73 ns
Quitosana 0,2%	525,68	616,67	553,76 ab	569,85
Quitosana 0,5%	517,07	477,89	429,04 b	582,20
Cloro 200 ppm	517,57	561,56	579,17 a	636,12
F(tratamentos)	1,6699	3,6744	4,9713	0,5888
P	0,2712	0,0821	0,0457	0,6444

¹Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ns=não significativo.

No sétimo dia de armazenagem foi determinada uma significativa diferença entre os tratamentos para a força de cisalhamento de folhas de alface, esta diferença foi devido a grande variabilidade entre folhas, fato este natural da espécie, justificando assim o erro experimental. Já os demais tratamentos não diferiram entre si nesta mesma data e tampouco nos demais dias de avaliação foi observada uma diferença entre tratamentos. Ke & Saltveit (1989) afirmam que um dos resultados de danos aos tecidos é um amolecimento geral destes tecidos, no

entanto, as variáveis determinadas nas alfaces crespas como cor (ângulo *hue*) e perda de massa não indicam que houve danos às unidades experimentais no presente experimento.

Não houve diferenças entre força de cisalhamento decorrentes dos tratamentos de quitosana ou cloro. Por outro lado, na avaliação da resistência à penetração feita pelo texturômetro há diferenças entre tratamentos (Tabela 9).

TABELA 9. Força de resistência (G) à penetração em texturômetro modelo TA – XT2i no talo da folha de alface crespa minimamente processada e armazenada sob refrigeração por até nove dias a uma temperatura de 3° C. Porto Alegre, RS, 2014.

Tratamento	Data de Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	47,56 b	51,94 b	54,41 ns	58,70 ns
Quitosana 0,2%	61,62 ab	54,76 b	64,89	42,42
Quitosana 0,5%	73,11 a	70,89 a	75,10	53,21
Cloro 200 ppm	62,40 a	63,29 ab	62,81	68,07
F(tratamentos)	13,0660	7,6855	1,1921	4,0044
P	0,0049	0,0177	0,3893	0,06996

¹Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ns=não significativo.

Assim como na força de cisalhamento, na resistência à penetração da ponteira do texturômetro medida no talo de folhas de alface crespa não há uma explicação muito clara. Parece evidente que este tratamento, mesmo com toda a aleatorização, apresentou valores maiores que se mantiveram até o sétimo dia. No sétimo, no entanto, as diferenças não eram mais significativas. Já aos nove dias, todos os tratamentos apresentaram valores de resistência mais próximos. Esta observação reforça o fato de que alface crespa tem uma vida de prateleira

em temperaturas de refrigeração de no máximo nove dias.

4.3.3 Acidez Total

Na Tabela 10 são apresentados os valores de ácidos orgânicos determinados em folhas de alface, submetidas ao tratamento de quitosana em três concentrações 0,1%, 0,2% ou 0,5% e cloro na concentração de 200 ppm.

TABELA 10. Acidez titulável, expressa em mg de ácido cítrico/100g de material vegetal, de alfaces minimamente processadas ao longo de nove dias de armazenagem a 3° C. Porto Alegre, RS. 2014.

Tratamento	Avaliação			
	Dia 0	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Quitosana 0,1%	2,07 ns	1,90 ns	2,07 ab	1,53 b
Quitosana 0,2%	2,47	1,83	1,8 b	1,47 b
Quitosana 0,5%	2,27	1,83	2,07 ab	1,57 b
Cloro 200 ppm	3,03	3,00	3,07 a	3,03 a
F(tratamentos)	1,79	5,3702	6,244	44,489
P	0,249	0,0340	0,0282	0,0002

¹Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ns=não significativo.

Os tratamentos de quitosana nas três concentrações analisadas não diferiram entre si quanto aos teores de ácidos ao longo de todo o período de avaliação de nove dias. Até os até os cinco dias de armazenagem, também não foi observada uma diferença em teores de ácidos entre alfaces tratadas com quitosana e com cloro 200 ppm. No sétimo dia foi observada diferença significativa entre as concentrações de quitosana e o cloro 200 ppm.

Aos nove dias todos os três tratamentos de quitosana não diferiram entre si, mas em comparação ao cloro diferiram significativamente. Mattos *et al.* (2007)

observaram que alfaces crespas minimamente processadas apresentaram uma tendência geral de diminuição da acidez titulável ao longo de 14 dias a 5° C. Os valores observados pelos autores oscilaram entre 1,5 a 2,1 miliequivalentes de ácido cítrico. Os autores concluíram também que esta diminuição foi mais acentuada em folhas cortadas do que em folhas inteiras.

A armazenagem em temperatura de 3° C pode ter favorecido a manutenção dos teores de ácidos, portanto, uma quantidade de substrato de respiração que pode se configurar em reservas para manter a vida de prateleira por mais tempo. Mattos *et al.* (2007) observaram que armazenamento em temperaturas inferiores a 5° C reduziram o metabolismo respiratório significativamente em alfaces crespas cv. Verônica minimamente processadas. O mesmo efeito de maior manutenção de substâncias de reserva, neste caso os sólidos solúveis, já havia sido observado por Roversi & Masson (2004) também com alfaces crespas minimamente processadas e armazenadas em temperatura de 5 a 7° C.

5 CONCLUSÕES

A quitosana nas concentrações 0,1, 0,2 e 0,5% não apresentou potencial para aumento da vida de prateleira quando aplicada em alface americana minimamente processada embalada com atmosfera modificada de 5kPa de oxigênio e 15kPa de dióxido de carbono.

A quitosana quando aplicada em alface crespa minimamente processada com folha inteira, nas concentrações 0,1, 0,2 e 0,5% apresentou potencial para aumento da vida de prateleira, não alterando aspectos visuais em comparação ao tratamento com o cloro 200 ppm. Porém, os três tratamentos com quitosana na alface crespa apresentaram menor quantidade de ácidos tituláveis indicando qualidade inferior em comparação ao tratamento com cloro 200 ppm.

Sugerem-se trabalhos posteriores para uma melhor avaliação dos efeitos da quitosana em alface minimamente processada, preconizando mais parâmetros de avaliações e controle do ambiente de processamento, para se obter resultados menos erráticos, tendo em vista a variabilidade natural da alface.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O setor de hortaliças minimamente processadas precisa de muito empenho para o desenvolvimento de novas tecnologias para minimizar as perdas destes produtos tão sensíveis aos processos inerentes a sua cadeia produtiva. Neste trabalho procurou-se elucidar o potencial benefício do recobrimento com quitosana em alface minimamente processada.

Falta ainda referências quanto a utilização de quitosana em hortaliças como alface e outras folhosas; comumente, este processamento é mais encontrado em frutas. O processo para aplicação de revestimento em folhosas requer melhor adaptação.

Um ambiente com temperatura controlada seria importante para um processamento melhor conduzido, diminuindo interferências no ambiente do experimento, assim como o monitoramento da umidade relativa do ar; durante o processamento as amostras podem perder água devido a sua grande área superficial em relação ao volume de massa.

As avaliações de cor têm dificuldades para encontrar diferenças significativas devido à grande variabilidade, mesmo na própria folha. Seria muito importante avaliar outros fatores como taxa de respiração, atividade enzimática e, com isso, poder-se-á ter embasamento para informações mais consistentes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. I. B et al. Análise das perdas de caule, folhas e frutos de hortaliças frescas comercializadas na rede varejista de Areia (PB). **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**. Viçosa, v.2, n.2, p.81-91, Dez., 2012.

AQUINO, A. C.; DOMINGOS, M. A. F.; CARVALHO, M. G. **Controle de qualidade em frutas e hortaliças minimamente processadas**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2010. Disponível em: <<http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados2.shtml>>. Acesso em: 10 jun. 2014.

ARES, G. et al. Failure criteria based on consumers' rejection to determine the sensory shelf life of minimally processed lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, p. 255–259, 2008.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A. **O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 23 p.

AZEVEDO V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v.2/3, p. 27-34, 2007.

BARBERAN, F. A. T. et al. Effect of Selected Browning Inhibitors on Phenolic Metabolism in Stem Tissue of Harvested Lettuce. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 3, p.583-589, 1997.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 197-201, 2001.

BUSO, E. K. R. P. de M. et al. Comportamento pós-colheita de mandioquinha-salsa revestida com quitosana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 4, p. 850-855, 2014.

CARVALHO, H. H. et al. **Alimentos: métodos físicos e químicos de análise**. Porto Alegre, RS: Ed. da UFRGS, 2002. 180 p.

CHEN, X. D.; MAJUMDAR, A. **Drying Technologies in Food Processing**. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd., 2008. 352 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL-FAEPE, 1990.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, London, v.21, n.6, p. 703 – 714, 2004.

DURANGO, A.; SOARES, N.; ANDRADE, N. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildeford, v.17, n.5, p. 336 – 341, 2006.

EMATER/RS. **Levantamento anual Hortigranjeiro**. Porto Alegre, EMATER/ASCAR, 2011. Disponível em: <www.emater.tche.br/>. Acesso em: 15 jul. 2014.

EMBRAPA. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília, DF, 2007.

FAO. **Food loss prevention in perishable crops**. Roma, 1981. 72 p. (FAO - Agricultural Services Bulletin, 43)

FAO. **Agrosoft Brasil**. 2010. Disponível em: <[Http://www.agrosoft.org.br/agropag/214644.htm](http://www.agrosoft.org.br/agropag/214644.htm)>. Acesso em: 18 ago. 2014.

GALVEZ, G. L.; SALTVEIT, M.; CANTWELL, M. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with emphasis on romaine and iceberg types. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 179-190, 1996.

GARCÍA, E.; BARRET, M. D. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: **FRESH-CUT fruits and vegetables: sciences, technology and market**. Boca Raton: CRC Press, 2002. Cap. 9, p. 267-304

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. **Polímeros**, São Carlos, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

GOYENECHEA, R. et al. Application of citric acid and mild heat shock to minimally processed sliced radish: Color evaluation. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 93, p. 106–113, 2014.

HEIMDAL, H. et al. Biochemical changes and sensory quality of shredded and ma - package iceberg lettuce. **Journal of Food Science**, Chicago, v.60, n.6, p.1265-1268, 1995.

HOJO, E. T. D.; DURIGAN, J. F.; HOO, R. H. Uso de embalagens plásticas e cobertura de quitosana na conservação pós-colheita de lichias. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. Especial, p. 377-383, 2011.

HYODO, H. Phenylalanine ammonia-lyase in strawberry fruits. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, p. 989-991, 1971.

HORTIBRASIL. **Normas de classificação impressas pelo Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura. São Paulo, 2009.** Disponível em: <http://www.hortibrasil.org.br/jnw/index.php?option=com_content&view=article&id=138&Itemid=110> Acesso em: 01 set. 2014.

IHL, M. et al. Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. **LWT - Food Science Technology**, London, v. 36, p. 591–599, 2003.

JACXSENS, L. et al. Validation of a systematic approach to design EMA packages for fresh cut produce. **LWT - Food Science Technology**, London, v.32, n.7, p. 425-432, 1999.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Jr. Carbon dioxide-induced brown stain development as related to phenolic metabolism in iceberg lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Washington, v.114, n.4, p. 789-794, 1989.

KLAHORST, S. J. Applications: credible edible films. **Food Products Design**. p.1-6, Sep. 1999.

LUENGO, R. F. A., CALBO A.G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília: Embrapa, 2001. p.15

MAISTRO, L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n.3, p. 219-224, 2001.

MANTILLA, S. P. S. et al. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambiental**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 437-448, out./dez. 2010.

MARIN, T.; et al. Embalagem ativa para alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 653-660, 2010.

MATTOS, L. M. et al. Qualidade de alface crespa minimamente processada armazenada sob refrigeração em dois sistemas de embalagem. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.4, p. 504-508, 2007.

MENEZES, E. M. S.; FERNANDEZ, E. C.; SABAA-SRUR, A. O. O. Folhas de alface lisa (*Lactuca sativa*) minimamente processadas armazenadas em atmosfera modificada: análises físicas, químicas e físico-químicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.60-62, 2005.

MOREIRA, M. R.; ROURA, S. I.; PONCE, A. Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2335-2341, 2011.

PALMU, P. S. T. et al. Recobrimento de sementes de brócolos e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 291-297, 2005.

PEIXOTO FILHO, J. U. et al. Produtividade de alface com doses de esterco de frango, bovino e ovino em cultivos sucessivos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17 n.4, p. 419-424, 2013.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. **Food analysis: theory and practices**. 3.ed. New York: Chapman & Hall. 1994.

ROVERSI, R. M.; MASSON, M. L. Qualidade da alface crespa minimamente processada acondicionada em atmosfera controlada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.4, p.823-830, 2004.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. 'PIRAROXÁ': cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.158-159, 2005.

SALTVEIT, E. M; CHOI, J.Y; TOMÁS-BARBERÁ, A.F. Mono-carboxylic acids and their salts inhibit wound-induced phenolic accumulation in excised lettuce (*Lactuca sativa*) leaf tissue. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.125, n.4, p. 454 – 463, 2005.

SANDHYA. Modified atmosphere packaging of fresh produce: current status and future needs. **LWT - Food Science and Technology**, London, v.43, n.3, p. 381–392, 2010.

SANTOS, M. C. A.; SILVA, T.; **Avaliação do mercado de frutas e hortaliças embaladas, minimamente processadas, orgânicas e desidratadas na capital de Minas Gerais**. Contagem: CEASAMINAS/MG, 2010. 113 p.

SANTHOSH, S.; MATHEW, P. T. Preparation and properties of glucosamine and carboxymethylchitin from shrimp shell. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v.107, n.1, p. 280-285, 2008.

SIGRIST, J. M. **Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processadas**. 2002. Tese (Doutorado) – Departamento de Ciências Agrárias - Fitotecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SILVA, G. L. **Estudo da ação inibitória da quitosana sobre os enteropatógenos: *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei* e *Escherichia coli* EPEC**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

SILVA, D. F. P. et al. Determinação do tempo de centrifugação de repolho minimamente processado em dois tipos de centrífugas. **Unimontes Científicos**, Montes Claros, v. 11, n. 1/2, 2009.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; ROSNES, J. T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products: significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.37, p.107-127, 2002.

THARANATHAN, R. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v.14, n.3, p. 71 – 78, 2003.

WATADA, A. E.; QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 201–205, 1999.

WHO. **Trihalometanos em água potável**. (Documento de referência para o desenvolvimento de Diretrizes da OMS para qualidade da água potável, 2005). Disponível em:
<http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/THM200605.pdf>.
Acesso em: 25 out. 2014.