

Fundamentos de estabilidade de

ALIMENTOS

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Fundamentos de estabilidade de ALIMENTOS

2^a edição revista e ampliada

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Editora Técnica

Embrapa
Brasília, DF
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Drª Sara Mesquita, 2.270
Bairro do Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
sac@cnpat.embrapa.br
www.cnpat.embrapa.br

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica (PqEB)
Av. W3 Norte (Final)
CEP 70770-901 Brasília, DF
Fone: (61) 3448-4236
Fax: (61) 3448-2494
vendas@sct.embrapa.br
www.embrapa.br/liv

Unidade responsável pelo conteúdo

Embrapa Agroindústria Tropical

Unidade responsável pela edição

Embrapa Informação Tecnológica

**Comitê de Publicações da
Embrapa Agroindústria Tropical**

MMmmmm
MMMMnnnnnnn

Coordenação editorial

Fernando do Amaral Pereira
Lucilene Maria de Andrade
Nilda Maria da Cunha Sette

Presidente

xxxxxxxxxx

Supervisão editorial

Josmária Madalena Lopes

Secretário-executivo

xxxxxxxxxxxxxx

Copidesque e revisão de texto

Francisco C. Martins

Membros

xxxxxxxxxx
xxxxxxxxxx
xxxxxxxxxx

Normalização bibliográfica

Márcia Maria Pereira de Souza

**Projeto gráfico, editoração eletrônica e
tratamento de imagens**

Júlio César da Silva Delfino

Capa

Paula Cristina Rodrigues Franco

1ª edição

1ª impressão (2012): XXXXXX exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Informação Tecnológica

Fundamentos de estabilidade de alimentos / Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo, editora técnica. – 2 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2012.

326 p. ; 16 cm x 22 cm.

ISBN: XXX-XX-XXXX-XXX-X

1. Alimento. 2. Armazenamento de alimento. I. Azeredo, Henriette Monteiro Cordeiro de. II. Embrapa.

CDD 664.028

© Embrapa 2012

Autores

Alba Manuela Durango Villadiego

Bacteriologista, M.Sc. em Microbiologia, professora da Universidad de Córdoba – Montería, Colômbia
adurango@sinu.unicordoba.edu.co

Deborah dos Santos Garruti

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
deborah@cnpat.embrapa.br.

Edy Sousa de Brito

Químico industrial, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
edy@cnpat.embrapa.br.

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Químico, D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
gustavo@cnpat.embrapa.br.

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
ette@cnpat.embrapa.br.

José de Assis Fonseca Faria

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Ciência de Alimentos, professor titular da Universidade de Campinas (Unicamp), Campinas, SP
assis@fea.unicamp.br.

Laura Maria Bruno

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
lmbruno@cnpat.embrapa.br.

Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Engenheiro de materiais, D.Sc. em Ciência e Engenharia de Materiais, pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP
mattoso@cnpdia.embrapa.br.

Maria do Socorro Rocha Bastos

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
sbastos@cnpat.embrapa.br.

Miriam Fontes Araújo Silveira

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
professora adjunta da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO
miriamfas.ufg@gmail.com

Morsyleide de Freitas Rosa

Engenheira-química, D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e
Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
morsy@cnpat.embrapa.br.

Nathália Ramos de Melo

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
professora adjunta da Universidade Federal Fluminense (UFF),
Volta Redonda, RJ
nathaliarm@pq.cnpq.br

Nédio Jair Wurlitzer

Engenheiro de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE
nedio@cnpat.embrapa.br.

Nilda de Fátima Ferreira Soares

Engenheira de alimentos, Ph.D. em Ciência de Alimentos, professora
associada da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG
nfsoares@ufv.br

Patrícia Pinheiro de Campos Fonseca Rodrigues

Bióloga, D.Sc. em Microbiologia Agrícola, professora do Colégio Nossa
Senhora do Carmo, Viçosa, MG
pfonseca@alunos.ufv.br

Raquel Monteiro Cordeiro de Azeredo

Bacharel em Ciências Domésticas, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos,
professora da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG
raquelmcazeredo@gmail.com

Renato Souza Cruz

Engenheiro de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
professor adjunto da Universidade Estadual de Feira de Santana (Uefs),
Feira de Santana, BA
rscruz@pq.cnpq.br.

Robson Maia Geraldine

Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
professor da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO
robson.agro.ufg@gmail.com

Roselayne Ferro Furtado

Bióloga, M.Sc. em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Agroindústria
Tropical, Fortaleza, CE
roselayne@cnpat.embrapa.br

Washington Azevêdo da Silva

Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
professor adjunto da Universidade Federal de São João Del-Rei,
Sete Lagoas, MG
washington.silva@pq.cnpq.br

Apresentação

A busca crescente dos consumidores por alimentos de qualidade condiz com o aumento de suas expectativas de que esta será mantida em níveis elevados no período entre a aquisição e o consumo. Essas expectativas são uma consequência não somente do requerimento básico de que o alimento deve permanecer seguro, mas também da necessidade de minimizar a ocorrência de alterações indesejáveis na qualidade do produto.

Concebida por uma equipe de 20 autores – pesquisadores e/ou professores – de sete instituições de ensino e pesquisa e de duas Unidades da Embrapa, esta segunda edição de *Fundamentos de Estabilidade de Alimentos*, revista e ampliada, descreve o que há de mais recente na área, considerada um dos grandes desafios para pesquisadores e engenheiros de alimentos.

Dividido em nove capítulos, este livro aborda os diferentes tipos de alterações – microbiológicas, químicas e físicas – que os alimentos sofrem durante a estocagem, os princípios básicos de cinética de degradação de alimentos e os princípios gerais dos mais importantes métodos convencionais de conservação de alimentos. Apresenta, ainda, algumas tendências em métodos de conservação, bem como o papel da embalagem na estabilidade de alimentos, sendo as embalagens ativas uma tendência importante nessa área, as quais têm mostrado alto potencial de contribuição para o aumento da estabilidade de alimentos. Por último, esta obra versa sobre o uso da nanotecnologia.

No ano em que se comemora seu Jubileu de Prata, a Embrapa Agroindústria Tropical disponibiliza a presente obra à sociedade, na certeza de que ela se constituirá numa valiosa fonte de consulta, além de contribuir para o aprimoramento tecnológico dos processos relacionados à conservação dos alimentos, de forma a favorecer não só a obtenção de ganhos para os agentes produtivos, mas também proporcionar maior segurança e qualidade de vida aos consumidores.

Vitor Hugo de Oliveira
Chefe-Geral da Embrapa Agroindústria Tropical

Prefácio

Todos os alimentos sofrem graus variados de deterioração durante a estocagem. Assim, a taxa de perda de qualidade é determinada pelos seguintes fatores:

- Composição e características do produto.
- Condições de processamento.
- Características e efetividade do sistema de embalagem.
- Condições ambientais às quais o produto é exposto durante a estocagem.

As alterações responsáveis por perda de qualidade são de vários tipos, incluindo reações químicas, e alterações microbiológicas e físicas. Essa divisão é feita por motivos didáticos, mas suas fronteiras nem sempre são bem definidas. Por exemplo, certos microrganismos podem produzir alterações enzimáticas (químicas) em proteínas, resultando em modificações na textura (física) do alimento.

A vida de prateleira de um alimento pode ser definida como o tempo ~~em~~ que o produto leva para se deteriorar até atingir um nível inaceitável de qualidade, o que, muitas vezes, pode ser complicado pelo fato de que o conceito de inaceitável varia bastante entre indivíduos. A determinação da vida de prateleira deve levar em consideração aspectos de segurança ~~alimentar~~, nutricionais e de aceitação pelo consumidor.

As consequências das várias formas de alteração – que ocorrem durante a estocagem – são de vários tipos e de diferentes graus de importância. Num extremo, podem ser triviais, embora indesejáveis, como alterações de cor, sabor ou textura. No extremo oposto, existem as alterações que comprometem a segurança do consumidor, como é o caso da produção de toxinas por ação microbiana. Por estarem intimamente associadas a questões de segurança ~~alimentar~~, as alterações microbiológicas são consideradas as mais importantes e as que recebem maior atenção, quando se trata de métodos de conservação de alimentos.

Geralmente, a estabilidade de um alimento é discutida com base em dois tipos principais de fatores: os intrínsecos (ligados diretamente às características do alimento) e os extrínsecos (ligados ao ambiente que o envolve).

Entre os fatores intrínsecos, podem ser citados: atividade de água, pH, composição química e carga microbiológica inicial.

Entre os fatores extrínsecos, destacam-se: temperatura, umidade relativa do ar, exposição a radiações luminosas e disponibilidade de oxigênio, entre outros.

A seleção do sistema de embalagem e dos métodos de conservação a serem adotados para um dado alimento dependem das suscetibilidades específicas desse alimento. É importante que a escolha dos métodos de conservação seja a mais racional possível, garantindo a estabilidade do alimento durante sua vida de prateleira, procurando minimizar as alterações a suas propriedades sensoriais e nutricionais, danos esses que podem decorrer tanto do processamento quanto das condições de estocagem. Daí, o surgimento de novas técnicas de conservação, cuja finalidade é preservar ao máximo as propriedades originais do alimento, tendência essa impulsionada pelas crescentes exigências do consumidor por produtos mais frescos e saudáveis.

Este livro é dividido em nove capítulos, que abordam:

- Os diferentes tipos de alterações (microbiológicas, químicas e físicas) que os alimentos sofrem durante a estocagem (Capítulos 1, 2 e 3, respectivamente).
- Os princípios básicos de cinética de degradação de alimentos (Capítulo 4).
- Os princípios gerais dos métodos convencionais (Capítulo 5) e não convencionais (Capítulo 6) de conservação de alimentos.
- O papel da embalagem na estabilidade de alimentos (Capítulo 7).

Duas abordagens específicas são também relacionadas a embalagens de alimentos: as embalagens ativas e inteligentes (Capítulo 8) e o uso de nanotecnologia, no Capítulo 9, acrescentado a esta segunda edição. Além da inclusão desse novo capítulo, os demais capítulos foram revistos e atualizados.

Espera-se que esta segunda edição ajude os leitores a entender os mecanismos envolvidos na estabilidade de alimentos, assim como os recursos tecnológicos disponíveis (ainda que apenas em nível de pesquisa) para aumento dessa estabilidade.

Sumário

Capítulo 1

Alterações microbiológicas em alimentos durante a estocagem ... 15

Capítulo 2

Alterações químicas em alimentos durante a estocagem 39

Capítulo 3

Alterações físicas em alimentos durante a estocagem 77

Capítulo 4

Fundamentos de cinética de degradação
e estimativa de vida de prateleira 103

Capítulo 5

Princípios dos métodos de conservação de alimentos 129

Capítulo 6

Fundamentos dos principais métodos não
convencionais de conservação de alimentos 187

Capítulo 7

Embalagens e suas interações com os alimentos 223

Capítulo 8

Embalagem ativa na conservação de alimentos 253

Capítulo 9

Aplicação da nanotecnologia em embalagens de alimentos 287

Capítulo 1

Alterações microbiológicas em alimentos durante a estocagem

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Gustavo Adolfo ~~S~~Aavedra Pinto

Edy Sousa de Brito

Raquel Monteiro Cordeiro de Azeredo

Introdução

Microrganismos provenientes do solo, da água, do ar, de utensílios e do trato intestinal do ser humano e de animais podem contaminar os alimentos. Segundo Franco e Landgraf (1996), dependendo do tipo de interação com o alimento, os microrganismos podem ser classificados em três categorias:

Deterioradores – Que promovem alterações químicas resultantes da atividade metabólica dos microrganismos, que se desenvolvem em compostos do alimento como fonte de energia, comprometendo a qualidade do produto final, geralmente do ponto de vista sensorial (aparência, odor, sabor e textura).

Patogênicos – Que promovem o desenvolvimento de infecções ou intoxicações no indivíduo que consumir o alimento contaminado.

Fermentadores – Que promovem reações químicas específicas, as quais produzem alterações desejáveis em alimentos, modificando suas características sensoriais. É o caso dos microrganismos usados na produção de queijos, vinhos e pães, entre outros.

Os microrganismos contaminantes não estão presentes em tecidos vivos saudáveis que podem ser invadidos, caso ocorram injúrias mecânicas (lesões) ou desintegração de tecidos, como no caso do processamento (POTTER; HOTCHKISS, 1995). A microflora abrigada por um alimento varia em função da flora inicial da matéria-prima, da composição do alimento, e das condições de processamento e de estocagem a que o produto for submetido (GRAM et al., 2002).

Alimentos comercialmente esterilizados – e acondicionados em embalagens metálicas ou de vidro – podem sofrer deterioração microbiológica, caso o tratamento térmico seja insuficiente ou quando ocorrerem falhas na hermeticidade da embalagem, permitindo a entrada de microrganismos. Para produtos pasteurizados, as alterações microbiológicas dependem:

- Das características do alimento.
- Da carga microbiana sobrevivente ao tratamento térmico.
- De contaminações após o processamento.
- Da temperatura de estocagem.

Segundo Frazier e Westhoff (1993), de acordo com sua estabilidade, os alimentos podem ser classificados em:

Perecíveis – São alimentos que se alteram rapidamente, a menos que sejam submetidos a processos de conservação. Geralmente, esses alimentos requerem baixas temperaturas de estocagem, para maior estabilidade. Nos alimentos perecíveis, normalmente as alterações microbiológicas antecedem às demais, sendo muitas vezes percebidas, sensorialmente, pelo consumidor.

Quando refrigerados, esses alimentos apresentam vida útil de apenas alguns dias, e de alguns meses, quando congelados. Como exemplos, podem ser citados:

- Leite.
- Carnes frescas.
- Frutas e hortaliças (in natura).

Semiperecíveis – Têm sua estabilidade aumentada em decorrência da adoção de técnicas de processamento. A estabilidade pode ser estendida para cerca de 30 a 90 dias, quando os alimentos são mantidos sob refrigeração, como os produtos cárneos defumados e queijos curados.

Não perecíveis – Podem ser estocados à temperatura ambiente por tempo prolongado, sem que haja crescimento microbiano suficiente para que ocorra deterioração. Reduções no valor comercial de tais produtos podem ocorrer em decorrência de alterações físicas e químicas, após uma estocagem prolongada. São classificados nessa categoria: cereais, grãos, produtos desidratados e enlatados, entre outros.

Alterações químicas causadas por microrganismos

A principal causa de deterioração química de alimentos decorre do crescimento microbiano, com consequente formação de metabólitos que lhes conferem sabores desagradáveis como sulfetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos, fazendo com que o produto seja rejeitado. No entanto, o conceito de inaceitável é específico para cada alimento. Por exemplo, odores de amônia fazem parte de um perfil de

aromas de alguns produtos fermentados de peixes, mas são totalmente inaceitáveis na maioria dos pescados frescos (GRAM; DALGAARD, 2002).

Franco e Landgraf (1996) descrevem as alterações químicas dos principais componentes dos alimentos, promovidas por microrganismos:

Carboidratos – São aproveitados pelos microrganismos como fonte de energia para seu desenvolvimento. O metabolismo desses nutrientes pode ocorrer segundo dois mecanismos básicos:

- Na presença de oxigênio, pelo aproveitamento de carboidratos por microrganismos aeróbios.
- Na ausência de oxigênio, pela utilização dos compostos por microrganismos anaeróbios estritos ou facultativos, acumulando produtos que afetam sensorialmente o alimento.

Os açúcares mais simples são mais facilmente consumidos pelos microrganismos, poucas sendo as espécies capazes de hidrolisar polissacarídeos. O metabolismo de monossacarídeos em anaerobiose gera, como produto intermediário, o ácido pirúvico, que, dependendo das condições nutricionais do meio, é convertido em diferentes compostos, como ácido lático, etanol e ácido acético.

Proteínas – Antes de serem usadas, são hidrolisadas por enzimas produzidas pelos microrganismos a peptídeos e aminoácidos, já que as proteínas não atravessam a membrana celular. A descarboxilação de aminoácidos por microrganismos resulta na formação de compostos de odor desagradável, como as aminas biogênicas, caracterizando a chamada putrefação.

Além das alterações sensoriais, as aminas biogênicas – especialmente a histamina e a tiramina – são tóxicas, quando ingeridas (ÖZOGUL et al., 2008). As aminas biogênicas ocorrem em vários tipos de produtos como pescados, carnes, leite e derivados, cerveja, uva e vinho.

Nos pescados, a formação de aminas biogênicas (como a trimetilamina) tem merecido atenção especial, graças à sua correlação com a deterioração dessa classe de produtos (JORGENSEN et al., 2000; KARPAS et al., 2002; ÖZOGUL; ÖZOGUL, 2006). Além de alterar o aroma, a degradação de proteínas pode resultar em modificações na textura do produto, como o amolecimento dos tecidos.

Lipídios – Os triglicerídeos são hidrolisados por ação de lipases bacterianas, produzindo ácidos graxos livres, muitos dos quais – especialmente os de baixo peso molecular – conferem odor desagradável ao produto, caracterizando a rancidez hidrolítica.

Fatores que afetam a velocidade das alterações microbiológicas

Vários fatores afetam a capacidade de sobrevivência ou o crescimento de microrganismos presentes num alimento. Entre esses fatores, existem os que se relacionam com as características do próprio alimento (fatores intrínsecos) e os associados ao ambiente (fatores extrínsecos).

Fatores intrínsecos

Atividade de água

Um dos fatores mais importantes para sobrevivência dos microrganismos é a disponibilidade de água, medida pela atividade de água (A_a), conceito termodinâmico definido como:

$$A_a = \frac{P}{P_0} = \frac{n_1}{n_1 + n_2}, \quad (1)$$

em que:

P = pressão parcial de vapor da água contida no alimento.

P_0 = é a pressão de vapor da água pura, à mesma temperatura.

n_1 = é o número de moles do solvente (água).

n_2 = é o número de moles do soluto (GRANT, 2004).

Em outras palavras, a A_a refere-se ao teor efetivo de umidade expresso na forma de fração molar, que também se reflete na umidade relativa de um gás em equilíbrio com uma solução ou produto higroscópico (GRANT, 2004). Ou seja, o conceito de A_a corresponde ao conceito de umidade relativa; entretanto, a expressão “atividade de água” é mais usada para alimentos do que a expressão “umidade

relativa de equilíbrio”, geralmente empregada para gases, e expressa na forma de percentagem.

A atividade de água descreve o grau de disponibilidade dessa molécula para atuar como solvente e participar de reações químicas e bioquímicas (ROBERTSON, 2009). Em relação à deterioração de alimentos com base no fator água, o atributo mais importante é sua atividade de água, e não seu teor de umidade, uma vez que o simples teor de umidade não se baseia numa quantificação da água termodinamicamente disponível (GRANT, 2004). Ambos os conceitos se relacionam, e essa relação é expressa em termos de isotermas de sorção (adsorção e dessorção).

Geralmente, para um mesmo alimento, uma isotermia de adsorção apresenta valores inferiores aos da isotermia de dessorção, fenômeno conhecido como histerese (LEWICKI, 2009). A Figura 1 mostra uma isotermia de sorção típica, que indica a relação entre teor de umidade e atividade de água. Cada produto possui uma isotermia de sorção característica, não necessariamente com comportamento senoidal, como os autores costumam apresentar, genericamente.

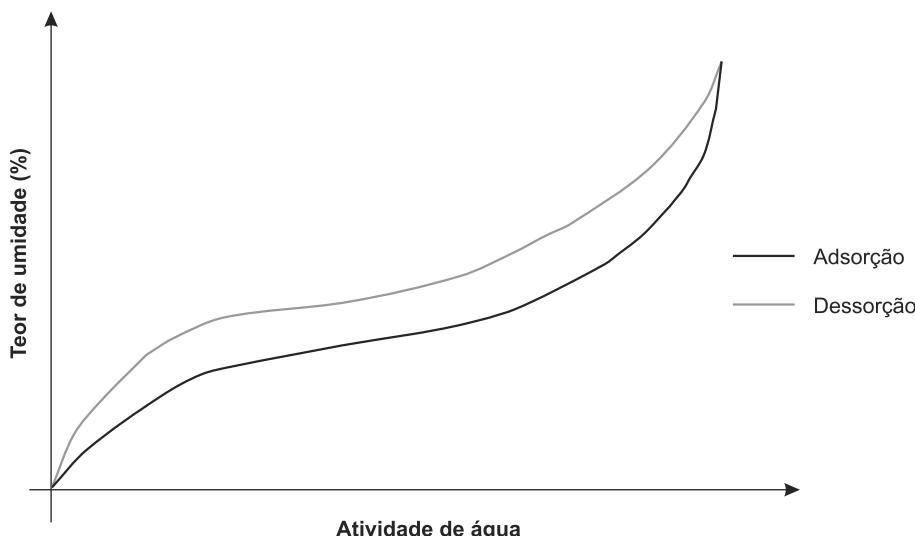


Figura 1. Isotermas de sorção e efeito de histerese.

Fonte: Lewicki (2009).

Os valores de A_a variam de 0 a 1. A água pura tem $A_a = 1$, e qualquer solução (ou alimento) tem $A_a < 1$. Na maior parte dos alimentos frescos, a A_a é superior a 0,95. A adição de solutos reduz a pressão parcial de vapor de água do alimento, resultando em redução da A_a ; essa redução varia de acordo com o soluto adicionado e sua concentração. A A_a de um alimento pode ser ainda reduzida por remoção de água (desidratação) ou por congelamento.

A A_a intracelular das bactérias é ligeiramente menor que a do meio externo, o que promove uma pressão de turgidez, a qual deve ser mantida, independentemente de quaisquer variações da pressão osmótica do meio. Alterações na osmolalidade do meio desencadeiam um fluxo de água que acompanha o gradiente osmótico, causando expansão (em ambientes hipotônicos) ou plasmólise e desidratação (em ambientes hipertônicos).

Os microrganismos respondem, ativamente, a tais alterações por meio de mecanismos de osmorregulação, para manter a turgidez adequada. Um dos principais mecanismos usados para osmorregulação é o acúmulo intracelular de compostos osmoticamente ativos, os chamados solutos compatíveis, que podem ser sintetizados pelos próprios microrganismos ou absorvidos do ambiente para contrabalançar o fluxo de água, quando em meio hipertônico.

Os solutos compatíveis são moléculas orgânicas de baixo peso molecular e altamente hidrossolúveis; pertencem a diversas classes químicas, como aminoácidos (prolina e glutamato), açúcares e polióis, entre outros (KEMPF; BREMER, 1998). Na membrana citoplasmática, existem sistemas de transporte específicos que permitem o acúmulo controlado desses compostos (ABEE; WOUTERS, 1999). Esse acúmulo de solutos compatíveis, necessário quando as células estão em ambientes com A_a reduzida, requer muita energia, constituindo um obstáculo ao crescimento (LEISTNER; GORRIS, 1995).

Em ambientes de baixa A_a , as células microbianas consomem muita energia, quer para excluir solutos do seu ambiente interno, quer para desenvolver suas atividades metabólicas na presença de alta concentração de solutos. Como consequência, os microrganismos podem ter suas taxas de crescimento reduzidas, ou até morrer, em situações extremas (TROLLER, 1980).

Microrganismos têm diferentes graus de tolerância a baixas atividades de água. Apesar de o nível de atividade de água – para inibir

efetivamente a atividade de microrganismos – ser afetado por vários outros fatores (natureza dos solutos, pH, presença de conservadores químicos, natureza da flora microbiana), como regra geral, aceita-se, que o crescimento de bactérias deterioradoras é inibido a valores de $A_a < 0,97$, e o de bactérias geralmente a $A_a < 0,90$.

A bactéria patogênica mais tolerante a baixa A_a é *Staphylococcus aureus*, que, sob condições aeróbias, pode chegar a crescer a 0,86 A_a (MUNDO et al., 2004). Alguns fungos podem crescer a atividades de água limite de 0,60, o que faz com que esses microrganismos sejam de grande importância em alimentos desidratados. Valores de A_a inferiores a 0,60 não possibilitam deterioração microbiana, pois não permitem o crescimento de microrganismos, embora eles ainda possam sobreviver (ALZAMORA et al., 2003).

De acordo com a atividade de água, os alimentos podem ser classificados (KRIST et al., 1999) em:

- Alimentos de alta atividade de água ($A_a > 0,85$) são muito propensos a deteriorações microbiológicas. O limite inferior de atividade de água (0,85) foi estabelecido com base na atividade de água mínima requerida para o crescimento de *Staphylococcus aureus*, a bactéria patogênica mais tolerante nesse aspecto (ALZAMORA et al., 2003).
- Alimentos de atividade de água intermediária ($0,60 < A_a < 0,85$) podem sofrer deterioração por microrganismos xerófilicos e osmofílicos.
- Alimentos de baixa atividade de água ($A_a < 0,60$), não há crescimento de microrganismos, embora eles possam sobreviver.

Para crescimento microbiano, os valores ótimos e mínimos de A_a nem sempre coincidem com aqueles válidos para produção de metabólitos. Por exemplo, Jayaprakasha et al. (1997) registraram que a A_a mínima requerida por alguns fungos para produção de micotoxinas é maior que a A_a mínima para crescimento.

A atividade de água afeta não apenas as taxas de alterações microbiológicas, como também influencia alterações químicas. A Figura 2 mostra o efeito da atividade de água sobre as principais alterações em alimentos.

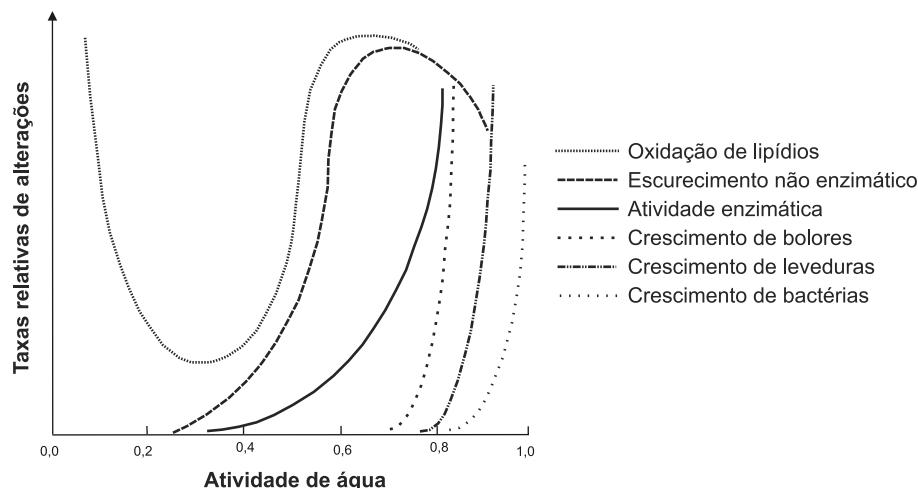


Figura 2. Taxas relativas das principais alterações de alimentos em razão da atividade de água.

Fonte: Robertson (2009).

Potencial hidrogeniônico

O *pH* é definido como:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log[H^+] \quad (2)$$

Assim, a redução de uma unidade no *pH* representa um aumento de 10 vezes na concentração de H^+ .

O pH interno de uma célula microbiana deve ser mantido dentro de limites estreitos. Geralmente, valores de pH próximos à neutralidade são os mais favoráveis ao crescimento microbiano. Se o microrganismo estiver num ambiente ácido, haverá um fluxo passivo de prótons para o interior da célula; o microrganismo consumirá então energia para transportar, ativamente, esses prótons para o exterior da célula (LEISTNER; GORRIS, 1995). Se o fluxo de prótons – para dentro e fora da célula – tornar-se incontrolado, o pH interno pode mudar a um grau tal, que ocorrerá inibição da síntese de componentes celulares e da capacidade de divisão das células (BROWN; BOOTH, 1991).

A maioria dos microrganismos associados a alimentos cresce na faixa de pH de 5 a 8. Considerando-se que uma faixa de pH de três

unidades representa uma diferença de 1.000 vezes na concentração externa de íons H⁺, a capacidade de crescimento microbiano, dentro dessa faixa, reflete uma grande capacidade de excluir ou de reter esses íons e controlar seu pH interno.

Cada espécie microbiana tem sua faixa ótima de pH citoplasmático e uma capacidade diferente de regulação desse pH (ALZAMORA, 1994). Geralmente, fungos filamentosos e leveduras são mais tolerantes a ambientes de baixo pH em relação a bactérias, sendo os primeiros microrganismos associados à deterioração de produtos de alta acidez, como sucos de frutas e bebidas carbonatadas (BROWN; BOOTH, 1991). Quanto ao pH, os alimentos são classificados em:

Muito ácidos (pH < 4,0) – Sucos de algumas frutas (abacaxi, maracujá, limão, etc.), refrigerantes, picles.

Ácidos (4,0 < pH < 4,5) – Tomate e derivados, sucos de algumas frutas (como caju).

Pouco ácidos (pH > 4,5) – Carne, leite, ovos.

Essa classificação baseia-se no pH mínimo para crescimento e produção de toxina por *Clostridium botulinum* (pH 4,5) e no pH mínimo para crescimento da maioria das bactérias (pH 4,0). Cada espécie microbiana tem uma faixa ótima de pH citoplasmático, e cada qual exibe uma capacidade diferente de regulação desse pH, mostrando assim diferentes tolerâncias a mudanças no pH externo.

Para o crescimento de bactérias, a faixa de pH externo é de 4,0 a 9,0; para leveduras, essa faixa é de 1,5 a 8,0; para fungos filamentosos, 1,5 a 11,0 (ALZAMORA, 1994). Portanto, a faixa de pH dos alimentos muito ácidos inibe o crescimento de bactérias, mas permite o desenvolvimento de fungos.

Composição química

Várias classes de nutrientes podem ser usadas pelos microrganismos. Como fontes de energia, geralmente são aproveitados carboidratos (especialmente açúcares mais simples), álcoois e aminoácidos. Alguns microrganismos aproveitam-se de carboidratos mais complexos, como celulose e amido, convertendo-os em açúcares mais simples.

Os lipídios podem ser usados como fonte de energia por um número muito limitado de microrganismos. A principal fonte de N (nitrogênio) são os aminoácidos, embora outros compostos nitrogenados como nucleotídeos, peptídeos e proteínas possam ser também empregados (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Até certo ponto a concentração dos nutrientes pode determinar a velocidade do crescimento microbiano (ADAMS; MOSS, 1997), segundo a equação de Monod (3), a qual indica que, quando $S >> K_s$, o microrganismo crescerá a uma velocidade muito próxima à sua velocidade máxima.

$$\mu = \frac{\mu_m S}{S + K_s} \quad (3)$$

Sendo:

μ = velocidade de crescimento específico.

μ_m = velocidade máxima de crescimento específico.

S = concentração do nutriente limitante.

K_s = constante de saturação.

Potencial redox

Os processos de oxidação e redução estão relacionados a transferências (perda e ganho, respectivamente) de elétrons entre compostos químicos. Quando ocorre uma transferência de elétrons de um composto para outro, estabelece-se uma diferença de potencial que pode ser medida instrumentalmente. A tendência de um meio em receber ou ceder elétrons é denominada potencial redox (E_h), medido por meio de um eletrodo de metal inerte (geralmente platina) submerso no meio.

Se o equilíbrio dos diversos pares redox presentes favorecer o estado oxidado, a amostra tende a receber elétrons do eletrodo, criando um potencial positivo, que indica um meio oxidante. Quando o equilíbrio for inverso, a amostra tende a ceder elétrons ao eletrodo, registrando um potencial negativo e indicando um meio redutor.

O potencial redox, medido nos alimentos, resulta da interação de fatores como (ADAMS; MOSS, 1997):

- Pares redox presentes.
- Proporção entre os grupos oxidantes e redutores.
- pH.
- Capacidade de equilíbrio.
- Disponibilidade de oxigênio.
- A própria atividade microbiana.

O potencial redox exerce um efeito seletivo na microbiota presente no alimento. Apesar de o crescimento microbiano ser possível numa ampla faixa de potenciais redox (-100 mV a + 500 mV), os microrganismos se enquadram, convenientemente, em faixas mais estreitas, baseadas na sua resposta ao oxigênio.

Assim, microrganismos aeróbios requerem para multiplicação a presença de O_2 e um alto potencial redox, geralmente entre +350 mV e +500 mV. Aí, incluem-se muitas bactérias, especialmente as deterioradoras e algumas espécies patogênicas (ex: *Bacillus cereus*).

Microrganismos anaeróbios requerem baixos valores de *Eh*, geralmente abaixo de -150 mV. Incluem-se, nesse grupo, algumas espécies de bactérias patogênicas (*Clostridium botulinum*) e bactérias deterioradoras. Algumas bactérias aeróbias crescem melhor em meio levemente reduzido, sendo denominadas de microaerófilas (gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*).

Outras espécies crescem bem tanto em aerobiose quanto em anaerobiose, sendo denominadas anaeróbias facultativas (bactérias da família *Enterobacteriaceae*). A maioria dos fungos filamentosos (de importância em alimentos) é aeróbio, enquanto as leveduras são predominantemente aeróbias ou anaeróbias facultativas (ADAMS; MOSS, 1997; FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Fatores extrínsecos

Temperatura

A temperatura é o fator extrínseco de maior importância para a multiplicação de microrganismos. Os microrganismos podem ser classificados em quatro categorias, de acordo com as faixas de temperaturas nas quais podem sobreviver e crescer. Essas categorias estão sumariamente descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Categorias de microrganismos, segundo o requerimento de temperatura para crescimento.

Categoría	Temperatura para crescimento (°C)		
	Mínima	Ótima	Máxima
Psicrófilos	< 0	10–15	< 20
Psicrotróficos	0	15–30	> 25
Mesófilos	10–15	30–40	< 45
Termófilos	45	50–85	> 100

Fonte: Todar (2002).

Os psicrófilos apresentam crescimento ótimo a baixas temperaturas (entre 10 °C e 15 °C), podendo crescer a 0 °C ou menos. Os psicrotróficos, embora apresentem crescimento ótimo na mesma faixa de temperatura dos mesófilos, são capazes de crescer a temperaturas próximas a 0 °C. Quando se trata de alimentos refrigerados, os psicrotróficos constituem-se num grave problema, já que continuam a crescer sob refrigeração, embora não cresçam a taxas tão altas quanto sob temperatura ambiente.

Por apresentarem crescimento ótimo numa faixa próxima à temperatura ambiente, os mesófilos constituem-se na maioria dos microrganismos de importância em alimentos, incluindo a maior parte dos patógenos (TODAR, 2002). Os termófilos mais importantes em alimentos pertencem aos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*, incluindo microrganismos deterioradores e patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Geralmente, os fungos filamentosos são capazes de crescer em faixas de temperatura mais amplas que as bactérias, sendo que muitos crescem em alimentos refrigerados. Já as leveduras não são muito tolerantes a altas temperaturas, crescendo principalmente nas faixas mesófila e psicrófila (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Por sua vez, as baixas temperaturas não inativam microrganismos, mas limitam a atividade microbiana, e podem até mesmo interromper essa atividade. As reações metabólicas de microrganismos são catalisadas por enzimas, que dependem de temperatura.

A redução do crescimento microbiano – a temperaturas abaixo do ponto de congelamento – tem relação com a redução da atividade de

água. Fungos filamentosos e leveduras são mais resistentes que bactérias a baixas temperaturas, uma vez que são capazes de crescer a menores atividades de água (CHATTOPADHYAY, 1999).

Umidade relativa

Os conceitos de atividade de água e de umidade relativa (UR) estão intimamente relacionados. A atividade de água pode ser expressa como umidade relativa do produto ($A_a \times 100$). Quando um alimento está em equilíbrio com o ambiente, sua A_a se iguala à umidade relativa do ambiente.

Assim, se estocados em ambientes com UR superior à sua A_a , os alimentos tendem a absorver umidade do ambiente, mas perderão umidade, se estocados em ambientes com UR inferior à sua A_a . No caso de absorverem umidade, sua A_a será aumentada, favorecendo o crescimento microbiano.

Composição gasosa do ambiente

A composição gasosa do ambiente adjacente ao alimento afeta o tipo de microrganismos nele predominantes. A presença de altas concentrações de O_2 favorece o crescimento de microrganismos aeróbios, enquanto baixas concentrações desse gás favorecem a predominância de anaeróbios. Além disso, o CO_2 tem efeitos inibidores sobre o crescimento microbiano e a produção de toxinas (GARCIA-GONZALEZ et al., 2007; TANIWAKI et al., 2009).

O aumento da vida de prateleira de alimentos – decorrente de acondicionamento a vácuo ou sob atmosfera modificada – é uma aplicação do efeito da composição gasosa sobre o crescimento microbiano.

Exemplos de deterioração microbiana de alimentos

Alguns alimentos apresentam propriedades intrínsecas que os tornam especialmente suscetíveis ao crescimento de microrganismos. É o caso do leite, das carnes e de pescados, que têm alta A_a , pH próximo

ao neutro e alta concentração de nutrientes. Por sua vez, outros alimentos, mesmo que menos suscetíveis a deterioração rápida, estão sujeitos a alterações específicas que caracterizam a deterioração.

Geralmente, as manifestações sensoriais da deterioração de alimentos estão associadas à formação de limo e ao desenvolvimento de sabores e de odores estranhos. No entanto, existem alterações típicas de cada alimento, algumas das quais são descritas a seguir:

Deterioração de leite e derivados

O leite tem alta A_g , pH próximo ao neutro e alta concentração de nutrientes, sendo um excelente meio de cultura para microrganismos. O prolongamento da vida de prateleira, de horas para meses, tem sido um dos principais e constantes desafios da indústria de laticínios, para atender às demandas associadas a grandes distâncias e longo tempo de distribuição (GOFF; GRIFFITHS, 2006).

Em grande parte, a qualidade do produto final depende das condições microbiológicas da matéria-prima, que pode ser afetada por contaminações durante a ordenha ou por equipamentos usados no transporte e durante o processamento.

Se o tratamento térmico (pasteurização ou esterilização, a depender do caso) for inadequado, os microrganismos sobreviventes podem se multiplicar e desenvolver um processo de deterioração. Além disso, é importante destacar que o tratamento térmico não reverte alterações químicas e sensoriais já ocorridas.

A deterioração do leite relaciona-se, principalmente, ao crescimento de bactérias psicrotróficas. A maior parte desses microrganismos é destruída durante a pasteurização, mas algumas espécies podem sobreviver e crescer sob temperaturas de refrigeração. Os microrganismos predominantes no processo de deterioração de leite – sob temperatura de refrigeração – são do gênero *Pseudomonas*; além de sua alta capacidade de crescimento durante a estocagem refrigerada, muitas cepas produzem enzimas extracelulares termoestáveis, como lipases e proteases.

As alterações decorrentes são diversas. A digestão de caseína, por exemplo, produz sabor amargo e aglutinação do leite. As lipases hidrolisam triglicerídeos, produzindo ácidos graxos livres, que resultam

em sabores amargos e/ou associados à rancidez ou ao sabão. A lecitinase degrada as membranas dos glóbulos de gordura do leite, aumentando a suscetibilidade da gordura à ação das lipases (DOGAN; BOOR, 2003).

O sabor do leite é suave, e altera-se, facilmente, pela formação de compostos por várias reações. Processos fermentativos, como a fermentação lática e a butírica, podem resultar no desenvolvimento de sabores ácidos; a produção de peptídeos, decorrente de proteólise, causa sabores amargos; processos de oxidação ou de hidrólise geram sabor de ranço.

Outra importante consequência do crescimento microbiano em leite e derivados é a produção de gases, geralmente acompanhada por acidificação. No leite cru, geralmente o problema é causado por coliformes; no pasteurizado, por espécies de *Bacillus* e *Clostridium*; em queijos, por bactérias propiônicas (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Deterioração de carnes e derivados

As carnes constituem excelente meio para crescimento bacteriano, graças à sua baixa acidez (pH entre 5,5 e 5,9) e à sua composição, formada por 75% de água e muitos compostos nitrogenados como aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos, além de glicose e outros carboidratos simples (ELLIS; GOODACRE, 2001; LABADIE, 1999).

A qualidade microbiológica de uma carne depende do estado fisiológico do animal no momento do abate, do grau de contaminação durante o processamento, e das condições (especialmente temperatura) de estocagem e distribuição (NYCHAS et al., 2008). O tecido muscular é isento de microrganismos imediatamente após o abate, sendo posteriormente contaminado. Após o *rigor mortis*, o tecido constitui um meio altamente favorável ao crescimento de bactérias.

Embora as proteínas sejam os nutrientes mais abundantes, a maioria dos microrganismos não produz enzimas para atacar compostos complexos como as proteínas, quando existem compostos mais simples para suprir seu crescimento. Glicose, ácido láctico e aminoácidos livres, que são compostos relativamente abundantes no tecido muscular, são então preferencialmente consumidos como nutrientes pelas bactérias deterioradoras.

A glicose e o ácido lático parecem ser os substratos iniciais para o crescimento microbiano; quando esgotados esses substratos, as bactérias passam a metabolizar compostos nitrogenados, como os aminoácidos (NYCHAS et al., 2008).

Segundo Ellis e Goodacre (2001), geralmente o processo de deterioração de carnes é associado ao consumo de compostos nitrogenados por bactérias do gênero *Pseudomonas*, após o consumo de glicose. De fato, Koutsoumanis et al. (2006) observaram que as alterações sensoriais durante a estocagem de carne moída em aerobiose foram altamente correlacionadas com o aumento das populações de *Pseudomonas*. Jay et al. (2003), estudando o processo deteriorativo de carnes moídas estocadas sob aerobiose, à temperatura de refrigeração (5 °C a 7 °C), observaram, também, a predominância sistemática de espécies do gênero *Pseudomonas*.

Esses autores (JAY et al., 2003) atribuíram tal predominância à capacidade dessas espécies de formarem um biofilme, provavelmente com envolvimento de um mecanismo de sensor de quorum. Segundo De Kievit e Iglesias (2000), sensor de quorum é um fenômeno pelo qual os microrganismos, quando colonizam células de um tecido, produzem certas moléculas pequenas (chamadas de moléculas indutoras ou sinalizadoras) que saem das células produtoras e aí se acumulam; quando um nível crítico (quorum) dessas moléculas é atingido, elas passam a penetrar em outras células vizinhas, induzindo alterações como produção de pigmentos e formação de limo. Assim, a formação de biofilmes facilita então a adaptação dessas espécies.

As principais moléculas sinalizadoras em bactérias Gram negativas são as acil-homoserina-lactonas (SMITH et al., 2004). Os microrganismos podem causar alterações de cor e de sabor, entre outros. As alterações na cor vermelha da carne, conferida pela mioglobina, a tons de verde, marrom ou cinza, podem ser devidas à produção bacteriana de ácido sulfídrico ou peróxidos. Algumas espécies podem ainda produzir pigmentos, ocasionando o surgimento de áreas vermelhas (*Serratia marcescens*) ou azuis (*Pseudomonas syncyanea*).

As alterações de sabor podem ser decorrentes da formação de ácidos voláteis, como o fórmico, acético e butírico, caracterizando um aroma vulgarmente designado como aroma de geladeira (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Em casos extremos, os compostos nitrogenados

podem ser degradados a compostos de odor intenso, como amônia (NH_3), dimetilsulfeto ($\text{C}_2\text{H}_6\text{S}$) e diacetil ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$). A superfície da carne pode também se apresentar pegajosa, o que se atribui à síntese bacteriana de polissacarídeos, que formam uma camada na superfície do produto (ELLIS; GOODACRE, 2001).

Em condições anaeróbias, as principais alterações são a acidificação e a putrefação. Geralmente, a primeira resulta do acúmulo de ácidos orgânicos durante a degradação enzimática de moléculas complexas por bactérias. A putrefação é uma alteração decorrente de proteólise em condições anaeróbias, causada por espécies do gênero *Clostridium*, com produção de compostos de aroma desagradável, como ácido sulfídrico, putrescina, entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Deterioração de pescados

Após o abate, os pescados apresentam alto pH (geralmente acima de 6,0), propriedade que, aliada à presença de altos teores de aminoácidos livres, torna-os altamente suscetíveis a deterioração (GRAM; HUSS, 1996). A fração de N (nitrogênio) não proteico dos pescados compreende compostos nitrogenados hidrossolúveis de baixo peso molecular, como aminoácidos e nucleotídeos. A deterioração de pescados decorre, principalmente, da utilização microbiana desses compostos (GRAM; HUSS, 1996).

Em pescados, as primeiras alterações *post-mortem* são relacionadas a processos químicos e enzimáticos (autolíticos). A autólise resulta em várias alterações nos tecidos, incluindo *rigor mortis* e desintegração da estrutura muscular. A autólise de carboidratos, de nucleotídeos e de lipídios reduz a intensidade dos odores e dos sabores desejáveis, associados a pescados frescos.

Alguns pescados apresentam alto teor de lipídios, os quais geralmente possuem alto grau de insaturação, o que faz com que desenvolvam, também, rancidez derivada da oxidação de lipídios (LOUGOVOIS; KYRANA, 2005).

Embora muitas bactérias psicrotróficas, deterioradoras de pescados, sejam proteolíticas, as alterações químicas e autolíticas não são responsáveis pelos odores desagradáveis nem pelas alterações de

textura associados a peixe estragado. Tais alterações resultam de atividade microbiana, principalmente associada à redução de óxido de trimetilamina (TMAO) a trimetilamina (TMA), desaminação oxidativa de aminoácidos e peptídeos a amônia, liberação de ácidos graxos livres, degradação de proteínas e hidrólise de aminoácidos sulfurados a metil mercaptano, dimetilsulfeto e ácido sulfídrico (LOUGOVOIS; KYRANA, 2005). Ocorre ainda a produção de aminas, provenientes da descarboxilação de aminoácidos (GARCÍA-GARRIDO; LUQUE DE CASTRO, 1997).

O TMAO é produzido pela maioria das espécies marinhas de peixes e moluscos em seus processos metabólicos (VECIANA-NOGUES et al., 1996). Ao contrário do TMAO, que é inodoro, a TMA confere aroma desagradável, semelhante ao de amônia, sendo, assim, um indicador de deterioração (LOUGOVOIS; KYRANA, 2005).

Quando esgotados os substratos nitrogenados não proteicos, as bactérias passam a se alimentar de proteínas, o que resulta em amolecimento de tecidos e aumento da produção de compostos voláteis, acelerando a decomposição (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Embora muitas bactérias psicrotróficas – encontradas na deterioração de pescados – sejam proteolíticas, normalmente a proteólise só ocorre quando o processo de deterioração está bem avançado, e quando as alterações sensoriais já são facilmente perceptíveis (LOUGOVOIS; KYRANA, 2005).

É comum que haja um grupo específico de bactérias (os deterioradores específicos) cujo crescimento ultrapasse o dos demais e que cause a maior parte das alterações. No caso de pescados marinhos estocados sob refrigeração e aerobiose, *Pseudomonas* spp. e *Shewanella putrefaciens* são os típicos deterioradores específicos (PACQUIT et al., 2007), graças à sua natureza psicrotrófica e à capacidade de usar compostos nitrogenados não proteicos (LOUGOVOIS; KYRANA, 2005). No entanto, os deterioradores específicos não são os mesmos em todos os casos; há variações em função das condições climáticas e de estocagem, do tipo de pescado e das condições do local onde foi feita a pesca (TSIGARIDA et al., 2003).

Alguns metabólitos associados à deterioração podem ser usados como indicadores de qualidade. Para se determinar a qualidade dos pescados, as análises químicas são bem mais rápidas que as análises

microbiológicas; entretanto, para alguns compostos, as concentrações mensuráveis podem só estar presentes quando o produto está quase impróprio para consumo (GRAM; DALGAARD, 2002).

Referências

- ABEE, T.; WOUTERS, J. A. Microbial stress response in minimal processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 50, n. 1-2, p. 65-91, 1999.
- ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1997. 464 p.
- ALZAMORA, S. M. Fundamentos del método de conservación por factores combinados. In: MAUPOEY, P. F.; GRAU, A. A.; BOIX, A. C. (Ed.). **Aplicacion de factores combinados en la conservacion de alimentos**. Valencia: Universidade Politecnica de Valencia, Servicio de Publicaciones, 1994. p. 1-26.
- ALZAMORA, S. M.; TAPIA, M. S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J. The control of water activity. In: ZEUTHEN, P.; BOGH-SORENSEN, L. (Ed.). **Food preservation techniques**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. p. 126-153.
- BROWN, M. H.; BOOTH, I. R. Acidulants and low pH. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. (Ed.). **Food preservatives**. New York: AVI, 1991. p. 22-43.
- CHATTOPADHYAY, P. Freezing of foods: growth and survival of microorganisms. In: ROBINSON, R.; BATT, C. A.; PATEL, P. (Ed.). **Encyclopedia of food microbiology**. London, GB: Academic Press, 1999. p. 845-849.
- DE KIEVIT, T. R.; IGLEWSKI, B. H. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. **Infection and Immunity**, Washington, DC, v. 68, p. 4839-4849, 2000.
- DOGAN, B.; BOOR, K. J. Genetic diversity and spoilage potentials among *Pseudomonas* spp. Isolated from fluid milk products and dairy processing plants. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 69, n. 1, p. 130-138, 2003.
- ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 12, n. 11, p. 414-424, 2001.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiología dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

- FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos.** 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.
- GARCIA-GONZALEZ, L.; GEERAERT, A. H.; SPILIMBERGO, S.; ELST, K.; GINNEKEN, L. van; DEBEVERE, J.; IMPE, J. F. van; DEVLIEGHERE, F. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 117, n. 1, p. 1-28, 2007.
- GARCÍA-GARRIDO, J. A.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Determination of trimethylamine in fish by pervaporation and photometric detection. **The Analyst**, London, GB, v. 122, p. 663-666, 1997.
- GOFF, H. D.; GRIFFITHS, M. W. Major advances in fresh milk and milk products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1163-1173, 2006.
- GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria: problems and solutions. **Current Opinion in Biotechnology**, London, GB, v. 13, n. 3, p. 262-266, 2002.
- GRAM, L.; RAVN, L.; RASCH, M.; BRUHN, J. B.; CHRISTENSEN, A. B.; GIVSKOV, M. Food spoilage: interactions between food spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 78, n. 1-2, p. 79-97, 2002.
- GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbial spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 33, p. 121-137, 1996.
- GRANT, W. D. Life at low water activity. **Philosophical Transactions of the Royal Society – B: Biological Sciences**, London, GB, v. 359, p. 1249-1267, 2004.
- JAY, J. M.; VILAI, J. P.; HUGHES, M. E. Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7°C. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 81, p. 105-111, 2003.
- JAYAPRAKASHA, H. M.; JAYARAJ RAO, K.; LOKESH KUMAR, W. A. Studies on the influences of water activity (a_w) on the stability of foods: a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 34, n. 4, p. 273-285, 1997.
- JORGENSEN, L. V.; HUSS, H. H.; DALGAARD, P. The effect of biogenic amines production by single bacterial cultures and metabiosis on cold-smoked salmon. **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 89, p. 920-934, 2000.

KARPAS, Z.; TILMAN, B.; GDALEVSKY, R.; LORBER, A. Determination of volatile biogenic amines in muscle food products by ion mobility spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, NL, v. 463, n. 2, p. 155-163, 2002.

KEMPF, B.; BREMER, E. Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. **Archives of Microbiology**, New York, v. 170, p. 319-330, 1998.

KOUTSOUMANIS, K.; STAMATIOU, A.; SKANDAMIS, P.; NYCHAS, G. J. E. Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 72, n. 1, p. 124-134, 2006.

KRIST, K.A.; NICHOLS, D. S.; ROSS, T. Ecology of bacteria and fungi in foods: Influence of available water. In: ROBINSON, R.; BATT, C. A.; PATEL, P. (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. London, GB: Academic Press, 1999. p. 540-547.

LABADIE, J. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. **Meat Science**, Barking, v. 52, n. 3, p. 299-305, 1999.

LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n. 2, p. 41-46, 1995.

LEWICKI, P. P. Data and models of water activity. II. Solid foods. In: RAHMAN, M. S. (Ed.). **Food properties handbook**. 2. ed. Boca Raton: CRC, 2009. p. 67-151.

LOUGOVOIS, V. P.; KYRANA, V.R. Freshness quality and spoilage of chill-stored fish. In: RILEY, A. P. (Ed.). **Food policy, control and research**. Hauppauge: Nova Publishers, 2005. p. 35-86.

MUNDO, M. A.; PADILLA-ZAKOUR, O. I.; WOROBO, R. W. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by selected raw honeys. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 97, n. 1, p. 1-8, 2004.

NYCHAS, G. J.; SKANDAMIS, P. N.; TASSOU, C. C.; KOUTSOUMANIS, K. P. Meat spoilage during distribution. **Meat Science**, Barking, v. 78, n. 1-2, p. 77-89, 2008.

ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y. Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging. **Food Chemistry**, Barking, v. 99, n. 3, p. 574-578, 2006.

ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y.; KULEY, E. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4°C). **Food Chemistry**, Barking, v. 108, n. 3, p. 933-941, 2008.

PACQUIT, A.; FRISBY, J.; DIAMOND, D.; LAU, K. T.; FARRELL, A.; QUILTY, B.; DIAMOND, D. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. **Food Chemistry**, Barking, v. 102, n. 2, p. 466-470, 2007.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food science**. 5. ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 608 p.

ROBERTSON, G. L. Food quality and indices of failure. In: ROBERTSON, G. L. (Ed.). **Food packaging and shelf life**: a practical guide. Boca Raton: CRC, 2009. p. 17-30.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M.; NOVAK, J. S. Quorum sensing: a primer for food microbiologists. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 67, p. 1053-1070, 2004.

TANIWAKI, M. H.; HOCKING, A. D.; PITTE, J. I.; FLEET, G. H. Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 132, n. 2-3, p. 100-108, 2009.

TODAR, K. **Todar's online textbook of bacteriology**. Disponível em: <<http://www.textbookofbacteriology.net>>. Acesso em: 22 jul. 2002.

TROLLER, J. A. Influence of water activity on microorganisms in foods. **Food Technology**, Nurnberg, v. 44, n. 5, p. 76-82, 1980.

TSIGARIDA, E.; BOZIARIS, I.; NYCHAS, G. J. Bacterial synergism or antagonism in a gel cassette system. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 69, n. 12, p. 7204-7209, 2003.

VECIANA-NOGUES, M. T.; ALBALA-HURTADO, M. S.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL-CAROU, M. C. Validation of a gas-chromatographic method for volatile amine determination in fish samples. **Food Chemistry**, Barking, v. 57, n. 4, p. 569-573, 1996.

Capítulo 2

Alterações químicas em alimentos durante a estocagem

*Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Edy Sousa de Brito
Deborah dos Santos Garruti*

Introdução

Durante a estocagem de alimentos, as alterações químicas indesejáveis em alguns produtos englobam (TAOUKIS; LABUZA, 1996):

- Degradação de sabor, cor e textura.
- Deterioração de propriedades funcionais de compostos, como perda da capacidade de retenção de água por aquecimento de proteínas.
- Perda de valor nutricional.
- Desenvolvimento de compostos tóxicos.

Neste capítulo, são descritas as principais alterações químicas que ocorrem em alimentos durante a estocagem. A oxidação de lipídios é uma das alterações mais importantes em alimentos, pois compromete não apenas a qualidade de óleos, mas também de leite e derivados, de carnes, entre outros tipos de alimentos. Entre as alterações catalisadas por enzimas, destaca-se o escurecimento enzimático, muito comum durante a estocagem de certas frutas e hortaliças.

Por sua vez, o escurecimento não enzimático (reação de Maillard) é mais significativo durante o processamento, embora possa também ocorrer durante a estocagem. Outras alterações englobam degradação de pigmentos, que podem prejudicar a aceitação do produto, e a degradação de vitaminas, que reduz o valor nutricional dos alimentos.

Oxidação de lipídios

A oxidação é a alteração mais relevante em óleos e uma das principais causas de deterioração de alimentos. É uma série complexa de reações que afeta, profundamente, a qualidade de óleos, levando ao desenvolvimento de uma alteração sensorial conhecida como rancidez oxidativa, que frequentemente resulta em rejeição do produto. Os dois mecanismos principais de oxidação de lipídios são a auto-oxidação e a foto-oxidação.

Auto-oxidação

A auto-oxidação é um mecanismo autocatalítico que envolve a participação de radicais livres, ocorrendo em três etapas básicas (MISTRY; MIN, 1992), mostradas na Figura 1:

Indução	RH	→	R [•]
Propagação	R [•] + O ₂	→	ROO [•]
	ROO [•] + RH	→	ROOH + R [•]
Terminação	R [•] + R [•]	→	Não radicais
	R [•] + ROO [•]	→	Não radicais
	ROO [•] + ROO [•]	→	Não radicais

Figura 1. Etapas da auto-oxidação de lipídios.

Fonte: Mistry e Min (1992).

Indução – Quebra de ligações covalentes de ácidos graxos (RH), e resultante formação de radicais livres (R[•]), compostos altamente instáveis e reativos, contendo um elétron desemparelhado. A indução é promovida pelos chamados iniciadores, como calor, luz ou metais de transição com dois ou mais números de oxidação, como Cu (cobre) e Fe (ferro).

Propagação – Reações entre radicais R[•] e oxigênio (O₂), com formação de radicais peróxido (ROO[•]), que sequestram átomos de hidrogênio vizinhos a insaturações de outras moléculas, produzindo hidroperóxidos (ROOH) e novos radicais R[•], que por sua vez reagem com O₂, e, assim, se estabelece uma sequência de reações em cadeia.

Terminação – Reações de adição dos radicais livres entre si, com formação de compostos não radicais, estáveis.

Os hidroperóxidos – produtos primários da oxidação de lipídios – são rapidamente degradados, e os produtos voláteis de sua degradação (produtos secundários da oxidação), como aldeídos, cetonas e álcoois, são os responsáveis pelo desenvolvimento da rancidez oxidativa (NAWAR, 1985). Muitos desses produtos, especialmente os de cadeia curta, têm limiares de percepção muito baixos, tornando o produto

inaceitável, mesmo em baixíssimas concentrações. Por exemplo, o hexanal é perceptível em óleos, num nível de apenas 150 µg/kg em óleo e 4,5 µg/kg em água (SHAHIDI; PEGG, 1994).

Foto-oxidação

A foto-oxidação é um mecanismo que envolve a adição direta de O (oxigênio) em seu estado singlete, altamente reativo, à molécula lipídica. Não envolve a participação de radicais livres. Requer a presença de O_2 , luz e compostos fotossensibilizadores, que são substâncias cromóforas, como clorofila e compostos heme, os quais absorvem intensamente na região do visível ou UV próximo (WONG, 1989).

A molécula de O_2 pode existir no estado fundamental, no triplete (3O_2), ou no estado singlete (1O_2), mostrados na Figura 2.



Figura 2. Configurações eletrônicas dos últimos orbitais dos estados do O_2 .

Fonte: Wong (1989).

O estado triplete tem dois elétrons desemparelhados com *spins* paralelos. Em presença de luz, os fotossensibilizadores absorvem energia radiante e a transferem para o estado triplete, convertendo-o em singlete, que por ter um orbital desocupado, é muito eletrofílico, tendo alta afinidade por regiões de alta densidade eletrônica, como ligações duplas entre carbonos. Segundo Wong (1989), o 1O_2 é cerca de 1.500 vezes mais reativo que o 3O_2 com ligações C=C.

A foto-oxidação ocorre a partir de uma reação ene, conforme mostra a Figura 3. Esse processo consiste na adição direta de 1O_2 a um carbono participante de dupla ligação, com alteração na posição da dupla e produção de um hidroperóxido na configuração *trans* (WONG, 1989).

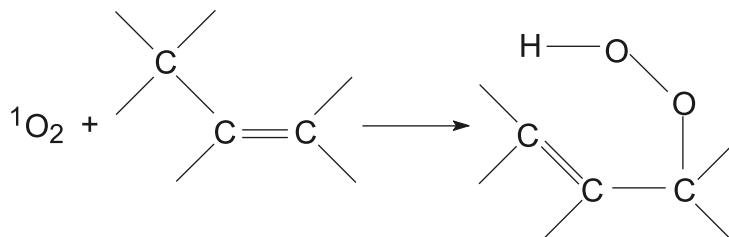


Figura 3. Reação ene do O_2 singlete.

Fonte: Carlsson et al. (1976).

Ao contrário da auto-oxidação, a foto-oxidação não envolve radicais livres e não mostra um período de indução mensurável. É inibida por inativadores de 1O_2 , como o β -caroteno, mas não é afetada por antioxidantes primários (MISTRY; MIN, 1992; WONG, 1989).

Fatores que afetam as taxas de oxidação

São vários os fatores que afetam as taxas de oxidação de alimentos ricos em lipídios. Entre os fatores intrínsecos, destacam-se o grau de insaturação dos lipídios e o teor de compostos pró e antioxidantes. Entre os fatores extrínsecos, merecem destaque a temperatura, as radiações luminosas (especialmente UV) e o O_2 .

Grau de insaturação dos lipídios

O grau de insaturação dos lipídios é o fator mais importante relativo ao substrato da oxidação. O ácido linoleico, com duas insaturações, apresenta taxas de oxidação 12 vezes maiores que o oleico (uma insaturação), enquanto o linoleico, com três insaturações, oxida-se 25 vezes mais rapidamente que o oleico (MIN; BOFF, 2001).

Assim, os óleos com altos teores de insaturação, como os óleos vegetais e os óleos de origem marinha, são mais suscetíveis à oxidação do que as gorduras animais em geral, que apresentam baixo teor de insaturação. Além disso, as ligações duplas conjugadas são mais reativas que as não conjugadas.

Teor de compostos pró e antioxidantes

Os metais de transição (com dois ou mais números de oxidação) reduzem o período de indução, podendo ter ação pró-oxidante a concentrações da ordem de 0,1 mg/kg. Mesmo os óleos cuidadosamente purificados contêm traços de metais, na faixa de 0,02 mg/kg a 0,2 mg/kg (POKORNÝ, 1987).

O efeito primário dos metais é o de aumentar a taxa de geração de radicais livres. Os metais podem ainda promover oxidação de produtos secundários da reação, como, por exemplo, oxidação de álcoóis primários a aldeídos, de álcoóis secundários a cetonas, de aldeídos a ácidos. Podem, também, oxidar compostos fenólicos com capacidade antioxidante a quinonas, inativando-os (POKORNÝ, 1987).

Vários compostos, como o ácido cítrico e o ácido etilenodiamina tetracético (EDTA), atuam como quelantes de metais, retardando a auto-oxidação.

Nota: os tipos e mecanismos de ação dos antioxidantes serão abordados posteriormente.

Atividade de água

A variação das taxas de oxidação – em função da atividade de água – é complexa. Para valores de baixa A_a , a oxidação é rápida, pois os ácidos graxos estão muito expostos ao O_2 ; para valores de A_a na faixa de 0,3 a 0,5, a taxa apresenta um valor mínimo. Para essa redução, um mecanismo proposto por Karel (1985) é a hidratação de íons metálicos, prevenindo sua atuação como catalisadores da reação.

Após essa faixa, a taxa de oxidação volta a aumentar, o que pode ser, ao menos parcialmente, atribuído ao aumento da mobilidade de metais (TROLLER, 1989). A água pode, ainda, favorecer a hidrólise de triglicerídios, formando ácidos graxos livres, mais oxidáveis que os triglicerídios.

Níveis de oxigênio

Como o O_2 (oxigênio atmosférico) participa da oxidação como reagente, dentro da embalagem, seus níveis afetam, diretamente, a taxa

de oxidação. Se o produto for acondicionado numa embalagem hermeticamente fechada, confeccionada com material impermeável ao O₂, como é o caso das embalagens metálicas, o teor residual de O₂ será o fator limitante da reação.

Assim, a quantidade de O₂ disponível para reagir será finita e, independentemente da taxa de oxidação, a reação não continuará após a exaustão do O₂, tendo assim a reação um comportamento de primeira ordem. Por sua vez, se o produto for acondicionado em embalagem permeável ao O₂, como é o caso das embalagens de plástico, a disponibilidade de O₂ para a reação não será um fator limitante, e a reação apresentará um comportamento de ordem 0 (zero) (ver Capítulo 4).

Radiações luminosas

As radiações luminosas, sejam naturais ou artificiais, catalisam reações fotoquímicas em alimentos, principalmente reações de oxidação. Quando o alimento é exposto à luz, a fase de indução é acelerada. A energia luminosa é inversamente relacionada ao comprimento de onda (Equação 1).

$$\varepsilon = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

em que:

ε = energia radiante.

h = constante de Planck ($6,63 \times 10^{-27}$ erg x s).

c = velocidade da luz no vácuo (3×10^8 m/s).

λ = comprimento de onda da radiação.

Assim, quanto menor o comprimento de onda, maior a energia da radiação. A luz visível abrange a faixa de comprimentos de onda de 380 nm a 700 nm, e a radiação ultravioleta (UV), de 200 nm a 380 nm. Assim, a radiação UV tem maior energia radiante que a luz visível, exercendo maior efeito sobre as reações de fotodegradação (FARIA, 1991).

O espectro de emissão da luz solar é amplo e rico, tanto em radiações da região do UV quanto do visível. A luz emitida por lâmpadas fluorescentes é mais pobre em energia e menos prejudicial aos alimentos.

A sensibilidade de um alimento à luz depende de fatores como tempo de exposição, intensidade de luz (relacionada à distância e ao ângulo entre o alimento e a fonte luminosa), comprimento de onda, composição química do alimento, espectro de transmissão da embalagem, e níveis de fotossensibilizadores (GRAVANI, 1986).

Temperatura

A temperatura exerce um efeito enorme sobre as taxas de oxidação. Assim, aumentando-se a temperatura para 10 °C, duplica-se a taxa de oxidação, ou seja, o O_{10} (ver Capítulo 4) da oxidação é aproximadamente 2 (BUCK, 1991).

Formas de controle da oxidação de lipídios

Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos que reduzem a taxa de reação de materiais auto-oxidáveis. A auto-oxidação pode ser retardada pelo uso de antioxidantes primários, cujo mecanismo de ação baseia-se em competição com o substrato (POKORNÝ, 1987):



em que:

RO^\bullet , ROO^\bullet = radicais livres.

AH = antioxidante.

A^\bullet = radical livre de antioxidante.

Os antioxidantes primários, mais usados, são compostos fenólicos, como o butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxianisol (BHA) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ). Essa classe de compostos destaca-se pela alta tendência em doar elétrons ou prótons e pela relativa estabilidade de seus radicais. Geralmente, os radicais livres de antioxidantes (A^\bullet) são inativados por combinação entre si ou com outros radicais (POKORNÝ, 1987).

A oxidação de lipídios pode ser ainda inibida por antioxidantes secundários (ou preventivos), como quelantes de metais e inativadores

de ${}^1\text{O}_2$. Os quelantes de metais são compostos capazes de se ligarem a traços de metais que possam atuar como pró-oxidantes, reduzindo, assim, as taxas de auto-oxidação. Exemplos disso são o ácido cítrico (o mais usado), EDTA e o ácido fosfórico (CHAIYASIT et al., 2007). Os inativadores (*quenchers*) de ${}^1\text{O}_2$ (como β -caroteno e α -tocoferol) dissipam o excesso de energia do ${}^1\text{O}_2$, convertendo-o novamente a ${}^3\text{O}_2$, reduzindo as taxas de foto-oxidação.

Os tocoferóis, antioxidantes naturais amplamente presentes em óleos vegetais, podem atuar como inativadores de ${}^1\text{O}_2$ ou como antioxidantes primários. Um teor relativamente alto de tocoferóis é mantido no óleo após o processamento, muitas vezes em teores suficientes para exercer ação antioxidante efetiva. A efetividade antioxidante dos tocoferóis é máxima a baixos níveis, aproximadamente os mesmos presentes em óleos (NAWAR, 1985).

É importante destacar que os antioxidantes não aumentam a estabilidade de óleos já oxidados, ou seja, não revertem a oxidação. São apenas coadjuvantes para aumentar a estabilidade do sistema, sendo pouco eficientes, por exemplo, em produtos acondicionados em sistemas de embalagens inadequados (FARIA, 1994).

Embalagem de alta barreira a oxigênio e luz

O uso de embalagem de baixa permeabilidade a O_2 e luz é uma forma eficaz de se evitar o acesso desses fatores extrínsecos ao alimento, minimizando, com isso, as reações oxidativas. Assim, para reduzir a oxidação, as embalagens mais adequadas são as metálicas.

Entretanto, para várias categorias de alimentos, as embalagens metálicas têm sido crescentemente substituídas por embalagens de plástico, graças ao seu forte apelo mercadológico, que pode ser atribuído a fatores como transparência, leveza, versatilidade de dimensões e de formatos.

Uma forma de aumentar a barreira à luz em embalagens plásticas, mantendo sua transparência, é usar absorvedores de radiação UV, substâncias praticamente incolores, que podem ser adicionadas ao material de embalagem (COLTRO; BORGHETTI, 2007).

Os absorvedores de UV mais usados pertencem às classes químicas das benzofenonas e dos benzotriazóis. Esses compostos

dissipam a energia absorvida por meio de um mecanismo que envolve um rearranjo reversível (tautomeria cetoenólica) de um anel que possui ligações de hidrogênio intramoleculares, como mostra a Figura 4.

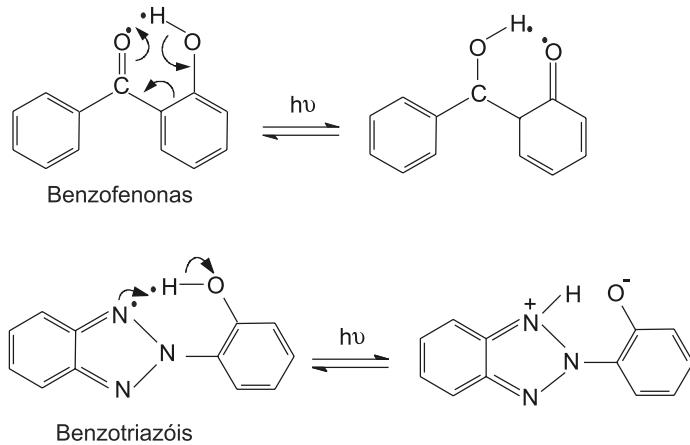


Figura 4. Mecanismos de rearranjo das moléculas dos absorvedores de UV.

Fonte: Scully e Ghiggino (1995).

Uma alta barreira a O_2 pode ser obtida por meio de acondicionamento a vácuo, que só é tecnicamente viável se a embalagem não for colapsável, como as garrafas plásticas (FARIA, 1991). Uma alternativa ao uso de vácuo é a inertização, que consiste na substituição do ar existente no interior da embalagem por um gás inerte, geralmente N_2 . Além de reduzir as taxas de oxidação do produto, tal processo aumenta a resistência mecânica da embalagem, evitando a colapsagem, que pode ocorrer devido ao consumo do O_2 contido no espaço livre.

Reação de Maillard

Essa reação consiste numa série de reações iniciadas pela condensação entre um grupo amino e um açúcar redutor. A reação continua por uma série de reações consecutivas e paralelas, incluindo oxidação, redução e condensação (MANZOCCO; MALTINI, 1999). Como resultado das reações de condensação, ocorre a formação de moléculas de

água. Entre os vários produtos finais, destacam-se pigmentos marrons insolúveis de pesos moleculares e teores de N (nitrogênio) variáveis, conhecidos em conjunto como melanoidinas (CHEMSOC, 2002).

Muitas vezes, a reação é desejável, como na torrefação de café e de cacau, e na formação de crostas em produtos de panificação. Além da formação de melanoidinas, ocorre a formação de compostos voláteis que contribuem para o aroma de muitos alimentos (CHEMSOC, 2002). Por sua vez, há consequências negativas, como a formação de compostos amargos e a redução do valor nutricional resultante de perdas de certos aminoácidos, como a lisina. Existem ainda evidências da formação de compostos tóxicos (MARTINS et al., 2000).

A reação é afetada pelo pH do alimento. A forma aberta da cadeia do açúcar e a forma não protonada do grupo amino, consideradas as formas reativas, são favorecidas por alto pH. Assim, as taxas de reação tendem a aumentar com o pH, sendo que a reação é inibida a valores de pH abaixo de 5,0 (MARTINS et al., 2000).

A reação de Maillard ocorre, principalmente, durante o processamento térmico de alimentos que contenham aminoácidos e açúcares redutores, mas pode também ocorrer durante a estocagem, sendo mais significativa em alimentos de umidade intermediária, que têm sua A_{d} situada na faixa de 0,5 a 0,8 (UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA, 2002). Algumas formas de controle da reação de Maillard são as seguintes:

- Controle da atividade de água em produtos desidratados.
- Tratamento com glicose-oxidase para reduzir o teor de glicose.
- Acondicionamento em embalagens com absorvedores de O_2 .
- Refrigeração.
- Adição de sulfitos.

Alterações enzimáticas

Os organismos vegetais e animais possuem seus próprios mecanismos enzimáticos, cuja atividade resiste à colheita ou abate. Muitas dessas enzimas são inativadas pelo processamento ou permanecem inativas devido a condições inadequadas de pH, atividade de água ou

temperatura de estocagem. Entretanto, algumas enzimas permanecem ativas mesmo após o processamento, acarretando consequências como:

- Escurecimento resultante da oxidação de compostos fenólicos em tecidos vegetais.
- Desmetilação pós-colheita de substâncias pécticas, resultando no amolecimento de tecidos vegetais durante o amadurecimento (DAUTHY, 2002).
- Hidrólise enzimática de triglicerídeos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, responsáveis pela chamada rancidez hidrolítica.

A menos que as enzimas sejam inativadas por calor, radiação, compostos químicos ou outros meios, elas mantêm sua atividade durante o período de estocagem, catalisando reações químicas em alimentos. Algumas reações (como as relacionadas ao amadurecimento de frutas) são desejáveis até certo ponto; no entanto, a continuação do processo passa a caracterizar deterioração (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Fatores que afetam as taxas de alterações enzimáticas

pH

A ação de enzimas ocorre em limites estreitos de pH, cada enzima tendo sua faixa de pH de ótima atividade, acima ou abaixo da qual a atividade diminui ou cessa (TAOUKIS; LABUZA, 1996).

Temperatura

A atividade enzimática aumenta com o aumento da temperatura, até um valor ótimo, a partir do qual as enzimas são inativadas. Em alimentos, as alterações enzimáticas podem ser minimizadas por tratamentos térmicos que inativem as enzimas. Entretanto, muitos alimentos contêm enzimas em atividade, que podem causar descoloração, mudanças na textura e no sabor, rancidez, entre outras alterações.

Para qualquer alimento contendo enzimas ativas, uma medida de proteção consiste em reduzir a temperatura de armazenagem, proteger contra ganho de umidade e contra o contato com O₂ (no caso de produtos que contenham lipoxigenase e fenoloxidase ou PPO).

Atividade de água

A água promove a reatividade enzimática de várias formas, destacando-se o aumento da mobilidade de enzimas, a estabilização da estrutura e configuração enzimáticas, além da função de reagente em reações de hidrólise (TROLLER, 1989). Genericamente, pode-se dizer que as enzimas mais importantes em alimentos (amilases, fenoloxidases, peroxidases) são completamente inativas a A_a inferior a 0,85. Exceção deve ser feita às lipases, que permanecem ativas a valores baixíssimos de A_a (até mesmo 0,1).

Formas de controle de alterações enzimáticas

Para aumentar a estabilidade de alimentos durante a estocagem, sua atividade enzimática deve ser inibida durante o processamento. Geralmente, a inativação enzimática é feita por meio de calor, usando-se, muitas vezes, também, SO_2 ou sulfitos. O controle de reações enzimáticas pode ser feito ainda por meio de redução do pH abaixo da faixa ótima de atuação da enzima cuja atividade se pretende inibir.

Escurecimento enzimático

O escurecimento enzimático é a reação responsável pelo escurecimento de muitos produtos vegetais (ex: banana, maçã, batata) e de alguns crustáceos (camarão e lagosta). A reação, mostrada na Figura 5, consiste na hidroxilação de compostos fenólicos a *o*-difenóis, posteriormente oxidados a *o*-quinonas, em presença de O_2 e de polifenoloxidase (PPO), uma enzima que contém cobre em seu sítio ativo, presente na maioria dos vegetais. Por sua vez, as quinonas condensam-se e reagem com outros compostos, como aminoácidos ou compostos fenólicos, para produzir polímeros escuros.

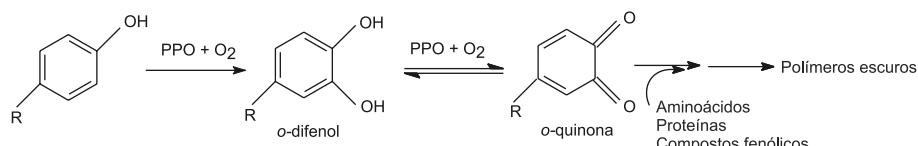


Figura 5. Mecanismo químico do escurecimento enzimático.

Fonte: Martinez e Whitaker (1995).

A PPO atua numa faixa ótima de pH de 5 a 7, podendo ser irreversivelmente inativada a pH menor que 3 (MARTINEZ; WHITAKER, 1995). A enzima é relativamente termolábil, e pode ser inibida por ácidos, haletos, sulfitos, agentes quelantes e redutores (HE et al., 2008). Os fatores mais importantes que determinam a taxa de escurecimento enzimático são:

- As concentrações da enzima e de substratos (compostos fenólicos).
- O pH.
- A temperatura.
- A disponibilidade de O_2 .

Durante o processamento ou estocagem, existem várias formas de controlar o escurecimento enzimático, aumentando, assim, a vida de prateleira de produtos que sofrem essa alteração. Algumas das formas de controle são as seguintes (MARTINEZ; WHITAKER, 1995):

- Prevenção de injúrias mecânicas (lesões) durante o transporte e a estocagem de frutas e hortaliças frescas, para prevenir o acesso do O_2 aos tecidos.
- Inativação térmica da PPO a temperaturas acima de 50 °C. A desvantagem desse método é a produção de alterações indesejáveis na cor, no sabor e na textura do produto.
- Complexação de polifenóis, por adição de ciclodextrinas ou polietilenoglicol.
- Uso de inibidores de PPO, especialmente ácido benzoico e derivados.
- Ajuste do pH por adição de ácidos, especialmente cítrico, málico ou fumárico, até um valor de $pH \leq 4$. Abaixo desse pH, a atividade da PPO diminui, em decorrência do afrouxamento da ligação do cobre (Cu) ao sítio ativo da enzima, permitindo que quelantes, como o ácido cítrico, removam esse elemento. No entanto, o grau de redução do pH deve ser avaliado, considerando-se possíveis impactos negativos sobre a aceitação do produto.

- Controle do O₂ do sistema, o que pode ser feito com o uso de embalagens de alta barreira a gases, por acondicionamento a vácuo ou sob atmosfera de N₂ ou CO₂.
- Uso de compostos redutores, especialmente sulfitos, para reduzir as benzoquinonas a o-dihidroxifenóis. O uso de sulfitos é considerado o método mais efetivo no controle da reação. Alternativamente, pode-se usar ácido ascórbico, também efetivo em reduzir quinonas.

Degradação de pigmentos

A cor determina a vida útil de muitos alimentos, já que afeta muito a aceitação do produto pelo consumidor, exercendo, assim, importante papel mercadológico. Muitas vezes, a manutenção da cor natural de alimentos representa certa dificuldade, já que o processamento e a estocagem do produto frequentemente resultam em degradação, e consequente mudança de coloração dos pigmentos.

Embora mais baratos e bem mais estáveis quimicamente, os corantes sintéticos têm recebido grande resistência por parte dos consumidores, cada vez mais preocupados em abolir compostos artificiais de sua dieta. Assim, a indústria de alimentos tem se deparado com a necessidade crescente da substituição de corantes sintéticos por corantes naturais.

Entretanto, essa substituição encontra alguns obstáculos, como alto custo e falta de fontes abundantes, além da alta suscetibilidade desses compostos à degradação química (BOBBIO; BOBBIO, 2001). Os compostos de cor podem ser classificados em dois grupos principais:

- Aqueles cujo cromóforo é constituído por sistemas conjugados.
- As porfirinas coordenadas a metais.

O primeiro grupo inclui os carotenoides, as antocianinas, as betalínas e os caramelos. O segundo engloba as mioglobinas e as clorofilas (WONG, 1989).

Antocianinas

As antocianinas constituem-se numa classe de pigmentos amplamente distribuídos em plantas e são responsáveis por colorações que variam do vermelho ao azul, passando por todas as cores intermediárias (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1984). São glicosídeos das antocianidinas, cuja estrutura básica é o cátion *flavilium* (Figura 6).

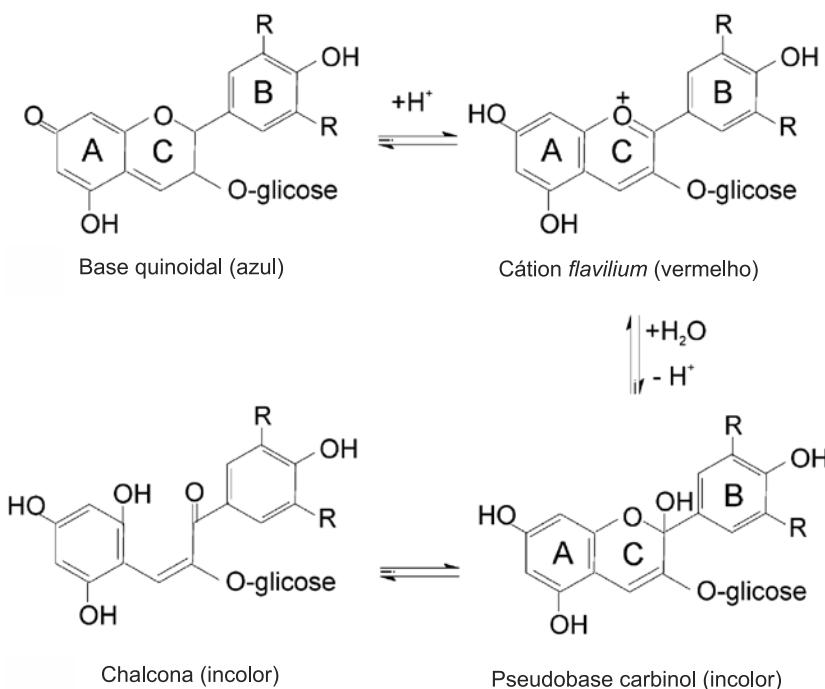


Figura 6. Alterações de estrutura e da cor de uma antocianina em função do pH.
Fonte: University of British Columbia (2003).

São pigmentos muito instáveis depois de extraídos de suas fontes. Sua estabilidade é altamente dependente do pH (Figura 6), sendo mais estáveis a baixo pH. A perda gradativa da cor vermelha com o aumento do pH deriva de um equilíbrio entre duas formas da antocianina: o cátion *flavilium* (vermelho), e a pseudo-base carbinol (incolor), que é a forma hidratada do pigmento.

As antocianinas tornam-se quase incolores a pH em torno de 4 a 5, sendo essa perda de cor reversível por acidificação. Embora essas duas formas respondam pela maior parte das antocianinas em solução, existem ainda duas espécies adicionais – a base quinoidal (azul) e a chalcona (incolor) – que ocorrem em baixas quantidades, independentemente do pH.

Embora as antocianinas apresentem-se incolores ou fracamente coloridas quando em pH de baixa acidez (WESCHE-EBELING; ARGAIZ-JAMET, 2002), grande parte dos vegetais com esses pigmentos enquadra-se nessa faixa de pH, e ainda assim as antocianinas permanecem coloridas enquanto os tecidos estão intactos, indicando a existência de algum mecanismo para estabilizá-las.

Alguns estudos (DAVIES; MAZZA, 1993; MAZZA; BROUILLARD, 1990) indicam que o principal mecanismo de estabilização de cor seja a copigmentação, um fenômeno no qual pigmentos e os chamados copigmentos (que podem ser compostos orgânicos incolores ou íons metálicos) formam associações moleculares, gerando alteração na intensidade de cor (BOULTON, 2001).

Os copigmentos são sistemas ricos em elétrons π , com alta afinidade por íons *flavilium*, pobres em elétrons. Tal associação protege as antocianinas de ataques nucleofílicos (MATSUFUJI et al., 2003). Embora os copigmentos geralmente sejam incolores, sua interação com as antocianinas produz efeito hipocrômico e deslocamento batocrômico no espectro de absorção. Os copigmentos podem ser flavonoides, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgânicos, nucleotídeos, polissacarídeos, metais, ou outras antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

A estabilidade das antocianinas é influenciada pelos grupos substituintes do anel B (Figura 7) e pela presença de grupos adicionais como hidroxila ou metoxila, que reduzem a estabilidade da aglicona, em meio neutro (FLESCHHUT et al., 2006). A natureza e o número de açúcares ligados às moléculas, assim como dos ácidos ligados aos açúcares, têm grande efeito sobre a estabilidade dos pigmentos (MAZZA; MINIATI, 1993). Comparados às agliconas, os monoglicosídeos e, principalmente, os diglicosídeos, são mais estáveis.

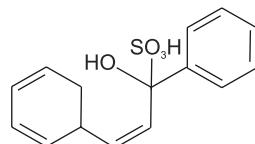


Figura 7. Ácido flaven-4-sulfônico, produto da interação de antocianinas com SO_2 .

Fonte: University of British Columbia (2003).

Esse comportamento se explica pelo fato de as moléculas de açúcar evitarem a degradação de intermediários instáveis (FLESCHHUT et al., 2006). A presença de resíduos de açúcares acilados promove ainda maior estabilidade, prevenindo reações de hidratação (GIUSTI; WROLSTAD, 1996).

Qualquer fator que interrompa o sistema de duplas ligações conjugadas das antocianinas causa perda de cor. Por exemplo, a reação com dióxido de enxofre (SO_2) produz um complexo incolor (ácido flaven-4-sulfônico), como mostra a Figura 7; a reação pode ser revertida em pH baixo.

A presença de ácido ascórbico (AA) tem impacto negativo sobre a estabilidade das antocianinas, levando à sua mútua degradação (BRENES et al., 2005). Segundo Iacobucci e Sweeny (1983), a perda de cor ocorre devido à clivagem oxidativa do anel *pirilium* por um mecanismo de radicais livres.

De Rosso e Mercadante (2007) apontaram evidências de que a reação de condensação é o mecanismo principal de degradação, com menor contribuição do mecanismo de radicais livres. Ainda segundo esses autores, a degradação pelo AA é a principal causa da baixa estabilidade de antocianinas de acerola.

As antocianinas podem ser degradadas pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (ÖZKAN et al., 2004), especialmente em presença de AA (ÖZKAN et al., 2005). O H_2O_2 é usado, frequentemente, no processo de assepsia de embalagens, podendo deixar resíduos no material de

embalagem e entrar em contato com o produto acondicionado (HSU et al., 2008). Além disso, pode ser gerado pela degradação aeróbia de AA (DAVÍDEK et al., 1990).

A variedade de cores encontrada em flores pode ser explicada pela formação de quelatos entre as antocianinas e diferentes íons metálicos (CLIFFORD, 2000). Segundo Castañeda-Ovando et al. (2009), essas interações constituem alternativas interessantes para variar e estabilizar a cor das antocianinas, desde que os metais envolvidos não sejam tóxicos, e principalmente se forem parte dos minerais essenciais numa dieta.

Por sua vez, as antocianinas podem sofrer degradação durante a estocagem, pela presença de alguns metais, como Fe^{+3} e Al^{+3} , que formam complexos escuros com os pigmentos, prejudicando a aceitação do produto (SCAMAN, 2002). Assim, embalagens metálicas, usadas para acondicionar produtos ricos em antocianinas, devem ser revestidas com vernizes, minimizando esse tipo de interação.

Carotenoides

Os carotenoides constituem-se num dos grupos de pigmentos mais abundantes na natureza, responsáveis por colorações que vão do amarelo ao vermelho. A cor é conferida por um cromóforo, que consiste numa cadeia de ligações duplas conjugadas, cuja coloração se intensifica à medida que o número de duplas conjugadas aumenta.

Além de sua função como corantes, alguns carotenoides, como o β -caroteno, atuam também como precursores de vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1984). O consumo de alimentos – com altos teores de carotenoides – tem sido recomendado ainda em razão de evidências epidemiológicas de que alimentos ricos em carotenoides reduzem a incidência de câncer (CRAMER et al., 2001; MAOKA et al., 2001).

Entretanto, os carotenoides se degradam facilmente. Sua estabilidade depende de uma série de fatores, como temperatura, disponibilidade de O_2 , transmissão de luz do material de embalagem, A_{α} , entre outros. Por seu alto teor de insaturação, os carotenoides são muito

suscetíveis à isomerização e à oxidação, que resultam em perda de cor e da atividade de pró-vitamina A.

Geralmente, sua degradação é acompanhada por isomerização da forma *trans* para *cis*, favorecida por exposição à luz, ácidos ou calor (LIN; CHEN, 2005; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1984; WONG, 1989). A partir do β -caroteno, podem-se formar vários isômeros *cis*, como 9-, 13- e 15-*cis*- β -caroteno.

A Figura 8 mostra um esquema da isomerização do β -caroteno a 15-*cis*- β -caroteno. Os isômeros *cis* absorvem luz a menores comprimentos de onda que os correspondentes *trans*, que apresentam menor intensidade de coloração (WONG, 1989).

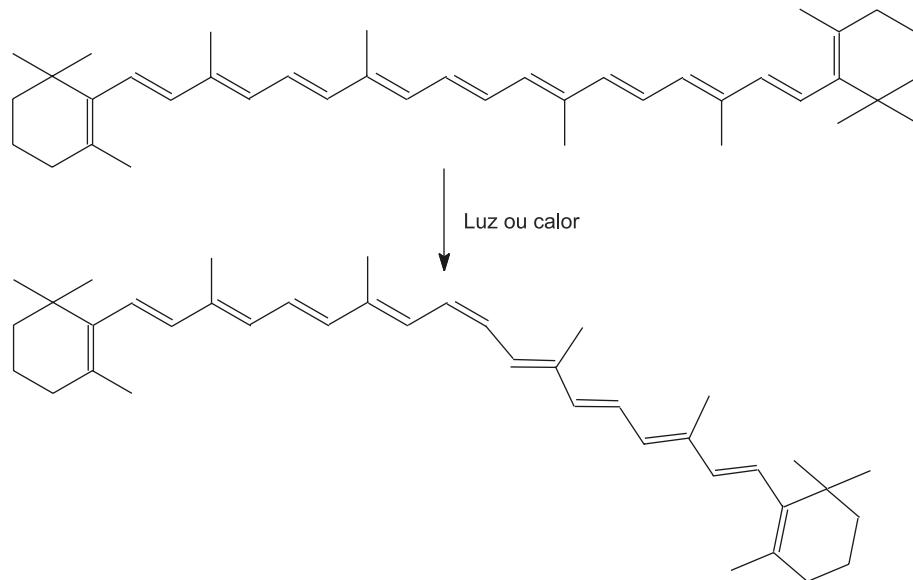


Figura 8. Isomerização do β -caroteno.

Fonte: Rodriguez-Amaya (1999).

Tanto os isômeros *cis* quanto os *trans* podem sofrer oxidação, cujo estádio inicial envolve formação de epoxicarotenoides e apocarotenais. Entretanto, o mecanismo completo da degradação de carotenoides é ainda pouco conhecido, sabendo-se que resulta em formação de compostos de baixo peso molecular (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). A Figura 9

mostra exemplos de um epóxido e de um apocarotenal produzidos a partir do β -caroteno.

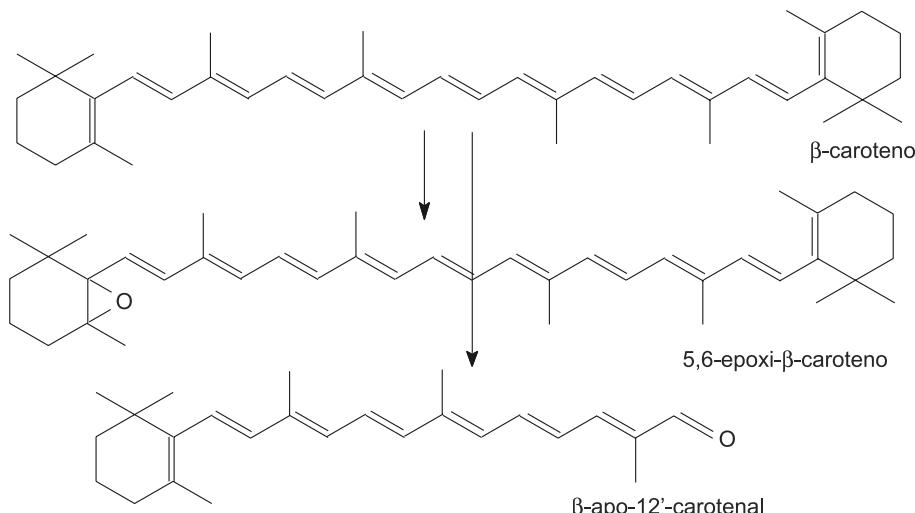


Figura 9. Formação de epoxicarotenoides e de apocarotenais a partir do β -caroteno.

Fonte: Wong (1989) e Rodriguez-Amaya (1999).

Entre as várias formas de alimentos processados, os produtos desidratados são mais propensos à degradação de carotenoides durante a estocagem, em decorrência do aumento da área superficial. No caso de produtos liofilizados, estes apresentam mais porosidade (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Entretanto, Lavelli et al. (2007) afirmam que a faixa de A_a de maior estabilidade de carotenoides é de 0,31 a 0,54.

Betalaínas

Betalaínas são pigmentos nitrogenados hidrossolúveis, sintetizados a partir do aminoácido tirosina, e divididos em dois grupos estruturais:

- As betacianinas, com colorações que variam do vermelho ao violeta.
- As betaxantinas, de coloração amarelo-alaranjada.

O ácido betalâmico é o cromóforo comum a todas as betalaínas. A natureza do resíduo adicionado ao ácido betalâmico determina a classificação do pigmento como betacianina ou betaxantina (Figura 10).

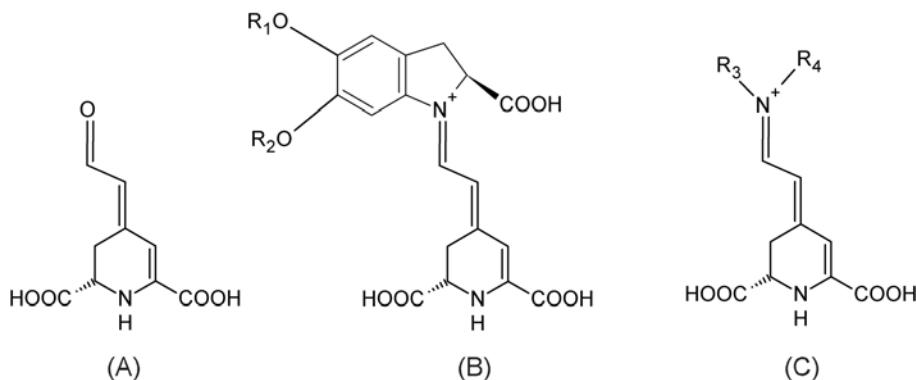


Figura 10. Estrutura geral do ácido betalâmico (A), das betacianinas (B) e das betaxantinas (C). R₁, R₂: -H, resíduo acila ou açúcar; R₃: grupo amina ou aminoácido; R₄: geralmente -H.

Fonte: Gandía-Herrero et al. (2005).

Nas betacianinas, o ácido betalâmico é condensado com um resíduo ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA), o que promove a extensão da ressonância eletrônica ao anel aromático difenólico, alterando o pico de absorção de 480 nm (amarelo, correspondente às betaxantinas) para cerca de 540 nm (violeta, correspondendo às betacianinas) (GANDÍA-HERRERO et al., 2005).

Durante o processamento e/ou a estocagem, as betalaínas estão sujeitas a alguns tipos de alteração que resultam em mudança de cor. As betacianinas podem sofrer clivagem hidrolítica, separando o ácido betalâmico do restante da estrutura (STINTZING; CARLE, 2007). Pode ocorrer algum grau de regeneração por recondensação dos produtos de hidrólise, com consequente recuperação de cor após estocagem sob refrigeração (STINTZING; CARLE, 2007). Reações de desidrogenação, descarboxilação e deglicosilação podem também resultar em alterações de cor (HERBACH et al., 2006).

Embora tenham sua carga alterada por variações de pH, as betalaínas não são tão suscetíveis à clivagem hidrolítica quanto as antocianinas, mantendo sua coloração dentro da faixa de pH de 3 a 7 (STINTZING; CARLE, 2004). Assim, embora a faixa ótima de pH (para estabilidade das betalaínas) seja de 5 a 6 (VAILLANT et al., 2005), elas podem ser aplicadas a alimentos de baixa acidez, ao contrário das antocianinas. A estabilidade de betalaínas é favorecida por baixa atividade de água (A_g), o que pode ser atribuído a efeitos associados à mobilidade dos reagentes (DELGADO-VARGAS et al., 2000).

As taxas de degradação de betalaínas são também elevadas por aumento da concentração de O₂ e por exposição à luz (HERBACH et al., 2007). Alguns cátions metálicos, como Fe (ferro), Cu (cobre), Sn (estanho) e Al (alumínio), aceleram a degradação dos pigmentos (ROY et al., 2004). A adição de ácidos orgânicos reduz a degradação de betalaínas (HERBACH et al., 2006; STINTZING; CARLE, 2007).

Considerando que a estabilidade das betalaínas é favorecida por ácido ascórbico, que facilita a degradação de antocianinas, ao invés de antocianinas a aplicação de betalaínas em alimentos ricos em ácido ascórbico pode ser interessante.

Clorofilas

Os pigmentos verdes encontrados nos cloroplastos de tecidos fotossintéticos são conhecidos como clorofilas, formada por dois componentes principais, as clorofilas A e B. Ambas possuem a estrutura tetrapirrólica, sendo derivadas de dihidroxiporfirina quelada com um átomo central de Mg (magnésio). São compostos hidrofóbicos, por causa do álcool monoinsaturado esterificado à molécula, o fitol.

As estruturas das clorofilas A e B são mostradas na Figura 11. Parecem estar associadas aos tecidos, a proteínas e aos lipídios, que envolvem as moléculas de pigmento, conferindo a elas certa proteção (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1984).

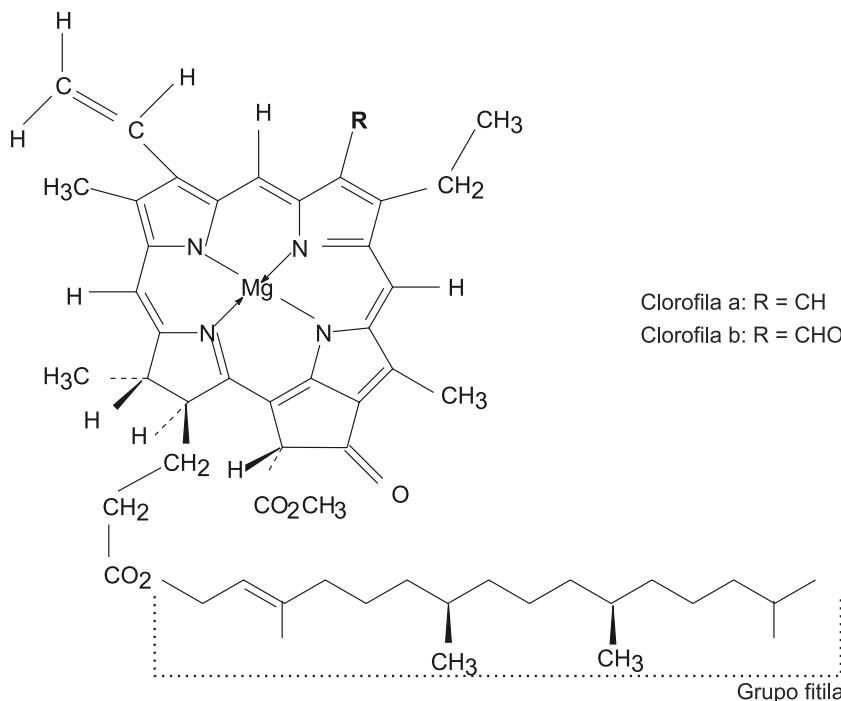


Figura 11. Estrutura química das clorofilas.

Fonte: Schwartz e Lorenzo (1990).

A cor conferida pela clorofila ou por seus derivados é importante em alimentos, como indicador de frescor e de grau de maturação. Durante o processamento, as clorofilas (de coloração verde-brilhante) podem sofrer transformações resultantes do tratamento térmico e/ou pelas variações de pH.

Ácidos orgânicos fracos podem promover a substituição do átomo central de magnésio por dois átomos de hidrogênio, formando a feofitina, com mudança de coloração de verde-brilhante para verde-oliva. Observa-se tal diferença de coloração, por exemplo, entre ervilhas frescas (verde-brilhante) e enlatadas (verde-oliva).

Em meio alcalino, o grupo fitila é hidrolisado, formando a clorofilida (verde-oliva); essa reação pode ser também desencadeada durante a estocagem por ação da clorofilase, uma enzima presente na maioria

das plantas (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1984). Outras alterações de cor podem ocorrer por reação com O_2 ; os produtos resultantes são pouco conhecidos (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

As clorofilas cúpricas, em que o Mg^{+2} é substituído por Cu^{+2} , são mais estáveis no processamento e na estocagem, podendo ser usadas como substitutos das clorofilas nativas, apesar de seu menor poder corante (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

Mioglobina

A cor é o atributo sensorial de maior importância no processo de decisão de compra de carnes frescas. A mioglobina é a proteína muscular responsável pela pigmentação de carnes. É um complexo de globina (porção proteica) e um grupo heme (cromóforo).

Um átomo de ferro, localizado no centro do anel de porfirina, é dotado de 6 sítios de coordenação, 4 dos quais são ocupados por átomos de N (nitrogênio) dentro do anel tetrapirrólico, o primeiro ligado pelo resíduo de histidina da globina, e um sexto disponível para complexar com átomos eletronegativos doados por vários ligantes. A estrutura da mioglobina é mostrada na Figura 12.

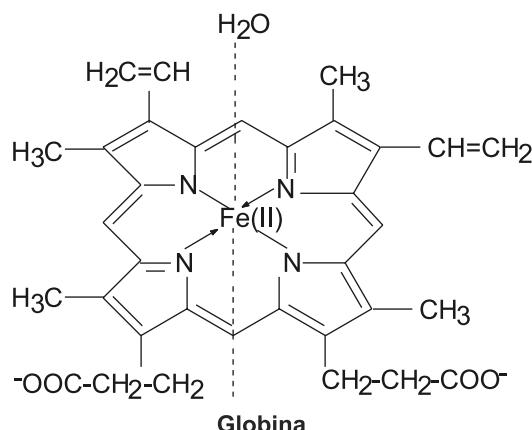


Figura 12. Estrutura química da mioglobina.

Fonte: Scaman (2002).

Em carnes frescas, o ciclo de cor é reversível e dinâmico, como mostra a Figura 13, com interconversão de três pigmentos: oximoglobina, mioglobina e metamioglobina. Na presença de O_2 , a mioglobina (vermelho-púrpura) pode ser oxigenada, formando a oximoglobina, de cor vermelho-brilhante, típica de carne fresca.

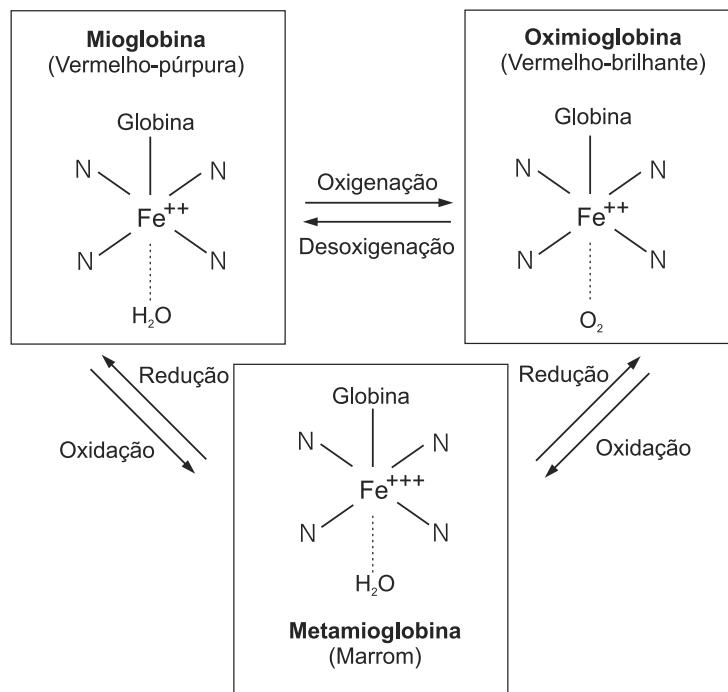


Figura 13. Alterações mais comuns da mioglobina.

Fonte: Cabral e Fernandes (1980).

A oxidação da mioglobina acarreta conversão do átomo de ferro do estado ferroso (Fe^{+2}) para o férrico (Fe^{+3}), formando metamioglobina, de cor marrom, indesejável (SCAMAN, 2002). Em carnes frescas, a oxidação é máxima a baixas pressões de O_2 (oxigênio), enquanto a oxigenação aumenta com a elevação da pressão de O_2 . Assim, o uso de atmosferas com altos níveis de CO_2 (gás carbônico) e baixos níveis de O_2 (menos de 1%) favorece a rápida conversão de mioglobina em metamioglobina (LEDWARD, 1985).

A embalagem é fundamental para a conservação da cor de carnes. No caso de carnes frescas, o acondicionamento em embalagens a vácuo é adequado durante o transporte e a distribuição do produto, reduzindo as taxas de alterações microbiológicas; Contudo, a falta de O₂ mantém a mioglobina em sua forma não oxigenada, vermelho-púrpura, podendo comprometer sua aceitação.

Posteriormente, a embalagem pode ser aberta, e a carne acondicionada em nova embalagem de alta permeabilidade ao O₂, permitindo rápida oxigenação da mioglobina, com o restabelecimento da cor do produto.

Degradação de vitaminas

Nas últimas décadas, o consumidor tem se tornado cada vez mais preocupado (e exigente) com a qualidade nutricional dos alimentos. Assim, o impacto do processamento e estocagem de alimentos sobre o alimento – em termos de degradação de nutrientes – tem recebido atenção especial por parte dos pesquisadores e da indústria de alimentos.

As vitaminas hidrossolúveis podem sofrer perdas consideráveis por lixiviação durante o processamento. Além disso, podem ser ainda degradadas, quimicamente, durante o processamento e estocagem (FENNEMA, 1977).

No que se refere à estabilidade de vitaminas hidrossolúveis, o ácido ascórbico (vitamina C) tem sido o mais estudado, em grande parte por sua importância na dieta humana. Além disso, quimicamente, é considerada a vitamina mais degradável, geralmente, considera-se que, se o ácido ascórbico for retido no alimento, os demais nutrientes também o serão. Assim, sua retenção é considerada um índice de manutenção da qualidade nutricional durante o processamento e a estocagem de alimentos (MARFIL et al., 2008).

A oxidação é o mecanismo responsável pela maior parte das perdas de ácido ascórbico nos alimentos. Como a reação é catalisada por metais, suas taxas podem ser reduzidas pela adição de agentes quelantes de metais, como ácido cítrico, oxálico e fosfatos. Pode-se, ainda, limitar o acesso do O₂ ao produto, por meio de acondicionamento

a vácuo ou sob atmosfera de N₂, ou limitar a complexação entre o ácido ascórbico e o íon metálico, pela redução da A_a, redução do pH ou adição de certas proteínas que se complexam com o ácido ascórbico (LIAO; SEIB, 1987).

A taxa de perda de ácido ascórbico difere muito, a depender do produto, do grau de integridade, da temperatura de estocagem, entre outros fatores. A redução da temperatura de estocagem de 20 °C para 4 °C pode reduzir a perda de vitamina C em cerca de 40% a 80%, dependendo do produto. Sob temperatura de congelamento (cerca de -18 °C), em muitos alimentos as perdas dessa vitamina situam-se na faixa de 40% a 50% de 6 a 12 meses de estocagem.

Durante a estocagem sob congelamento, é importante evitar oscilações térmicas, já que a degradação da vitamina C é altamente dependente da temperatura (FENNEMA, 1977). A taxa de degradação também pode se elevar com o aumento de concentração (AL-ZUBAIDY; KHALIL, 2007).

Quanto às vitaminas lipossolúveis, suas perdas durante a estocagem geralmente são atribuídas a interações com peróxidos ou com radicais livres provenientes da oxidação de lipídios. Assim, qualquer forma de prevenção da oxidação de lipídios aumenta a retenção de vitaminas lipossolúveis (LABUZA, 1973).

Temperatura de transição vítreia e reações químicas em alimentos

Para descrever as propriedades dos alimentos, a caracterização do estado físico de compostos e a aplicação de teorias da ciência de polímeros têm contribuído para o atual entendimento da estabilidade de alimentos. No entanto, embora a dinâmica molecular de materiais quimicamente puros, como polímeros, seja razoavelmente conhecida, poucos estudos têm sido focados em sistemas complexos, como é o caso da maioria dos alimentos. Outro desafio ao estudo desses sistemas é o fato de que seus componentes são bastante sensíveis à água (ROUDAUT et al., 2004).

Os componentes sólidos de alimentos podem existir em estado cristalino ou amorfos. Por sua vez, uma matriz amorfa pode existir em estado vítreo, de alta viscosidade, ou em estado gomoso, mais fluido. A passagem do estado vítreo para o gomoso ocorre a uma temperatura denominada de temperatura de transição vítreia (T_g), uma transição de segunda ordem¹, específica para cada material (ROOS, 2010).

A transição vítreia ocorre numa faixa de temperatura, embora geralmente se faça referência a um valor simples de temperatura. A passagem do estado vítreo para o gomoso ou vice-versa é acompanhada de mudanças nas propriedades termodinâmicas e mecânicas (CHAMPION et al., 2000). A principal consequência da transição vítreia é o aumento brusco da mobilidade molecular, que pode resultar no aumento das taxas de alterações químicas e físicas (SLADE; LEVINE, 1991).

A T_g de uma mistura é uma função linear da T_g dos componentes individuais. Geralmente, à medida que o peso molecular de um polímero aumenta dentro de uma série homóloga de compostos, a T_g aumenta (SPERLING, 2006). A adição de plastificantes reduz a T_g (ROOS, 2010). Açúcares simples, como frutose, glicose e sacarose apresentam valor de T_g muito baixo, reduzindo, significativamente, a T_g de alimentos (ROOS, 2010).

A água é conhecida como um potente plastificante, reduzindo, drasticamente, os valores de T_g (BHANDARI; ROOS, 2003), a uma taxa aproximada de 10 °C por 0,01g de água/g do material (SLADE; LEVINE, 1991).

As taxas de alterações em alimentos de baixa umidade dependem da mobilidade molecular. Acima de um valor crítico de atividade de água, as taxas de reações químicas, envolvendo sólidos amorfos podem aumentar, como resultado da plastificação, da elevação da difusão e da redução da T_g a um valor abaixo da temperatura ambiente.

A temperaturas abaixo da T_g , as taxas de reações controladas por difusão são baixas, aumentando significativamente acima da T_g (ROOS, 2010). Assim, a T_g tem sido apresentada como uma temperatura de referência: abaixo dela, o alimento é mais estável, e acima dela, a diferença entre a temperatura de estocagem e T_g determina sua suscetibilidade a alterações (CHAMPION et al., 2000).

¹ Transição de segunda ordem é uma transição térmica que não envolve calor latente.

O aumento da taxa de reações acima da T_g foi observado por Roos e Himberg (1994), para reação de Maillard. Outras reações são também afetadas por mobilidade molecular, entre as quais as reações de oxidação, reações enzimáticas e degradação de nutrientes.

Referências

- AL-ZUBAIDY, M. M. I.; KHALIL, R. A. Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 101, n. 1, p. 254-259, 2007.
- BHANDARI, B. R.; ROOS, Y. H. Dissolution of sucrose crystals in the anhydrous sorbitol melt. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, NL, v. 338, p. 361-367, 2003.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001. p. 103-118.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Reedley, v. 52, p. 67-87, 2001.
- BRENES, C. H.; DEL POZO-INSFRAN, D.; TALCOTT, S. Stability of copigmented anthocyanins and ascorbic acid in a grape juice model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 53, p. 49-56, 2005.
- BUCK, D. F. Antioxidants. In: SMITH, J. (Ed.). **Food additive user's handbook**. London, GB: Blackie Academic & Professional, 1991. p. 1-46.
- CABRAL, A. C. D.; FERNANDES, M. H. C. Aspectos gerais sobre a vida de prateleira de produtos alimentícios. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 371-439, 1980.
- CARLSSON, D. J.; SUPRUNCHUCK, T.; WILES, D. M. Photooxidation of unsaturated oils: effects of singlet oxygen quenchers. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 53, n. 10, p. 656-660, 1976.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, Barking, v. 113, p. 859-871, 2009.
- CHAMPION, D.; LE MESTRE, M.; SIMATOS, D. Towards an improved understanding of glass transition and relaxation of foods: molecular mobility in the glass transition range. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 11, n. 2, p. 41-55, 2000.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cambridge, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

CHEMSOC. **Food chemistry**. Barking, 2002. Disponível em: <<http://www.chemsoc.org/exemplarchem/entries/2001/caphane/david.html>>. Acesso em: 7 maio 2002.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins: nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, GB, v. 80, n. 7, p. 1063-1072, 2000.

COLTRO, L.; BORGHETTI, J. Plastic packages for personal care products: evaluation of light barrier properties. **Polímeros**, São Carlos, v. 17, n. 1, p. 56-61, 2007.

CRAMER, D. W.; KUPER, H.; HARLOW, B. L.; TITUS-ERNSTOFF, L. Carotenoids, antioxidants and ovarian cancer risk in pre- and postmenopausal women. **International Journal of Cancer**, New York, v. 94, n. 1, p. 128-134, 2001.

DAUTHY, M. E. **Fruit and vegetable processing**. Rome, IT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1995. (FAO Agricultural Services Bulletin n. 119). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/V5030E/V5030E00.htm>>. Acesso em: 7 maio 2002.

DAVIES, A. J.; MAZZA, G. Copigmentation of imple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 41, n. 5, p. 716-720, 1993.

DAVÍDEK, J.; VELÍSEK, J.; POKORNÝ, J. **Chemical changes during food processing**. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 302-378.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 40, p. 173-289, 2000.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. **Food Chemistry**, Barking, v. 103, p. 935-943, 2007.

FARIA, J. A. F. A função da embalagem na estabilidade de óleos vegetais. **Óleos & Grãos**, São Paulo, v. 2, n. 6, p. 50-52, 1991.

FARIA, J. A. F. Antioxidantes e estabilidade de óleos comestíveis. **Óleos & Grãos**, São Pualo, v. 5, n. 20, p. 32-34, 1994.

- FENNEMA, O. R. Loss of vitamins in fresh and frozen foods. **Food Technology**, Chicago, v. 31, n. 12, p. 32-38, 1977.
- FLESCHHUT, J.; KRATZER, F.; RECHKEMMER, G.; KULLING, S. E. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. **European Journal of Nutrition**, London, GB, v. 45, n. 1, p. 7-18, 2006.
- GANDÍA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F. Betaxanthins as substrates for tyrosinase. An approach to the role of tyrosinase in the biosynthetic pathway of betalains. **Plant Physiology Reviews**, [S.I.], v. 138, p. 421-432, 2005.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization of red radish anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 61, p. 322-326, 1996.
- GRAVANI, R. B. Food deterioration and spoilage caused by light. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, Ames, v. 6, n. 1, p. 22-23, 1986.
- HE, Q.; LUO, Y.; CHEN, P. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chloride. **Food Chemistry**, Barking, v. 110, n. 4, p. 847-851, 2008.
- HERBACH, K. M.; MAIER, C.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Effects of processing and storage on juice color and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. **European Food Research and Technology**, Berlin, DE, v. 224, n. 5, p. 1438-2377, 2007.
- HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; ELSS, S.; PRESTON, C.; SCHREIER, P.; CARLE, R. Isotope ratio mass spectrometrical analysis of betanin and isobetanin isolates for authenticity evaluation of purple pitaya-based products. **Food Chemistry**, Barking, v. 99, p. 204-209, 2006.
- HSU, C. L.; JANG, H. D.; SU, M. S.; CHANG, K. S.; HUANG, Y. S. Amperometric determination of hydrogen peroxide residue in beverages using a Nafion modified palladium electrode. **European Food Research and Technology**, Berlin, DE, v. 226, n. 4, p. 809-815, 2008.
- IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins and related flavylium salts. **Tetrahedron**, New York, v. 39, n. 19, p. 3005-3038, 1983.
- KAREL, M. Environmental effects on chemical changes in foods. In: RICHARDSON, T.; FINLEY, J. W. (Ed.). **Chemical changes in food during processing**. Westport: AVI, 1985. p. 153-169.
- LABUZA, T. P. Effects of dehydration and storage. **Food Technology**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 20-26, 1973.

- LAVELLI, V.; ZANONI, B.; ZANIBONI, A. Effect of water activity on carotenoid degradation in dehydrated carrots. **Food Chemistry**, Barking, v. 104, n. 4, p.1705-1711, 2007.
- LEDWARD, D. A. Post-slaughter influences on the formation of metmyoglobin in beef muscles. **Meat Science**, Barking, v. 15, n. 3, p. 149-171, 1985.
- LIAO, M. L.; SEIB, A. P. A. Selected reactions of L-ascorbic acid related to foods. **Food Technology**, Oxford v. 41, n. 11, p. 104-107, 1987.
- LIN, C. H.; CHEN, B. H. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 90, p. 837-846, 2005.
- MANZOCCO, L.; MALTINI, E. Physical changes induced by the Maillard reaction in a glucose-glycine solution. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 32, n. 4, p. 299-304, 1999.
- MAOKA, T.; MOCHIDA, K.; KOZUKA, M.; ITO, Y.; FUJIWARA, Y.; HASHIMOTO, K.; ENJO, F.; OGATA, M.; NOBUKUNI, Y.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. **Cancer Letters**, Amsterdam, NL, v. 172, n. 2, p. 103-109, 2001.
- MARFIL, P. H. M.; SANTOS, E. M.; TELIS, V. R. N. Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. **LWT – Food Science and Technology**, London, GB, v. 41, n. 9, p. 1642-1647, 2008.
- MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n. 6, p. 195-200, 1995.
- MARTINS, S. I. F. S.; JONGEN, W. M. F.; BOEKEL, M. A. J. S. van. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 11, n. 9-10, p. 364-373, 2000.
- MATSUFUJI, H.; OTSUKI, T.; TAKEDA, T.; CHINO, M.; TAKEDA, M. Identification of reaction products of acylated anthocyanins from red radish with peroxyl radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 51, n. 10, p. 3157-3161, 2003.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. **Phytochemistry**, Amsterdam, NL, v. 29, n. 4, p. 1097-1102, 1990.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 120-145.
- MIN, D. B.; BOFF, J. F. Lipid oxidation of edible oil. In: AKOH, C.; MIN, D. B. (Ed.). **Food lipids**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 335-363.

- MISTRY, B. S.; MIN, D. B. Oxidized flavor compounds in edible oils. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Off-flavors in foods and beverages**. London, GB: Elsevier Science Publishers, 1992. p. 171-209.
- NAWAR, W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food Chemistry**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1985. p. 139-244.
- ÖZKAN, M.; KIRCA, A.; CEMEROĞLU, B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. **Food Chemistry**, Barking, v. 88, n. 4, p. 591-597, 2004.
- ÖZKAN, M.; YEMENICIOĞLU, A.; CEMEROĞLU, B. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 38, n. 8-9, p.1015-1021, 2005.
- POKORNÝ, J. Major factors affecting the autoxidation of lipids. In: CHAN, H. W. S. (Ed.). **Autoxidation of insaturated lipids**. London, GB: Academic Press, 1987. p. 141-206.
- POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. 5. ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 608 p.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, VE, v. 49, n. 3, p. 38S-47S, 1999.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Curso sobre pigmentos naturais**. Campinas: SBCTA, 1984. 56 p.
- ROOS, Y. H. Glass transition temperature and its relevance to food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 1, p. 469-496, 2010.
- ROOS, Y. H.; HIMBERG, M. J. Nonenzymatic browning behavior, as related to glass transition, of a food model at chilling temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 4, p. 893-898, 1994.
- ROUDAUT, G.; SIMATOS, D.; CHAMPION, D.; CONTRERAS-LOPEZ, E.; LE MESTE, M. Molecular mobility around the glass transition temperature: a mini review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 5, p.127-134, 2004.
- ROY, K.; GULLAPALLI, S.; CHAUDHURI, U. R.; CHAKRABORTY, R. The use of a natural colourant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. **International Journal of Food Science and Technology**, London, GB, v. 39, p. 1087-1091, 2004.

SCAMAN, C. **Food 410 – Chemistry of food systems.** Course modules. Disponível em: <<http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/modules.htm>>. Acesso em: 22 mar. 2002.

SCHWARTZ, S. J.; LORENZO, T. V. Chlorophylls in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 29, n. 1, p. 1-17, 1990.

SCULLY, A. D.; GHIGGINO, K. P. Ultrafast processes in photoirradiated polymers and polymer additives. In: ALLEN, N. S. (Ed.). **Current trends in polymer photochemistry**. New York: Ellis Horwood, 1995. p. 219-237.

SHAHIDI, F.; PEGG, R. B. Hexanal as an indicator of the flavor deterioration of meat and meat products. In: ST. ANGELO, A. J. (Ed.). **Lipid oxidation in food**. Washington, DC: American Chemical Society, 1994. p 105-119. (ACS Symposium Series 500).

SLADE, L.; LEVINE, H. Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 30, n. 2, p. 115-359, 1991.

SPERLING, L. H. **Introduction to physical polymer science**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 2006. 845 p..

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalains: emerging prospects for food scientists. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, p. 514-525, 2007.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 15, p. 19-38, 2004.

TAOUKIS, P. S.; LABUZA, T. P. Summary: integrative concepts. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**, Barking, New York: Marcel Dekker, 1996. 3. ed. p. 1013-1042.

TROLLER, J. A. Water activity and food quality. In: HARDMAN, T. M. (Ed.). **Water and food quality**. London, GB: Elsevier Applied Science, 1989. p. 1-31.

UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA. UBC. Faculty of Agricultural Sciences. **Food 301 - Food Chemistry**. Disponível em: <<http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/301>>. Acesso em: 2 maio 2002.

UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA. UBC. Faculty of Agricultural Sciences. **Food 410 – Chemistry of food systems**. Disponível em: <http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/index.htm>. Acesso em: 23 jul. 2003.

VAILLANT, F.; PEREZ, A.; DAVILA, I.; DORNIER, M.; REYNES, M. Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). **Fruits**, Paris, FR, v. 60, p. 1-10, 2005.

WESCHE-EBELING, P.; ARGAIZ-JAMET, A. Stabilization mechanisms for anthocyanin: the case for copolymerization reactions. In: WELTI-CHANES, J.; BARBOSA-CANOVAS, G. V.; AGUILERA, J. M. **Engineering and food for the 21st century**. Boca Raton: CRC, 2002. p. 141-151.

WONG, D. W. S. **Mechanism and theory in food chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 428 p.

Capítulo 3

Alterações físicas em alimentos durante a estocagem

*Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Edy Sousa de Brito*

Introdução

As alterações físicas de alimentos constituem a classe menos importante de mudanças que ocorrem durante a estocagem, no que se refere à segurança alimentar. Contudo, estão intimamente relacionadas a alterações sensoriais, especialmente alterações de textura, que frequentemente comprometem a aceitação de alimentos.

Durante a estocagem, as alterações físicas mais relevantes estão associadas à absorção ou à perda de umidade, que resultam em alterações de textura. Além disso, a absorção de umidade contribui com o aumento da atividade de água do alimento, favorecendo a ocorrência de outras alterações, principalmente microbiológicas, comprometendo, assim, indiretamente, a segurança alimentar do consumidor.

Outras alterações físicas mencionadas são a desestabilização de emulsões, a retrogradação do amido e as alterações durante o congelamento, que podem alterar as propriedades sensoriais do produto, comprometendo sua aceitabilidade.

Importância da transição vítreia na estabilidade física

A importância da transição vítreia na tecnologia de alimentos tem relação com o fato de que muitos processos dinâmicos resultam em mudanças de estado. O processamento térmico de produtos de cereais, por exemplo, causa perda da estrutura semicristalina dos biopolímeros e resulta em matrizes amorfas.

Em processos que envolvem resfriamento ou desidratação, um produto pode passar para um estado vítreo, quando resfriado ou desidratado rapidamente, ou para um estado cristalino, quando o resfriamento é lento. Isso é importante para o setor de confeitoraria, durante o resfriamento de açúcares fundidos, ou no processo de fabricação de sorvetes (ROUDAUT et al., 2004). Geralmente, a secagem por atomização (*spray drying*) a partir de um líquido inicial, produz um sólido vítreo (AGUILERA et al., 1995).

A água é o principal plastificante de alimentos, ou seja, é o principal composto responsável pela redução de sua temperatura de transição

vítreo, T_g (JOHARI et al., 1987). O teor de sólidos e a temperatura determinam em que estado estará um alimento, como mostra a Figura 1. Assim, se um alimento desidratado absorve umidade ou sofre aumento de temperatura, ele passa do estado vítreo para o gomoso, sofrendo alterações como perda da textura crocante (no caso de produtos sólidos), cristalização e aglomeração (no caso de produtos em pó).

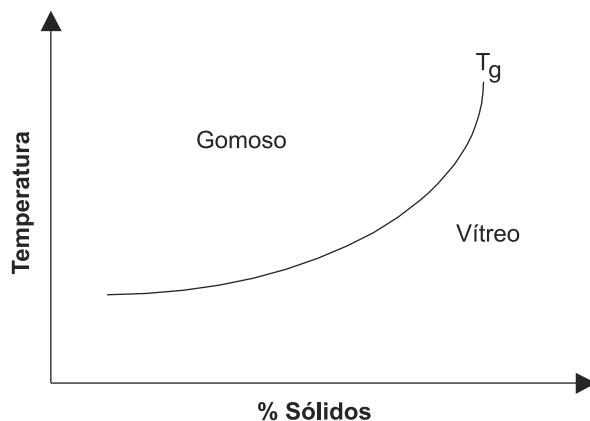


Figura 1. Representação da transição vítreo de um material amorfó.

Fonte: Labuza (2002).

Abaixo da T_g , a cristalização e outras alterações ocorrem muito lentamente, porque o alimento em estado vítreo tem uma viscosidade muito alta, atingindo cerca de 10^{12} Pa.s (WHITE; CAKEBREAD, 1966), o que reduz muito o movimento molecular, exceto para moléculas pequenas como O_2 e H_2O , que se difundem mais facilmente. Acima de T_g , a viscosidade cai significativamente, permitindo um movimento mais livre de outras moléculas, o que aumenta a taxa de alterações (LABUZA; HYMAN, 1998).

Caking de produtos em pó

A presença de componentes amorfos é particularmente importante em alimentos desidratados em pó, já que os sólidos amorfos são suscetíveis a um processo de deterioração física denominado em

conjunto de *caking* (sem tradução para o português). O *caking* é um processo pelo qual um pó de baixa umidade e escoamento livre vai se aglomerando, e acaba por formar um material pastoso e pegajoso, resultando em perda de funcionalidade e qualidade.

As alterações dependem, principalmente, de temperatura e umidade relativa do ambiente, e envolvem alguns estádios, incluindo formação de pontes entre partículas, aglomeração, compactação e liquefação (Figura 2). A formação de pontes ocorre como resultado da deformação superficial das partículas e aderência em pontos de contato entre partículas, mas sem redução mensurável na porosidade do sistema. Eventualmente, as pontes podem se desintegrar sob agitação. A aglomeração envolve uma consolidação irreversível das pontes, formando torrões, mas ainda mantendo a porosidade do sistema.

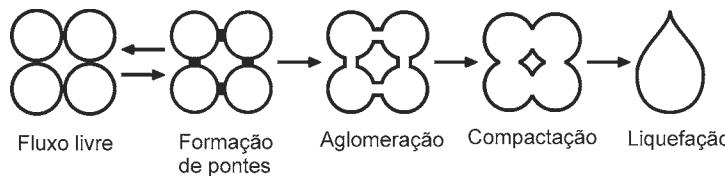


Figura 2. Alterações durante o processo de *caking*.

Fonte: adaptada de Aguilera et al. (1995).

A compactação é associada à perda da integridade do sistema como resultado do espessamento das pontes entre partículas, causando redução da porosidade do sistema e deformação sob pressão. No último estádio, as pontes entre partículas desaparecem, como resultado da liquefação da estrutura; geralmente, esse estádio envolve solubilização de frações de baixo peso molecular e comportamento higroscópico (AGUILERA et al., 1995).

O *caking* é um problema particularmente importante em produtos ricos em açúcares e ácidos. A secagem de sucos de frutas para produção de pós, geralmente feita por atomização, pode resultar em adesão do produto às paredes da câmara do atomizador. Isso ocorre porque os açúcares e ácidos de baixo peso molecular, presentes na composição dos sucos, apresentam baixa T_g .

Quando submetidos à temperatura da câmara do atomizador, esses compostos passam do estado vítreo para o gomoso, e tendem a se aderir às paredes da câmara e produzir uma estrutura pastosa ao invés de um pó (BHANDARI; HARTEL, 2005; JAYA; DAS, 2004).

Esse problema pode ser evitado pela adição de adjuvantes de secagem, que geralmente são carboidratos de alto peso molecular, como maltodextrinas, que aumentam a T_g do produto e reduzem sua higroscopidade (BHANDARI; HARTEL, 2005; SILVA et al., 2006).

Cristalização

Outro aspecto importante dos compostos amorfos é sua metaestabilidade, com tendência a se cristalizar com o tempo de estocagem. A taxa de cristalização é função de $T - T_g$, ou seja, as taxas aumentam com o aumento de temperatura (ROOS; KAREL, 1991). Além disso, o estado amorfó de carboidratos de baixo peso molecular e hidrolisados proteicos são muito higroscópicos (AGUILERA et al., 1995). Se uma fração do produto absorve umidade, há uma redução local da T_g , e a taxa de cristalização é aumentada.

Geralmente, o arranjo molecular – altamente ordenado e compacto – formado durante a cristalização não acomoda o excesso de umidade, o que resulta em migração de água para a superfície de partículas vizinhas, criando pontes líquidas entre partículas, resultando em *caking*. Assim, a valores críticos de temperatura (30 °C a 70 °C acima da temperatura de transição vítreia) e de umidade, as partículas de produtos em pó começam a se aderir umas às outras, tendendo a se aglomerar, até que o produto fique empedrado, caracterizando o *caking* (CHUY; LABUZA, 1994; JOUPILLA; ROOS, 1994).

Essas partículas vizinhas também vão ter uma taxa aumentada de cristalização, e o processo se propaga como um fenômeno em cadeia (BHANDARI; HOWES, 1999). A exemplo dos açúcares, a cristalização de componentes amorfos pode resultar em textura arenosa, como no caso de cristalização da lactose em sorvete, comprometendo a textura. Em alguns produtos, é preferível a cristalização controlada de açúcares em alguns produtos, como caramelos e *fondants*, mas deve ser prevenida em outros, como *marshmallows* e sorvetes (HARTEL, 1993).

Alterações de textura por ganho ou perda de umidade

Quando um alimento está em contato direto com o ar atmosférico, a umidade relativa (UR) do ambiente determina a umidade relativa de equilíbrio do alimento. Assim, a absorção ou perda de umidade, por um alimento, é determinada pelo gradiente entre a umidade relativa do ambiente e a umidade relativa do produto.

O conceito de atividade de água (A_a) é ligado ao conceito de umidade relativa ($A_a = UR/100$). Portanto, é a A_a do alimento – e não seu teor de umidade – que determina se o produto tenderá a ganhar ou perder umidade. Por exemplo, se um produto com 70% de umidade $A_a = 0,90$ for estocado num ambiente com $UR = 80\%$, ele tende a perder umidade, já que a UR do produto ($0,90 \times 100 = 90\%$) é maior que a UR do ambiente (80%).

Além das alterações microbiológicas e químicas, abordadas em outros capítulos, há também alterações físicas decorrentes de perda ou ganho de umidade pelo alimento. A textura é altamente afetada pelo teor de umidade e pela atividade de água.

Em muitos produtos, a textura crocante é essencial à qualidade, como biscoitos, cereais e batatas fritas. Quando acondicionados em embalagem de alta permeabilidade a umidade, ou estocados a temperaturas inadequadas, tais produtos podem sofrer transição vítreia, tornando-se macios e gomosos, o que compromete sua aceitação. A perda de crocância pode ser também promovida por transferência de umidade em alimentos formados por vários componentes, como barras de cereais com frutas, pizzas, entre outros.

Quando um biscoito é colocado em contato com queijo ou geleia, ele absorve água e torna-se gomoso. Cereais em contato com frutas de umidade intermediária absorvem água e tornam-se menos crocantes. Em pizzas, a umidade tende a migrar do molho para a massa, o que faz com que a massa perca sua textura crocante.

O mesmo ocorre com cones de biscoito (“casquinhas”) em contato com sorvete. A atividade de água, na qual a textura crocante é perdida, é específica para cada produto e geralmente varia na faixa de 0,35 a 0,50 (KATZ; LABUZA, 1981).

Similarmente ao ganho de umidade, um alimento perderá água (na forma de vapor) quando sua umidade relativa (atividade de água) for

superior à do ambiente. As consequências mais comuns da perda de umidade em alimentos são:

- Perda de peso, com prejuízo à textura, como ocorre com carnes frescas e com queijos.
- Murchamento de frutas e hortaliças.
- Endurecimento e recristalização de massas e doces.

Produtos estocados sob refrigeração podem ainda sofrer a chamada queima pelo frio (*freezing-burn*), causada pela desidratação superficial do produto.

Uma forma eficaz de minimizar as alterações devidas ao ganho ou perda de umidade é acondicionar o produto adequadamente em embalagens que apresentem boa barreira ao vapor de água. Além disso, deve-se sempre procurar manter a temperatura de estocagem em valores que ultrapassem o mínimo possível a temperatura de transição vítreia, reduzindo, assim, não somente as alterações devidas a transferências de umidade, como também grande parte das alterações químicas e microbiológicas.

Alterações físicas durante o congelamento

As alterações físicas que ocorrem durante o congelamento de alimentos – relatadas a seguir – são descritas por Fellows (1998).

A principal alteração está relacionada aos danos causados pelo crescimento dos cristais de gelo. Existem diferenças relevantes entre os danos causados pelo congelamento em tecidos animais e em tecidos vegetais. As carnes apresentam estrutura fibrosa mais flexível, que se separa durante o congelamento ao invés de romper-se, não afetando muito sua textura. Tanto em frutas como em hortaliças, a estrutura mais rígida das células pode ser danificada pelos cristais de gelo.

Durante congelamento lento, os cristais de gelo crescem nos espaços intercelulares, deformando e rompendo as paredes celulares adjacentes. Esses cristais têm uma pressão de vapor menor que aquela existente no interior das células e, assim, a água migra da célula para o cristal em crescimento. As células sofrem desidratação e são danificadas, permanentemente, pelo aumento da concentração de solutos.

No descongelamento, as células não recuperam a forma e a turgidez originais; assim, o alimento amolece e o material celular é perdido pelas células rompidas. No congelamento rápido, cristais de gelo menores são formados tanto nas células quanto nos espaços intercelulares. Em consequência, ocorrem poucos danos físicos às células e o gradiente da pressão de vapor não é formado, favorecendo a manutenção da textura do alimento.

A recristalização dos cristais de gelo – especialmente a recristalização migratória – é uma causa importante de perda de qualidade em alguns alimentos. A recristalização migratória consiste em aumento do tamanho médio dos cristais com redução do número médio de cristais; em outras palavras, essa recristalização está associada ao crescimento de cristais maiores às custas de cristais menores. Ela é causada pela flutuação da temperatura de estocagem.

Quando ocorre aumento de temperatura, as regiões do alimento mais expostas ao ambiente sofrem leve aquecimento, e os cristais de gelo se fundem parcialmente; os cristais grandes tornam-se menores, e os menores (menos de 2 µm) desaparecem. Quando a temperatura cai novamente, o vapor de água não forma novos núcleos de cristais, mas estes unem-se a cristais já existentes, aumentando de tamanho.

Durante o armazenamento sob congelamento, as serpentinhas de refrigeração removem umidade do ar. Ocorre, então, transferência de umidade do alimento para a atmosfera de estocagem, produzindo alterações superficiais no alimento, conhecidas como queima pelo frio.

As áreas alteradas apresentam coloração mais clara, em decorrência das cavidades microscópicas, previamente ocupadas por cristais de gelo, os quais alteram o comprimento de onda da luz refletida. A queima pelo frio é um problema em alimentos de alta razão entre área superficial e volume, podendo ser minimizada com o uso de embalagens que apresentem boa barreira à umidade.

Outra alteração física – que pode ocorrer em decorrência do congelamento – é a desnaturação de proteínas, que consiste em alterações irreversíveis na estrutura tridimensional da proteína, resultante de rompimentos de interações responsáveis por suas estruturas secundária e terciária. Embora essa alteração geralmente seja associada ao processamento (altas temperaturas, baixo pH), a desnaturação pode ocorrer, também, durante a estocagem de alimentos congelados, sendo observada especialmente em carnes.

Segundo Sgarbieri (1996), existem várias hipóteses propostas para explicar a desnaturação de proteínas pelo frio, podendo-se destacar:

- Concentração de sais orgânicos na fase líquida de sistemas congelados.
- Reação com formaldeído derivado da trimetilamina (em peixes).
- Ação de proteases.

Ainda segundo esse autor, o mecanismo de deterioração de proteínas musculares pelo frio pode ocorrer tanto por agregação de proteínas miofibrilares como por desnaturação de proteínas sarcoplasmáticas, ambas causadas, principalmente, pela perda de água para a formação dos cristais de gelo.

No caso das proteínas miofibrilares (actina e miosina), a saída de moléculas de água dos espaços intermoleculares (para formação dos cristais) promove aproximação das moléculas, estabelecendo interações intermoleculares e formando agregados. No caso das proteínas globulares (sarcoplasmáticas), a perda de água superficial desestabiliza as estruturas secundária e terciária, resultando em desnaturação parcial. Ambos os fenômenos resultam em redução da capacidade de reabsorção de água, causando perda de succulência e alterações de textura, comprometendo a aceitação do produto.

Essas alterações podem ser minimizadas mediante tratamento prévio do tecido muscular com compostos crioprotetores, substâncias carregadas negativamente, que interagem com as cargas da proteína e da água, mantendo maior quantidade de água nos espaços intermoleculares das proteínas miofibrilares e na superfície das proteínas sarcoplasmáticas. Alguns exemplos de compostos crioprotetores são os polifosfatos e compostos com dois ou mais grupamentos hidroxila, como glicerol, sorbitol e açúcares.

Estabilidade de interfaces

Interfaces em alimentos

Em termos de organização dos vários compostos presentes, a definição da estrutura de um alimento é função de três tipos de parâmetros (DALGLEISH, 2006):

Físicos – Forças entre partículas e separações de fases.

Químicos – Formação de ligações covalentes entre moléculas e entre partículas.

Biológicos – Fermentação e ação enzimática.

Uma dispersão coloidal é definida como um sistema em que partículas com pelo menos uma dimensão na faixa aproximada entre 1 nm e 1 µm (partículas coloidais, constituindo uma fase dispersa) são dispersas numa fase contínua de uma composição (ou estado) diferente. O limite entre ambas as fases é a interface (EVERETT; KOOPAL, 2009).

A ciência de interfaces tem grande importância na indústria de alimentos, uma vez que, em sua maioria, os alimentos são formados por combinações de vários componentes, pertencentes a diferentes classes químicas, constituindo estruturas complexas, organizadas em microestruturas de vários tipos, como dispersões, emulsões, espumas e géis. Muitos alimentos contêm sistemas coloidais por natureza, como os glóbulos de gordura, agregados proteicos (micelas) e grânulos de amido. Esses sistemas são estabilizados pela presença de agentes de superfície, como os emulsificantes, que podem estar presentes como constituintes naturais do alimento ou ser adicionados intencionalmente (GUPTA; MURALIDHARA, 2001).

Misturas como emulsões ou espumas, que envolvem interfaces entre diferentes componentes, são responsáveis por uma série de sensações relacionadas à textura de vários alimentos. A estrutura de uma emulsão, em termos de fração volumétrica das fases, diâmetro e cargas das gotículas da fase dispersa, resulta num determinado comportamento reológico e interações coloidais, que definem o comportamento da emulsão sob o cisalhamento da língua, e a consequente sensação de textura resultante (CORSI et al., 2007). A desestabilização da emulsão/espuma altera a textura percebida pelo consumidor, geralmente afetando o nível de aceitação do produto.

Estabilidade de emulsões

Uma emulsão é um tipo de dispersão coloidal em que tanto a fase dispersa quanto a contínua são líquidos imiscíveis (geralmente uma fase oleosa e uma aquosa). Numa emulsão, o tamanho das gotículas da fase

dispersa geralmente excede os limites usuais para coloides (EVERETT; KOOPAL, 2009). Uma emulsão é constituída por:

- Uma fase dispersa, na forma de gotículas/glóbulos.
- Uma interface entre o material lipídico e o aquoso, constituída por compostos com propriedades tensoativas como proteínas, monoglicerídeos, ésteres, fosfolipídios ou misturas entre esses compostos.
- Uma fase externa ou contínua, que envolve as gotículas da fase descontínua. Cada uma das fases pode ser quimicamente complexa e/ou apresentar características que comprometam a estabilidade do sistema.
- Os lipídios podem ser parcial ou totalmente cristalinos, e o grau de cristalinidade pode definir a funcionalidade de uma emulsão, o que pode ser exemplificado pelo mecanismo de coalescência parcial de glóbulos de gordura em torno de bolhas de ar em produtos batidos ou em sorvetes (DALGLEISH, 2006). Além disso, os lipídios podem ter diferentes graus de suscetibilidade à oxidação, um fator que, além de alterar o sabor, pode resultar em reação dos lipídios com os emulsificantes (STEVENSON et al., 1997).

A interface pode ser constituída pela mistura de componentes de várias classes químicas. Finalmente, a fase aquosa pode conter íons capazes de desestabilizar a emulsão, ou macromoléculas que tenham efeito estabilizante ou desestabilizante (DALGLEISH, 2006).

A Figura 3 mostra um esquema dos dois tipos básicos de emulsões (WONG, 1989):

- Óleo em água (O/A), em que a fase oleosa é a fase dispersa.
- Emulsões água em óleo (A/O), como as margarinas, que têm o componente aquoso como fase dispersa.

Geralmente, as emulsões O/A são fluidas (leite), enquanto as A/O são tipicamente sólidas (manteiga e margarina).

Existem ainda as emulsões duplas, que são emulsões dentro de emulsões, classificadas em emulsões água em óleo em água (A/O/A, as mais comuns), nas quais uma emulsão A/O é dispersa na forma de gotículas numa fase aquosa, e emulsões óleo em água em óleo (O/A/O),

nas quais uma emulsão O/A é dispersa numa fase oleosa. Obviamente, emulsões duplas contêm maior interface, e são ainda mais instáveis, termodinamicamente, que as emulsões simples.

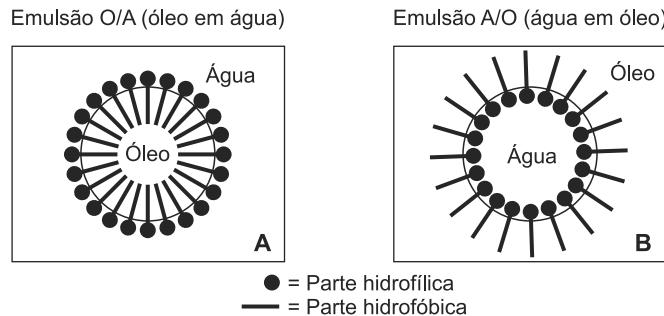


Figura 3. Tipos de emulsões: óleo em água (A) e água em óleo (B).

Fonte: Cargill (2010).

Geralmente, as emulsões duplas são preparadas por um processo de emulsificação em duas etapas, usando-se dois emulsificantes: no caso de uma emulsão A/O/A, um predominantemente hidrofóbico para estabilizar a interface da emulsão interna, e um predominantemente hidrofílico, para estabilizar a interface externa (GRAAF et al., 2005).

Emulsões com diâmetro de gotículas menor que 200 nm são chamadas nanoemulsões, que são transparentes ou translúcidas e estáveis contra sedimentação. Alguns métodos podem ser utilizados para formular nanoemulsões, como homogeneização a alta pressão e ultrassonicação (SOLANS et al., 2005).

A degradação física de emulsões deve-se à tendência espontânea de se formar uma área interfacial mínima entre a fase dispersa e a fase contínua (CAPEK, 2004). A manutenção da estabilidade de emulsões e de espumas é um dos principais problemas enfrentados pela indústria de alimentos.

Durante a formação de uma emulsão, a área interfacial entre as duas fases torna-se muito grande, e o sistema resultante é muito instável, termodinamicamente. Assim, após algum tempo, qualquer emulsão sofre colapso, à medida que as duas fases tentam minimizar a área de contato.

Existem quatro mecanismos principais, que podem contribuir para a instabilidade de emulsões (ROUSSEAU, 2000):

Sedimentação – É a separação de fases causada pela diferença de densidade entre elas, sob o efeito da gravidade.

Flocação – É a agregação de partículas, que se deve a forças atrativas (fracas) entre coloides, resultantes da combinação entre forças de atração (especialmente forças de van der Waals) e repulsão (exercida pelo emulsificante).

Coalescência – É a formação de uma única gotícula maior a partir da colisão de duas menores; a coalescência pode ser completa (quando as gotículas são líquidas) ou parcial (quando as gotículas contêm material cristalino).

A coalescência parcial pode levar à inversão de fases, como a que ocorre durante a produção de manteiga, em que uma emulsão O/A (leite) torna-se uma emulsão A/O (manteiga).

Inversão de fases – É a transformação de uma emulsão O/A numa emulsão A/O, como a que ocorre durante a produção de manteiga.

Estabilidade de espumas

No caso das espumas (que podem ser tomadas como um tipo especial de emulsão), a fase descontínua é formada, basicamente, por ar (considerado hidrofóbico). A estabilidade de espumas também requer agentes tensoativos, para estabilizar a interface ar-água das bolhas. Espuma de cerveja, por exemplo, é estabilizada por proteínas do malte; além disso, o etanol auxilia a formação da espuma, já que reduz a tensão superficial, produzindo menores bolhas de gás.

Muitas vezes, uma espuma precisa ser estabilizada de forma a se tornar resistente ao calor durante um subsequente processamento, como é o caso da espuma da clara de ovo, em bolos. A clara de ovo é muito efetiva como agente espumante, graças às propriedades tensoativas da albumina, que estabiliza as bolhas de ar.

Na elaboração de bolos, uma agitação mecânica promove a formação de bolhas, enquanto a desnaturação da albumina garante a exposição dos aminoácidos à interface ar-água entre as bolhas. A barreira formada pela albumina desnaturada na interface evita a coalescência das bolhas (CORSI et al., 2007).

As espumas são mais instáveis que as emulsões convencionais, em grande parte porque as bolhas de ar podem se dissolver e difundir através do líquido. Uma estratégia muito usada para retardar ou prevenir essa difusão é aumentar a viscosidade da fase líquida, que pode ser obtida pela adição de hidrocoloides, podendo-se até mesmo formar um gel, com gelatina, por exemplo.

O aumento da viscosidade da fase líquida também pode ser obtido por meio de congelamento, como é o caso dos sorvetes, cuja estabilidade depende da manutenção de baixas temperaturas (DALGLIESH, 2006). Outra estratégia possível – para estabilizar espuma – é reforçar a interface que se forma em torno das bolhas de ar. Isso pode ser feito usando-se proteínas como agentes de superfície, já que a viscoelasticidade pode ajudar a prevenir a coalescência de bolhas. Uma maneira ainda mais eficiente é promover a cobertura das bolhas com glóbulos de gordura semicristalinos coalescidos, como é o caso do *chantilly* e dos sorvetes (GOFF, 1997).

Os sorvetes (Figura 4) são um tipo complexo de coloide, no qual uma emulsão láctea O/A, estabilizada por uma camada proteica, é subsequentemente congelada e incorporada com ar, para formar espuma. Nesse caso, primeiramente, os cristais de gelo em crescimento podem romper a interface dos glóbulos de gordura, desestabilizando a emulsão. Uma vez estabilizadas, as gotículas de gordura tornam-se suscetíveis à coalescência e à interação com a interface das bolhas de ar, à medida em que a mistura é agitada. Portanto, cria-se uma fase dispersa de bolhas de ar (parcialmente circundadas por glóbulos de gordura coalescidos) e outra de cristais de gelo (DALGLEISH, 2006; GOFF, 1997).

O posterior descongelamento de uma emulsão, como sorvete, costuma resultar em coalescência e, em alguns casos, em completa separação de fases, por causa de dois diferentes mecanismos que favorecem a desestabilização da emulsão. Com a formação dos cristais de gelo, aumenta a concentração de solutos na fase aquosa, que permanece descongelada.

Na fase aquosa, altas concentrações de sais podem anular forças de repulsão entre gotículas da fase oleosa, e forçar a aproximação dessas gotículas umas das outras. Além disso, a fração volumétrica da fase dispersa aumenta, à medida que o volume de água líquida é

reduzido, e as gotículas de óleo tendem a ser deformadas pelos cristais de gelo (GHOSH; COUPLAND, 2008).

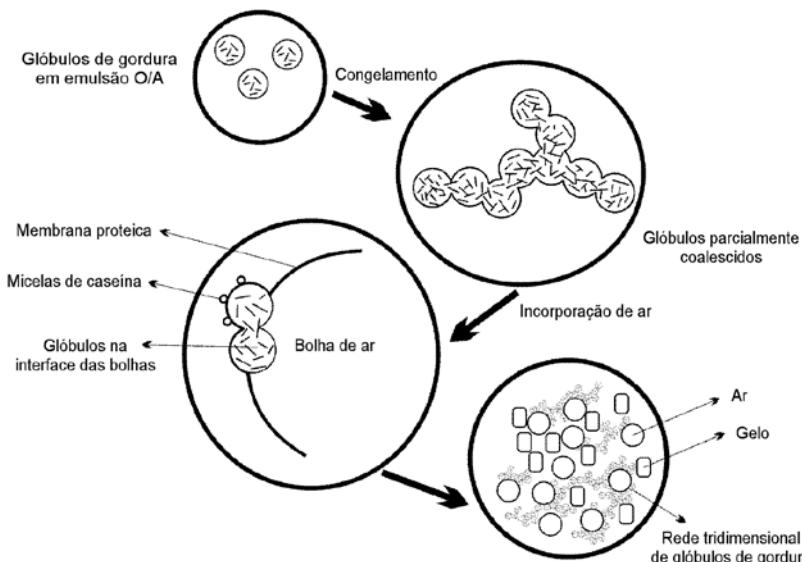


Figura 4. Estrutura física de um sorvete.

Fonte: University of Guelph (2009).

Manutenção da estabilidade de emulsões

Emulsificantes e estabilizantes

Moléculas anfifílicas, isto é, que contêm segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos, exercem papel importante na determinação das microestruturas e sua consequente estabilidade. Tais moléculas anfifílicas (aqui denominadas genericamente de emulsificantes, mas que podem agir, também, como dispersantes, espumantes, estabilizantes, etc.), podem pertencer a várias classes químicas, mais comumente macromoléculas, como proteínas, polissacarídeos, lipoproteínas, glicolipídios, lipídios polares, entre outras (GUPTA; MURALIDHARA, 2001).

Os grupos hidrofílicos e hidrofóbicos são espacialmente separados dentro da mesma molécula, interagindo, respectivamente, com as fases aquosa e oleosa de uma emulsão, estabilizando-a. Os emulsificantes

tendem a migrar para a interface óleo-água, onde não apenas ajudam na formação da emulsão, como também favorecem sua estabilidade.

No primeiro estádio, o emulsificante age como tensoativo, reduzindo a tensão interfacial entre as duas fases e a força requerida para superar a energia de superfície, facilitando assim a dispersão de uma fase na outra. No segundo estádio, o emulsificante forma um filme interfacial coeso em torno das gotículas, contribuindo assim para a estabilização das gotículas dispersas, evitando (ou pelo menos retardando) sua desestabilização (GARTI, 1999; ROUSSEAU, 2000).

Ao se selecionar um emulsificante para uso específico, deve-se levar em consideração um valor numérico denominado *BHL* (balanço hidrofílico-lipofílico), conceito introduzido por Griffin (1949, 1954) como:

$$BHL = \frac{20 \times M_h}{M} \quad (1)$$

em que:

M_h = massa molar referente à porção hidrofílica da molécula.

M = massa molar referente a toda a molécula.

Assim, o *BHL* tem uma escala (arbitrária) de 0 a 20, onde 0 corresponde a uma molécula totalmente apolar, e 20 refe-se a uma molécula composta apenas por componentes polares (hidrofílicos). Para emulsões A/O, geralmente usam-se emulsificantes com valores entre 4 e 6 e, para emulsões O/A, entre 8 e 18 (GRIFFIN, 1954).

Vale aqui ressaltar a diferença entre emulsificantes e estabilizantes de emulsão. Para ser classificado como emulsificante, um composto deve ter atividade de superfície na interface óleo-água, como já exposto. Por sua vez, os estabilizantes não são agentes de superfície, e ajudam a manter a estabilidade de emulsões por meio de outros mecanismos.

O aumento de viscosidade, já mencionado para estabilização de espumas, é o mecanismo mais comum, geralmente obtido mediante a adição de hidrocoloides, como a goma xantana, em emulsões O/A, em que os glóbulos de gordura são imobilizados, separadamente, numa rede formada por hidrocoloide (DICKINSON, 2009).

A exemplo de algumas gomas, além de celuloses e amidos modificados (hidrofobizados), alguns hidrocoloides são agentes de superfície, podendo ser classificados como emulsificantes (DICKINSON, 2003).

A atividade de superfície desses hidrocoloides é devida ao caráter apolar dos grupos químicos ligados à cadeia hidrofílica do polissacarídeo (no caso de celuloses e amidos hidrofobizados), ou à presença de componentes proteicos ligados covalente ou fisicamente ao polissacarídeo (no caso de goma arábica e algumas galactomananas).

A gelatina, única proteína que pode ser classificada como hidrocoloide, tem alguma atividade emulsificante mas, em emulsões, sua função primária é a de estabilizante (DICKINSON, 2009).

Retrogradação do amido

O amido é um polissacarídio de reserva de energia em plantas. É um importante constituinte de muitos alimentos, como cereais, massas, produtos de panificação e alguns molhos. Basicamente, o amido é composto de dois homopolímeros de D-glicose, amilose e amilopectina, conforme mostra a Figura 5.

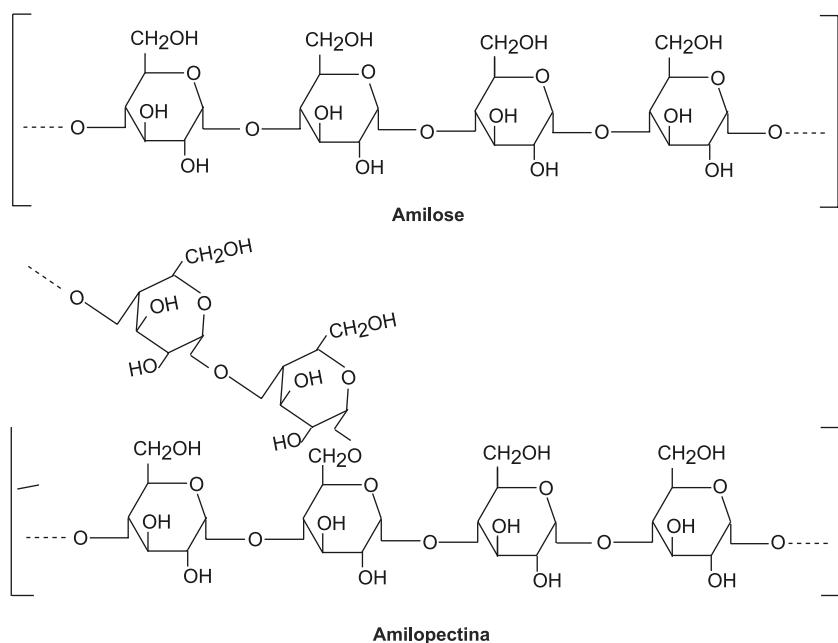


Figura 5. Estrutura das frações do amido.

Fonte: International Starch Institute (2002).

A amilose, que constitui cerca de 20% a 25% do amido, é uma cadeia linear de resíduos de glicose unidos por ligações glicosídicas α -1,4. A amilopectina é um polímero de unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e ramificado com ligações α -1,6 (SCAMAN, 2002). Amidos de diferentes origens botânicas têm diferentes proporções amilose: amilopectina.

O amido ocorre nas células vegetais, na forma de grânulos parcialmente cristalinos. A cristalinidade provém da organização das moléculas de amilopectina, que se apresentam orientadas radialmente no grânulo, enquanto a amilose é a principal responsável pelas regiões amorfas, formando uma matriz distribuída entre as regiões ocupadas pela amilopectina (BLANSHARD, 1987).

O grânulo de amido é insolúvel em água fria. Entretanto, seu aquecimento promove a gelatinização, que consiste na expansão ou rompimento dos grânulos, como mostra a Figura 6, dependendo da severidade do tratamento aplicado. O amido perde cristalinidade e passa a um estado desordenado (KARIM et al., 2000).

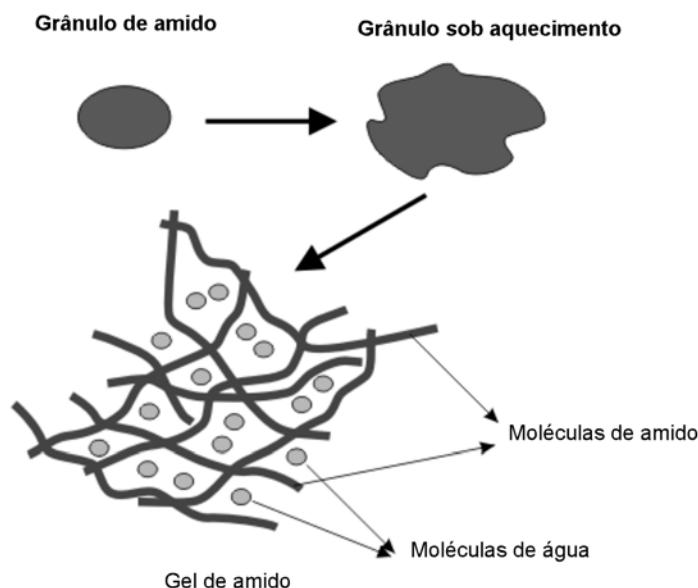


Figura 6. Gelatinização do amido.

Fonte: Ford et al. (2002).

O amido (especialmente a amilose) é solubilizado, formando uma matriz intergranular, que aumenta a viscosidade do sistema, e os grânulos perdem sua birrefringência (WONG, 1989). A temperatura exata em que se inicia a gelatinização, assim como a faixa de temperatura em que os grânulos se expandem totalmente, dependem do tipo de amido.

Com o resfriamento, as cadeias começam a se realinhar umas às outras por ligações de hidrogênio, como mostra a Figura 7, formando um precipitado insolúvel. As moléculas fortemente associadas exercem uma compressão da água para fora do sistema, ocorrendo sinérese.

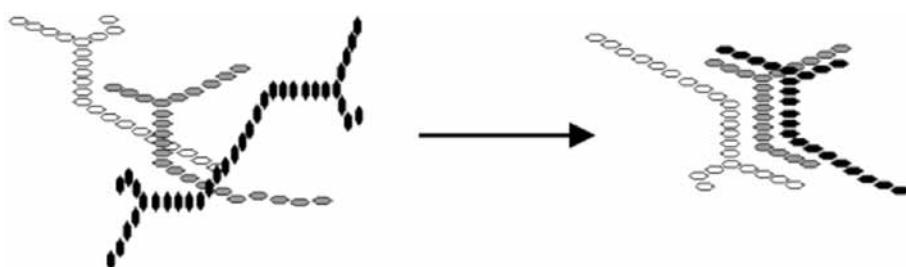


Figura 7. Reassociação das moléculas de amilopectina durante a retrogradação do amido.

Fonte: University of British Columbia (2002).

Essa recristalização do amido, com consequente redução da solubilidade, é conhecida como retrogradação (WONG, 1989). Por serem lineares, as moléculas de amilose realinham-se mais rapidamente, enquanto a amilopectina sofre retrogradação mais lenta (FORD et al., 2002).

O processo de retrogradação ocorre gradualmente, afetando profundamente a qualidade e a vida de prateleira de produtos amiláceos. A retrogradação do amido contribui para o envelhecimento de produtos de panificação, e se caracteriza por perda de textura (endurecimento) do produto. Alguns géis amiláceos são especialmente suscetíveis a retrogradação, o que os torna inadequados para produtos que requerem estocagem a baixas temperaturas (KARIM et al., 2000).

A retrogradação pode ainda acarretar alterações não diretamente ligadas às mudanças na estrutura do amido, como, por exemplo, migração

de umidade (liberada por sinérese) do recheio para a massa de um produto.

A temperatura de estocagem afeta, profundamente, a taxa de retrogradação do amido. Com a diminuição da temperatura, a taxa de retrogradação aumenta, até uma região de taxa máxima, que, em pães, ocorre em torno de 4 °C (RUSSELL, 1985). Segundo Pence e Standridge (1955), o simples ato de congelar e descongelar pão equivale a cerca de 24 horas de envelhecimento a 20 °C, porque esse produto passa duas vezes pela região de máxima retrogradação (durante o congelamento e o descongelamento). O efeito do ciclo congelamento/descongelamento sobre o envelhecimento do pão será mais significativo quanto mais tempo o produto passar na faixa crítica de temperatura, ou seja, quanto mais lento for o congelamento/descongelamento (CAUVAIN, 1998).

Existem situações em que a retrogradação é promovida, intencionalmente, para modificar as propriedades estruturais, mecânicas ou sensoriais de certos produtos, o que ocorre, por exemplo, no caso de cereais matinais e arroz parboilizado, em que o endurecimento resultante da retrogradação é desejável (COLONNA et al., 1992).

Muitas vezes, para evitar a retrogradação e melhorar a textura do produto final, os amidos são modificados por meios físicos ou químicos (WONG, 1989).

Referências

- AGUILERA, J. M.; DEL VALLE, J. M.; KAREL, M. Caking phenomena in amorphous food powders. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 6, p. 149-154, 1995.
- BHANDARI, B. R.; HARTEL, R. W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. p. 261-292.
- BHANDARI, B. R.; HOWES, T. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 40, p. 71-79, 1999.
- BLANSHARD, J. M. V. Starch granule structure and function: a physicochemical approach. In: GALLIARD, T. (Ed.). **Starch: properties and potential**. Chichester: John Wiley & Sons, 1987. p. 1654.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable O/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, NL, v. 107, p. 125-155, 2004.

CARGILL. **Emulsifiers**. Functionality. Disponível em: <<http://www.cargilltexturizing.com/products/functional/>>. Acesso em: 16 nov. 2010.

CAUVAIN, S. P. Improving the control of staling in frozen bakery products. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 9, n. 2, p. 56-61, 1998.

CHUY, L. E.; LABUZA, T. P. Caking and stickiness of dairy based food powders as related to glass transition. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 1, p. 43-46, 1994.

COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULÉON, A. Limiting factors of starch hydrolysis. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, GB, v. 46, n. 2, p. S17-S32, 1992. Suplemento.

CORSI, A.; MILCHEV, A.; ROSTIASHVILI, V. G.; VILGIS, T. A. Interface stability and copolymers: application to food systems. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, p. 870-878, 2007.

DALGLEISH, D. G. Food emulsions: their structures and structure-forming properties. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, p. 415-422, 2006.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, p. 1473-1482, 2009.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 17, p. 25-39, 2003.

EVERETT, D. H.; KOOPAL, L. K. **Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units**. Appendix II: definitions, terminology and symbols in colloid and surface chemistry. Part I. Washington, DC, 2001. Disponível em: <http://old.iupac.org/reports/2001/cooloid_2001/manual_of_s_and_t.html>. Acesso em: 26 nov. 2009.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology**: principles and practice. New York: Ellis Horwood, 1988. 505 p.

FORD, C.; MYERS, D.; LOVE, M. **Food and the consumer – FSNH 101**. Disponível em: <<http://www.public.iastate.edu/~cfford/101Food&Consumer.htm>>. Acesso em: 6 set. 2002.

GARTI, N. What can nature offer from an emulsifier point of view: trends and progress? **Colloids and Surfaces, A**: physicochemical and engineering aspects, Amsterdam, NL, v. 152, p. 125-146, 1999.

- GHOSH, S.; COUPLAND, J. N. Factors affecting the freeze-thaw stability of emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, p. 105-111, 2008.
- GOFF, H. D. Colloidal aspects of ice cream: a review. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, p. 363-373, 1997.
- GRAAF, S. van der; SCHRÖEN, C. G. P. H.; BOOM, R. M. Preparation of double emulsions by membrane emulsification: a review. **Journal of Membrane Science**, New York, v. 251, p. 7-15, 2005.
- GRIFFIN, W. C. Calculation of HLB values of non-ionic surfactants. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, Detroit, v. 5, p. 259-267, 1954.
- GRIFFIN, W. C. Classification of surface-active agents by HLB. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, Detroit, v. 1, p. 311-326, 1949.
- GUPTA, R.; MURALIDHARA, H. S. Interfacial challenges in the food industry: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 12, p. 382-391, 2001.
- HARTEL, R. W. Controlling sugar crystallization in food products. **Food Technology**, Chicago, v. 47, n. 11, p. 99-107, 1993.
- INTERNATIONAL STARCH INSTITUTE. **Starch**. Disponível em: <<http://home3.inet.tele.dk/starch/isi/starch/starch.htm>>. Acesso em: 14 jun. 2002.
- JAYA, S.; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 63, p. 125-134, 2004.
- JOHARI, G. P.; HALLBRUKER, A.; MAYER, E. The glass liquid transition of hyperquenched water. **Nature**, London, GB, v. 330, p. 552-553, 1987.
- JOUPILLA, K.; ROOS, Y. H. Glass transitions and crystallization in milk powders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2907-2915, 1994.
- KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, Barking, v. 71, n. 1, p. 9-36, 2000.
- KATZ, E. E.; LABUZA, T. P. Effect of water activity on the sensory crispness and mechanical deformation of snack food products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 2, p. 403-409, 1981.
- LABUZA, T. P. **Literature review on water activity and glass transition**. Disponível em: <http://fscn.che.umn.edu/Ted_Labuza/PDF_files/Papers/AW_and_Glass_Transition.PDF>. Acesso em: 19 jun. 2002.

LABUZA, T. P.; HYMAN, C. R. Moisture migration in multi-domain foods. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 9, n. 2, p. 47-55, 1998.

PENCE, J. W.; STANDRIDGE, N. N. Effect of storage temperature and freezing on the firming of a commercial bread. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 32, n. 3, p. 519-526, 1955.

ROOS, Y.; KAREL, M. Plasticizing effect of water on thermal behavior and crystallization of amorphous food models. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 38-43, 1991.

ROUDAUT, G.; SIMATOS, D.; CHAMPION, D.; CONTRERAS-LOPEZ, E.; LE MESTE, M. Molecular mobility around the glass transition temperature: a mini review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 5, p. 127-134, 2004.

ROUSSEAU, D. Fat crystals and emulsion stability: a review. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 33, p. 3-14, 2000.

RUSSELL, P. Shelf-life and staling. In: BROWN, J. (Ed.). **The Master Baker's Book of Breadmaking**. 2. ed. Rickmansworth: Turret Wheatland, 1985. p. 431-440.

SCAMAN, C. **Food 410 – Chemistry of food systems**: course modules. Disponível em: <<http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/modules.htm>>. Acesso em: 22 mar. 2002.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Livraria Varela, 1996. p. 387-517.

SILVA, M. A.; SOBRAL, P. J. A.; KIECKBUSCH, T. G. State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 77, p. 426-432, 2006.

SOLANS, C.; IZQUIERDO, P.; NOLLA, J.; AZEMAR, N.; GARCIA-CELMA, M. J. Nano-emulsions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, London, GB, v. 10, p. 102-110, 2005.

STEVENSON, E. M.; HORNE, D. S.; LEAVER, J. Displacement of native and thiolated β -casein from oil-in-water interfaces: effect of heating, aging and oil phase. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 11, p. 3-6, 1997.

UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA. UBC. Faculty of Agricultural Sciences. **Food 301 – Food Chemistry**. Disponível em: <<http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/301>>. Acesso em: 2 maio 2002.

UNIVERSITY OF GUELPH. **Colloidal (fat and air) structure of ice cream.**

Disponível em: <<http://www.foodsci.uoguelph.ca/deicon/icstruc.html>>. Acesso em: 1 dez. 2009.

WHITE, G. W.; CAKEBREAD, S. H. The glassy state in certain sugar-containing food products. **Journal of Food Technology**, Oxford v. 1, n.1, p. 73-82, 1966.

WONG, D. W. S. **Mechanism and theory in food chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 428 p.

Capítulo 4

Fundamentos de cinética de degradação e estimativa de vida de prateleira

*Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
José de Assis Fonseca Faria
Edy Sousa de Brito*

Introdução

Pelo fato de os alimentos serem dotados de sistemas ativos, sob os aspectos químico e biológico, sua qualidade é um estado dinâmico cujos níveis estão continuamente se reduzindo, com exceção de alguns casos em que a maturação e o envelhecimento fazem parte do processo de melhoria da qualidade do produto, como ocorre com vinhos e com alguns queijos.

O entendimento do mecanismo das alterações – que ocorrem em alimentos – é essencial para se escolher e se otimizar os métodos de conservação a serem usados em determinado produto, a fim de limitar, efetivamente, as alterações responsáveis por sua perda de qualidade.

O presente capítulo parte do pressuposto de que, para cada alimento específico, tem-se em mente um padrão de qualidade desejado, e esse padrão de qualidade pode ser traduzido em indicadores de qualidade mensuráveis. Em outras palavras, este capítulo propõe modelos cinéticos para descrever a queda de índices predefinidos de qualidade, em função das condições de estocagem. Alguns exemplos de indicadores de qualidade são:

- Cor, presença (ou ausência) de determinados compostos de sabor.
- Presença (ou ausência) de determinados microrganismos.
- Teor de certas vitaminas.
- Medidas instrumentais de textura, entre tantos outros.

Entretanto, o fato de os alimentos serem sistemas complexos e ativos, nos quais ocorrem simultaneamente alterações microbiológicas, físicas e químicas, muitas vezes torna o estudo de sua estabilidade um trabalho árduo. Não existe um modelo matemático universal que se aplique a todas as alterações de qualidade em alimentos, já que a variedade de fenômenos e mecanismos de alteração é muito grande. Assim, para que determinado modelo seja aplicado, é desejável que se adotem condições tão similares quanto possível às adotadas na construção desse modelo.

Ordem de reações

Na prática, a degradação ou a perda de qualidade de um alimento é representada:

- Pela perda de atributos de qualidade (ex: nutrientes, sabores característicos).
- Pela formação de atributos indesejáveis (toxinas, sabores estranhos).

Geralmente, as reações responsáveis pela degradação de compostos desejáveis para formar produtos indesejáveis são reações complexas, cujas etapas limitantes e produtos intermediários são difíceis de determinar (TAOUKIS et al., 1997). Entretanto, as reações de degradação podem ser representadas, simplificadamente, da seguinte forma:



em que

A = um composto desejável.

B = um produto indesejável.

A taxa de reação (r) pode ser definida como a redução na concentração do reagente A em função do tempo (θ), ou seja:

$$r = -\frac{d[A]}{d\theta} \quad (2)$$

ou

$$r = -\frac{\Delta[A]}{\Delta\theta} \quad (3)$$

Já se observou experimentalmente que a taxa de reação é proporcional à concentração do reagente, da seguinte forma:

$$r = k [A]^n, \quad (4)$$

sendo n a ordem aparente da reação e k a constante aparente da reação (uma constante de proporcionalidade entre taxa de reação e a concentração dos reagentes).

Assim:

$$r = \frac{-d[A]}{d\theta} = k[A]^n \quad (5)$$

As seguintes equações gerais podem ser usadas para descrever taxas de perda de atributos de qualidade e de formação de atributos indesejáveis:

Redução de atributos desejáveis (A): $-\frac{dA}{d\theta} = kA^n$ (6)

Aumento de atributos indesejáveis (B): $+\frac{dB}{d\theta} = k'B^{n'}$ (7)

Geralmente, os fatores de qualidade A e B são atributos químicos, físicos, microbiológicos ou sensoriais, quantificáveis e característicos do alimento em questão; k e k' são as constantes aparentes de reação, e n e n' , as ordens da reação. Os métodos usados para determinar os valores de k encontram-se descritos na revisão feita por Taoukis et al. (1997).

Segundo Taoukis e Labuza (1996), a maioria das alterações que ocorrem em alimentos seguem um padrão de ordem zero ou de primeira ordem. Numa reação de ordem zero, a redução de um atributo desejável A, com o tempo, ocorre a uma taxa constante com o tempo, segundo a Figura 1, e a Equação 6 torna-se:

$$-\frac{dA}{d\theta} = k \quad (8)$$

Integrando-se (8), obtém-se:

$$-\int_{A_0}^{A_f} dA = \int_{\theta_0}^{\theta_f} k \cdot d\theta \quad (9)$$

Assim:

$$A = A_0 - k\theta \quad (10)$$

O tempo-limite de estocagem (θ_f) ou vida de prateleira (VP), que representa o tempo de estocagem, desde o tempo zero de estocagem

(θ_0) até que o atributo A de qualidade atinja um valor-limite, daqui em diante denominado de grau de qualidade crítico (A_f), pode ser descrito por:

$$\theta_f = VP = \frac{A_0 - A_f}{k} \quad (11)$$

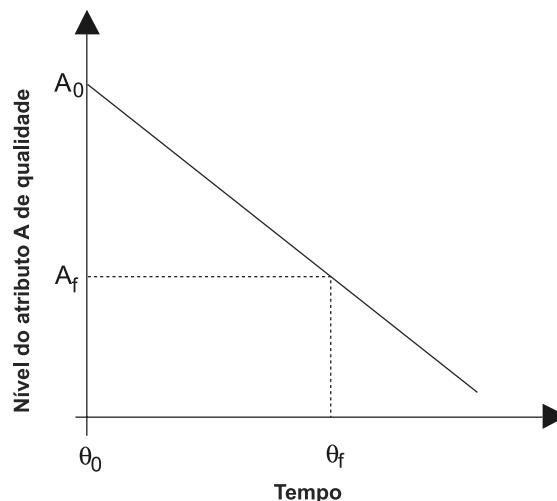


Figura 1. Representação geral do comportamento de uma reação de ordem zero. A declividade do gráfico é igual a $-K$.

Quando A é uma medida não mensurável em termos absolutos, como numa análise sensorial, assume-se que A_0 é 100%, e A_f é o grau de qualidade mínimo para aceitação do produto por uma fração pré-estabelecida dos julgadores.

As reações de ordem zero são frequentes em alterações de alimentos, especialmente quando a quantidade de produto formado é apenas uma fração reduzida da quantidade de reagentes. Nesse caso, o reagente está presente em quantidade tão excessiva para a reação, que sua concentração permanece constante, fazendo com que a taxa de reação pareça independente da concentração do reagente. Um exemplo típico é a formação de compostos de cor, como resultado da reação de Maillard (BOEKEL, 2008).

Para reações de primeira ordem, a taxa de perda de qualidade é diretamente relacionada à qualidade remanescente. Assim, com o tempo, a qualidade se reduz gradativamente, e a taxa de perda de qualidade cai, como mostra a Figura 2, e a Equação 6 torna-se:

$$-\frac{dA}{d\theta} = kA \quad (12)$$

Integrando-se (12):

$$-\int_{A_0}^{A_f} \frac{dA}{A} = \int_{\theta_0}^{\theta_f} k.d\theta \quad (13)$$

Assim:

$$\ln \frac{A}{A_0} = -k\theta, \quad (14)$$

e o tempo de vida de prateleira é representado por:

$$\theta_f = VP = \frac{\ln(A_0 / A_f)}{k} \quad (15)$$

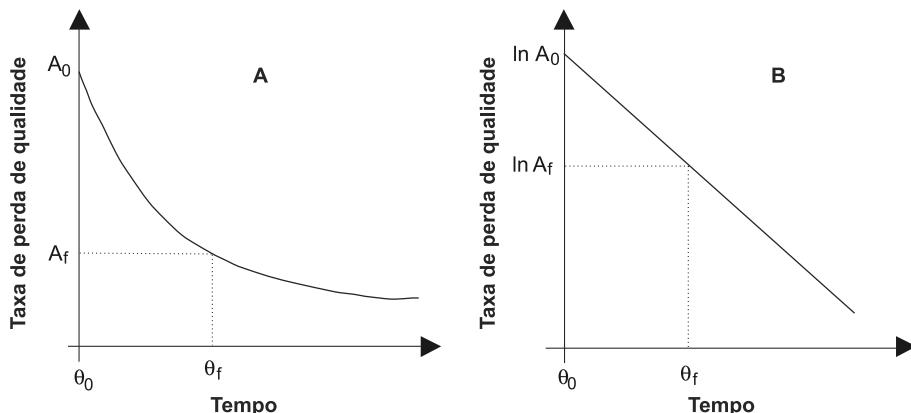


Figura 2. Comportamento de uma alteração de primeira ordem. Redução do nível do atributo A com o tempo (A); relação linear para determinar k (declividade do gráfico $= -k$) (B).

A meia-vida de uma reação ($\theta_{1/2}$) é o tempo requerido para que a concentração de um reagente diminua à metade do valor inicial. Para uma reação de primeira ordem:

$$\theta = \frac{1}{k} \ln \frac{[A]_0}{[A]} \quad (16)$$

Pela definição de meia-vida, quando $\theta = \theta_{1/2}$, então $[A] = [A]_0/2$.

Assim:

$$\theta_{1/2} = \frac{1}{k} \ln \frac{[A]_0}{[A]_0/2} = \frac{1}{k} \ln 2 = \frac{0,693}{k}, \quad (17)$$

ou seja, a meia-vida para uma reação de primeira ordem é independente da concentração inicial do reagente. Assim, a medida da meia-vida de uma reação de primeira ordem é uma forma de determinar sua constante de reação. Alguns exemplos de alterações, que podem ser aplicadas a um modelo de primeira ordem, são (BOEKEL, 2008; TAOUKIS; LABUZA, 1996):

- Perda de vitaminas.
- Oxidação de pigmentos.
- Crescimento microbiano.

A oxidação de lipídios pode ter comportamento aplicável à cinética de ordem zero ou de primeira ordem. Se o produto for acondicionado em embalagens de alta permeabilidade aos gases, como garrafas de plástico, a disponibilidade de O_2 não limita a reação, a qual ocorre em taxas aproximadamente constantes com o tempo; assim, a reação é de ordem 0 (zero).

Por sua vez, se o produto for acondicionado em embalagens impermeáveis aos gases, como as latas, a disponibilidade de O_2 torna-se um fator limitante da reação. Com a redução dos níveis remanescentes de O_2 (a saber, o O_2 do espaço livre e o O_2 dissolvido no produto), a taxa de oxidação diminui, seguindo um comportamento de primeira ordem.

Reações de ordem mais alta são mais raras; um exemplo é a perda de lisina em leite esterilizado devido à reação de Maillard, que segue um padrão de segunda ordem (BOEKEL, 2008).

Deve-se ter sempre em mente que, apesar de frequentemente se usarem equações envolvendo cinética de ordem 0 (zero) ou de primeira ordem, para descrever alterações em alimentos, geralmente essas alterações são muito complexas para tal tipo de simplificação. Por exemplo, a oxidação de lipídios e a reação de Maillard não podem ser descritas por uma única equação, uma vez que envolvem múltiplas reações ligadas entre si.

Para se descrever – com mais precisão – a cinética de tais tipos de alteração, deve-se recorrer a uma modelagem multirresposta, conforme descrito por Martins e Boekel (2004, 2005), que propicia melhor entendimento científico das cinéticas de reação. Por sua vez, os modelos simples (de ordem zero ou de primeira ordem) são mais rapidamente trabalhados, proporcionando dados que, apesar de menos precisos, fornecem uma ideia geral do comportamento de uma alteração.

Afinal, o que é o grau de qualidade crítico?

A definição do grau de qualidade crítica de um determinado produto deve levar em conta respostas às seguintes perguntas:

- a) Qual a composição do produto?
- b) Qual sua atividade de água?
- c) Qual o processamento conduzido sobre o produto?
- d) Em que sistema de embalagem o produto foi acondicionado?
- e) Qual a alteração crítica de qualidade esperada para esse tipo de produto (ou, em outras palavras, qual o tipo de alteração que provavelmente ocorrerá mais rapidamente e/ou que determinará a inadequação desse produto ao consumo)?
- f) Qual o grau dessa alteração que implicaria em inadequação do produto ao consumo (ou seja, qual o grau de qualidade crítica)?

A resposta à pergunta d depende das respostas anteriores. Por exemplo, geralmente, as alterações microbiológicas são as primeiras a ocorrer em alimentos perecíveis, como leite e derivados, carnes, etc. No caso de leite processado pelo método UHT – e acondicionado sob sistema asséptico – uma alteração microbiológica será altamente improvável,

mas poderão, eventualmente, ocorrer alterações de sabor (rancidez) derivadas de oxidação de lipídios.

No caso da pergunta e, quando se trata de alterações diretamente associadas à segurança do consumidor (alterações microbiológicas), a definição do grau de qualidade crítico pode ser baseada na legislação vigente.

No entanto, muitos aspectos de qualidade não são abordados pela legislação. Por exemplo, um produto desidratado em pó pode se apresentar inadequado ao consumo, em decorrência de um problema de aglomeração; mas a legislação não trata de aspectos como esse.

Em casos assim, como definir o grau de qualidade crítico?

Aqui, entra a importância que, frequentemente, os testes sensoriais têm, na determinação do grau de qualidade crítica. Obviamente, em alguns casos, não se pode determinar a vida de prateleira com base em alterações sensoriais. Quando as alterações críticas são de ordem microbiológica, mesmo que essas alterações, repercutam sobre a qualidade sensorial, a determinação da vida de prateleira deve ser estudada com base em análises microbiológicas – e não sensoriais – que poderiam comprometer a segurança dos julgadores.

Contudo, muitas vezes, o critério de definição do grau de qualidade crítica aceitável pode (ou até deve) ser definido como o grau de qualidade que leva o consumidor a começar a perceber alterações sensoriais no produto. Por exemplo, no caso de um produto em pó, em que a alteração crítica seria associada à aglomeração, um teste sensorial (de aparência) poderia definir qual o grau de aglomeração do produto que o consumidor passaria a rejeitá-lo.

Outro exemplo típico é quando a alteração crítica do alimento é a oxidação de lipídios. Muitos testes químicos podem ser feitos para medir o grau de oxidação, mas a medida mais confiável é a sensorial, já que são as alterações sensoriais que geralmente determinam se um produto suscetível a oxidação é ou não adequado ao consumo.

Um dos testes sensoriais mais adequados para servir de base à determinação da vida de prateleira de um produto é o teste de diferença do controle, que consiste em pedir aos julgadores (treinados) que analisem o produto estocado, em termos de atributos de qualidade previamente definidos, com base numa escala que quantifica o grau de

diferença entre a amostra-teste e um controle, que consiste no mesmo produto, mas no tempo 0 (zero) de estocagem (FREITAS; COSTA, 2006).

Efeito da temperatura sobre a vida de prateleira

Entre os fatores ambientais que afetam a estabilidade de alimentos, o mais estudado é a temperatura, o que se justifica não apenas por seu grande efeito sobre as taxas de reações, mas também pelo fato de ser um fator totalmente imposto pelo ambiente ao alimento, enquanto outros fatores ambientais – como a umidade relativa e a pressão parcial de gases – podem ser ao menos parcialmente controlados pela embalagem. Por isso, muitos métodos de estimativa de vida de prateleira de alimentos baseiam-se na aplicação de modelos cuja principal variável é a temperatura do sistema.

Equação de Arrhenius

O modelo mais usado para expressar taxas de reações em função da temperatura é a Equação de Arrhenius, que pode ser expressa assim:

$$k = A e^{\frac{-E_A}{RT}} \quad (18)$$

em que:

k = constante da reação.

A = constante para cada sistema, relacionado à frequência de colisões moleculares.

E_A = energia de ativação (energia mínima requerida para que uma reação se inicie).

R = constante universal dos gases, $8,31 \text{ J. mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

T = temperatura absoluta (K).

Essa equação pode ser também expressa da seguinte maneira:

$$\ln k = \ln A e^{\frac{-E_A}{RT}} \quad (19)$$

ou

$$\ln k = \ln A - \frac{E_A}{RT}, \quad (20)$$

tomando-se a forma de uma equação linear:

$$\ln k = -\frac{E_A}{R} \cdot \frac{1}{T} + \ln A \quad (21)$$

Geralmente, o valor de k é determinado a, pelo menos, quatro temperaturas. Plotando-se $\ln k \times 1/T$, obtém-se uma reta de declividade ($-E_A/R$), cujo valor absoluto depende da sensibilidade da reação a mudanças de temperatura (LABUZA, 1985). A representação gráfica da Equação de Arrhenius, apresentada para duas reações, A e B, na Figura 3 (TAOUKIS; LABUZA, 1996), indica que A é mais dependente da temperatura que B.

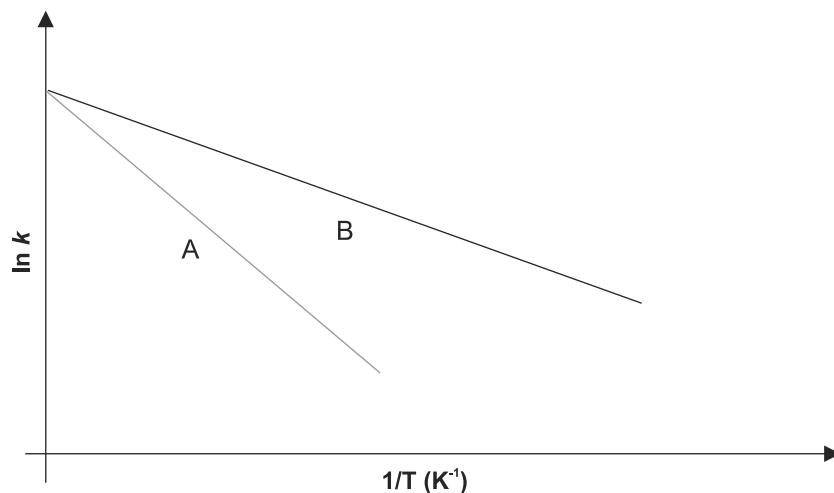


Figura 3. Representação gráfica da Equação de Arrhenius para reações distintas A e B.

Se forem conhecidas a energia de ativação de uma reação e a constante k_1 a uma temperatura T_1 , pode-se calcular k_2 à temperatura T_2 , partindo-se das equações:

$$\ln k_1 = \ln A - \frac{E_A}{RT_1} \quad (22)$$

e

$$\ln k_2 = \ln A - \frac{E_A}{RT_2} \quad (23)$$

Subtraindo-se (22) – (23), obtém-se:

$$\ln k_1 - \ln k_2 = \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad (24)$$

Assim:

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{E_A}{R} \left(\frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2} \right) \quad (25)$$

Da mesma forma, os parâmetros A e E_A da Equação de Arrhenius podem ser calculados se forem conhecidas as constantes k_1 e k_2 a duas temperaturas T_1 e T_2 :

$$E_A = \ln \left(\frac{k_2}{k_1} \right) \frac{RT_1 T_2}{T_2 - T_1} \quad (26)$$

$$k_A = k_1^{\left(\frac{T_1}{T_1 - T_2}\right)} k_2^{\left(\frac{T_2}{T_1 - T_2}\right)} \quad (27)$$

Na prática, já que existem erros experimentais envolvidos na determinação dos valores de k , há erros substanciais nos cálculos de E_A obtidos a partir de dois pontos. Assim, para se obter maior precisão, devem-se realizar determinações a vários valores de temperatura, plotando-se a seguir k (ou $\ln k$) versus $1/T$ (TAOUKIS et al., 1997).

É importante lembrar que alguns processos de deterioração seguem modelos que têm dois ou mais parâmetros dependentes de temperatura, portanto sua taxa não pode ser expressa por uma única constante, como a Equação de Arrhenius requer (CORRADINI; PELEG, 2007).

Valor de Q_{10}

Uma forma alternativa de expressar a dependência de uma alteração a mudanças de temperatura, muito usada pela indústria de alimentos, é o valor de Q_{10} , definido como a relação entre constantes de reação para temperaturas diferindo em 10 °C, ou, em outras palavras, o aumento da vida de prateleira resultante da redução da temperatura em 10 °C (LABUZA, 1982).

$$Q_{10} = \frac{k(T+10^\circ C)}{k(T)} = \frac{\theta_f(T)}{\theta_f(T+10^\circ C)} \quad (28)$$

Na prática, a validade da Equação de Q_{10} restringe-se a intervalos relativamente estreitos de temperatura. A obtenção de Q_{10} , a partir de uma faixa ampla de temperaturas, pode fornecer resultados errôneos (BOEKEL, 2008). Segundo Taoukis et al. (1997), o valor de Q_{10} conduz a uma equação de taxa de reação em função da temperatura, na forma:

$$k(T) = k_0 e^{bT} \quad (29)$$

ou

$$\ln k = \ln k_0 + bT \quad (30)$$

Isso implica em se obter uma reta pela plotagem de $\ln k$ versus temperatura (ao invés de $1/T$, como na Equação de Arrhenius), obtendo-se assim os chamados gráficos de vida de prateleira (*shelf life plots*), que são linhas retas apenas em faixas estreitas de temperatura, ou seja, até cerca de 20 °C (LABUZA, 1982).

A Figura 4 mostra um gráfico de vida de prateleira com duas retas distintas, representando dois tipos de alteração num produto. Uma informação interessante obtida do gráfico é que, abaixo de 27 °C, a alteração A é a mais relevante para determinar a vida de prateleira do alimento; acima dessa temperatura, a alteração B é que determina a vida de prateleira.

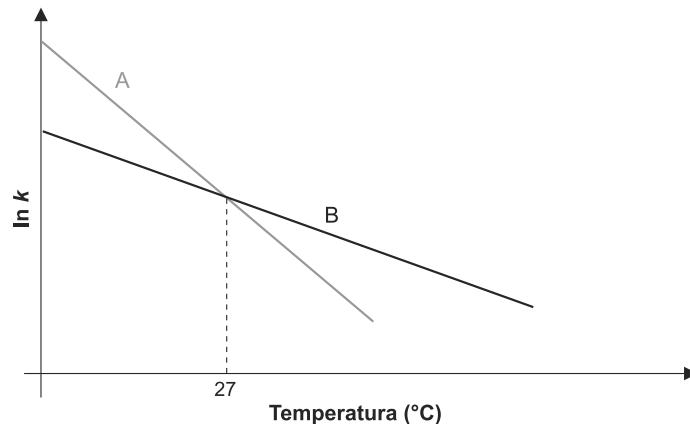


Figura 4. Gráfico de vida de prateleira para duas alterações distintas A e B.

Segundo Taoukis et al. (1997), o Q_{10} está relacionado com a energia de ativação, segundo a seguinte equação:

$$\ln Q_{10} = \frac{10E_A}{RT(T+10)} \quad (31)$$

Valor z

O valor z é um termo muito usado para representar a dependência da temperatura em cinética de inativação de microrganismos. O valor z equivale à diferença de temperatura que determina uma variação de dez vezes na velocidade da alteração. Maiores detalhes sobre o valor z serão abordados no Capítulo 5. A relação entre Q_{10} e z é a seguinte:

$$z = \frac{10}{\log Q_{10}} \quad (32)$$

Equações para temperaturas variáveis

Um modelo cinético de vida de prateleira é específico não apenas para o alimento estudado, mas também para as condições ambientais do experimento. Tais condições determinam as taxas de reações, e

devem ser definidas e monitoradas ao longo dos experimentos. Já que a maioria dos fatores ambientais não permanece constante, o próximo passo é expandir os modelos de forma a incluir tais fatores como variáveis, especialmente a temperatura, por seu grande efeito sobre as taxas de reações e sua suscetibilidade às variações durante a vida útil do alimento.

A partir dos modelos de cinética de reações e dos gráficos de vida de prateleira, podem-se obter algumas equações simples para predizer o grau de deterioração de um alimento, em função de temperaturas variáveis.

Segundo Labuza (1982), para se quantificar a qualidade remanescente de um alimento, pode-se levantar um histórico das condições tempo-temperatura de exposição do alimento durante a estocagem. O histórico é dividido em períodos de tempo; para cada período, a temperatura média é calculada, e a constante de reação é estimada a partir do gráfico de vida de prateleira, usando-se um padrão de ordem zero ou de primeira ordem, a depender da reação.

Os produtos ($k_i t_i$) são então somados até se obter o tempo total de estocagem. Para alterações de ordem 0 (zero) e de primeira ordem, as seguintes expressões podem-se usar:

$$\text{Ordem zero: } A_f = A_0 - \sum_{i=0}^n (k_i \theta_i) \quad (33)$$

$$\text{Primeira ordem: } A_f = A_0 e^{(-\sum k_i \theta_i)} \quad (34)$$

em que:

A_f = quantidade remanescente do atributo A após decorrido um determinado tempo de estocagem.

A_0 = quantidade inicial do atributo A .

$\sum (k_i \theta_i)$ = soma dos produtos das constantes de reação (k_i) a uma dada temperatura T_i pelo intervalo de tempo (θ_i) de estocagem à temperatura média T_j .

Testes acelerados para estimativa de vida de prateleira

Com base nos fundamentos de cinética de reações e em conhecimentos de ciência de alimentos, principalmente química de alimentos,

pode-se conduzir uma avaliação de vida de prateleira. O primeiro passo para se estimar a vida de prateleira de um alimento é identificar as alterações que influenciam sua qualidade.

A seguir, faz-se um estudo cuidadoso dos componentes e do processo, para determinar quais as alterações que provavelmente terão maior impacto sobre a deterioração do produto. A cinética dessas alterações determinará a vida de prateleira do produto, juntamente com as condições às quais o alimento será submetido durante o período de estocagem.

Basicamente, os testes acelerados consistem em avaliar a estabilidade de alimentos expostos a condições abusivas de estocagem, a fim de reduzir o tempo requerido para se determinar a vida de prateleira. Os testes acelerados representam um recurso muito útil diante da escassez de dados cinéticos de degradação de sistemas complexos, como grande parte dos alimentos.

Geralmente, os testes acelerados baseiam-se no uso de altas temperaturas, embora, muitas vezes, as reações oxidativas possam ser aceleradas por meio de testes a altas pressões parciais de O_2 . No entanto, nesses casos, a aceleração não é muito alta, já que a oxidação torna-se independente da concentração de O_2 acima de um nível crítico de concentração, que depende da temperatura e de outros fatores. Altas pressões de O_2 são usualmente empregadas nos testes acelerados tradicionais usados para estimar a estabilidade relativa de óleos.

Entretanto, não existem fatores de conversão aceitáveis que permitam a extrapolação dos resultados para pressões normais de estocagem, o que limita a utilidade desses testes (SAGUY; KAREL, 1980). Além da exposição a altas temperaturas ou à alta umidade relativa, a taxa de deterioração de um alimento pode ser também acelerada pela remoção de um fator inibitório da alteração. Por exemplo, remoção de NaCl, para avaliar a vida de prateleira de carnes (CORRADINI; PELEG, 2007).

Os testes acelerados (sob altas temperaturas) são usados há várias décadas. Geralmente, os alimentos são estocados a 37 °C e 51 °C, e várias correlações (baseadas na Equação de Arrhenius ou no conceito de Q_{10}) são usadas para extrapolar os resultados para as temperaturas usuais de estocagem. Quando se deseja mais precisão, usam-se várias temperaturas elevadas de estocagem, determinando-

se, experimentalmente, o valor de Q_{10} ou a energia de ativação (SAGUY; KAREL, 1980).

Para se aplicar um teste acelerado de estabilidade (TAOUKIS et al., 1997), devem-se observar os seguintes passos:

- Avaliar a segurança microbiológica. Os princípios da APPCC (Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle) devem ser aplicados a essa etapa.
- Determinar, por meio de análise da composição do alimento, do processo e das condições de estocagem previstas, quais as alterações que afetarão, significativamente, a vida de prateleira e que devem ser usadas como índices de perda de qualidade.
- Selecionar a embalagem a ser usada para o teste. Alimentos congelados, refrigerados e esterilizados, comercialmente, devem ser acondicionados na embalagem que será realmente usada. Produtos desidratados devem ser acondicionados em recipientes de vidro selados ou em sacos plásticos de alta barreira.
- Definir as temperaturas de estocagem a serem adotadas no teste (Tabela 1).

Tabela 1. Temperaturas sugeridas para testes acelerados de estabilidade.

Tipo de produto	Temperatura de teste (°C)	Controle (°C)
Esterilizados comercialmente	25, 30, 35, 40	4
Desidratados	25, 30, 35, 40, 45	-18
Refrigerados	5, 10, 15, 20	0
Congelados	-5, -10, -15	< -40

Fonte: Taoukis et al. (1997).

- Com base na vida de prateleira desejada sob as condições de temperatura esperadas da estocagem, e considerando-se as informações disponíveis na literatura sobre um valor provável de Q_{10} , estimar o tempo de teste a cada temperatura selecionada.

- Decidir o tipo e a frequência das análises a serem conduzidas a cada temperatura.
- Plotar os dados obtidos para determinar a ordem da reação e para decidir se a frequência das análises deve ser alterada.
- Para cada condição de estocagem, determinar a ordem e a taxa de reação, construir a representação gráfica da Equação de Arrhenius e predizer a vida de prateleira sob as condições reais de estocagem esperadas. O produto pode ser também estocado sob as condições finais esperadas, a fim de validar a predição, procedimento este incomum nas indústrias, em função do consumo de tempo.

Existem algumas limitações inerentes ao uso de testes acelerados sob altas temperaturas:

- Alguns fatores relativos aos alimentos podem promover desvios significativos da Equação de Arrhenius em função da temperatura, especialmente alterações que envolvem mudanças de estado (LABUZA; RIBOH, 1982). A passagem de gorduras do estado sólido para o líquido favorece a mobilidade de reagentes. Em alimentos congelados, a mudança de fase de água para gelo promove aumento na taxa de algumas reações na faixa de temperatura imediatamente abaixo do ponto de congelamento, aumento este associado, basicamente, ao efeito de concentração de reagentes (SINGH; WANG, 1977).
- Se duas reações de diferentes valores de Q_{10} promovem perda de qualidade num alimento, aquela com maior Q_{10} pode predominar em altas temperaturas, enquanto a de menor Q_{10} pode predominar sob condições normais de estocagem, causando erros na predição da vida de prateleira (LABUZA; SCHMIDL, 1985).
- A atividade de água de alimentos desidratados pode aumentar com o aumento da temperatura (LABUZA; RIBOH, 1982), resultando em predição errônea da estabilidade em temperaturas normais de estocagem.
- A solubilidade de gases, especialmente do O_2 , diminui em cerca de 25% a cada 10 °C de aumento de temperatura. Assim, a taxa de uma reação oxidativa pode se reduzir, se o O_2 for um

fator limitante, gerando estimativas errôneas (LAING et al., 1978).

- Se forem adotadas temperaturas muito altas, as proteínas podem se desnaturar, tornando-se mais ou menos suscetíveis a reações, dependendo da natureza tridimensional do estado desnaturado (LABUZA; RIBOH, 1982).

Diante de tais limitações, os resultados de testes acelerados devem ser interpretados com bastante cautela, devendo-se procurar usar o máximo possível de condições de estocagem, a fim de minimizar erros de predição. Quando possível, o produto deve ser monitorado sob temperaturas normais de estocagem, para confirmação da estimativa. Deve-se, também, levar em consideração que, nas condições reais de distribuição, o produto será provavelmente submetido a flutuações de temperatura, reduzindo sua vida de prateleira.

Microbiologia preditiva

Para se determinar o grau de deterioração de um alimento, os métodos microbiológicos tradicionais são limitados pelo longo tempo requerido para se obterem resultados. Os métodos indiretos – que se baseiam em alterações químicas ou físicas – só acusam deterioração quando o número de células presentes é alto. A detecção de metabólitos, por exemplo, requer cerca de 10^7 células/g ou mililitro do produto (MCMEEKIN; ROSS, 1996).

Uma alternativa a tais métodos é a aplicação da microbiologia preditiva, que envolve o desenvolvimento de modelos matemáticos a partir de conhecimentos sobre o comportamento de microrganismos. Essa área de pesquisa parte do pressuposto de que um conhecimento detalhado das respostas microbianas aos fatores ambientais permite a avaliação objetiva dos efeitos das operações de processamento, distribuição e estocagem sobre a segurança e a qualidade microbiológica dos alimentos (MCMEEKIN et al., 2002).

Na microbiologia preditiva, os modelos usados até o presente são basicamente empíricos, partindo do conhecimento prévio para descrever as respostas microbianas a fatores ambientais (GEERAERD et al., 2004). Um progresso importante foi alcançado por Ratkowsky

et al. (2005), que descreveram um modelo baseado em desnaturação proteica reversível a diferentes temperaturas.

Como principais requerimentos para se aplicar a microbiologia preditiva, devem-se identificar os seguintes fatores (MCMEEKIN; ROSS, 1996):

- As alterações responsáveis pela deterioração (*SR – spoilage reactions*).
- Os microrganismos associados a tais alterações (*SSO – spoilage specific organisms*).
- O domínio de deterioração *spoilage domain* (SD), que é o conjunto de condições ambientais que favorecem o desenvolvimento das alterações.
- Dalgaard (1995) sugeriu que os modelos preditivos – para deterioração – deveriam ser desenvolvidos e validados em duas etapas:

Primeira etapa – Envolve experimentos para determinar SR, SSO e SD, além do nível mínimo de deterioração, que é a concentração mínima de SSO requerida para que o produto seja rejeitado. Essa etapa permite a escolha ou o desenvolvimento de um substrato modelo, e a definição de um delineamento experimental adequado.

Segunda etapa – Envolve a construção de um modelo que represente o crescimento dos SSO, dentro da faixa do domínio de deterioração.

Segundo Whiting e Buchanan (1993), os modelos a serem aplicados em microbiologia preditiva classificam-se em:

Modelos primários – Descrevem como a densidade da população muda com o tempo, num ambiente específico, e são representados na forma de curvas de crescimento microbiano.

Modelos secundários – Indicam como os parâmetros de um modelo primário mudam com os fatores ambientais; como exemplo, tem-se o Modelo de Arrhenius, que relaciona o logaritmo da taxa de crescimento com a temperatura de estocagem.

Modelos terciários – São baseados em ferramentas como softwares e outros sistemas complexos.

Os estudos de modelagem de deterioração microbiológica fornecem informações úteis para especificar parâmetros no desenvolvimento de novos produtos microbiologicamente estáveis, para identificar e quantificar o efeito de deficiências nos sistemas de processamento e distribuição, e implantar, racionalmente, programas de qualidade (MCMEEKIN; ROSS, 1996).

A microbiologia preditiva tem algumas limitações. É uma área de pesquisa relativamente nova, que se expandiu a partir do início da década de 1980 e, apesar dos vários esforços que têm sido feitos para gerar bases de dados e desenvolver modelos de crescimento microbiano, a maioria dos modelos é ainda de natureza muito mais descriptiva do que mecanística, o que limita sua aplicabilidade (KNOCHEL; GOULD, 1995). McMeekin e Ross (1996) mencionam outras limitações:

- Dificuldade de mensurar as condições microbiológicas iniciais do produto, em termos de número e tipos de microrganismos.
- Complexidade dos alimentos em termos de composição química.
- Contribuição de fatores não microbianos para produzir deterioração.
- Efeito de fatores extrínsecos flutuantes.

Outro fator que desafia a microbiologia preditiva é a capacidade (até o momento considerada imprevisível) de algumas células microbianas persistirem sob condições muito adversas (MCMEEKIN et al., 2008). Não apenas esporos têm essa capacidade, mas também algumas células vegetativas. Balaban et al. (2004) demonstraram que populações de células vegetativas de *Escherichia coli* contêm uma subpopulação de células resistentes.

Considerações finais

Geralmente, os alimentos estão sujeitos a várias alterações simultâneas que contribuem para o fim da vida de prateleira. As diversas alterações são diferentemente afetadas pela temperatura e por outros fatores ambientais, e têm diferentes graus de impacto sobre a qualidade do produto.

Assim, para um dado alimento (estocado sob condições definidas), cada alteração requer um tempo determinado para torná-lo inaceitável. É importante que se defina qual será a alteração limitante, ou seja, a alteração que provavelmente determinará a estabilidade daquele produto sob aquelas condições de estocagem. A estimativa da vida de prateleira será baseada, primariamente, com base nessa alteração. É importante, também, destacar que a aplicabilidade dos modelos de deterioração da qualidade, descritos neste capítulo, limita-se a cada alimento específico em que foi focado o estudo.

Como geralmente os modelos não descrevem o mecanismo real da reação, qualquer alteração na composição do sistema pode afetar a taxa de perda de qualidade. Assim, qualquer extrapolação de resultados para sistemas similares deve ser feita com muito cuidado.

Em certos casos, um estudo cinético mais aprofundado de reações específicas é desejável, permitindo que os efeitos de alterações de composição sejam estudados. Nesse caso, os estudos são conduzidos em sistemas-modelo ao invés de alimentos, de forma que as concentrações relativas dos componentes sejam cuidadosamente monitoradas. Esse estudo é especialmente útil para avaliar o impacto toxicológico ou nutricional da acumulação de produtos de degradação, incluindo-se reações sequenciais ou paralelas.

Referências

- BALABAN, N. Q.; MERRIN, J.; CHAIT, R.; KOWALIK, L.; LEIBLER, S. Bacterial persistence as a phenotypic switch. **Science**, Washington, DC, v. 305, p. 1622-1625, 2004.
- BOEKEL, M. A. J. S. van. Kinetic modeling of food quality: a critical review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S.I.], v. 7, p. 144-158, 2008.
- CORRADINI, M. G.; PELEG, M. Shelf-life estimation from accelerated storage data. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, p. 37-47, 2007.
- DALGAARD, P. Modelling of microbial activity and prediction of shelf life of packed fish. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 26, p. 305-318, 1995.

FREITAS, M. A.; COSTA, J. C. Shelf life determination using sensory evaluation scores: a general Weibull modeling approach. **Computers & Industrial Engineering**, New York, v. 51, p. 652-670, 2006.

GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; DEVLIEGHERE, F.; BERNAERTS, H.; DEBEVERE, J.; IMPE, J. F. van. Development of a novel approach for secondary modelling in predictive microbiology: incorporation of microbiological knowledge in black box polynomial modelling. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 91, p. 229-244, 2004.

KNOCHEL, S.; GOULD, G. Preservation microbiology and safety: quo vadis? **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, p. 127-131, 1995.

LABUZA, T. P. An integrated approach to food chemistry: illustrative cases. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. 2nd. ed New York: Marcel Dekker, 1985. p. 913-938.

LABUZA, T. P. **Shelf-life dating of foods**. Westport: Food & Nutrition Press, 1982. 500 p.

LABUZA, T. P.; RIBOH, D. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in food. **Food Technology**, Chicago, v. 36, n. 10, p. 66-74, 1982.

LABUZA, T. P.; SCHMIDL, M. K. Accelerated shelf-life testing of foods. **Food Technology**, Chicago, v. 39, n. 9, p. 57-64, 1985.

LAING, B.; SCHLUETER, D.; LABUZA, T. P. Degradation kinetics of ascorbic acid at high temperature and water activity. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 5, p. 1440-1443, 1978.

MARTINS, S. I. F. S.; BOEKEL, M. A. J. S. van. A kinetic model for the glucose/glycine Maillard reaction pathways. **Food Chemistry**, Barking, v. 90, p. 257-269, 2004.

MARTINS, S. I. F. S.; BOEKEL, M. A. J. S. van. Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: influences of pH and reactant initial concentrations. **Food Chemistry**, Barking v. 92, p. 437-448, 2005.

MCMEEKIN, T. A.; BOWMAN, J.; MCQUESTIN, O.; MELLEFONT, L.; ROSS, T.; TAMPLIN, M. The future of predictive microbiology: strategic research, innovative applications and great expectations. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 128, p. 2-9, 2008.

MCMEEKIN, T.A.; OLLEY, J.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 73, n. 2-3, p. 395-407, 2002.

- MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. Shelf life prediction: status and future possibilities. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 33, p. 65-83, 1996.
- RATKOWSKY, D. A.; OLLEY, J.; ROSS, T. Unifying temperature effects on the growth rate of bacteria and the stability of globular proteins. **Journal of Theoretical Biology**, London, GB, v. 233, p. 351-362, 2005.
- SAGUY, I.; KAREL, M. Modeling of quality deterioration during food processing and storage. **Food Technology**, Chicago, v. 34, n. 2, p. 78-85, 1980.
- SINGH, R. P.; WANG, C. Y. Quality of frozen foods: a review. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 1, n. 2, p. 97-127, 1977.
- TAOUKIS, P. S.; LABUZA, T. P. Summary: integrative concepts. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. 3rd. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1013-1042.
- TAOUKIS, P. S.; LABUZA, T. P.; SAGUY, I. S. Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction. In: VALENTAS, K. J.; ROTSTEIN, E.; SINGH, R. P. (Ed.). **Hanbook of food engeneering practice**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 361-403.
- WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models for predictive microbiology. **Food Microbiology**, London, GB, v. 10, p. 175-177, 1993.

Capítulo 5

Princípios dos métodos de conservação de alimentos

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Edy Sousa de Brito

Laura Maria Bruno

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Introdução

As técnicas mais importantes de conservação de alimentos baseiam-se na redução das taxas de alterações microbiológicas, intimamente associadas com a segurança ~~alimentar~~. Alguns métodos de conservação – como o uso de calor e radiação ionizante – são baseados na inativação de microrganismos, enquanto outros têm como princípio o controle de seu crescimento, como é o caso das fermentações e dos métodos calcados em redução de temperatura, pH ou atividade de água.

Para se escolher que métodos de conservação devem ser aplicados a um dado alimento – assim como os níveis de aplicação de cada um – vários aspectos devem ser considerados, a saber:

- O pH e a atividade de água do alimento, já que produtos de baixa acidez e/ou alta atividade de água são mais suscetíveis a processos de deterioração.
- Identificação de parâmetros críticos para manter a qualidade e a segurança do alimento, como alto teor de lipídios insaturados; alto teor de vitaminas e/ou pigmentos fotossensíveis; presença de condições favoráveis ao crescimento de microrganismos patogênicos e/ou deterioradores, etc.
- Condições de estocagem e distribuição a que o produto será exposto.

Conservação pelo calor

Historicamente, as tecnologias térmicas são o foco central do processamento e conservação de alimentos. Além dos efeitos do calor sobre a conservação, um atributo importante da aplicação de calor aos alimentos são as modificações sensoriais (especialmente à textura e ao sabor), frequentemente indispensáveis à sua aceitação, como é o caso de carnes e derivados. A aplicação de calor, para conservar alimentos, tem por objetivo reduzir a carga microbiana e a desnaturação de enzimas. Vários tipos de tratamento térmico podem ser aplicados, dependendo da termossensibilidade do alimento e de sua suscetibilidade à deterioração, bem como da estabilidade requerida do produto final.

Geralmente, o tratamento térmico tem efeitos adversos sobre as propriedades sensoriais e nutricionais do alimento. Em decorrência disso, deve-se selecionar o tratamento térmico mais brando, capaz de garantir ausência de patógenos e assegurar a vida de prateleira desejada. Um tratamento térmico seguro deve ser selecionado com base no binômio tempo-temperatura requerido para inativar os microrganismos patogênicos e deterioradores mais termorresistentes num dado alimento, e nas propriedades de transferência de calor do alimento e da embalagem.

Curvas de destruição térmica de microrganismos

A destruição de microrganismos pelo calor ocorre a uma taxa proporcional ao número de sobreviventes no sistema. Assim, se a temperatura se mantiver constante, a mesma percentagem da população será destruída num determinado intervalo de tempo, independentemente do tamanho da população sobrevivente; ou seja, se uma dada temperatura destrói 90% de uma população de microrganismos no primeiro minuto, 90% da população remanescente será destruída no minuto seguinte, e assim por diante.

O valor D , ou tempo de redução decimal, é definido como o tempo requerido, a uma dada temperatura, para destruir 90% dos organismos de uma população, ou seja, reduzir a população microbiana num ciclo decimal (POTTER; HOTCHKISS, 1995). A Figura 1 mostra uma curva de morte térmica em que $D = 5$ minutos.

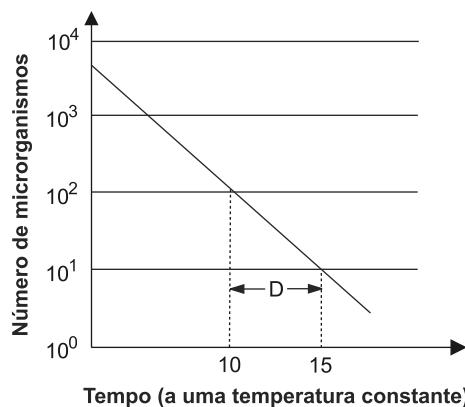


Figura 1. Curva de morte térmica.

Geralmente, não se sabe o número – e as espécies de microrganismos – presentes num alimento. Para se ter uma grande margem de segurança em alimentos de baixa acidez, normalmente assume-se a presença de uma grande população de *Clostridium botulinum*, um microrganismo de grande importância em saúde pública, termorresistente e formador de esporos.

Uma vez conhecido o valor D para *C. botulinum* – obtido experimentalmente a partir de sua curva de morte térmica num dado alimento – estabelece-se um tratamento térmico equivalente a 12 D , suficiente, para reduzir a população de *C. botulinum* em 12 ciclos logarítmicos.

Considera-se que um tratamento 12 D leva a população microbiana de uma embalagem à condição de esterilidade comercial (ver Esterilização comercial), já que, até mesmo um alimento altamente deteriorado, dificilmente suporta uma população bacteriana maior que 1 trilhão (10^{12}) de organismos por embalagem (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

É importante ressaltar que os tratamentos térmicos são baseados num binômio tempo-temperatura. Um aumento na temperatura permite que se reduza o tempo de tratamento. O valor z é definido como o aumento de temperatura requerido para reduzir o valor D em 10 vezes (um ciclo logarítmico):

$$z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2} \quad (1)$$

O valor z é característico para cada espécie de microrganismo; quanto mais termorresistente um microrganismo, maior seu valor de z (PEARL, 2001). A Figura 2 mostra uma curva de resistência térmica em que $z = 10^{\circ}\text{C}$.

Finalmente, o valor F é a letalidade do processo, definido como o tempo, em minutos, a certa temperatura, requerido para destruir um número específico de células viáveis com um determinado valor z . Geralmente, esse valor F é fixado em 12 D , para assegurar uma redução de 12 ciclos logarítmicos dos esporos mesófilos mais termorresistentes num alimento. Um valor F de referência é o denominado F_0 , para o qual se assume a temperatura de 121 °C e o valor z de 10 °C.

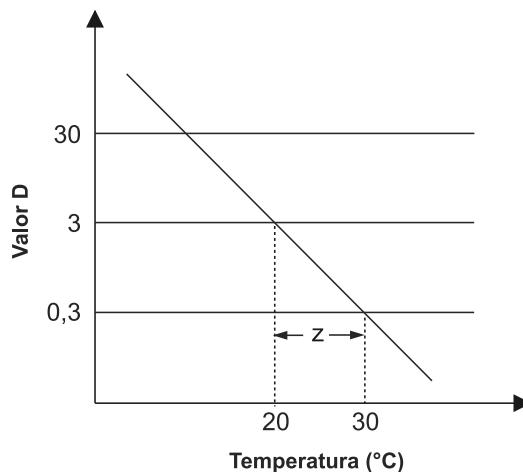


Figura 2. Curva de resistência térmica.

Frequentemente, o valor F é usado para se estabelecer equivalências de tratamento térmico, de acordo com a seguinte equação:

$$\frac{F}{F_0} = 10^{(T_0-T)/z}, \quad (2)$$

em que:

T_0 = temperatura de referência (para a qual se tem um padrão de tratamento térmico).

T = temperatura à qual se pretende fazer o tratamento equivalente.

Modos de transferência de calor

A energia térmica pode ser transferida por condução, convecção e radiação. Para esterilização de alimentos, os dois primeiros são os mais importantes. Na condução, o calor é transferido de uma partícula para outra, por contato, não havendo circulação para misturar alimento quente com frio.

Por sua vez, a convecção envolve movimento da massa do alimento sendo aquecida. Na convecção natural, a porção aquecida do alimento torna-se mais leve e sobe, promovendo circulação de toda a massa do alimento, acelerando, assim, o aumento de sua temperatura.

Em alimentos líquidos, a transferência de calor será resultante de uma combinação entre convecção (no alimento propriamente) e condução (através das paredes da lata), ao passo que, em alimentos sólidos, viscosos demais para circular, a transferência de calor ocorrerá quase totalmente por condução.

Quando se aplica calor a um alimento envasado, as partes do produto mais próximas às superfícies da embalagem atingem a temperatura de esterilização antes do restante da massa do alimento. O último ponto a atingir a temperatura de esterilização é o chamado “ponto frio”.

Numa lata de alimento sólido, aquecido por condução, o ponto frio está localizado no centro geométrico da lata. Já em alimentos fluidos, mais sujeitos à transferência de calor por convecção, o ponto frio localiza-se abaixo do centro geométrico, a cerca de $\frac{1}{4}$ da altura da lata.

Para assegurar a esterilidade comercial de um produto, é essencial que o ponto frio tenha recebido o tratamento térmico previsto. Numa autoclave, o tempo requerido para produzir temperaturas letais no ponto frio pode ser determinado pelo uso de um termopar, dispositivo inserido através das paredes da embalagem, contendo um sensor de temperatura em sua extremidade, a qual deve estar situada no ponto frio, conforme ilustrado na Figura 3.

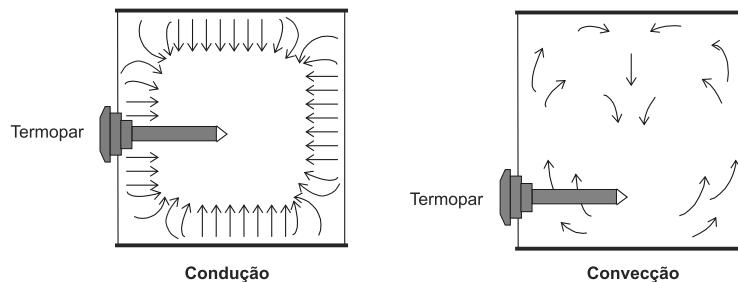


Figura 3. Posição do “ponto frio”, segundo o modo predominante de transferência de calor.

Fonte: Potter e Hotchkiss (1995).

A lata com o termopar é enchida com o alimento, fechada e colocada na autoclave. Após ligada a autoclave, o aumento de temperatura passa a ser registrado. O tempo requerido – para que o “ponto frio” atinja a temperatura, é o mesmo tempo requerido para que a autoclave atinja a temperatura de trabalho, mais o tempo para penetração de calor através da lata e do produto.

Fatores que afetam a transferência de calor

Holdsworth (2004) enumerou e descreveu vários fatores que têm efeitos sobre a taxa de transferência de calor durante um tratamento térmico, e que, portanto, devem ser considerados para determinar as características do tratamento a ser adotado. Há fatores relacionados ao processo, ao produto e à embalagem. Os fatores relacionados ao processo são:

- Tempo e temperatura do processo.
- Natureza do meio de transferência de calor.
- Grau de agitação do recipiente.

No caso de processos em batelada, a definição do tempo de processo deve levar em conta o tempo decorrido para que a autoclave atinja a temperatura de trabalho (conhecido como *come-up time*, ou tempo de subida). Os fatores relacionados ao produto incluem:

- Temperatura inicial.
- Carga microbiana inicial.
- Consistência.
- Propriedades térmicas.
- pH.
- Presença de agentes antimicrobianos.

Enfim, os fatores relacionados à embalagem referem-se às propriedades térmicas dos materiais usados, e ao formato da embalagem.

Formas de tratamento térmico

Quanto ao grau de conservação

Quanto ao grau de conservação pelo calor, os tratamentos térmicos podem ser classificados em: esterilização comercial, pasteurização e branqueamento.

Esterilização comercial – Esterilização comercial (ou simplesmente esterilização) refere-se a um tratamento térmico que inativa todos os microrganismos patogênicos e deterioradores que possam

crescer sob condições normais de estocagem. Os alimentos comercialmente estéreis podem conter pequeno número de esporos bacterianos termorresistentes, que normalmente não se multiplicam no alimento.

A maior parte dos alimentos enlatados é comercialmente estéril, tendo uma vida de prateleira de pelo menos 2 anos. Mesmo após períodos mais longos de estocagem, geralmente sua deterioração ocorre em decorrência de alterações não microbiológicas (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Dentro do contexto de reduzir danos térmicos a alimentos termos-sensíveis, a esterilização a altas temperaturas, por tempo curto ou *high temperature and short time* (HTST), é a mais indicada. Geralmente, as alterações sensoriais e a degradação de nutrientes apresentam valores de *z* maiores que a inativação de microrganismos, ou seja, são menos sensíveis a alterações de temperatura que a destruição de microrganismos (Figura 4).

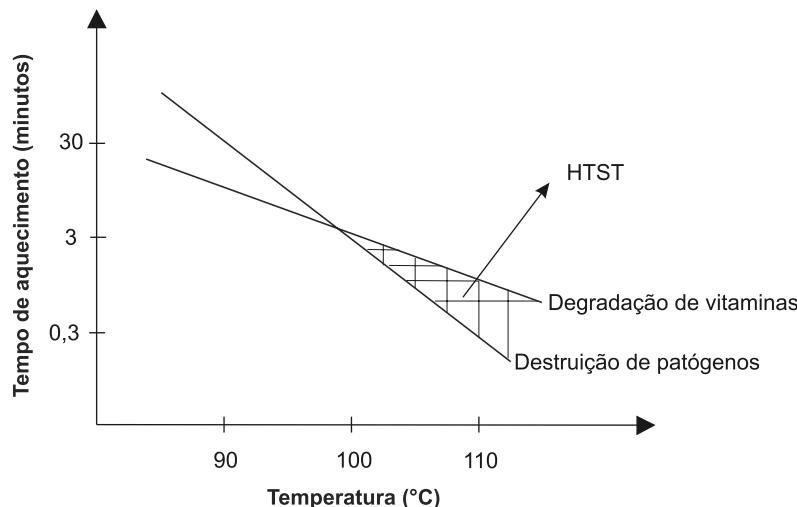


Figura 4. Sensibilidade a variações de temperatura na destruição de microrganismos e na degradação da qualidade de alimentos.

Fonte: University of Guelph (2010).

Assim, os tratamentos HTST permitem alta segurança microbiológica, com menores danos à qualidade sensorial e nutricional do produto.

Pasteurização – Esse processo foi assim denominado em homenagem ao francês Louis Pasteur, que descobriu que microrganismos deterioradores poderiam ser inativados em vinho, com aplicação de calor a temperaturas abaixo do ponto de ebulição. Posteriormente, esse processo foi aplicado ao leite, permanecendo uma das formas mais importantes de processamento dessa matéria-prima (UNIVERSITY OF GUELPH, 2010).

A pasteurização tem como objetivo principal a destruição de microrganismos patogênicos associados ao alimento em questão. Seu objetivo secundário é aumentar a vida de prateleira do alimento, reduzindo as taxas de alterações microbiológicas e enzimáticas.

Produtos pasteurizados podem conter ainda muitos organismos vivos capazes de crescer, o que limita sua vida de prateleira. Assim, muitas vezes, a pasteurização é combinada com outros métodos de conservação, e muitos produtos pasteurizados são estocados sob refrigeração (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

A pasteurização pode ser lenta, empregando-se temperatura baixa por tempo longo, ou rápida, usando-se temperaturas altas por tempo curto (HTST). Os processos HTST resultam em economia de tempo e de energia, além de reduzirem as alterações sensoriais do alimento (UNIVERSITY OF GUELPH, 2010).

Branqueamento – Essa técnica é frequentemente usada em frutas e hortaliças, como etapa de pré-tratamento, geralmente feita entre o preparo do material bruto e o processamento propriamente dito. Seu objetivo principal é desnaturar enzimas associadas a processos de deterioração, evitando, assim, alterações sensoriais e nutricionais desencadeadas por reações enzimáticas durante a estocagem.

O termo branqueamento originou-se do fato de que a principal aplicação dessa técnica era a de inativar enzimas responsáveis pelo escurecimento de vegetais. Algumas das razões que justificam a necessidade de inativação enzimática, previamente a diferentes tipos de processamento, são as seguintes (FELLOWS, 1988):

- No caso de produtos a serem congelados, a temperatura de congelamento geralmente usada durante a estocagem (-18 °C) não inibe totalmente a atividade enzimática.

- Geralmente, nos processos de desidratação não se usam temperaturas suficientes para inativar enzimas, requerendo-se um branqueamento prévio para inativá-las.
- Nos processos de esterilização, o tempo necessário para que a temperatura de processo seja atingida, especialmente quando se usam recipientes de maiores dimensões, pode ser suficiente para permitir que ocorra atividade enzimática.
- Por sua vez, um branqueamento mal feito causa mais danos do que a ausência dele. Se o calor for suficiente para destruir os tecidos, mas não para inativar as enzimas, estas estarão em maior contato com os substratos, favorecendo sua atividade. Além disso, só algumas enzimas são destruídas, enquanto outras podem ter sua atividade aumentada, acelerando assim a deterioração do produto.

O branqueamento tem também outros efeitos, como o de reduzir a carga microbiana inicial do produto. Além disso, o branqueamento promove:

- Amaciamento de tecidos vegetais, facilitando o envase.
- Remove ar dos espaços intercelulares, auxiliando, assim, a etapa de exaustão (retirada do ar do produto e do espaço livre das embalagens, antes do fechamento).

Nota: a remoção de ar pode ainda alterar o comprimento de onda da luz refletida no produto, como ocorre em ervilhas, que adquirem uma cor verde, mais brilhante.

Quanto à continuidade

Um tratamento térmico pode ser feito antes ou depois do acondicionamento em embalagens. Quando o calor é aplicado depois do acondicionamento, o processo é em batelada (ou descontínuo). A transferência de calor é relativamente lenta, devido ao tempo requerido para penetração do calor nas embalagens (através do alimento), até atingir o ponto frio.

As embalagens usadas devem ter boas propriedades de condução de calor, e ao mesmo tempo alta resistência térmica; as embalagens mais empregadas são as metálicas (latas) ou as de vidro. Após o aquecimento, o produto é imediatamente resfriado, geralmente por imersão em água gelada.

Vale ressaltar que é muito importante que se assegure a integridade do sistema de fechamento, para se evitar a recontaminação do alimento (por exemplo, no caso de a água aproveitada no resfriamento estar contaminada, e de haver microfuros no sistema de fechamento). Tecnicamente, os métodos em batelada são mais simples, além de mais antigos.

Esses métodos ainda são aplicados com certa frequência a produtos sólidos, mas pouco aplicados a alimentos fluidos (líquidos ou pastosos), a não ser em pequenas indústrias. Frequentemente, os alimentos fluidos sofrem superprocessamento quando submetidos aos métodos tradicionais, em batelada, a baixa temperatura por tempo demorado. Em decorrência disso, podem ocorrer algumas consequências indesejáveis como sabores “cozidos”, baixa retenção de cor e excessiva degradação de nutrientes.

Para produtos fluidos, os tratamentos térmicos mais adequados são os métodos contínuos HTST, que visam a melhorar a qualidade sensorial dos produtos, mantendo ao mesmo tempo a segurança. Num processo contínuo, os produtos são bombeados ao longo de um sistema de aquecimento direto (por injeção de vapor) ou indireto (em contato com uma superfície de transferência de calor, como tubos ou placas), e em seguida resfriados imediatamente, enquanto fluem pela linha de processamento.

Assim, o aquecimento (e o posterior resfriamento) são bem mais rápidos, o que é muito benéfico no caso de alimentos termossensíveis, já que as alterações sensoriais e nutricionais, decorrentes do calor, são reduzidas.

Os sistemas assépticos constituem o tipo de processo mais adequado para tratamento térmico em fluxo contínuo.

Sistemas assépticos – Dentro do conceito de HTST, existe um tipo específico de tratamento térmico, denominado UHT (*ultra high temperature*, ou temperatura ultra-alta), que se baseia em esterilização do alimento a alta temperatura por tempo muito curto. Geralmente, esse tratamento é aplicado a um processamento asséptico, que consiste na esterilização do produto, seguida de resfriamento rápido e de acondicionamento em embalagens esterilizadas numa zona de envase asséptico (Figura 5).

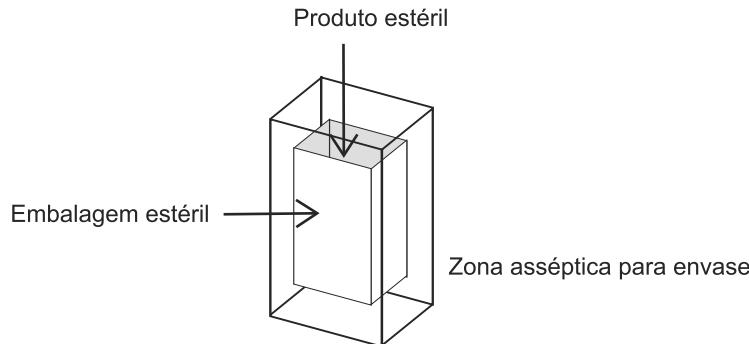


Figura 5. Esquema simplificado do princípio do acondicionamento asséptico.

Fonte: H. R. Nicholson Company (2002).

A esterilidade comercial é uma condição atingida quando o alimento, o equipamento e a embalagem são mantidos livres de microrganismos capazes de crescerem no alimento, sob temperaturas de distribuição e estocagem (ROSE, 1995).

A esterilização do alimento é feita, principalmente, com uso de calor, por aquecimento direto (injeção de vapor) ou indireto, por meio de trocadores de calor. Produtos de alta acidez, como sucos de frutas, podem ser processados a temperaturas de pasteurização, para destruir os microrganismos deterioradores.

Por sua vez, produtos de baixa acidez, como leite, são submetidos a temperaturas bem mais altas (geralmente na faixa de 125 °C a 145 °C), para assegurar a destruição de patógenos (EMOND, 2001). Geralmente, leite é tratado a temperaturas superiores a 135 °C por no máximo 5 segundos (GEDAM, 2007). Alternativamente, alguns alimentos podem ser submetidos a ultrafiltração.

A esterilização da embalagem pode ser feita por calor (vapor saturado ou ar quente), agentes químicos (peróxido de hidrogênio, ácido peracético, óxido de etileno), radiações (ultravioleta, infravermelha ou ionizantes) (SANDEEP et al., 2004). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um agente bastante adequado para esterilização de embalagens e superfícies em geral; sua rápida decomposição a O_2 e H_2O minimiza o risco de ocorrência de peróxido residual no produto (ROSE, 1995).

Sua atividade esporicida aumenta, substancialmente, com o aumento da temperatura. Assim, muitos sistemas de envase asséptico

usam H₂O₂ combinado com calor para esterilização rápida do equipamento e/ou material de embalagem. A radiação UV também tem sido usada para descontaminar superfícies, embora sua baixa penetração restrinja sua aplicabilidade (FALGUERA et al., 2011).

É fundamental que todas as superfícies, tanto as de contato com o alimento quanto outras próximas à linha de produção, sejam esterilizadas antes do início do processo, para evitar recontaminação do produto. Geralmente, evita-se a recontaminação mantendo-se alta pressão dentro do sistema de processamento e de enchimento (SANDEEP et al., 2004).

O processamento asséptico é uma alternativa ao processo convencional de esterilização, no qual as embalagens contendo o produto são esterilizadas e resfriadas. Em comparação com o processo convencional, o processamento asséptico permite melhor uso dos materiais e sistemas de embalagem e do tratamento térmico, já que causa menos danos térmicos ao alimento e menos desgaste à embalagem.

Além de melhorar a qualidade do produto, o processo permite o uso de materiais diferentes das tradicionais latas ou frascos de vidro, com vantagens econômicas e mercadológicas (SANDEEP et al., 2004).

As maiores preocupações dos microbiologistas referem-se à resistência térmica de esporos às altas temperaturas aplicadas no processo, e aos métodos usados para esterilização das embalagens. O maior perigo potencial de acondicionamento asséptico de alimentos de baixa acidez é o *Clostridium botulinum*, enquanto para produtos de alta acidez, o maior perigo é a deterioração por microrganismos acidófilos. Esporos de bactérias termoresistentes, como *Bacillus subtilis*, geralmente são usados para verificar a eficiência da descontaminação (ROSE, 1995).

As principais vantagens do processamento asséptico sobre métodos convencionais de esterilização de alimentos são as seguintes:

1. Redução do binômio tempo/temperatura requerido no processo, graças à esterilização em fluxo contínuo, reduzindo os danos sensoriais e nutricionais ao produto.
2. Possibilidade de utilização de materiais de embalagem menos resistentes a altas temperaturas. Como o processo libera um produto frio, a embalagem não é submetida às altas tempe-

raturas alcançadas no processamento térmico convencional. Vários sistemas de embalagem adequam-se ao uso para acondicionamento asséptico, incluindo:

- Embalagens rígidas (latas, garrafas de vidro).
- Embalagens semirrígidas (garrafas e copos de plástico, embalagens cartonadas).
- Embalagens flexíveis (*pouches, bag-in-box*).

A escolha do sistema de embalagem depende do produto, da estabilidade requerida, do apelo mercadológico e do custo.

Conservação a frio

A temperatura é um dos fatores mais importantes para se determinar as taxas dos vários tipos de alterações, em alimentos. Quanto menor a temperatura, menores as taxas de alterações. Enquanto a aplicação de calor baseia-se na inativação de microrganismos, o uso de baixas temperaturas tem por objetivo retardar o crescimento microbiano, assim como as reações químicas.

A refrigeração e o congelamento são consideradas as técnicas de conservação que melhor retêm as propriedades sensoriais e nutricionais do alimento.

Quando o frio é usado como método de conservação, é essencial que o alimento seja mantido a temperaturas adequadamente baixas durante o transporte, a distribuição e a estocagem. Isso representa um grande aumento no custo do processo, em decorrência do grande consumo de energia para manter a cadeia de frio.

Refrigeração

A refrigeração consiste em estocar um produto a temperaturas entre 0 °C e 7 °C. Esse método é considerado o mais brando em conservação de alimentos, gerando poucos efeitos adversos sobre suas propriedades sensoriais e nutricionais. Por sua vez, seu impacto sobre o aumento da vida de prateleira de alimentos é baixo, quando comparado com outros métodos de conservação.

Por isso, geralmente, a refrigeração é combinada com outros métodos. O uso de embalagens a vácuo ou sob atmosfera modificada retarda a deterioração microbiana, já que os microrganismos psicotróficos (principal preocupação quando se trata de produtos conservados sob refrigeração) são aeróbios. Outro exemplo é a pasteurização do leite antes da estocagem refrigerada, que reduz a carga microbiana inicial.

Num processo de refrigeração, além do controle de temperatura, outros fatores são importantes. Assim, a circulação de ar deve ser adequada, para transferir rapidamente o calor do alimento para o sistema de refrigeração. O ar circulante não deve ser muito seco nem muito úmido. Se muito seco, resseca os alimentos; se muito úmido, pode condensar umidade na superfície dos alimentos, resultando em possível crescimento de fungos filamentosos (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Em alimentos sensíveis ao frio, como é o caso de muitas frutas e hortaliças (bananas, espargos, pepinos, entre outros), uma alteração muito comum é o dano pelo frio, causado por uma queda de temperatura abaixo de um valor crítico (geralmente 10 °C a 13 °C, dependendo do produto), mas acima do ponto de congelamento.

Essa alteração é mais comum em produtos de origem tropical ou subtropical, embora possa ocorrer, também, em alguns produtos originados de clima temperado. Acredita-se que o dano pelo frio afete, primariamente, as membranas plasmáticas, desencadeando uma série de alterações, que podem incluir:

- Aumento das taxas de respiração.
- Produção de etileno.
- Redução das taxas de fotossíntese.
- Acúmulo de compostos tóxicos, como etanol e acetaldeído.
- Alterações da estrutura celular.

Como as várias estruturas vegetais diferem grandemente em termos de suscetibilidade ao frio, os sintomas variam muito de um produto para outro, sendo frequentes os seguintes sintomas:

- Murchamento de folhas.
- Lesões superficiais.
- Alterações de cor.

Tanto a temperatura quanto o tempo de exposição afetam o grau de danos e a capacidade de recuperação do produto (MULDREW, 2003; SKOG, 2003).

A estocagem sob refrigeração permite a transferência de compostos voláteis entre os alimentos. Alguns produtos liberam muitos voláteis, como alho, cebola, pescados e frutas, enquanto outros são muito suscetíveis a absorvê-los, como o leite e derivados. Outras alterações que podem ocorrer durante a estocagem sob refrigeração, incluem:

- Perda de firmeza e crocância em frutas e hortaliças.
- Envelhecimento de produtos de panificação.
- Aglomeração de produtos em pó, entre outras.

Congelamento

O congelamento é um dos métodos de conservação mais adequados para promover o aspecto de conveniência, tanto no âmbito doméstico quanto institucional. Grande parte do trabalho de preparo do alimento pode ser feito antes do congelamento, transferindo assim para a indústria muitas operações que antes deveriam ser obrigatoriamente realizadas em casa ou no restaurante.

O congelamento de alimentos começa a ocorrer entre -1 °C e -3°C, dependendo da concentração de solutos na fase aquosa. À medida que a temperatura é reduzida abaixo do ponto em que o congelamento se inicia, maiores frações de água são progressivamente congeladas. Por exemplo, em carnes, é necessário se atingir uma temperatura de -50 °C para que apenas uma pequena fração de água não se encontre congelada; em frutas e hortaliças, a temperatura correspondente seria de -16 °C a -20 °C (SINGHAL; KULKARNI, 1999).

Geralmente, um congelamento adequado usa temperaturas de -18 °C ou inferiores. Enquanto a água pura congela a 0 °C, a maioria dos alimentos só congela a -2 °C ou a temperaturas mais baixas. Muitas espécies de microrganismos podem ainda crescer a temperaturas de até -10 °C, embora a baixas taxas.

Assim, uma estocagem inadequada pode resultar em deterioração, se a temperatura de congelamento atingir esse valor, mesmo que não haja descongelamento. Por sua vez, se os alimentos forem

adequadamente estocados a -18 °C ou menos, o crescimento de microrganismos é totalmente inibido (RUSSELL; GOULD, 1991).

Sejam vegetais ou animais, os alimentos são constituídos por tecidos compostos por diferentes tipos de células. Durante o congelamento, o comportamento de um alimento depende, principalmente, de sua estrutura física, ou seja, da maneira como as células e tecidos se organizam e interagem, e das alterações que sofrem durante o processo. Algumas das alterações que podem ocorrer em alimentos, em consequência do congelamento, são as seguintes:

Dano pelo congelamento – O dano pelo congelamento resulta da formação de cristais de gelo em tecidos estocados abaixo de seu ponto de congelamento (SKOG, 2003). Os tecidos danificados geralmente perdem rigidez e tornam-se pegajosos após o descongelamento. A suscetibilidade de frutas e hortaliças ao dano por congelamento varia muito; alguns produtos, como repolho, podem permanecer com pouco ou nenhum dano após congelados e descongelados várias vezes, enquanto outros (banana, abacate, batata e espargos) são danificados, permanentemente, por congelamento moderado. A severidade do dano por congelamento é afetada pela combinação de tempo e temperatura, assim como ocorre com o dano pelo frio.

Alterações devidas ao congelamento lento – Em termos gerais, a qualidade de um alimento congelado está intimamente associada às taxas de congelamento e descongelamento, às quais foi submetido. Se o congelamento é lento, formam-se cristais de gelo grandes (intra e intercelulares), que causam muito mais ruptura física aos tecidos do que os cristais menores, podendo ainda romper emulsões e géis. Por sua vez, o congelamento rápido resulta na formação de cristais pequenos, minimizando os danos aos tecidos. Além disso, esse tipo de congelamento rápido não favorece a adaptação dos microrganismos às baixas temperaturas, promovendo choque térmico.

Alterações devidas a flutuações de temperatura – Durante o congelamento, a manutenção de temperaturas constantes é extremamente importante. As flutuações de temperatura podem promover a formação de grandes cristais de gelo, em decorrência da recristalização da água em torno de cristais previamente formados, rompendo tecidos e comprometendo a textura. Além disso, a formação de cristais de

lactose pode acarretar o desenvolvimento de textura arenosa, como ocorre em sorvetes.

Efeitos de concentração – A redução da temperatura ocorre da superfície para o centro do alimento; assim, antes que o alimento esteja totalmente congelado, seu centro contém ainda água não congelada, na qual os solutos se concentram. Essa alta concentração de solutos, numa porção do alimento, leva aos chamados efeitos de concentração, mais evidentes quando se promove um congelamento lento. Assim, quando se congela leite lentamente, a alta concentração de sais pode desnaturar proteínas e quebrar emulsões, resultando em coagulação e separação de partículas grosseiras de nata. Os danos derivados do efeito de concentração podem ser de vários tipos, conforme descritos por Potter e Hotchkiss (1995):

- Solutos precipitados podem promover textura arenosa (lactose em sorvete).
- Solutos que não se precipitam, mas permanecem numa solução concentrada, podem causar desnaturação de proteínas, em decorrência do efeito *salting out*¹.
- Uma alta concentração de solutos ácidos pode promover uma queda do pH abaixo do ponto isoelétrico (ponto de mínima solubilidade da proteína), fazendo com que as proteínas coagulem.
- Nas suspensões coloidais, existe um delicado balanço com respeito à concentração de cátions e de ânions, sendo que alguns desses íons são fundamentais à manutenção dos coloides. A concentração ou precipitação desses íons pode perturbar esse balanço.
- Os gases em solução também se concentram quando a água se congela, o que pode causar supersaturação desses gases e forçá-los para fora da solução. Esse efeito pode ocorrer em bebidas carbonatadas congeladas.

¹ Até certo ponto, a adição de sais mantém as moléculas de proteínas afastadasumas das outras, favorecendo sua solubilidade (efeito *salting in*). Entretanto, em concentrações muito altas de sais, grande parte da água passa a hidratar os íons em solução, resultando em precipitação das proteínas (*salting out*).

Congelamento e transição vítreo

O congelamento de alimentos resulta numa crioconcentração dependente de temperatura, em que os cristais de gelo são gradativamente separados de uma solução cada vez mais concentrada (solução crioconcentrada) dos sólidos presentes, tornando-se o gelo uma fase descontínua dispersa numa fase contínua não congelada. Essa fase não congelada tem um comportamento dependente da temperatura, já que seu teor de água muda com a temperatura (AIDER et al., 2007).

O diagrama de estados, apresentado na Figura 6, mostra um esquema das mudanças de estados de um alimento complexo que ocorrem em função de alterações de temperatura e de concentração da fase não congelada.

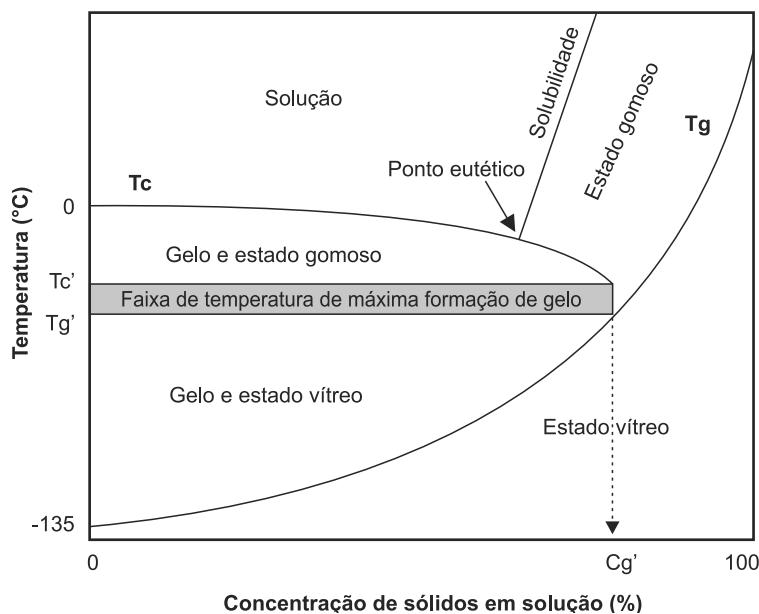


Figura 6. Esquema de mudanças num diagrama de estados.

Fonte: adaptado de Roos e Karel, (1991a).

A formação de cristais de gelo – que se inicia no ponto de congelamento do alimento – afeta a temperatura de transição vítreo (T_g) da matriz, já que ocorre um efeito de crioconcentração. À medida que as

moléculas de água passam ao estado sólido, a solução não congelada torna-se cada vez mais concentrada.

Logo, sua temperatura de congelamento (T_c) diminui gradativamente, enquanto sua T_g aumenta, até um ponto de máxima crioconcentração (T'_c), quando a fase crioconcentrada atinge o máximo teor de sólidos e a máxima viscosidade, quando então cessa a formação de gelo (ROOS, 2010). A partir desse ponto, toda a matriz crioconcentrada sofre transição vítreia.

Esse ponto é designado como T'_g (temperatura de transição vítreia da solução mais crioconcentrada possível), e corresponde à máxima concentração (C'_g) em que ocorre formação de gelo (OLIVEIRA et al., 1999). Segundo Roos e Karel (1991b), quanto maior o peso molecular dos solutos, menor a diferença entre T'_g e T'_c , sendo que as transições chegam a coincidir para solutos de alto peso molecular.

Numa matriz complexa, as diferentes consequências – entre um congelamento lento e um congelamento rápido – têm relação com a ocorrência de cristalização de alguns sólidos. Se o congelamento for lento, alguns compostos, especialmente açúcares, podem se cristalizar e se precipitar, liberando moléculas de água que previamente os hidratavam. Já no caso de um congelamento suficientemente rápido – para minimizar a cristalização desses sólidos – eles se precipitam no estado amorfo, incorporando algumas moléculas de água, fazendo com que a evolução da T_g seja mais rápida (OLIVEIRA et al., 1999).

A abordagem da ciência de polímeros aplicada a alimentos, e introduzida por Levine e Slade (1986), apresenta a T'_g como parâmetro-chave no controle da estabilidade de alimentos congelados. Segundo o conceito de crioestabilização (LEVINE; SLADE, 1989), a estabilidade é atingida quando o produto é estocado abaixo da T'_g , ficando a mobilidade molecular restrita a movimentos de vibração e mutarrotação, e as taxas de quaisquer alterações sendo drasticamente reduzidas.

Infelizmente, a maioria dos alimentos tem tanta umidade que sua T'_g está abaixo da temperatura de estocagem. Assim, a maioria dos produtos congelados é estocada com certa quantidade de solução aquosa crioconcentrada, com grau razoável de mobilidade molecular. Nessas matrizes, várias alterações podem ocorrer, como (OLIVEIRA et al., 1999):

- Recristalização de gelo.
- Cristalização de açúcares amorfos.
- Transformações de lipídios em conformações mais estáveis.
- Reações de escurecimento.
- Crescimento microbiano.

Desidratação

O princípio dos vários métodos de desidratação e concentração de alimentos baseia-se na remoção de água e/ou na sua interação com outros compostos, de forma que se reduza a atividade de água. O objetivo principal da redução da atividade de água de alimentos é a redução das taxas de alterações microbiológicas. Existem ainda outros objetivos, como a redução de alterações químicas, a redução de custos com embalagem, transporte e distribuição, além da conveniência.

O termo desidratação não se refere a todos os processos que removem água de alimentos. Os processos de fritura e torrefação, por exemplo, eliminam água do alimento, mas não se enquadram na categoria de processos de desidratação, já que são operações que fazem mais do que simplesmente remover água.

Num sentido restrito, a desidratação de alimentos refere-se à remoção quase completa de água sob condições controladas. Dois importantes critérios de qualidade de alimentos desidratados são:

- Capacidade de reidratação, gerando produtos semelhantes aos alimentos que os originaram.
- Mínimas alterações nas propriedades sensoriais do produto.

Isso constitui grande desafio tecnológico, já que os níveis de umidade muito baixos, requeridos para se atingir boa estabilidade, dificilmente são obtidos com poucas alterações dos alimentos, a menos que a desidratação seja feita por liofilização, um processo caro (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Secagem por ar aquecido

A secagem convencional por ar aquecido é feita em secadores cujo sistema baseia-se na circulação de ar aquecido, combinando assim

transferência de calor (aquecimento do produto) e de massa (remoção de umidade). O gradiente de temperatura – entre o meio de aquecimento e o alimento – determinará a taxa de aquecimento do produto e, consequentemente, a taxa de remoção de umidade.

O processo convencional de secagem com ar aquecido promove uma série de alterações que resultam em prejuízo à aparência, degradação de nutrientes, pigmentos e compostos de sabor, comprometendo a qualidade sensorial e nutricional do produto. Uma das alterações mais significativas é a contração dos tecidos, resultante da liberação de umidade.

Uma das possíveis consequências da contração é o *case hardening* (formação de uma película dura e quase impermeável na superfície do produto), particularmente comum em alimentos com altas concentrações de açúcares dissolvidos e outros solutos. Os solutos movem-se do centro para a superfície do produto, juntamente com a água; na superfície, a água evapora-se e os solutos se depositam, fechando os poros.

A combinação da contração com o fechamento dos poros resulta no *case hardening*, que impede a migração da maior parte da umidade remanescente no seu interior, resultando em secagem desuniforme e na queda das taxas de secagem. Além das alterações físicas, muitas alterações químicas decorrem, também, da desidratação, como as reações de escurecimento, particularmente reação de Maillard e caramelização, e perda de compostos voláteis. Em consequência das alterações ocorridas, o produto sofre prejuízos em sua aparência, sabor e textura.

Existem várias técnicas alternativas de desidratação, que dependem de mecanismos físicos diferentes da secagem por ar aquecido, gerando produtos com menores alterações em suas propriedades originais.

Liofilização

A liofilização envolve o congelamento da água presente num material, seguido por desidratação por sublimação do gelo a vácuo (Figura 7). Essa técnica é reconhecida como um processo que permite a formação de estruturas de carboidratos totalmente amorfas (ROOS, 1997). Segundo Tang e Pikal (2004), esse processo inclui uma secagem

primária, para sublimação do gelo, e uma secagem secundária, para remoção da água não congelada (associada a solutos altamente criocentrados). Entretanto, esses processos são simultâneos num processo de sublimação a vácuo (ROOS, 2010).

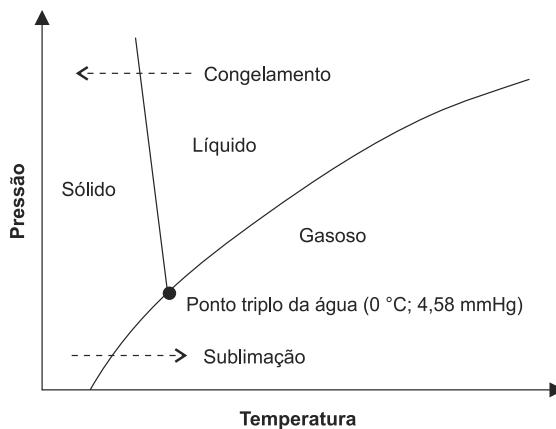


Figura 7. Etapas da liofilização.

Fonte: adaptado de Apex Lyo (2010).

Sublimação

A sublimação evita o efeito de contração (colapso), que ocorre durante a secagem convencional. Ao contrário, ocorre a formação de poros e o formato do produto é mantido, o que facilita e acelera a reidratação, além de manter a aparência do produto desidratado mais semelhante à do material original. O reduzido movimento de solutos evita ainda a ocorrência do *case hardening* (RATTI, 2001).

A Figura 8 mostra a manutenção da estrutura física de um produto durante a liofilização. Para que o colapso seja evitado, a etapa de congelamento deve ser conduzida a uma temperatura abaixo da T_g' , assegurando a transição vítreia de toda a fase não congelada, de forma que essa fase seja capaz de suportar seu próprio peso e resistir ao fluxo (colapso) durante a sublimação do gelo (PEHKONEN et al., 2008). Isso é feito controlando-se a pressão, a qual determina a temperatura de sublimação do gelo.

A retenção da estrutura sólida requer que a temperatura de estocagem seja inferior à T_g do material desidratado, não apenas durante,

mas também após o processo. Assim, nenhum produto cuja T_g do material anidro seja abaixo da faixa de temperatura normal de estocagem deve ser liofilizado, pois, quando submetido às condições de estocagem, tal tipo de produto sofre plastificação pela água, que resulta em colapso da estrutura à medida em que a T_g é reduzida (ROOS, 2010).

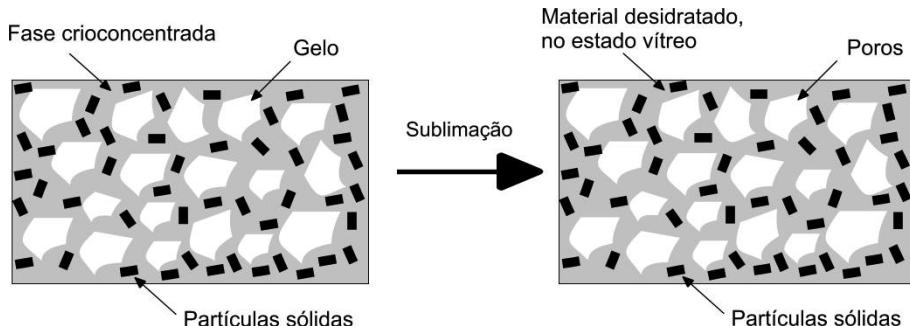


Figura 8. Manutenção da estrutura física de um produto durante a liofilização.

Fonte: Roos (2010).

A liofilização é uma técnica adequada para alimentos muito termossensíveis, já que minimiza as alterações de qualidade associadas a altas temperaturas. Graças à ausência de água líquida e às baixas temperaturas utilizadas no processo, a maioria das alterações inerentes à secagem por ar aquecido são minimizadas. Além disso, as alterações de odor, sabor e cor são mínimas, assim como as alterações nutricionais. Por sua vez, a liofilização é conhecida como o processo mais caro de desidratação (RATTI, 2001).

Atomização (*Spray-drying*)

A secagem por atomização envolve a pulverização de um alimento líquido, formando gotículas que são lançadas numa câmara fechada, entrando em contato com uma corrente de ar aquecido (em fluxo concorrente/contracorrente, a qual supre o calor necessário à evaporação, havendo, assim, formação de partículas secas. O pó produzido é então descarregado, continuamente, da câmara de secagem.

A Figura 9 mostra o esquema de funcionamento de um atomizador. O tempo de permanência do produto no secador é curto (de

5 s a 100 s), o que é de importância vital para os alimentos termosensíveis. O tamanho das partículas é de 10 µm a 500 µm, muito pequeno, se comparado a outros processos de secagem. Embora o equipamento seja caro, o custo de manutenção do sistema é baixo (DEYMONAZ et al., 2002).

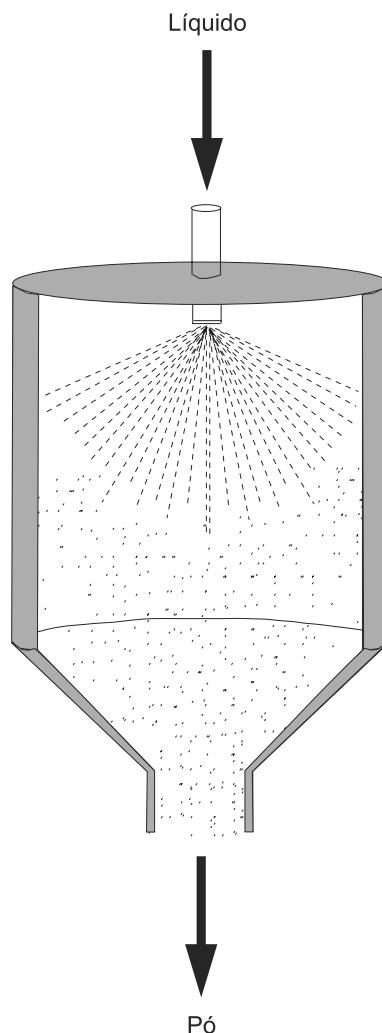


Figura 9. Esquema simplificado de um atomizador.

A atomização de produtos, com altos teores de solutos de baixo peso molecular, como açúcares e ácidos orgânicos, é dificultada pela baixa T_g desses solutos. Quando expostos a temperaturas usadas na atomização, esses produtos ficam no estado gomoso (de alta mobilidade molecular) e tendem a aderir às paredes da câmara de secagem, produzindo estruturas pastosas ao invés de pós. Ou seja, diz-se que os produtos são muito higroscópicos (BHANDARI; HARTEL 2005; JAYA; DAS, 2004; ROOS, 1995). Algumas possíveis consequências desse problema são (BHANDARI et al., 1997):

- Redução da estabilidade do produto.
- Redução do rendimento do processo (devido à adesão de parte do produto às paredes da câmara).
- Problemas operacionais ao atomizador.

O problema pode ser evitado por meio da adição dos chamados adjuvantes de secagem, que são carboidratos de alto peso molecular, como maltodextrinas, que aumentam a T_g dos produtos e reduzem sua higroscopicidade (BHANDARI et al., 1997; BHANDARI; HARTEL, 2005; OLIVEIRA et al., 2009).

Desidratação osmótica

A desidratação osmótica consiste em remoção de água do alimento por efeito da pressão osmótica. O alimento (geralmente fruta ou hortaliça) é imerso numa solução hipertônica. Em consequência dos gradientes de concentração de água e de solutos, estabelecem-se dois fluxos em contracorrente através das paredes celulares: um fluxo de água do alimento para o exterior e um fluxo de soluto no sentido oposto (RAOULT-WACK, 1994).

Como as membranas celulares de frutas e hortaliças são diferencialmente permeáveis, permitindo uma passagem mais livre de água do que do soluto, a taxa de perda de água é maior que a de ganho de soluto (TORREGIANI, 1993). Geralmente, a remoção de água é da ordem de 40% a 70% (p/p) em relação ao produto inicial, enquanto a incorporação de solutos é da ordem de 5% a 25% (p/p) em relação ao produto inicial, considerando-se o uso de uma solução osmótica de concentração de 50% a 75% (RAOULT-WACK, 1994).

Com o decorrer do processo, há um decréscimo na taxa de osmose. A transferência de massa se dá, principalmente, durante as primeiras 2 horas; a partir daí, as taxas de transferência diminuem, progressivamente, até que a perda de água cessa (RAOULT-WACK, 1994). Por isso, geralmente o processo é conduzido até que se atinja uma redução de 30% a 50% no peso do produto.

A desidratação osmótica pode permitir economia de energia, já que o processo ocorre em meio líquido, com bons coeficientes de transferência de calor e de massa; além disso, a água é removida sem mudança de estado físico (RAOULT-WACK, 1994).

A aplicação mais frequente da desidratação osmótica é como um processo de pré-desidratação, seguida por um processamento complementar, geralmente secagem com ar aquecido, podendo reduzir o gasto de energia e melhorar a qualidade sensorial do produto (RAOULT-WACK, 1994). Ultimamente, esse método tem sido usado em combinação com outros métodos de conservação, para se obter produtos de alta atividade de água (ver Tecnologia de métodos combinados, no Capítulo 6).

Concentração

A concentração é um método de remoção parcial da água contida em alimentos líquidos. Alguns produtos concentrados encontrados no mercado são:

- Leite condensado.
- Sucos concentrados de frutas.
- Geleias.
- Massa de tomate, entre outros.

A concentração é convencionalmente obtida por evaporação, na qual a remoção de água baseia-se na diferença de volatilidade entre a água e os solutos. Alternativamente, a concentração de alimentos pode ser efetuada por meio de métodos desenvolvidos por tecnologia de membranas, evitando-se os danos térmicos inerentes ao processo por evaporação.

Concentração por evaporação

O termo evaporação refere-se ao processo de aquecer um líquido à temperatura de ebulição, para remoção de água na forma de vapor. A evaporação tem como principais funções:

- Pré-concentração de alimentos antes de processos de se-cagem, congelamento ou esterilização, reduzindo o peso e o volume do produto. Isso permite economia de energia nas operações subsequentes e redução nos custos de estocagem, transporte e distribuição.
- Redução da atividade de água do produto, aumentando sua estabilidade.
- Aumento da conveniência do produto.
- Alterações de sabor e/ou da cor do produto (por exemplo, no caso de xaropes caramelizados).

A diferença de temperatura entre o meio de aquecimento e o líquido é o principal fator que afeta a taxa de transferência de calor, determinando o tempo de processo e a qualidade do produto concentrado. Uma maior diferença de temperatura é obtida se a evaporação ocorrer sob pressão reduzida, diminuindo o ponto de ebulição do produto. Com isso, as taxas de transferência de calor são aumentadas.

A evaporação a vácuo é especialmente útil no caso de alimentos sensíveis a altas temperaturas, como sucos de frutas e leite, já que os danos térmicos são minimizados. À medida que o produto se concentra, o ponto de ebulição se eleva, e a diferença de temperatura torna-se menor; com isso, a taxa de transferência de calor é gradativamente reduzida (UNIVERSITY OF GUELPH, 2010).

A maioria dos compostos responsáveis pelo aroma é mais volátil que a água, perdendo-se durante a evaporação. Com isso, a qualidade sensorial do produto geralmente é comprometida (embora, no caso do leite, por exemplo, a perda de voláteis indesejáveis contribua para melhorar a qualidade desse produto). Durante a evaporação, os voláteis perdidos podem ser recuperados a partir do vapor e novamente incorporados ao concentrado, reduzindo assim o impacto negativo da evaporação sobre a qualidade sensorial do produto em questão (PEREIRA et al., 2006).

Concentração por membranas

A tecnologia de membranas inclui um conjunto de métodos empregados para concentração, clarificação ou fracionamento de líquidos, sem uso de calor. As partículas são separadas com base no peso molecular e no formato, por pressão e por meio de membranas semi-permeáveis, especialmente projetadas.

Quando duas soluções de diferentes concentrações são separadas por uma membrana semipermeável, a pressão osmótica fará com que a água se mova da solução menos concentrada para a mais concentrada, para equilibrar o sistema (osmose direta). Entretanto, se for aplicada uma pressão mecânica superior à pressão osmótica, em sentido inverso, a água será forçada a se mover contra o gradiente de concentração, caracterizando a osmose reversa (OR).

O líquido que passa através da membrana é o permeado, e a fração que permanece retida pela membrana é o retentado. A Figura 10 mostra o mecanismo básico da osmose reversa.

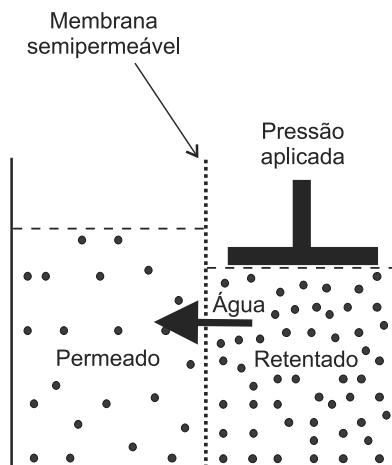


Figura 10. Esquema do princípio da osmose reversa (OR).

Fonte: University of Guelph (2010).

Muitos líquidos a serem concentrados, como sucos e extratos vegetais (chá e café) têm baixas concentrações de compostos voláteis,

cuja perda compromete o sabor e, consequentemente, a aceitação dos produtos. Num processo de concentração convencional (por evaporação), muitos compostos são perdidos juntamente com o vapor de água, como voláteis responsáveis pelo sabor, vitaminas, etc.

Os voláteis podem ser recuperados a partir da mistura de vapores e novamente adicionados ao produto, mas os danos térmicos não podem ser revertidos (HOGAN et al., 1998). A osmose reversa surgiu como uma tecnologia alternativa à concentração convencional. As membranas usadas para OR têm poros muito pequenos, geralmente permitindo apenas a passagem de água (UNIVERSITY OF GUELPH, 2010).

Outros processos de membranas são usados em alimentos, como a ultrafiltração (UF) e a microfiltração (MF), que dependem de membranas de poros maiores que as usadas para OR, sendo suas principais aplicações em alimentos a clarificação e a esterilização de produtos líquidos.

Embora a OR seja uma técnica indicada para concentração, na prática, sua aplicação individual limita-se a pré-concentrar os alimentos. Acima de uma determinada concentração (que varia de produto para produto), são frequentes os problemas associados à obstrução das membranas e à redução do fluxo de permeação. Além disso, as membranas têm resistência limitada à pressão hidráulica.

A maioria das membranas atualmente existentes é capaz de resistir a um máximo de 60 bar a 80 bar; portanto, o concentrado obtido deve ter uma pressão osmótica inferior a esse limite, de modo a assegurar a força motriz para o processo. Assim, muitas vezes a OR é combinada a outros métodos, com o objetivo de se atingir uma concentração adequada do produto (PETROTOSS; LAZARIDES, 2001).

Por exemplo, a OR pode ser precedida de uma etapa de MF ou UF. Nesse caso, o permeado obtido a partir da primeira etapa (micro ou ultrafiltração) é concentrado por OR, obtendo-se, assim, maior concentração final do produto, já que a clarificação promovida pela primeira etapa reduz os efeitos de obstrução e melhora o fluxo do permeado. Além disso, essa combinação de métodos promove a esterilização do produto antes da etapa de concentração².

² ABREU, F.A.P. (Embrapa Agroindústria Tropical). Comunicação pessoal, 2003.

Redução do pH

Uma das formas mais comuns de aumentar a estabilidade de alimentos é por meio da redução do pH, reduzindo o crescimento microbiano. Num alimento ácido, o microrganismo precisa contrabalançar o fluxo passivo de prótons para o interior da célula e manter o pH citoplasmático dentro de limites estreitos. Para isso, a célula faz o transporte ativo de prótons no sentido oposto, o que demanda um alto consumo de energia pelos microrganismos e sobrecarrega seus mecanismos homeostáticos. Isso pode reduzir ou até mesmo inibir o crescimento microbiano (LEISTNER; GORRIS, 1995).

O pH de um alimento pode ser reduzido durante o processamento, pela adição de acidulantes ou por fermentação. O grau de acidificação aplicado a um produto é limitado por sua aceitabilidade. A acidez é bem aceita, por exemplo, em produtos de frutas e em alimentos fermentados, podendo resultar em rejeição no caso de muitos laticínios e produtos cárneos, nos quais a acidez pode ser associada a processos de deterioração.

Mesmo nos casos em que a acidez é bem aceita, a redução do pH a um nível capaz de impedir o crescimento de todos os microrganismos geralmente resulta em rejeição do alimento. Assim, a acidificação é usada em combinação com outro método de conservação (BROWN; BOOTH, 1991).

Fermentação

A fermentação é um método de conservação que data de milhares de anos. A arte de fazer queijos, por exemplo, foi desenvolvida há cerca de 8 milênios (FOX, 1993). Como a fermentação é praticada desde muito antes de se conhecer os microrganismos, o processo parecia misterioso e, por isso, atribuído a divindades.

Foram estabelecidas tradições segundo as quais o manuseio e a estocagem de materiais brutos – sob determinadas condições – resultavam no desenvolvimento de alimentos mais estáveis e com características sensoriais desejáveis (HANSEN, 2002).

Em meados do século 19, a alta concentração populacional nas cidades (resultante da Revolução Industrial) e o surgimento da Microbiologia como ciência impulsionaram a industrialização de alimentos, que aprimorou o entendimento do processo de fermentação (CAPLICE; FITZGERALD, 1999). Essa melhor compreensão teórica do processo possibilitou maior controle e eficiência dos processos fermentativos, com uso de culturas *starter*.

Essas são culturas isoladas e bem caracterizadas, selecionadas especificamente com base em sua adaptação ao substrato, facilitando o controle do processo e a predição dos produtos formados. É possível obter uma grande variedade de produtos por meio da seleção de diferentes matérias-primas, culturas *starter* e condições de fermentação (HANSEN, 2002; HOLZAPFEL, 1997).

Apesar de a definição inicial do termo “fermentação” ser aplicada, restritamente, para descrever processos anaeróbios, o entendimento atual do referido termo engloba tanto processos aeróbios quanto anaeróbios (CAPLICE; FITZGERALD, 1999). Entende-se por fermentação o processo no qual uma ou mais espécies de microrganismos desenvolvem-se, de forma controlada ou não, consumindo um substrato e sintetizando um produto desejado (BORZANI et al., 2001).

A conservação por fermentação baseia-se no antagonismo entre espécies microbianas, em que uma ou mais espécies inibem as demais, por meio da competição por nutrientes e da produção de metabólitos antimicrobianos a partir de substratos presentes no alimento. Tais metabólitos, geralmente ácidos orgânicos, álcoois e CO₂, limitam o crescimento da flora patogênica e/ou deterioradora (ROSS et al., 2002).

Além do aspecto de conservação, desenvolvem-se importantes alterações sensoriais. Os álcoois e os ácidos conferem aos produtos sabores peculiares e geralmente apreciados. Por sua vez, o CO₂ produzido por algumas culturas promove o crescimento do pão, a formação de olhos em queijos e de espuma em cerveja (HANSEN, 2002; ROSS et al., 2002).

Assim, embora o objetivo primário da fermentação seja a conservação, a existência de vários métodos de conservação mais simples e baratos fez com que o efeito de conservação perdesse um pouco de sua importância, e a produção de muitos alimentos fermentados passou a ser motivada por suas características sensoriais peculiares.

Mesmo nessas situações, as condições geradas pela fermentação são essenciais para assegurar a estabilidade microbiológica desses alimentos (CAPLICE; FITZGERALD, 1999). Em alguns casos, a fermentação é complementada por outros métodos, como pasteurização, no caso de cerveja, ou estocagem sob refrigeração, no caso de iogurtes e de queijos.

As fermentações espontâneas – iniciadas sem o uso de um inóculo – têm sido usadas há milênios, por meio da tentativa e erro. Ainda hoje, dos processos fermentativos realizados em pequena escala, em países em desenvolvimento, a maioria é conduzida como processos espontâneos.

Uma fermentação espontânea resulta de atividades competitivas de várias espécies contaminantes, e aquelas com melhor adaptabilidade ao substrato e às condições de fermentação, eventualmente dominam o processo. Geralmente, as bactérias dominam os primeiros estádios da fermentação, graças à sua taxa de crescimento relativamente alta, seguida pelas leveduras, no caso de substratos ricos em açúcares fermentáveis.

Em vários processos tradicionais, o material de uma batelada prévia bem-sucedida é adicionado para facilitar a iniciação de um novo processo; esse procedimento, conhecido como pé de cuba, reduz o tempo de fermentação e o risco de um processo mal sucedido (HOLZAPFEL, 2002).

Os microrganismos mais frequentemente usados em processos fermentativos são leveduras e bactérias lácticas. O primeiro grupo é responsável pela produção de muitas bebidas alcóolicas, produtos de panificação, entre outros. O grupo das bactérias lácticas abrange vários gêneros, como *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus*, entre outros, que têm o ácido láctico como seu principal produto final; são responsáveis pela produção de grande variedade de produtos (ROSS et al., 2002).

As bactérias lácticas são ainda capazes de sintetizar as bacteriocinas, que são peptídeos e proteínas com atividade antimicrobiana, com grande potencial de uso como antimicrobianos naturais pela indústria de alimentos (RODRÍGUEZ et al., 2002).

Potter e Hotchkiss (1995) mencionaram exemplos de produtos obtidos a partir de fermentação por vários tipos de microrganismos, entre os quais destacam-se os seguintes:

Bactérias lácticas: chucrute, salame, iogurtes, ricota, queijos provolone, *cheddar* e *gouda*.

Bactérias lácticas com bactérias propiônicas: queijos *emmental* e *gruyere*.

Bactérias lácticas com fungos filamentosos: queijos *camembert*, *brie*, *gorgonzola* e *roquefort*.

Bactérias acéticas: vinagre.

Leveduras: cerveja, vinho e rum.

Uso de agentes antimicrobianos

Diversas classes de aditivos químicos são usadas para retardar diferentes tipos de alterações em alimentos. Alguns exemplos importantes são os antioxidantes (Capítulo 2), emulsificantes (Capítulo 3), acidulantes, umectantes, entre outros. Neste item, será enfatizada a classe dos conservantes químicos (ou agentes antimicrobianos), aditivos que impedem ou retardam as alterações provocadas por microrganismos.

A ação antimicrobiana dos conservantes baseia-se em efeitos sobre um ou mais dos seguintes componentes/atividades (LÜCK; JAGER, 1997):

- DNA.
- Membrana plasmática.
- Parede celular.
- Síntese proteica.
- Atividade enzimática.
- Transporte de nutrientes.

A classe de antimicrobianos mais usada é a dos ácidos orgânicos e seus sais, embora outras classes sejam também amplamente empregada, como os sulfitos e os nitritos/nitratos. A seguir, são apresentadas as características das principais classes de antimicrobianos usados.

Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos constituem a classe de antimicrobianos mais usada em alimentos. São compostos que inibem o crescimento tanto de bactérias quanto de fungos (BRUL; COOTE, 1999), além de existirem relatos sobre a inibição da germinação e do crescimento de esporos de bactérias (FENG et al., 2010).

Em solução, os ácidos ocorrem em equilíbrio entre os estados dissociado e não dissociado, em função do pH. Com a redução do pH, a concentração de ácidos não dissociados aumenta. O pK_a é definido como o valor de pH no qual as concentrações das formas dissociada e não dissociada são iguais. Assim, abaixo do pK_a , predomina a forma não dissociada, enquanto acima do pK_a , a forma dissociada é predominante.

Geralmente, os ácidos orgânicos são fracos, ou seja, têm baixo pK_a . Sua atividade antimicrobiana depende não apenas da concentração de íons H^+ , mas também do efeito inibitório do ácido não dissociado, que é hidrofóbico, o que favorece sua penetração através das membranas plasmáticas (BROWN; BOOTH, 1991).

Dentro da célula, em pH mais alto, a molécula se dissocia, liberando ânions e prótons que não podem atravessar de volta a membrana plasmática, ficando acumulados na célula (BOOTH; KROLL, 1989). Assim, o efeito antimicrobiano de ácidos fracos geralmente é favorecido por baixo pH, que favorece o estado não dissociado da molécula (BROWN; BOOTH, 1991).

A inibição do crescimento microbiano por ácidos fracos tem sido atribuída a várias causas, como rompimento de membranas, inibição de reações metabólicas, estresse associado ao pH intracelular e acúmulo de ânions tóxicos (THERON; LUES, 2009).

A maior vantagem do uso de ácidos orgânicos, como ácidos antimicrobianos, é a melhor aceitação que pode resultar do aumento de acidez, em alguns produtos. Sua principal limitação é o fato de serem efetivos apenas a baixos valores de pH, o que compromete sua aplicação em alimentos de baixa acidez.

Apesar disso, alguns ésteres de ácidos orgânicos (como os ésteres do ácido para-hidroxibenzoico ou parabenos) são efetivos num espectro de pH mais amplo, o que possibilita seu uso em produtos de baixa acidez, nos quais os ésteres têm encontrado aplicação crescente.

Na maioria das aplicações, os ácidos orgânicos são predominantemente biostáticos, e não biocidas. São usados, principalmente, para inibir o crescimento de fungos filamentosos e leveduras, embora possam também apresentar alguma atividade contra bactérias (KABARA; EKLUND, 1991).

Os ácidos orgânicos de maior atividade antimicrobiana são o propiônico, o sórbico e o benzoico, sendo geralmente aplicados a alimentos em níveis de centenas a milhares de miligramas por quilograma (mg/kg). O ácido acético é menos efetivo, além de ter seu uso limitado pelo sabor pungente; assim, ele é usado em baixas concentrações, ou em produtos nos quais seu sabor seja aceitável, como em conservas de frutas e hortaliças, maionese, mostarda, *ketchup*, entre outros. Esse ácido apresenta valor relativamente alto de pK_a , o que o torna adequado para produtos de baixa acidez (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

Os ácidos cítrico e láctico, ainda menos efetivos, geralmente são usados mais como acidulantes ou aromatizantes do que propriamente como antimicrobianos (KABARA; EKLUND, 1991). A Tabela 1 mostra os valores de pK_a e a efetividade comparativa de vários ácidos orgânicos contra bactérias, fungos filamentosos e leveduras.

Tabela 1. Valores de pK_a e efetividade relativa de ácidos orgânicos contra diferentes classes de microrganismos.

Ácido orgânico	pK_a	Bactéria	Levedura	Fungo filamentoso
Acético	4,75	+++	++	+
Propiônico	4,87	++	+++	+++
Láctico	3,08	++	-	-
Sórbico	4,80	++	+++	+++
Benzoico	4,20	+++	+++	+++
Cítrico	3,14; 4,77; 6,39 ⁽¹⁾	++	+	+
Málico	3,40; 5,11 ⁽¹⁾	+	+	+
Fumárico	3,03; 4,44 ⁽¹⁾	+++	++	+
Tartárico	2,98	-	-	+

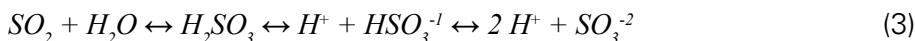
⁽¹⁾ Diferentes valores de pK_a para ácidos di ou tricarboxílicos.

Fonte: adaptada de Søltoft-Jensen e Hansen (2005).

Dióxido de enxofre e seus sais

Outra classe de aditivos amplamente usada é composta pelo dióxido de enxofre (SO_2) e os sais dele derivados. Essa classe de compostos é frequentemente denominada de sulfitos. Sua atividade antimicrobiana depende da penetração de moléculas de SO_2 nas células (WONG, 1989).

A hidratação do SO_2 produz o ácido sulfuroso (H_2SO_3). A dissociação desse ácido produz o ânion bissulfito (HSO_3^-), que, por sua vez, pode se dissociar, novamente, produzindo o ânion sulfito (SO_3^{2-}):



A primeira dissociação tem um pK_a de 1,9, e a segunda, de 7,2. O pH intracelular de microrganismos é próximo à neutralidade; assim, mesmo que a espécie química a penetrar a célula seja o SO_2 , o bissulfito e o sulfito são formados intracelularmente. Em altas concentrações, o ânion bissulfito pode, também, se condensar e se desidratar, formando metabissulfito ($\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$). Os metabissulfitos (de sódio ou de potássio) são os sais geradores de SO_2 mais usados em conservação de alimentos (GOULD; RUSSELL, 1991).

Os sulfitos são mais efetivos contra bactérias que contra fungos filamentosos e leveduras, enquanto os lactobacilos são particularmente sensíveis ao SO_2 (LÜCK; JAGER, 1997). Além de sua ação antimicrobiana, os sulfitos atuam, também, como antioxidantes e inibidores de escurecimento, tanto enzimático quanto não enzimático. Eles inibem a polifenoloxidase (PPO) e reagem com compostos intermediários do processo de escurecimento enzimático (SAYAVEDRA-SOTO; MONTGOMERY, 1986). Reagem, também, com compostos carbonílicos intermediários da reação de Maillard, prevenindo a formação de melanoidinas (NURSTEN, 2005).

A alta reatividade química dos sulfitos deriva de sua capacidade de atuar como agente redutor ou tomar parte num ataque nucleofílico. O ânion sulfito pode agir como base ou ácido de Lewis; essa versatilidade química torna-o capaz de formar ligações com ampla variedade de compostos e grupos funcionais (GOULD; RUSSELL, 1991).

Geralmente, essas reações afetam a atividade antimicrobiana dos sulfitos. Por exemplo, sua reação com compostos carbonílicos,

como aldeídos, cetonas e açúcares, produzindo sulfonatos, geralmente reduz sua atividade contra leveduras (LÜCK; JAGER, 1997).

A maior limitação ao uso dos sulfitos diz respeito a efeitos adversos sobre a saúde. Segundo o *Food and Drug Administration* (FDA), 1% das pessoas é sensível aos sulfitos; entre os asmáticos, essa proporção aumenta para 5% (PAPAZIAN, 2003). Além disso, seu odor intenso e pungente limita seu uso, geralmente restrito a alimentos a serem posteriormente processados (LÜCK; JAGER, 1997).

Ésteres do ácido p-hidroxibenzoico (parabenos)

Os ésteres do ácido p-hidroxibenzoico são conhecidos como parabenos, cuja estrutura é mostrada na Figura 11.

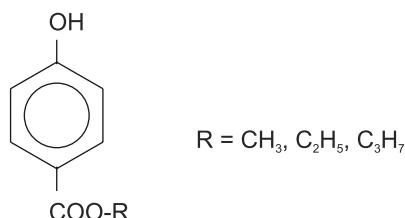


Figura 11. Estrutura química dos parabenos.

Fonte: Lück e Jager (1997).

A ação antimicrobiana dos parabenos é proporcional ao comprimento da cadeia do álcool (THOMPSON, 1994). O mecanismo de ação desses compostos envolve destruição de membranas citoplasmáticas e desnaturação de proteínas (LÜCK; JAGER, 1997). Os parabenos são mais efetivos contra fungos filamentosos e leveduras que contra bactérias. Os parabenos mais usados são o metil e o propilparabeno, sendo o primeiro mais hidrossolúvel, mas menos efetivo contra fungos filamentosos que o propilparabeno. É comum se usar misturas (de 2 a 3 partes de metilparabeno para 1 parte de propilparabeno) para contrabalançar essas diferenças (PADILLA-ZAKOUR, 2003).

Como os parabenos não se dissociam, sua atividade antimicrobiana é relativamente independente do pH do meio. Outra vantagem é sua estabilidade a extremos de temperatura, suportando até mesmo

esterilização a vapor. No entanto, os parabenos são pouco usados em comparação a outros agentes antimicrobianos, o que provavelmente se explica por seu alto custo e efeitos adversos ao sabor, além de sua baixa solubilidade em água (LÜCK; JAGER, 1997; PADILLA-ZAKOUR, 2003).

Nitritos e nitratos

Os nitritos (NO_2^-) e nitratos (NO_3^-) têm sua ação antimicrobiana dirigida, exclusivamente, contra bactérias. A principal razão de seu uso é inibir o crescimento e a formação de toxinas por *Clostridium botulinum* (LÜCK; JAGER, 1997).

Os nitratos podem ser convertidos a nitritos por processos enzimáticos. Essa conversão pode ocorrer em alimentos ou no trato digestivo humano. A ação antimicrobiana dos nitratos deriva muito mais dos nitritos produzidos por essa reação do que dos nitratos propriamente ditos. Os nitritos são mais efetivos a baixo pH, já que sua ação antimicrobiana baseia-se no ácido nitroso (HNO_2) que liberam e nos óxidos de nitrogênio produzidos a partir desse ácido.

Esses compostos atacam os grupos amino do sistema desidrogenase das células microbianas, inibindo o sistema (LÜCK; JAGER, 1997). Além disso, os nitritos exercem uma ação inibitória específica contra enzimas bacterianas que catalisam a degradação de glicose (WOODS; WOOD, 1982).

Entretanto, desde a década de 1970, seu uso é muito controverso, quando as nitrosaminas (produtos de reação dos nitritos) foram associadas ao desenvolvimento de câncer em animais de laboratório. Sob certas condições, as aminas – produtos de degradação de proteínas – combinam-se aos nitritos, formando as nitrosaminas. No entanto, as nitrosaminas não estão presentes em todas as carnes curadas, e quando presentes, o são em quantidades muito pequenas, e facilmente degradáveis, pela ação do calor (HONIKEL, 2008).

Os nitritos e nitratos – usados separadamente ou combinados – são muito utilizados em produtos cárneos, especialmente carnes curadas, conferindo-lhes coloração rosada.

Antimicrobianos não convencionais

Os antimicrobianos convencionais têm uma longa história de uso seguro. Entretanto, registros eventuais de reações alérgicas e a formação de subprodutos potencialmente carcinogênicos (como as nitrosaminas) têm resultado em preocupações sobre potenciais efeitos negativos dos conservantes sobre a saúde humana.

Além disso, a crescente demanda pela substituição de aditivos sintéticos por naturais em alimentos tem motivado a procura por compostos naturais com atividade antimicrobiana. Algumas classes de compostos têm sido estudadas como agentes antimicrobianos não convencionais, algumas das quais são apresentadas a seguir:

Bacteriocinas

O termo “bacteriocinas” designa uma classe de compostos formada por um grupo diverso de proteínas e peptídeos sintetizados por bactérias, com atividade contra outros microrganismos (HILL, 1995). Embora as bacteriocinas sejam encontradas em várias bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, nos últimos anos, as sintetizadas pelas bactérias lácticas têm recebido atenção especial, graças à sua aplicação potencial na indústria de alimentos, como conservadores naturais (RODRÍGUEZ et al., 2002).

A nisina, uma das bacteriocinas mais estudadas, amplamente conhecida e usada em vários países, é produzida por *Lactococcus lactis* (HELANDER et al., 1997). Trata-se de um peptídeo anfifílico³ cuja atividade resulta da permeabilização de membranas celulares bacterianas, causando efluxo de compostos citoplasmáticos (KRAAIJ et al., 1998).

A tendência pela utilização de bacteriocinas reflete a crescente preocupação do consumidor em relação aos riscos associados, por um lado, aos patógenos veiculados por alimentos, e por outro, aos conservadores sintéticos, usados para controlá-los (ABEE et al., 1995). O uso de metabólitos de bactérias lácticas para conservação de alimentos é geralmente aceito como natural e saudável (MONTVILLE; WINKOWSKI, 1997).

³ Anfifílico = Caracterizado pela presença de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas na mesma molécula.

Além da imagem natural conferida pelo uso de bacteriocinas, existem ainda outras vantagens, como a constante produção desses compostos por culturas viáveis e a destruição de bacteriocinas por enzimas digestivas (CAPLICE; FITZGERALD, 1999), reduzindo a ocorrência de problemas associados à decomposição de bacteriocinas e à sua interação com componentes dos alimentos.

Por sua vez, a aplicação de culturas produtoras de bacteriocinas têm algumas limitações, como o possível desenvolvimento de resistência gerada pela exposição dos microrganismos a concentrações crescentes de bacteriocinas (MAZZOTTA; MONTVILLE, 1997) e a incapacidade de inibir bactérias Gram-negativas, dotadas de uma membrana externa que age como barreira contra macromoléculas e solutos hidrofóbicos como as bacteriocinas (HELANDER et al., 1997).

Antimicrobianos derivados de plantas

Outra classe de conservantes não convencionais são os antimicrobianos derivados de plantas, com alto apelo mercadológico devido à sua classificação como naturais. Esses compostos podem ser classificados como fitoalexinas ou inibitinas. As fitoalexinas são produzidas apenas em situações de defesa contra microrganismos (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005); sua produção é comum em várias leguminosas, como amendoim, soja e grão-de-bico, e solanáceas, como batata, pimentão e berinjela (WALKER, 1994). Por sua vez, as inibitinas são metabólitos secundários pré-formados, produzidos pelo metabolismo normal das plantas e estocados em vacúolos ou em tecidos específicos; em sua maioria, são compostos fenólicos, como catecol, carvacrol, timol, ácido cafeico, bastante encontrados em ervas.

Existem ainda as pós-inibitinas, estocadas como precursores inativos, que são ativados por hidrolases ou oxidases, geralmente em caso de danos aos tecidos (HOLLEY; PATEL, 2005; SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005). Como exemplos, têm-se alina (presente em alho) e sinigrina (em repolho), convertidos nos respectivos compostos ativos, alicina e alil isotiocianato (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

A Tabela 2 mostra alguns alimentos de origem vegetal com conhecida atividade antimicrobiana e seus respectivos compostos ativos.

Tabela 2. Vegetais com atividade antimicrobiana e compostos ativos.

Vegetal	Composto antimicrobiano
Manjericão	Linalol, metil chavicol
Orégano	Carvacrol, timol
Alecrim	Linalol, cânfora, 1,8-cineol, α -pineno
Sálvia	Tujona, cânfora, 1,8-cineol, borneol
Canela	Aldeído cinâmico, eugenol
Cravo	Eugenol
Noz-moscada	Miristicina, α -pineno, sabineno
Cominho	Cuminaldeído
Pimenta	Capsaicina
Citros	D-limoneno, citral
Cacau, café, chá	Cafeína

Fonte: Beales, (2002) e Davidsone Naidu (2000).

Embora várias hortaliças já tenham sido associadas à atividade antimicrobiana, as pesquisas têm se concentrado em oleorresinas e óleos essenciais de ervas e condimentos. Tais propriedades já eram conhecidas no Egito antigo; existem registros de usos de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), cominho (*Cuminum cyminum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) desde o século 16 a.C., tanto na conservação de alimentos quanto no processo de mumificação (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais é atribuído, principalmente, aos compostos fenólicos, terpenos e aldeídos, embora vários álcoois, ésteres, óxidos e cetonas possam também contribuir para a atividade antimicrobiana, como mostra a Tabela 3. O mecanismo de ação mais aceito é o de que os terpenos e os fenóis alteram a permeabilidade das membranas celulares. Outros mecanismos sugeridos têm relação com a inibição de sistemas enzimáticos e até mesmo com a desnaturação de enzimas (BEALES, 2002; DAVIDSON; NAIDU, 2000).

Tabela 3. Exemplos de compostos antimicrobianos presentes em óleos essenciais.

Classe química	Composto
Álcoois	Citronelol, mentol, terpineol, linalol, nerol, zingiberol, geraniol
Aldeídos	Cinamaldeído, benzaldeído, anisaldeído, citral
Ésteres	Acetato de linalil, acetato de terpinil, salicilato de metila
Cetonas	Mentona, tujona, cânfora, carvona
Óxidos	Cineol, óxido de cariofileno
Fenóis	Eugenol, chavicol, timol, carvacrol
Terpenos	Sabineno, terpineno, mirceno, limoneno
Sesquiterpenos	Humuleno, selineno, curcumeno, zingibereno, cariofileno

Fonte: adaptada de Beales (2002).

No entanto, há algumas importantes limitações ao uso de óleos essenciais como conservantes. Vários estudos registraram efeitos antimicrobianos bem mais fracos dos óleos essenciais em alimentos complexos, quando comparados aos efeitos em sistemas-modelo (VRINDA MENON et al., 2002; VRINDA MENON; GARG, 2001), provavelmente devido a interferências por parte de outros componentes dos alimentos.

Há ainda a questão da solubilidade. Enquanto os compostos antimicrobianos de ervas e condimentos são geralmente lipossolúveis e ficam presentes na fração lipídica dos alimentos, o crescimento de bactérias ocorre na fase aquosa. Para compensar essas limitações e obter uma atividade antimicrobiana razoável em alimentos, muitas vezes são requeridas altas concentrações dos óleos essenciais, o que compromete a aceitação dos produtos, por conferir um sabor muito forte do óleo essencial em questão.

A remoção dos compostos responsáveis pelo sabor forte poderia resolver esse problema, mas, muitas vezes, eles são exatamente os responsáveis pela atividade antimicrobiana (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

Quitosanas

A quitina é um polímero de N-acetil-D-glicosamina, com unidades monoméricas unidas por ligações $\beta(1,4)$ (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005). É o segundo polissacárido mais abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose. As quitosanas são produzidas por desacetilação da quitina (ARANAZ et al., 2010; DUTTA et al., 2009).

Como geralmente essa desacetilação é incompleta – variando normalmente entre 60% e 95% (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005) – quitosanas são copolímeros de D-glicosamina com N-acetil-D-glicosamina. São polímeros, cuja densidade de carga depende do grau de desacetilação e do pH (ARANAZ et al., 2010).

As quitosanas têm mostrado atividade antimicrobiana contra ampla gama de microrganismos, incluindo fungos, algas e bactérias (ENTSAR et al., 2003; WU et al., 2005). Vários mecanismos de ação têm sido propostos, sendo que o mais aceito é baseado em interações eletrostáticas entre as cargas positivas dos grupamentos amino (NH_3^+) a valores de pH abaixo de 6,3 (pK_a da quitosana) e a superfície bacteriana, carregada negativamente.

Essas interações promovem alterações na permeabilidade da membrana celular, resultando em desequilíbrio osmótico e inibindo o crescimento microbiano (SHAHIDI et al., 1999), ou mesmo podendo resultar em vazamento de eletrólitos e nutrientes de baixo peso molecular (DUTTA et al., 2009; LIU et al., 2004).

A atividade antimicrobiana das quitosanas varia em função dos seguintes fatores:

Fatores relacionados à quitosana, como o grau de desacilação (GD) e o peso molecular (PM) – Quitosanas com menor peso molecular (PM) geralmente apresentam maior atividade antimicrobiana que as quitosanas nativas com alto PM, graças à maior solubilidade em água, favorecendo a interação com os microrganismos (AIDER; DE HALLEUX, 2010; DUTTA et al., 2009; LIU et al., 2006). A atividade antimicrobiana é também favorecida por maiores graus de desacilação, os quais aumentam a solubilidade em água e a densidade de carga, melhorando a adesão às células microbianas (AIDER; DE HALLEUX 2010).

Condições do meio – Baixo pH favorece a atividade, já que aumenta a solubilidade e o grau de protonação da quitosana. Alguns solutos do meio podem reagir com os grupos amino (catiônicos) da quitosana, bloqueando sua reatividade e consequente atividade antimicrobiana (AIDER; DE HALLEUX, 2010).

Tipo de microrganismo – A densidade de carga da superfície celular é um fator determinante do grau de absorção de quitosana. Leveduras e fungos filamentosos geralmente são os mais sensíveis, seguidos por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (AIDER; DE HALLEUX, 2010).

Além da atividade antimicrobiana direta, as quitosanas ainda atuam como quelantes de íons metálicos de transição, já que os grupos $-NH_2$ são envolvidos em interações com cátions metálicos, entre os quais vários têm conhecidas propriedades antimicrobianas, como Ag^+ , Cu^{2+} e Zn^{2+} (CHEN et al., 2002; RINAUDO, 2006).

Wang et al. (2004, 2005) observaram que complexos de quitosanas com metais apresentam melhores propriedades antimicrobianas, quando comparados à quitosana ou aos sais metálicos individualmente. Segundo Wang et al. (2005), isso se deve à maior carga positiva do polissacarídeo, após a complexação.

Enzimas antimicrobianas

Enzimas com atividade antimicrobiana são amplamente encontradas na natureza, atuando como mecanismo de defesa de vários organismos vivos contra infecções por microrganismos. Essas enzimas podem ser hidrolases, que degradam componentes da parede celular, ou oxidorredutases, que resultam na formação de moléculas reativas contra bactérias (FUGLSANG et al., 1995). As enzimas antimicrobianas mais conhecidas são:

Lisozima – Um constituinte natural de sangue, leite e ovos em peixes e mamíferos, sendo também encontrado em alguns alimentos vegetais, como figo e mamão. A enzima é estável a pH de 3 a 7, e a temperaturas até 50 °C (LÜCK; JAGER, 1997). Geralmente, a lisozima usada para aplicações em alimentos é extraída de ovos de galinha. A lisozima hidrolisa a ligação glicosídica $\beta(1-4)$ do peptidoglicano presente na parede celular de bactérias (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

A lisozima é efetiva, principalmente, contra bactérias Gram-positivas. Entretanto, o peptidoglicano de algumas bactérias Gram-positivas pode ser quimicamente modificado, resultando em resistência ou em sensibilidade reduzida à lisozima (FUGLSANG et al., 1995; MASSCHALCK et al., 2002).

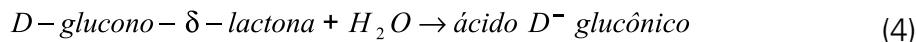
Geralmente, as bactérias Gram-negativas são resistentes, graças à existência de uma membrana externa constituída por lipopolissacáideos, fosfolipídeos, proteínas e lipoproteínas. Caso essa membrana seja desestabilizada por outros antimicrobianos, a lisozima pode ter seu efeito aumentado (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

A lisozima tem sido usada como conservante em vários alimentos, como queijos, carnes, frutas e hortaliças (LOSSO et al., 2000).

Glicose oxidase (GO) – As oxirredutases não exercem efeitos antimicrobianos por si mesmas, mas dependem de produtos finais, formados por uma reação catalisada por elas. As oxirredutases mais usadas em conservação de alimentos são a glicose oxidase (GO) e a lactoperoxidase. A GO produzida por *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. catalisa a seguinte reação:



A glucono- δ -lactona formada reage então com água, formando ácido glucônico:

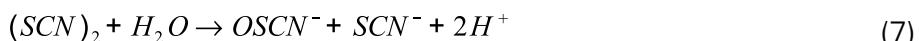
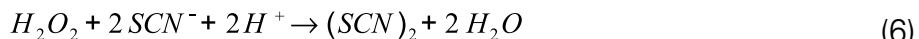


A ação antimicrobiana da GO deve-se ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formado, mas a redução do pH promovida pelo ácido glucônico pode favorecer, também, a inibição ao crescimento microbiano. O efeito do H_2O_2 é de baixa duração, por sua rápida inativação por outras enzimas (SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005).

Lactoperoxidase (LP) – A lactoperoxidase é secretada por várias glândulas mamárias, sendo encontrada em leite, em saliva e em outros fluidos corporais. A enzima catalisa a oxidação de tiocianato e íons iodeto, produzindo agentes fortemente oxidantes, com amplo espectro de atividade antimicrobiana (NAIDU, 2003; SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005):



ou



Os componentes celulares afetados são os grupamentos sulfidrila, NADH, NADPH e, sob certas condições, resíduos de aminoácidos. A oxidação de tais componentes afeta as funções celulares. A membrana plasmática, os sistemas de transporte e as enzimas glicolíticas podem sofrer danos, resultando em morte celular ou na inibição do crescimento (NAIDU, 2003).

Combinações de antimicrobianos

Na natureza, raramente um composto antimicrobiano funciona isoladamente. Assim como plantas e animais, os microrganismos sintetizam uma variedade de compostos que atuam em combinação para favorecer sua sobrevivência e/ou multiplicação na presença de microrganismos competidores. Portanto, é pouco provável que um único agente antimicrobiano, sintético ou natural, seja eficaz em prevenir todas as formas de deterioração de alimentos e doenças de origem alimentar (ROLLER, 2003).

O uso combinado de diferentes antimicrobianos pode apresentar algumas vantagens, destacando-se as seguintes (LÜCK; JAGER, 1997):

Ampliação do espectro de ação – Uma combinação de diferentes compostos pode compensar as deficiências no espectro de ação de cada um, já que nenhum conservante é ativo contra todos os microrganismos. Por exemplo, compostos de grande efetividade contra fungos filamentosos e leveduras, como ácido sóblico ou benzoico, podem ser combinados a um composto antibacteriano, como o dióxido de enxofre (SO_2), cujos efeitos antioxidantes e inibidores de enzimas são explorados, simultaneamente, para inibir o crescimento de bactérias.

Alterações na ação antimicrobiana – A combinação de antimicrobianos pode ter três tipos de efeito:

- Aditivo – Quando os efeitos dos compostos individuais são simplesmente adicionados para se obter o efeito da combinação.

- Sinérgico – Quando a ação inibitória da combinação é atingida a uma concentração menor que a dos componentes.
- Antagônico – Quando a concentração da mistura deve ser maior que a dos compostos individuais.

Uma combinação de antimicrobianos com efeito sinérgico permite que se reduza o teor total de antimicrobianos no alimento, além de reduzir, também, os efeitos sensoriais indesejáveis.

Para se desenvolver um produto, uma série de informações deve ser levantada, a fim de se estabelecer o melhor sistema antimicrobiano a ser usado. Algumas das informações mais importantes são (ROLLER, 2003):

- Tipos de microrganismos a serem controlados.
- Mecanismos antimicrobianos desejáveis.
- Composição do alimento.
- Condições às quais o produto será submetido durante o processamento e a estocagem.
- Eventuais propriedades funcionais adicionais conferidas pelos antimicrobianos (propriedades antioxidantes conferidas por óleos essenciais).
- Aspectos de toxicidade.
- Custos.
- Status da legislação.
- Existência de testes prévios do sistema em alimentos.

Considerações finais

Muitos dos métodos convencionais de conservação de alimentos resultam em dados nutricionais e/ou sensoriais aos produtos, podendo reduzir sua aceitação em alguns casos. Mesmo assim, esses métodos ainda predominam na indústria de alimentos, graças à sua eficiência comprovada em aumentar a estabilidade dos produtos e promover segurança alimentar aos consumidores.

Referências

- ABEE, T.; KROCKEL, L.; HILL, C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 28, n. 2, p. 169-185, 1995.
- AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 82, n. 1, p. 92-102, 2007.
- AIDER, M.; DE HALLEUX, D. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. **LWT – Food Science and Technology**, London, GB, v. 43, n. 6, p. 837-842, 2010.
- APEX LYO. **What is Lyophilization (freeze drying)?** Disponível em: <<http://apexlyo.com/page1.html>>. Acesso em: 28 maio 2010.
- ARANAZ, I.; HARRIS, R.; HERAS, A. Chitosan amphiphilic derivatives: chemistry and applications. **Current Organic Chemistry**, Hilversum, v. 14, p. 308-330, 2010.
- BEALES, N. **Food ingredients as natural antimicrobial agents**. Campden: Campden and Chorleywood Food Research Association Group, 2002. Review n. 13.
- BHANDARI, B. R.; DATTA, N.; HOWES, T. Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. **Drying Technology**, New York, v. 15, p. 671-684, 1997.
- BHANDARI, B. R.; HARTEL, R. W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. p. 261-292.
- BOOTH, I. R.; KROLL, R. G. The preservation of foods by low pH. In: GOULD, G. W. (Ed.). **Mechanisms of action of food preservation procedures**. London, GB: Elsevier, 1989. p. 119-160.
- BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, V. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 254 p.
- BROWN, M. H.; BOOTH, I. R. Acidulants and low pH. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. (Ed.). **Food preservatives**. New York: AVI, 1991. p. 22-43.
- BRUL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 50, n. 1-2, p. 1-17, 1999.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G. F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 50, n. 1-2, p. 131-149, 1999.

CHEN, X.-G.; ZHENG, L.; WANG, Z.; LEE, C.-Y.; PARK, H.-J. Molecular affinity and permeability of different molecular weight chitosan membranes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 50, n. 21, p. 5915–5918, 2002.

DAVIDSON, P. M.; NAIDU, A. S. Phyto-phenols. In: NAIDU, A. S. (Ed.). **Natural food antimicrobial systems**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 265-294.

DEYMONAZ, C.; HOBSON, M.; DIAZ, D.; GUIDINGER, N. **Spray drying**. 2002. Disponível em: <http://www.wsu.edu/~gmhyde/433_web_pages/drying-web-pages98/spray-dry/Spray-Drying-intro.htm>. Acesso em: 22 abr. 2002.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, GB, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

EMOND, S. P. Continuous heat processing. In: RICHARDSON, P. (Ed.). **Thermal technologies in food processing**. Cambridge: Woodhead, 2001. p. 29-48.

ENTSAR, I. R.; BADAWY, M. E. T.; STEVENS, C., V.; SMAGGHE, G.; WALTER, S. Chitosan as antimicrobial agent: Application and mode of action. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 4, p. 1457-1465, 2003.

FALGUERA, V.; PAGÁN, J.; IBARZ, A. Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. **LWT – Food Science and Technology**, London, GB, v. 44, n. 1, p. 115-119, 2011.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology**: principles and practice. New York: Ellis Horwood, 1988. 505 p.

FENG, S.; ZENG, W.; LUO, F.; ZHAO, J.; YANG, Z.; SUN, Q. Antibacterial activity of organic acids in aqueous extracts from pine needles (*Pinus massoniana* Lamb.). **Food Science and Biotechnology**, London, GB, v. 19, n.1, p.35-41, 2010.

FOX, P. F. Cheese: an overview. In: FOX, P. F. (Ed.). **Cheese**: chemistry, physics and microbiology. London, GB: Chapman & Hall, 1993. p. 1-36.

FUGLSANG, C. C.; JOHANSEN, C.; CHRISTGAU, S.; ADLER-NISSEN, J. Antimicrobial enzymes: Applications and future potential in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, p. 390-396, 1995.

GEDAM, K. The study on UHT processing of milk: a versatile option for rural sector. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, [S.I.], v. 2, n. 2, p. 49-53, 2007.

GOULD, G. W.; RUSSELL, N. J. Sulfite. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. (Ed.). **Food preservatives**. New York: AVI, 1991. p. 72-88.

H. R. NICHOLSON COMPANY. **What's new**. Disponível em: <http://www.hrnicholson.com/whats_new.html>. Acesso em: 4 set. 2002.

HANSEN, E.B. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 78, n. 1-2, p. 119-131, 2002.

HELANDER, I. M.; VON WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria.

Trends in Food Science & Technology, Cambridge, v. 8, n. 5, p. 146-150, 1997.

HILL, C. Bacteriocins: natural antimicrobials from microorganisms. In: GOULD, G.W. **New methods of food preservation**. London, GB: Chapman & Hall, 1995. p. 22-39.

HOGAN, P. A.; CANNING, R. P.; PETERSON, P. A.; JOHNSON, R. A.; MICHAELS, A. S. A new option: osmotic distillation. **Chemical Engineering Progress**, [S.I.], jul, 1998. Disponível em: <<http://www.celgard.com/documents/A%20new%20Option%20Osmotic%20Distillation%20using%20Liqui-Cel%20Membrane%20Contactors.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2003.

HOLDSWORTH, S. D. Optimising the safety and quality of thermally processed packaged foods. In: RICHARDSON, P. (Ed.). **Improving the thermal processing of foods**. Cambridge: Woodhead, 2004. p. 3-31.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, London, GB, v. 22, n. 4, p. 273-292, 2005.

HOLZAPFEL, W. H. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 75, n. 3, p. 197-212, 2002.

HOLZAPFEL, W. H. Use of starter cultures term in fermentation on a household scale. **Food Control**, Oxford, v. 8, p. 241-258, 1997.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, Barking, v. 78, n. 1-2, p. 68-76, 2008.

JAYA, S.; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 63, p.125-134, 2004.

KABARA, J. J.; EKLUND, T. Organic acid and esters. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. (Ed.). **Food preservatives**. New York: AVI, 1991. p. 44-71.

KRAAIJ, C. van; BREUKINK, E.; NOORDERMEER, M. A.; DEMEL, R. A.; SIEZEN, R. J.; KUIPERS, O. P.; DE KRUIJFF, B. Pore formation by nisin involves translocation of its C-terminal part across the membrane. **Biochemistry**, Washington, DC, v. 37, n. 46, p. 16033-16040, 1998.

LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n. 2, p. 41-46, 1995.

LEVINE, H.; SLADE, L. A food polymer science approach to the practice of cryostabilization technology. **Comments on Agriculture and Food Chemistry**, [S.I.], v. 1, p. 315-396, 1989.

LEVINE, H.; SLADE, L. A polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs). **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 6, p. 213-244, 1986.

LIU, H.; DU, Y.; WANG, X.; SUN, L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 95, n. 2, p. 147-155, 2004.

LIU, N.; CHEN, X. G.; PARK, H. J.; LIU, C. G.; LIU, C. S.; MENG, X. H.; YU, L. J. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 64, p. 60-65, 2006.

LOSSO, J. N.; NAKAI, S.; CHATER, E. A. **Lysozyme**. In: NAIDU, A. S. (Ed.). Natural food antimicrobial systems. Boca Raton: CRC Press, 2000. P. 185-210.

LÜCK, E.; JAGER, M. **Antimicrobial food additives**: characteristics, uses, effects. 2nd ed. Berlin, DE: Springer-Verlag, 1997. 260 p.

MASSCHALCK, B.; DECKERS, D.; MICHIELS, C. W. Lytic and non-lytic mechanism of inactivation of gram-positive bacteria by lysozyme under atmospheric and high hydrostatic pressure. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 12, p. 1916-1923, 2002.

MAZZOTTA, A. S.; MONTVILLE, T. J. Nisin induced changes in membrane fatty acid composition of *Listeria monocytogenes* nisin-resistant strains at 10 and 30°C. **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 82, n. 1, p. 32-38, 1997.

MONTVILLE, T. J.; WINKOWSKI, K. Biologically based preservation systems and probiotic bacteria. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. (Ed.). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington, DC: ASM Press, 1997. p. 557.576.

MULDREW, K. **Cryobiology**: a short course. Disponível em: <http://www.ucalgary.ca/~kmuldrew/cryo_course/course_outline.html>. Acesso em: 11 jun 2003.

NAIDU, A. S. Antimicrobials from animals. In: ROLLER, S. (Ed.). **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Cambridge: Woodhead, 2003. p. 133-158.

NURSTEN, H. E. Maillard reaction: **Chemistry, biochemistry and implications**. London, GB: Royal Society of Chemistry, 2005. p. 152-160.

OLIVEIRA, J. C.; PEREIRA, P. M.; FRIAS, J. M.; CRUZ, I. B.; McINNES, W. M. Application of the concepts of biomaterials science to the quality optimization of frozen foods. In: OLIVEIRA, F. A. R.; OLIVEIRA, J. C. (Ed.). **Processing foods: quality optimization and process assessment**. Boca Raton: CRC, 1999. p. 107-130.

OLIVEIRA, M. A.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUZA, A. C. R.; BRITO, E. S.; AZEREDO, H. M. C. Addition of cashew tree gum to maltodextrin-based carriers for spray drying of cashew apple juice. **International Journal of Food Science and Technology**, London, GB, v. 44, p. 641-645, 2009.

PADILLA-ZAKOUR, O. **Chemical food preservatives**: propionates and parabens. Disponível em: <http://www.nysaes.cornell.edu/fst/fvc/Venture/venture3_chemical.html>. Acesso em: 21 jul. 2003.

PAPAZIAN, R. **Sulfites**: safe for most, dangerous for some. Disponível em: <http://www.fda.gov/fdac/features/096_sulf.html>. Acesso em: 21 jul. 2003.

PEARL, G. G. **Sterilization**. Disponível em: <<http://www.rendermagazine.com/April2001/TechTopics.html>>. Acesso em: 21 nov. 2001.

PEHKONEN, K. S.; ROOS, Y. H.; SONG, M.; ROSS, R. P.; STANTON, C. State transitions and physicochemical aspects of cryoprotection and stabilization in freeze-drying of *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG). **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 104, p. 1732-1743, 2008.

PEREIRA, C. C.; RIBEIRO JÚNIOR, C. P.; NOBREGA, R.; BORGES, C. P. Pervaporative recovery of volatile aroma compounds from fruit juices. **Journal of Membrane Science**, New York, v. 274, n. 1-2, p. 1-23, 2006.

- PETROTOOS, K. B.; LAZARIDES, H. N. Osmotic concentration of liquid foods. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 49, n. 2-3, p. 201-206, 2001.
- POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. 5th. ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 608 p.
- RAOULT-WACK, A. L. Recent advances in the osmotic dehydration of foods. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 5, n. 8, p. 255-260, 1994.
- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 49, n. 4, p. 311-319, 2001.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, New York, v. 31, p. 603-632, 2006.
- RODRÍGUEZ, J. M.; MARTÍNEZ, M. I.; HORN, N.; DODD, H. M. Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 80, n. 2, p. 101-116, 2002.
- ROLLER, S. Introduction. In: ROLLER, S. (Ed.). **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Cambridge: Woodhead, 2003. p. 1-10.
- ROOS, Y. H. Frozen state transitions in relation to freeze-drying. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 48, n. 3, p. 535-544, 1997.
- ROOS, Y. H. Glass transition-related physicochemical changes in foods. **Food Technology**, Chicago, v. 49, p. 97-102, 1995.
- ROOS, Y. H. Glass transition temperature and its relevance in food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 1, n. 1, p. 469-496, 2010.
- ROOS, Y. H.; KAREL, M. Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions. **International Journal of Food Science and Technology**, London, GB, v. 26, p. 553-566, 1991a.
- ROOS, Y. H.; KAREL, M. Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, p. 1676-1681, 1991b.
- ROSE, D. Advances and potential for aseptic processing. In: GOULD, G. W. (Ed.). **New methods of food preservation**. London, GB: Chapman & Hall, 1995. p. 283-303.
- ROSS, R. P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 79, n. 1-2, p. 3-16, 2002.

- RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. Factors affecting growth and survival. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G. W. (Ed.). **Food preservatives**. New York: AVI, 1991. p. 13-21.
- SANDEEP, K. P.; SIMUNOVIC, J.; SWARTZEL, K. R. Developments in aseptic processing. In: RICHARDSON, p. (Ed.). **Improving the thermal processing of foods**. Cambridge: Woodhead, 2004. p. 177-188.
- SAYAVEDRA-SOTO, L. A.; MONTGOMERY, M. W. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 6, p. 1531-1536, 1986.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J.; JEON, Y.-J. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 10, p. 37-51, 1999.
- SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Freezing of foods: damage to microbial cells. In: ROBINSON, R.; BATT, C. A.; PATEL, P. (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. London, GB: Academic Press, 1999. v. 2. p. 840-845.
- SKOG, L. J. **Chilling injury of horticultural crops**. Disponível em: <<http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/98-021.htm#introduction>>. Acesso em: 11 jun. 2003.
- SØLTOFT-JENSEN, J.; HANSEN, F. New chemical and biochemical hurdles. In: SUN, D. W. (Ed.) **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 387-416.
- TANG, X.; PIKAL, M. J. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 21, n. 2, p. 191-200, 2004.
- THONERON, M. M.; LUES, J. F. **Organic acids and food preservation**. Boca Raton: CRC Press, 2009. p. 117-149.
- THOMPSON, D. P. Minimum inhibitory concentration of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (paraben) combinations against toxigenic fungi. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 57, n. 2, p. 133-135, 1994.
- TORREGIANI, D. Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 26, n. 1, p. 59-68, 1993.
- UNIVERSITY OF GUELPH. **Dairy science and technology**. (Education series). Disponível em: <<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/home.html>>. Acesso em: 28 set. 2010.

VRINDA MENON, K.; GARG, S.R. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. **Food Microbiology**, London, GB, v. 18, p. 647-650, 2001.

VRINDA MENON, K.; GARG, S. R.; MANDOKHOT, U. V. Inhibitory action of cinnamon on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 39, p. 432-434, 2002.

WALKER, J. R. L. Antimicrobial compounds in food plants. In: DILLON, V. M.; BOARD, R. G. (Ed.). **Natural antimicrobial system and food preservation**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 181-204.

WANG, X.; DU, Y.; FAN, L.; LIU, H.; HU, Y. Chitosan-metal complexes as antimicrobial agent: synthesis, characterization and structure-activity study. **Polymer Bulletin**, Berlin, DE, v. 55, p. 105-113, 2005.

WANG, X.; DU, Y.; LIU, H. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 56, p. 21-26, 2004.

WONG, D. W. S. **Mechanism and theory in food chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 428 p.

WOODS, L. F. J.; WOOD, J. M. A note on the effect of nitrite inhibition on the metabolism of *Clostridium botulinum*. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 52, p. 109-110, 1982.

WU, T.; ZIVANOVIC, S.; DRAUGHON, F. A.; CONWAY, W. S.; SAMS, C. E. Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 53, n. 10, p. 3888-3894, 2005.

Capítulo 6

Fundamentos dos principais métodos não convencionais de conservação de alimentos

*Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Edy Sousa de Brito*

Introdução

Nas últimas décadas, a indústria de alimentos tem sofrido pressões para se adaptar aos crescentes requerimentos do consumidor que, por um lado tem se tornado mais preocupado com a segurança alimentar e, por outro, mais exigente quanto aos níveis de qualidade requeridos dos alimentos.

Muitos métodos de conservação de alimentos têm sido modificados para reduzir a severidade de técnicas mais extremas, para melhorar a qualidade dos produtos e, consequentemente, aumentar sua aceitação pelo mercado. Por exemplo, os métodos térmicos têm sido otimizados e adequados aos diferentes tipos de alimentos, para reduzir as alterações sensoriais resultantes dos danos térmicos. Além dessas técnicas modificadas, algumas novas têm surgido (como os métodos não convencionais de aquecimento e os métodos não térmicos), basicamente com o mesmo objetivo.

Para atender aos requerimentos atuais dos consumidores, os alimentos devem ser, além de convenientes, mais frescos e naturais que os obtidos por métodos tradicionais. Segundo Sloan (2001), a manutenção do frescor tem sido identificada como a característica mais importante em conservação de alimentos. Ao mesmo tempo, o consumidor tem se tornado mais consciente e preocupado com questões relacionadas à segurança alimentar. Portanto, é importante não perder de vista que, embora o objetivo primário das técnicas novas – e das modificadas – seja obter produtos com maior potencial de aceitação, o nível de segurança alimentar associado a tais técnicas deve ser equivalente ou maior que o dos métodos a serem substituídos.

Processos não convencionais de aquecimento

Para alimentos contendo partículas grandes, muitas vezes o uso das técnicas convencionais de transferência de calor requer um alto binômio tempo-temperatura para assegurar a esterilização do centro das partículas. Em consequência disso, podem ocorrer alterações nutricionais de sabor e de textura.

Os aquecimentos ôhmico e por micro-ondas permitem aquecimento mais rápido e uniforme, permitindo a redução dos danos térmicos

(e consequentemente das alterações sensoriais) ao produto, em comparação ao aquecimento convencional. Entre outros fatores, a efetividade desses processos depende da localização dos pontos frios, da atividade de água e do pH do produto (FDA; CFSAN, 2009).

Aquecimento por micro-ondas

As micro-ondas (MO) incluem qualquer radiação eletromagnética na faixa de frequência de 300 MHz a 300 GHz. Geralmente, os fornos de micro-ondas (domésticos e industriais) operam numa frequência de 2,45 GHz, correspondendo ao comprimento de onda de 12,2 cm e energia de $1,02 \times 10^{-5}$ eV (SINGH et al., 2011).

As moléculas de água – que são as moléculas polares mais abundantes em alimentos – encontram-se em orientação aleatória (Figura 1). Quando um campo elétrico é aplicado, como ocorre quando o alimento é colocado entre dois eletrodos, as moléculas de água tentam se alinhar com o campo elétrico e, quando o campo é removido, tendem a voltar à orientação aleatória (HENG et al., 2010).

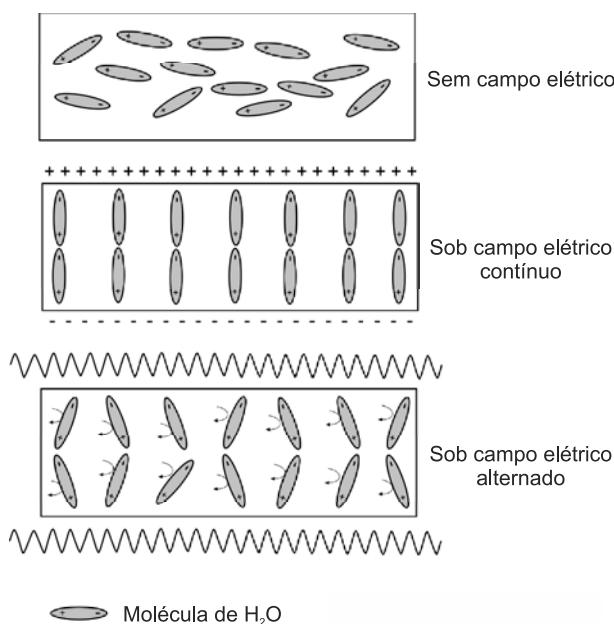


Figura 1. Efeito de um campo elétrico contínuo e de um alternado (micro-ondas) sobre moléculas de água.

Fonte: Polshettiwar e Varma (2008).

Quando o campo elétrico é alternado em alta frequência (a 2,45 GHz), as moléculas polares também oscilam (rotação de Dipolo), seguindo a mudança de sentido do campo. A energia cinética gerada por essas moléculas – para acompanhar o campo elétrico – é dissipada na forma de calor (AL-HARAHSHEH et al., 2009).

O processamento por micro-ondas depende não apenas das propriedades térmicas do alimento, mas também de propriedades dielétricas, que variam segundo a frequência da radiação. Em frequências de micro-ondas, as principais propriedades elétricas são:

- A constante dielétrica, que mede a capacidade do material em estocar energia elétrica.
- O fator de perda, associado à capacidade de dissipar energia elétrica.

A maioria dessas propriedades é determinada pela composição do alimento, especialmente pelos teores de umidade e sais, e pela temperatura (SUMNU; SAHIN, 2005). À medida que a energia elétrica é convertida em energia térmica, dentro do produto, vários efeitos de aquecimento espacialmente heterogêneos podem resultar em aquecimento desuniforme de alimentos de alto teor de umidade, a menos que esses alimentos sejam limitados a espessuras relativamente pequenas.

De fato, as micro-ondas penetram tão somente até certa profundidade do produto, e as partes mais internas são aquecidas por condução. Ainda assim, geralmente, o aquecimento por micro-ondas promove aquecimento mais rápido e uniforme, em comparação com os métodos convencionais, graças à interação direta entre a energia de micro-ondas e o alimento (ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CENTRE, 2010).

O processamento por micro-ondas tem se mostrado eficiente para reduzir carga microbiana em vários tipos de alimentos, como produtos cárneos (PUCCIARELLI; BENASSI, 2005; YILMAZ et al., 2005), purês de hortaliças (KUMAR et al., 2008), ovos (DEV et al., 2008) e frutas (LU et al., 2011; ZHANG et al., 2009).

As micro-ondas podem ser aplicadas, também, à secagem de alimentos, com certas vantagens em relação à secagem por ar aquecido. O calor interno, gerado pelas micro-ondas, estabelece pressão de vapor dentro do produto e bombeia a umidade para a superfície. Como

a umidade é forçada para a superfície do produto, o efeito de *case hardening* (ver Capítulo 5) é minimizado, permitindo maiores taxas de secagem e melhor qualidade do produto (CHOU; CHUA, 2001; SUMNU; SAHIN, 2005).

Aquecimento ôhmico

O aquecimento ôhmico (ou aquecimento por resistência elétrica) é um método térmico no qual, como um resistor elétrico, o alimento é aquecido por meio da passagem de uma corrente elétrica alternada (Figura 2). O aumento de temperatura resulta da conversão de energia elétrica em calor (efeito Joule), promovida pela resistência elétrica do alimento. Como vantagens, tem-se um aquecimento mais uniforme e mais rápido, quando comparado a processos convencionais (CHEN et al., 2010).

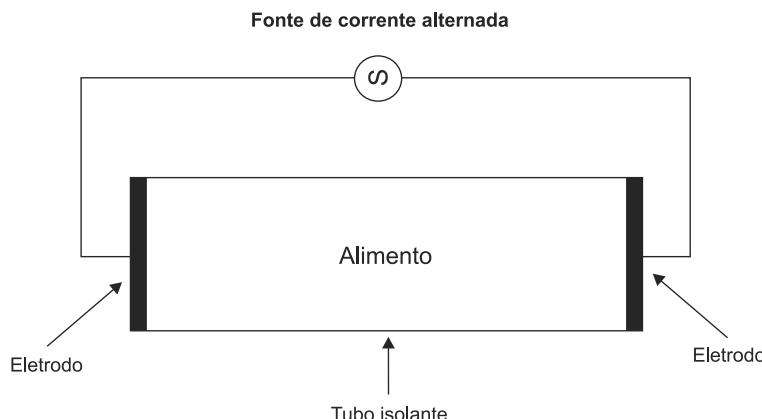


Figura 2. Diagrama esquemático de um sistema de aquecimento ôhmico.

Fonte: Ruan et al. (2002).

Vários fatores afetam a taxa de aquecimento ôhmico de alimentos (ICIER et al., 2008):

- A condutividade elétrica de fluidos e partículas.
- O calor específico.

- As características das partículas (dimensões, formato e concentração).
- A orientação das partículas em relação ao campo elétrico (CHEN et al., 2010), assim como o gradiente de tensão.

A condutividade elétrica aumenta com a temperatura e diminui com o teor e as dimensões das partículas dispersas na fase líquida (ZAREIFARD et al., 2003). A conversão de energia é muito eficiente, sendo que cerca de 90% da energia elétrica pode ser convertida em calor (RUAN et al., 2002).

A maioria das desvantagens da tecnologia tem relação com as propriedades elétricas do alimento tratado. Compostos de baixa condutividade elétrica, como gorduras, geram pouco calor, formando uma região fria no caso de produtos sólidos com uma fase predominante-gordurosa (SHIRSAT et al., 2004).

Além disso, fatores ligados às dimensões do alimento e à sua composição (como acidez) também afetam a eficiência do aquecimento (AYMERICH et al., 2008). Zell et al. (2009) estudaram a influência de alguns fatores sobre o desempenho do aquecimento ôhmico em produtos cárneos, em termos de composição química da formulação (especialmente em termos de gordura, que tem baixa condutividade elétrica, e de cloreto e fosfato, que têm alta condutividade) e de orientação das fibras musculares.

A aplicação do aquecimento ôhmico tem sido estudada especialmente em carnes (DE HALLEUX et al., 2005; LYNG; MCKENNA, 2007; ZELL et al., 2009), mas também em frutas (ALLALI et al., 2010; SHYNKARYK et al., 2010) e sucos (BAYSAL; ICIER, 2010; ICIER et al., 2008).

Métodos não térmicos de conservação

A aplicação de calor é o método mais usado pela indústria de alimentos, para inativar microrganismos e enzimas, retardando a deterioração e aumentando a segurança do consumidor. Entretanto, altas temperaturas podem afetar, negativamente, a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos.

Por isso, vários métodos não térmicos têm sido investigados para substituir total ou parcialmente os tradicionais métodos térmicos (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2002). O objetivo é inativar microrganismos e enzimas indesejáveis, minimizando ao mesmo tempo as alterações nas propriedades nutricionais e sensoriais resultantes do tratamento térmico (BUTZ; TAUSCHER, 2002).

A seguir, são descritos os princípios gerais de alguns métodos não térmicos de processamento, assim como suas vantagens e limitações:

Irradiação

A irradiação de alimentos é um processo que consiste na exposição de alimentos a uma forma altamente penetrante de radiação ionizante, como raios gama (os mais comumente usados), raios X ou elétrons acelerados (DERR, 2002). A radiação gama e os raios X formam parte do espectro eletromagnético (Figura 3) na faixa de curto comprimento de onda e alta energia.

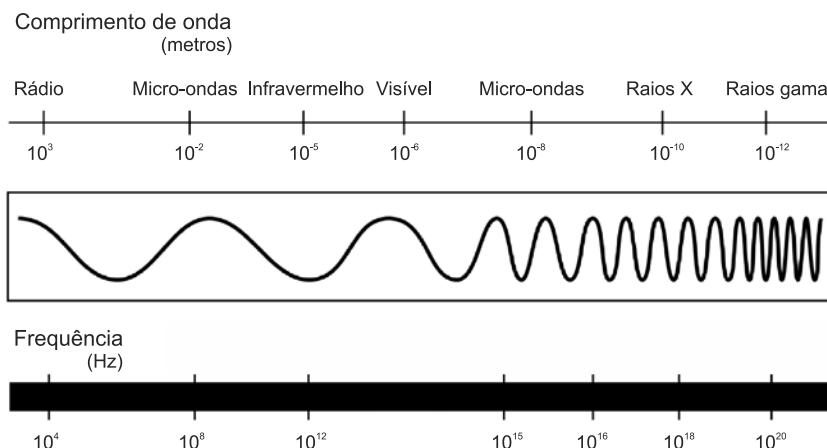


Figura 3. Espectro eletromagnético.

Fonte: University of Illinois (2010).

Quando um alimento é atravessado por qualquer forma de radiação ionizante, ocorre produção de íons e excitação de átomos e

moléculas, havendo absorção de parte da energia transferida. Os íons produzidos podem ter energia suficiente para produzir novas ionizações e excitações. As ionizações são responsáveis pelos efeitos biológicos das radiações, como o rompimento do DNA de microrganismos (CENA; USP, 2003).

Os raios gama – de baixo comprimento de onda e alta frequência – penetram no alimento tão rapidamente que a produção de calor é insignificante, ou mesmo inexistente. A fonte mais comum de raios gama – para processamento de alimentos – é o cobalto-60, por sua forte radiação gama e por não ser hidrossolúvel (AHN et al., 2006). O cobalto-60 é um isótopo radioativo produzido a partir de cobalto-59 (LACROIX, 2005), cujo processo de decaimento envolve a emissão de partículas beta (ROBERTS, 2003).

A radiação pode penetrar em alimentos sólidos, inativando o DNA de microrganismos, sem grandes alterações do alimento (SATIN, 2002). Além de seu potencial para reduzir a incidência de patógenos, a irradiação de alimentos apresenta outros efeitos benéficos, como inibição do brotamento pós-colheita de tubérculos, desinfestação de insetos em frutas, hortaliças e grãos, e retardamento do amadurecimento de frutas, entre outros (STEELE, 2002). As enzimas são relativamente resistentes à irradiação; assim, alimentos irradiados podem apresentar atividade enzimática residual (ANDRESS et al., 2002; JAMDAR; HARIKUMAR, 2008), que pode ser minimizada por meio de refrigeração (ANDRESS et al., 2002).

A unidade internacional de medida de dose de radiação é o Gray (Gy); 1 Gy representa 1 J de energia absorvida por quilo do produto. A dose de radiação requerida para uma dada aplicação depende:

- Do tempo de exposição.
- Da localização do produto em relação à fonte de radiação.
- Das características do produto (massa, densidade, espessura, entre outras).

Cada tipo de alimento requer uma dose específica de radiação, para que se atinja o resultado desejado. Se a dose for menor que a adequada, o efeito de conservação pode não ser atingido; por sua vez, se a dose for excessiva, o alimento pode sofrer danos que o tornam inaceitável para consumo (LACROIX, 2005).

A irradiação pode ser feita sobre o produto a granel ou previamente embalado; nesse último caso, previne-se a recontaminação. O processo pode ser ainda usado como método de esterilização de embalagens no processamento asséptico. Nesse caso, os materiais poliméricos podem sofrer alterações resultantes da exposição à radiação, sendo a mais comum a formação de ligações cruzadas, que pode aumentar a resistência mecânica do material e melhorar suas propriedades de barreira (OZEN; FLOROS, 2001).

A retenção geral de nutrientes dos alimentos irradiados é similar à dos produtos processados por outros métodos. As proteínas, os carboidratos e as gorduras são relativamente estáveis a doses de radiação de até 10 kGy. As vitaminas A, C, E e B₁ podem ser degradadas por doses acima de 1 kGy; entretanto, essas vitaminas são também sensíveis ao tratamento térmico (ANDRESS et al., 2002; ROBERTS, 2003).

Uma das limitações à aplicação da irradiação é a ocorrência de alterações sensoriais, especialmente de sabor e textura, em alguns alimentos. Algumas frutas, como pêssegos e nectarinas, sofrem amolecimento de tecidos. Em carnes, é comum o desenvolvimento de sabores estranhos provenientes de diversas interações entre íons produzidos pela irradiação. Alterações de aparência são raras (ANDRESS et al., 2002). Outra limitação é a formação de ácidos graxos trans e a saturação de ácidos graxos insaturados, como observado por Hong et al. (2010).

Diferentes doses de radiação são aplicadas para produzir efeitos distintos em cada tipo de alimento. Entretanto, um padrão mundial para irradiação de alimentos, aceito em 1983 e adotado pelo *Codex Alimentarius*, estabelece que a irradiação de alimentos não deve exceder à dose máxima de 10 kGy, “exceto quando necessário, para atingir um objetivo tecnológico legítimo” (CODEX ALIMENTARIUS, 2010).

Vários países já aprovaram aplicações da irradiação a diversos tipos de alimentos como frutas, hortaliças, carnes e grãos. No Brasil, a legislação sobre irradiação de alimentos existe desde 1985. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) estabelece o regulamento técnico para uso dessa tecnologia (ANVISA, 2002).

Em Piracicaba, SP, o Centro de Energia Nuclear para Agricultura (Cena), da Universidade de São Paulo (USP), faz pesquisas na área e presta serviço para as indústrias. Além de pesquisar nessa área, o Instituto de Pesquisas Nucleares, também da USP, trabalha junto

aos produtores, mostrando os benefícios da irradiação de alimentos (MELLO, 2002).

Apesar de a irradiação de alimentos ser aprovada em vários países, sua aplicação comercial tem sido limitada pelas suspeitas do consumidor, quanto à segurança de alimentos irradiados. Um dos problemas é que, muitas vezes, o consumidor que desconhece os fundamentos da tecnologia tem receio de que um alimento irradiado seja radioativo (JUNQUEIRA-GONÇALVES et al., 2011).

Entretanto, embora a energia da radiação ionizante seja suficientemente alta para ionizar moléculas, não é suficiente para causar cisão de átomos e tornar o material radioativo (DERR, 2002). No Brasil, o grande público tem desconfiança em relação a eventuais efeitos, em longo prazo, do consumo de alimentos irradiados, o que geralmente reflete falta de informação sobre princípios e mecanismos da tecnologia (BEHRENS et al., 2009).

Pulsos elétricos

O processamento por pulsos elétricos (*pulsed electric field – PEF*), esquematizado na Figura 4, consiste na aplicação de pulsos elétricos de curta duração (1 μ s a 100 μ s) e alta intensidade (20 kV/cm a 80 kV/cm) a um alimento líquido situado entre dois eletrodos de alta voltagem (ÁLVAREZ et al., 2000; FDA; CFSAN, 2009).

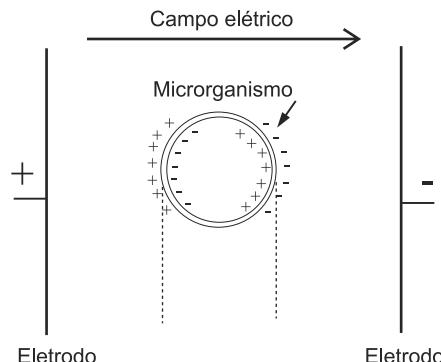


Figura 4. Acúmulo de cargas num microrganismo, resultante da aplicação de um campo elétrico.

Fonte: Barbosa-Cánovas et al. (2002).

A hipótese mais aceita, para explicar o mecanismo da inativação microbiana por PEF, é a Teoria da Eletroporação, segundo a qual o campo elétrico criado produz uma diferença de potencial através da membrana citoplasmática (potencial transmembrana). Esse potencial tem um valor crítico, que varia entre 0,7 V a 2,2 V, dependendo do microrganismo e do meio em que se encontra.

Quando o potencial transmembrana ultrapassa o valor crítico, há deslocamento de componentes da membrana, como lipídios e proteínas, com consequente formação de poros (eletroporação) e aumento de permeabilidade (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2002; TOEPFL et al., 2007).

Em consequência, ocorre entrada de água na célula, e a membrana acaba por se romper. Havendo suficiente intensidade do campo (cerca de 10 kV/cm) e duração dos pulsos (entre nano e microssegundos), as células vegetativas são inativadas (BUTZ; TAUSCHER, 2002).

A hipótese da inativação microbiana – por eletroporação – foi reforçada por alguns trabalhos, como o de Aronsson et al. (2005), que demonstraram que o processamento por PEF aumenta a absorção de um pigmento fluorescente e o extravasamento de compostos intracelulares por *Escherichia coli*, *Listeria innocua* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Garcia et al. (2007) também observaram a relação da permeabilização de membranas com a inativação microbiana por PEF; contudo, a extensão e a natureza dos danos às membranas celulares mostraram-se dependentes do tipo de microrganismo e do pH do meio de tratamento.

O processo pode ser em batelada ou contínuo, e o grau de inativação microbiana depende de alguns fatores (HUANG; WANG, 2009), a saber:

- Parâmetros de tratamento (intensidade do campo elétrico, tempo de tratamento, temperatura, formato do pulso).
- Parâmetros do meio de tratamento (densidade, viscosidade, pH, atividade de água, condutividade elétrica).
- Características do microrganismo a ser inativado (dimensões e formato das células, etapa do crescimento, tipo de microrganismo).

Geralmente, as células de leveduras são mais sensíveis que as células bacterianas; entre as bactérias, as Gram-negativas são mais sensíveis do que as Gram-positivas, e os esporos praticamente não são atingidos (WAN et al., 2009).

Entre as aplicações do tratamento por pulsos elétricos, incluem-se a pasteurização de sucos de frutas, e de leite e derivados (BERMÚDEZ-AGUIRRE et al., 2011; SCHILLING et al., 2008).

Segundo Barbosa-Cánovas et al. (2002), esse processo tem como principais vantagens – em relação aos processos térmicos – melhor retenção das propriedades sensoriais dos alimentos e menor consumo de energia. Yeom et al. (2000) observaram maior retenção de vitamina C e de compostos de sabor em suco de laranja processado por pulsos elétricos, em comparação com um suco obtido por pasteurização convencional.

Algumas das limitações do tratamento por pulsos elétricos são as seguintes (DUTREUX et al., 2000; FDA; CFSAN, 2009):

- Os esporos de bactérias não são inativados, o que limita o tratamento a produtos de alta acidez (BUTZ; TAUSCHER, 2002).
- A suscetibilidade das enzimas ao processamento por pulsos elétricos é variável. A lipoxigenase, por exemplo, é muito sensível, enquanto a α -amilase e a polifenoloxidase são pouco afetadas pelo tratamento (KNORR, 2002).
- A presença de bolhas de ar no alimento pode resultar em tratamento desuniforme e em problemas operacionais. Assim, as bolhas de ar devem ser removidas antes do tratamento, por meio de vácuo ou de pressurização (FDA; CFSAN, 2009).
- A aplicação do processo restringe-se a alimentos de baixa condutividade elétrica. Quanto menor a condutividade do meio, maior a diferença de condutividade entre o citoplasma microbiano e o meio, o que produz mais pressão na membrana, tornando-a mais sensível ao tratamento. Além disso, baixas condutividades aumentam a voltagem do pico do pulso elétrico, elevando seu efeito. Assim, a presença de sais pode comprometer o processo.

Processamento por alta pressão

A ideia de se usar a pressão como variável no processamento de alimentos não é nova. As primeiras tentativas remontam a 1899, quando um pesquisador americano, Bert Hite, observou que a vida útil do leite – e de outros alimentos – podia ser aumentada após pressurização. Contudo, só após cerca de 1 século é que pesquisas sistemáticas têm sido desenvolvidas nessa área (SAN MARTÍN et al., 2002).

O processamento por alta pressão consiste em submeter alimentos (líquidos ou sólidos de alto teor de umidade) a pressões hidrostáticas superiores a 100 MPa, podendo atingir até 900 MPa, durante um tempo que pode variar de poucos segundos a alguns minutos, num espaço confinado (vaso de pressão) contendo um fluido (geralmente água) que age como meio transmissor da pressão.

A pressão é aplicada isostaticamente, isto é, igualmente em todas as direções, o que permite a alimentos sólidos manterem sua forma original. O tratamento age instantânea e uniformemente através de uma massa de alimento, independentemente de seu tamanho, formato e composição (BUTZ; TAUSCHER, 2002; SAN MARTÍN et al., 2002).

Em consequência das altas pressões, a permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos é alterada, como resultado da cristalização de fosfolipídios. Outros efeitos celulares das altas pressões são (HUGAS et al., 2002):

- Modificações nas trocas iônicas.
- Desnaturação proteica e inibição da atividade enzimática.
- Desestabilização do sistema de replicação do DNA, entre outros.

A desnaturação de proteínas resulta da quebra de ligações não covalentes, como ligações de hidrogênio, ligações iônicas e hidrofóbicas, muito sensíveis a altas pressões. Geralmente, os compostos de alto peso molecular, cujas ligações não covalentes são importantes para determinação da funcionalidade, são muito afetados por altas pressões (TEWARI, 2002).

Como essa tecnologia é usada para alimentos de alto teor de umidade, a água do produto distribui a pressão uniformemente, de

forma que a pressão hidrostática não provoca esmagamento do produto (FDA; CFSAN, 2010). A pressão pode alterar a temperatura de transição sol-gel, chegando, às vezes, a inibir a formação de géis. Quando formados, os géis induzidos por pressão são mais macios e brilhantes que os produzidos por alta temperatura (HUGAS et al., 2002).

A efetividade do processamento por alta pressão depende de uma série de fatores, a saber (MOR-MUR; YUSTE, 2005):

Tipo de microrganismo – Geralmente, quanto mais complexo o organismo, maior sua sensibilidade à alta pressão. Para bactérias, há uma relação da efetividade do tratamento com o tipo de gram e a morfologia celular – sendo as bactérias Gram-positivas – e em formato de cocos – as mais resistentes.

Características do alimento – Alguns componentes de alimentos, como carboidratos e gorduras, podem exercer um papel protetor contra a alta pressão. Baixos valores de pH aumentam a taxa de inativação e inibem o crescimento de células que tenham sofrido injúrias (lesões) subletais.

Condições do tratamento – A letalidade do processo tende a aumentar com a pressão e o tempo de exposição. Para cada tipo de microrganismo, existe uma pressão crítica mínima abaixo da qual a inativação não ocorre. Além disso, um aquecimento brando (de 45 °C a 50 °C) aumenta o efeito da pressão em inativar microrganismos.

Uma observação interessante diz respeito à melhor eficiência, geralmente atingida quando o tratamento a alta pressão é oscilatório ao invés de contínuo. Quando o tratamento é oscilatório, a maior inativação atingida parece se dever à maior injúria (lesão) resultante de alterações rápidas ocorrendo na interface das membranas celulares. As principais vantagens do processo são (FDA; CFSAN, 2010; TEWARI, 2002):

- O aumento de temperatura gerado pela compressão é de apenas cerca de 3 °C por 100 MPa, o que reduz os danos térmicos (BUTZ; TAUSCHER, 2002).
- As pressões usadas no tratamento têm pouco efeito sobre ligações covalentes. Assim, os compostos responsáveis pelas propriedades sensoriais e nutricionais não são significativamente afetados.

Entre as limitações do processo, destacam-se as seguintes (YALDAGARD et al., 2008):

- Esporos de bactérias são muito resistentes a altas pressões (até 1.200 MPa). É especialmente preocupante o fato de que os esporos de *Clostridium botulinum* estão entre os mais resistentes.
- Muitas enzimas resistem ao processo, e sua atividade residual pode comprometer a estabilidade do alimento. Por exemplo, alguns produtos de frutas podem sofrer escurecimento enzimático decorrente de atividade residual da polifenoloxidase (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004; LANDL et al., 2010).
- A desnaturação de proteínas pode causar alterações indesejáveis de textura em alguns produtos.

No mercado mundial, já existem alguns produtos processados por altas pressões. No Japão, são encontrados, entre outros, lulas e produtos de frutas, com destaque para os sucos; na França e em Portugal, encontram-se sucos de frutas, especialmente de maçã; nos Estados Unidos, existem guacamoles¹ e outras processadas por alta pressão. Indústrias espanholas têm usado a tecnologia para produtos cárneos embutidos, como presunto (HUGAS et al., 2002).

Processamento por ultrassom

O ultrassom é definido como ondas de pressão com frequências de 20 kHz ou mais (BUTZ; TAUSCHER, 2002). Há algum tempo, apenas ultrassom de baixa potência (<1 W/cm²) em alta frequência (>1 MHz) era usado em tecnologia de alimentos, basicamente em algumas análises não destrutivas, com técnicas semelhantes às usadas em medicina diagnóstica (MULET et al., 2002).

Nas últimas décadas, descobriu-se a possibilidade de uso de ultrassom de alta potência (>5 W/cm²) em baixa frequência (20 kHz – 100 kHz), com capacidade de causar o fenômeno de cavitação (expansão e contração de bolhas num líquido), usada em tecnologia de alimentos para inativação microbiana (MASON et al., 2005; PIYASENA et al., 2003).

¹ Produto de origem mexicana, à base de pasta de abacate.

Assim como qualquer outra onda sonora, o ultrassom é propagado por uma série de ondas de compressão e expansão no meio, criando assim regiões de compressão e de expansão alternadas. Essas mudanças de pressão causam a cavitação e a formação de bolhas no meio.

Uma bolha tem maior área superficial durante o ciclo de expansão, que aumenta a difusão de gases e promove a expansão da bolha, até que a energia ultrassônica não seja suficiente para reter a fase de vapor na bolha, o que acarreta rápida condensação. As moléculas condensadas colidem violentamente entre si, criando regiões de altíssima temperatura (até 5.500 °C) e pressão (50 Mpa), que constituem o principal mecanismo bactericida do ultrassom.

O limiar de cavitação de um meio (isto é, a mínima oscilação de pressão requerida para produzir cavitação) é determinada por vários fatores, como teores de gases dissolvidos, pressão hidrostática e calor específico do líquido e do gás na bolha. A temperatura é um fator extremamente importante, sendo inversamente proporcional ao limiar de cavitação (PIYASENA et al., 2003).

A efetividade de um tratamento de ultrassom depende do tipo de bactéria a ser inativada. Segundo Char et al. (2010), o ultrassom não é muito efetivo contra microrganismos, quando usado isoladamente, sendo efetivo quando em combinação com outras técnicas (ver Conservação por métodos combinados). Outra limitação ao uso do ultrassom é o efeito limitado à superfície, no caso de alimentos sólidos, em decorrência da perda de energia com o aumento da distância em relação à fonte de ultrassom (KNORR et al., 2004).

O ultrassom tem sido usado, também, para inativação de enzimas responsáveis por processos de deterioração em alimentos (O'DONNELL et al., 2010), como α -amilase (KADKHODAEE; POYEV, 2008) e lisozima (MAÑAS et al., 2006).

Luz UV pulsada

A efetividade da radiação ultravioleta (UV) para redução da carga microbiana, em alimentos, já foi registrada por vários autores. De acordo com seus efeitos biológicos, a radiação UV é subdividida em três faixas: UV-A (315 nm a 400 nm); UV-B (280 nm a 315 nm);

UV-C (100 nm a 280 nm). A técnica de tratamento com radiação UV-C, para conservação de alimentos, foi descoberta na década de 1930 (ARTÉS; ALLENDE, 2005).

A inativação de microrganismos por um sistema de luz ultravioleta, em onda contínua, é atingida com lâmpadas de baixa pressão que produzem radiação a 254 nm – luz monocromática, conhecida como luz germicida (BINTSIS et al., 2000). Por sua vez, o processamento por luz pulsada (PLP) é uma versão modificada dos sistemas de tratamento por luz UV-C em onda contínua, que inativa microrganismos por meio de pulsos rápidos e intensos de luz de amplo espectro (200 nm a 1.100 nm), com predominância de raios UV-C (200 nm a 280 nm).

A potência da radiação é magnificada por meio de estocagem de eletricidade num capacitor por um tempo relativamente longo (frações de segundo) e liberação num tempo muito curto (milésimos ou milionésimos de segundo) (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007). Enquanto as fontes de luz (baseadas nos sistemas convencionais) têm potência da ordem de 100 W a 1.000 W, o PLP pode gerar muitos MWs de potência para uma única fonte luminosa, além de gerar maior produção relativa de luz na faixa de menores comprimentos de onda, de maior poder bactericida (MCGREGOR et al., 1998).

As lâmpadas *xenon*, usadas para PLP, têm um espectro de emissão que varia da faixa do UV ao infravermelho (IV), sendo que a porção UV-C é a mais importante para inativação microbiana. Wang et al. (2005), estudando a eficiência de radiação luminosa contra *E. coli*, em função do comprimento de onda (230 nm a 360 nm), observaram uma eficiência máxima de inativação em torno de 270 nm, e nenhuma inativação mensurável acima de 300 nm. Esses autores concluíram que a faixa de comprimentos de onda de 220 nm a 290 nm tem o melhor desempenho antimicrobiano, independentemente da fonte luminosa.

Segundo Gómez-López et al. (2007), a ação letal do PLP pode ser atribuída à combinação entre um mecanismo fototérmico e um fotoquímico, embora a maioria dos autores explique seus resultados com base apenas no mecanismo fotoquímico. Rowan et al. (1999), por exemplo, obtiveram inativação microbiana usando PLP com menos de 1 °C de aumento de temperatura, atribuindo a letalidade à ação fotoquímica da radiação UV. De fato, é frequente que o mecanismo do

PLP seja explicado com base em estudos em que se utilizou radiação em onda contínua, cujo mecanismo é fotoquímico.

No entanto, embora haja semelhanças entre os mecanismos de inativação, existem algumas diferenças. O efeito germicida da radiação UV deve-se, principalmente, à formação de dímeros de pirimidina, especialmente de timina (GIESE; DARBY, 2000), que inibem a formação de novas cadeias de DNA no processo de replicação celular, resultando na chamada morte clonogênica (inabilidade de replicação) dos microrganismos (BOLTON; LINDEN, 2003).

Por sua vez, há evidências da existência adicional de um mecanismo fototérmico no PLP. Segundo Wekhof (2000), a inativação seria atingida por ruptura microbiana durante o superaquecimento momentâneo causado pela absorção de luz UV durante o pulso.

A curta duração dos pulsos – associada às altas doses de radiação UV – promove vantagens do PLP sobre os tratamentos em onda contínua, quando uma inativação rápida é requerida (WANG et al., 2005). Além disso, o PLP tem vantagens ambientais, já que não envolve compostos químicos com possíveis impactos ambientais negativos, e as lâmpadas *xenon* não contêm mercúrio (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007). O principal fator limitante ao uso de PLP é o aquecimento das amostras, que pode provocar danos sensoriais e nutricionais a alimentos termossensíveis.

Para que um tratamento por luz pulsada seja efetivo em inativar microrganismos, é preciso que esses microrganismos entrem em contato com os fótons. Assim, qualquer material absorvedor de luz – presente entre a fonte de luz e os microrganismos – pode prejudicar o efeito do tratamento. Essa restrição tem implicações em termos de desempenho do processo. No caso de alimentos sólidos, há uma preocupação especial quando o alimento é opaco (ou seja, possui componentes absorvedores de luz), já que tais produtos são apenas descontaminados superficialmente.

Quanto mais opaco e mais espesso o produto, menor será o nível de inativação abaixo da superfície (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007). Similarmente, no caso de alimentos fluidos, Palgan et al. (2011) observaram que, quanto maior a transparência do produto, maior o nível de inativação microbiana. Fernández et al. (2009) demonstraram que a inativação microbiana por PLP não é comprometida pelo acondicionamento em filmes plásticos transparentes.

O processo já foi testado experimentalmente em alguns produtos, com resultados promissores para sucos (MA et al., 2011; PALGAN et al., 2011; SAUER; MORARU, 2009), ovos (HIERRO et al., 2009) e alimentos infantis (CHOI et al., 2010).

Processamento por ozônio

O ozônio é um potente oxidante, solúvel em água e de solubilidade crescente com a redução da temperatura (CHOI; NIELSEN, 2005). Ele se autodecompõe rapidamente; na forma gasosa, sua meia-vida é de 12 horas. Sua autodecomposição produz O₂ e inúmeros radicais livres, não deixando resíduos no alimento (TIWARI et al., 2010).

O espectro de ação do ozônio é amplo, abrangendo bactérias, fungos, vírus e protozoários, incluindo esporos de fungos e bactérias, além de destruir micotoxinas (CULLEN et al., 2009; KHADRE et al., 2001; TIWARI et al., 2010). O efeito antimicrobiano do ozônio deve-se às suas fortes propriedades oxidantes e à sua capacidade de se difundir através das membranas celulares. O ozônio dissolvido ou seus radicais livres danificam as membranas, causando ruptura celular e dispersão do citoplasma.

Além disso, pode ainda danificar proteínas e DNA (KOMANA-PALLI; LAU, 1998). A destruição de esporos parece ser resultado da degradação das camadas que revestem os esporos, expondo o córtex à ação do ozônio (KHADRE; YOUSEF, 2001). A ozonização é também usada como método de fumigação, destruindo pragas, especialmente insetos (SOUSA et al., 2008; TIWARI et al., 2010).

O processo já foi testado, com sucesso, tanto em alimentos sólidos, como em frutas (BIALKA; DEMIRCI, 2007; NAJAFI; KHODA-PARAST, 2009; SELMA et al., 2008), pescados (GONÇALVES, 2009) e grãos (TIWARI et al., 2010), quanto em pasteurização de produtos líquidos, como cidra de maçã (STEENSTRUP; FLOROS, 2004) e suco de laranja (PATIL et al., 2009).

Por sua vez, a ozonização de sucos de frutas tem apresentado algumas desvantagens, como alta degradação de ácido ascórbico (TIWARI et al., 2008, 2009) e antocianinas (TIWARI et al., 2009). Segundo Tiwari et al. (2009), esses compostos podem ser oxidados por interação direta com o ozônio ou por radicais intermediários.

Em 1997, o ozônio foi declarado pelo Food and Drug Administration (FDA) como sendo geralmente reconhecido como seguro (*generally recognized as safe – Gras*) para uso em processamento de alimentos (GRAHAM, 1997). Em 2001, foi também aprovado como aditivo direto em alimentos (KHADRE et al., 2001).

A partir de então, várias indústrias europeias e norte-americanas começaram a usar a ozonização em alimentos líquidos, como forma alternativa de pasteurização (CULLEN et al., 2009). Entretanto, no Brasil, o processamento por ozônio ainda não é previsto pela legislação vigente.

Conservação por métodos combinados

As técnicas de conservação de alimentos baseiam-se em criar um ambiente hostil aos microrganismos, interferindo em sua homeostase, de forma a inibir seu crescimento ou, em alguns casos, provocar sua morte. Muitos dos métodos tradicionais de conservação baseiam-se num único fator antimicrobiano, que deve ser aplicado de forma mais severa, o que implica em várias limitações associadas, principalmente, às características sensoriais do alimento. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Princípios de alguns métodos tradicionais de conservação e suas limitações.

Método	Princípio	Limitação
Esterilização	Aplicação de calor suficiente para inativar microrganismos patogênicos e deterioradores	Prejuízos ao sabor e à cor Alto consumo de energia
Secagem por aquecido	Redução da A_w a valores suficientes para inibir o crescimento microbiano	Alterações de sabor, aparência e textura Alto gasto energético
Acidificação	Redução do pH a valores que inibam crescimento de microrganismos patogênicos	Alta acidez necessária para se atingir um pH microbiologicamente seguro
Congelamento	Redução da temperatura a valores suficientes para inibir crescimento de microrganismos patogênicos e deterioradores	Alto gasto energético Dificuldades técnicas em se obter cadeias de frio adequadas

Fonte: adaptado de Aguilera e Chirife (1994).

A crescente demanda dos consumidores por alimentos mais frescos e, ao mesmo tempo, convenientes, tem impulsionado o desenvolvimento de produtos obtidos pela chamada Tecnologia de Métodos Combinados (TMC), ou, como é também chamada, Tecnologia de Obstáculos (*hurdle technology*). Um obstáculo é qualquer fator que inative microrganismos ou retarde seu crescimento, como:

- A_w .
- pH.
- Redução da temperatura de estocagem.
- Tratamento térmico, entre vários outros.

Nenhum obstáculo isolado inibiria eficientemente a ação de microrganismos deterioradores ou patógenos (LEISTNER, 2000). A TMC baseia-se em tecnologias simples, fundamentadas na combinação de vários obstáculos, que agem sinergicamente para inibir o crescimento microbiano (LEISTNER, 2000; SØLTOFT-JENSEN; HANSEN, 2005), embora exista a hipótese Gama, que sustenta que os obstáculos agem independentemente, ou seja, sem efeitos sinérgicos, mas apenas adicionais (LAMBERT; BIDLAS, 2007).

Graças ao efeito sinérgico de diferentes obstáculos, todos aplicados em doses moderadas, a qualidade do alimento é melhor preservada, ao mesmo tempo assegurando maior estabilidade (LEISTNER, 2000). O mecanismo da TMC é a exposição simultânea das células microbianas a diferentes fatores de estresse, de forma que os mecanismos homeostáticos dos microrganismos sejam submetidos a uma sobrecarga; assim, as células passam a não dispor de energia suficiente para reprodução, mantendo-se inativas ou mesmo morrendo (GÓMEZ et al., 2011).

Mecanismos dos fatores de estresse e efeitos de fatores combinados

Os fatores de estresse são assim denominados por demandarem alto consumo de energia por parte dos microrganismos, sobrecarregando seus mecanismos homeostáticos. Em condições de estresse osmótico (alta atividade de água), por exemplo, as células acumulam os chamados solutos compatíveis (moléculas de baixo peso molecular

e alta solubilidade, como prolina e betaina), que permitem que a célula regule sua pressão de turgescência, mantendo a concentração de seu citoplasma maior que a do ambiente. O acúmulo de solutos compatíveis demanda alto consumo de energia (EMPADINHAS; COSTA, 2008).

A Figura 5 mostra o efeito da combinação de cinco fatores de estresse, sendo os maiores a A_w e a presença de conservantes químicos; no caso ilustrado, os microrganismos presentes no alimento superam vários obstáculos individualmente, mas não são capazes de superar o conjunto deles, já que a transposição de cada obstáculo requer consumo de energia e, com isso, a energia disponível para superar os obstáculos seguintes torna-se, gradativamente, menor.

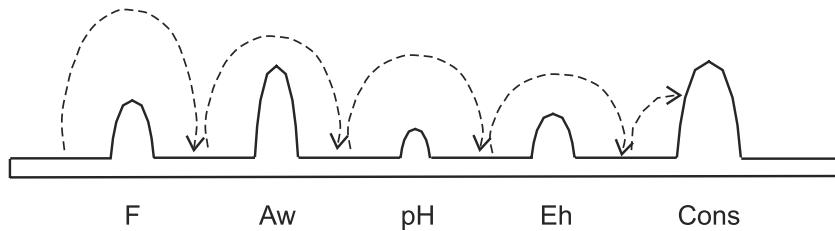


Figura 5. Efeito de cinco obstáculos ao crescimento microbiano: tratamento térmico suave (F); atividade de água (A_w); pH; potencial de oxirredução (Eh); e conservante químico (Cons).

Nota: as setas pontilhadas mostram a tentativa dos microrganismos de superar os obstáculos presentes no alimento.

Fonte: adaptado de Leistner e Gorris (1995).

Alguns autores mencionaram exemplos de efeitos combinados de dois ou mais fatores antimicrobianos. Segundo Piyasena et al. (2003), o tratamento por ultrassom tem melhor desempenho antimicrobiano quando combinado a um aumento de pressão (manossonicação), temperatura (termossonicação) ou ambos (manotermossonicação), o que aumenta o efeito de ruptura mecânica das células.

O tratamento por alta pressão, enquanto suficiente para promover apenas um efeito de pasteurização de alimentos (pela alta resistência dos esporos), pode ser usado para esterilização, quando combinado a alta temperatura (WILSON et al., 2008). Noci et al. (2008) demonstraram

que a combinação entre radiação ultravioleta e pulsos elétricos se mostrou efetiva para inativação microbiana em suco de maçã.

Saxena et al. (2009) combinaram desidratação osmótica, uso de metabissulfito de potássio, secagem por raios infravermelho e irradiação gama em fatias de abacaxi, conseguindo uma vida de prateleira de 40 dias à temperatura ambiente, enquanto o controle (sem tratamento) apresentou deterioração em 6 dias.

Walkling-Ribeiro et al. (2009) obtiveram resultados comparáveis (em termos de inativação microbiana) aos de uma pasteurização convencional pela combinação de termossonicação e pulsos elétricos; por sua vez, a atividade residual de pectinametilesterase foi maior que a resultante da pasteurização.

As principais vantagens da tecnologia de métodos combinados são as seguintes:

- Potencialização do efeito individual de cada fator antimicrobiano.
- Redução da severidade na aplicação de cada fator, minimizando os efeitos adversos sobre as características sensoriais e nutricionais do produto.
- Economia em termos de consumo energético.

Considerações finais

Embora muitos dos métodos convencionais de conservação sejam comprovadamente eficientes para aumentar a estabilidade de alimentos, muitas vezes eles resultam em alterações sensoriais, que podem comprometer ou reduzir a aceitação dos produtos. Isso é válido para diversas classes de alimentos, entre os quais podem se destacar os produtos de frutas, cujos compostos voláteis se degradam, facilmente, como resultado de tratamentos térmicos.

Embora de sabor muito apreciado, muitas frutas tropicais têm impacto comercial apenas regional, em função de sua alta perecibilidade in natura e de dificuldades em processá-las sem alterar suas características sensoriais. Essas frutas são comercializadas em forma de polpa congelada, mas, muitas vezes, o alto custo requerido para manter a cadeia de frio é proibitivo.

Assim, os métodos não convencionais têm surgido como técnicas alternativas com menores impactos sobre a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos. No entanto, no que se refere à aplicação da maioria dessas tecnologias para conservação de alimentos, a legislação brasileira ainda é tímida. Além disso, muitos processos ainda requerem mais estudos e desenvolvimento, especialmente em termos de escala de processo, para serem implantados, com sucesso, em nível industrial.

Referências

- AGUILERA, J. M.; CHIRIFE, J. Combined methods for the preservation of foods in Latin America and the CYTED-D project. **Journal of Food Engeneering**, Amsterdam, NL, v. 22, n. 1-4, p. 433-444, 1994.
- AHN, D.; LEE, E. J.; MENDONÇA, A. Meat decontamination by irradiation. In: NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. (Ed.). **Advances technologies for meat processing**. New York: Taylor & Francis, 2006. p. 155-191.
- AL-HARAHSHEH, M.; MUHTASEB, A. H.; MAGEE, T. R. A. Microwave drying kinetics of tomato pomace: effect of osmotic dehydration. **Chemical Engineering and Processing**, Lausanne v. 48, p. 524-531, 2009.
- ALLALI, H.; MARCHAL, L.; VOROBIEV, E. Blanching of strawberries by ohmic heating: effects on the kinetics of mass transfer during osmotic dehydration. **Food Bioprocessing Technology**, New York, v. 3, p. 406-414, 2010.
- ÁLVAREZ, I.; RASO, J.; PALOP, A.; SALA, F.J. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella seftenberg* by pulsed electric fields. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 55, n. 1-3, p.143-146, 2000.
- ANDRESS, E. L.; DELAPLANE, K. S.; SCHULER, G .A. **Food irradiation**. Disponível em: <<http://www.food-irradiation.com/florida.htm>>. Acesso em: 3 set. 2002.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa. Resolução – RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 24 de janeiro de 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm>. Acesso em: 3 set. 2002.

ARONSSON, K.; RONNER, U.; BORCH, E. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in relation to membrane permeabilization and subsequent leakage of intracellular compounds due to pulsed electric field processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 99, n. 1, p. 19-32, 2005.

ARTÉS, F.; ALLENDE, A. Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally processed leafy vegetables. **European Journal of Horticultural Science**, Stuttgart, v. 70, p. 231-245, 2005.

AYMERICH, T.; PICOUET, P. A.; MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, Barking, v. 78, p. 114-129, 2008.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; GÓNGORA-NIETO, M. M.; SWANSON, B. G. **Pulsed electric power in food preservation**. Disponível em: <<http://www.ifis.org/index.html>>. Acesso em: 17 jan. 2002.

BAYSAL, A. H.; ICIER, F. Inactivation kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in orange juice by ohmic heating: effects of voltage gradient and temperature on inactivation. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 73, n. 2, p. 299-304, 2010.

BEHRENS, J. H.; BARCELLOS, M. N.; FREWER, L. J.; NUNES, T. P.; LANDGRAF, M. Brazilian consumer views on food irradiation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 10, p. 383-389, 2009.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; FERNÁNDEZ, S.; ESQUIVEL, H.; DUNNE, P. C.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Milk processed by pulsed electric fields: evaluation of microbial quality, physicochemical characteristics, and selected nutrients at different storage conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, 2011.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Utilization of gaseous ozone for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on raspberries and strawberries. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 70, n. 5, p. 1093-1098, 2007.

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; ROBINSON, R. K. Existing and potential application of ultraviolet light in the food industry: a critical review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, GB, v. 90, p. 637-645, 2000.

BOLTON, J. R.; LINDEN, K. G. Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. **Journal of Environmental Engineering**, New York, v. 129, p. 209-215, 2003.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 35, n. 2-3, p. 279-284, 2002.

CENA. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. USP. Universidade de São Paulo. **Divulgação dos benefícios da irradiação de alimentos e/ou outros materiais**. Disponível em: <<http://www.cena.usp.br/irradiacao>>. Acesso em: 23 jun. 2003.

CHAR, C. D.; MITILINAKI, E.; GUERRERO, S. N.; ALZAMORA, S. M. Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. **Food Bioprocessing Technology**, Fort Lee, v. 3, p. 797-803, 2010.

CHEN, C.; ABDELRAHIM, K.; BECKERICH, I. Sensitivity analysis of continuous ohmic heating process for multiphase foods. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 98, n. 2, p. 257-265, 2010.

CHOI, L. H.; NIELSEN, S. S. The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 28, p. 13-29, 2005.

CHOI, M. S.; CHEIGH, C. I.; JEONG, E. A.; SHIN, J. K.; CHUNG, M. S. Nonthermal sterilization of *Listeria monocytogenes* in infant foods by intense pulsed-light treatment. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 97, p. 504-509, 2010.

CHOU, S. K.; CHUA, K. J. New hybrid drying technologies for heat sensitive foodstuffs. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 12, n. 10, p. 359-369, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS. General standard for irradiated foods. **Codex Stan 106-1983 (Rev. 1, 2003)**. Disponível em: <www.codexalimentarius.net/download/standards/16/CXS_106e.pdf>. Acesso em: 9 jun. 2010.

CULLEN, P. J.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 20, p. 125-136, 2009.

DE HALLEUX, D.; PIETTE, G.; BUTEAU, M. L.; DOSTIE, M. Ohmic cooking of processed meats: energy evaluation and food safety considerations. **Canadian Biosystems Engineering**, Saskatoon, v. 47, p. 341-3.7, 2005.

DERR, D. D. **Food irradiation**: the basics. Disponível em: <<http://www.food-irradiation.com/basics.htm>>. Acesso em: 3 set. 2002.

DEV, S. R. S.; RAGHAVAN, G. S. V.; GARIEPY, Y. Dielectric properties of egg components and microwave heating for in-shell pasteurization of eggs. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 86, n. 2, p. 207-214, 2008.

DUTREUX, N.; NOTERMANS, S.; WIJZES, T.; GÓNGORA-NIETO, M. M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 54, n. 1-2, p. 91-98, 2000.

EMPADINHAS, N.; COSTA, M. S. Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes: distribution of compatible solutes. **International Microbiology**, Barcelona, v. 11, p.151-161, 2008.

ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CENTRE. **Microwave and radio frequency heating and drying**. Disponível em: <http://www.nottingham.ac.uk/etc/tech_micro.php>. Acesso em: 26 maio 2010.

FERNÁNDEZ, M.; MANZANO, S.; DE LA HOZ, L.; ORDÓÑEZ, J. A.; HIERRO, E. Pulsed light inactivation of *Listeria monocytogenes* through different plastic films. **Foodborne Pathogens and Disease**, New Rochelle, v. 6, n.10, p.1265-1267, 2009.

FDA. Food and Drug Administration. CFSAN. Center for Food Safety and Applied Nutrition . **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100158.htm>>. Acesso em: 2 maio 2009.

FDA. Food and Drug Administration. CFSAN. Center for Food Safety and Applied Nutrition . **The A to Z**: comprehensive list of terms. Disponível em: <<http://www.gchd.org/nfsem/a2z-term.html>>. Acesso em: 4 jun. 2010.

GARCIA, D.; GOMEZ, N.; MANAS, P.; RASO, J.; PAGAN, R. Pulsed electric fields cause bacterial envelopes permeabilization depending on the treatment intensity, the treatment medium pH and the microorganism investigated. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 113, n. 2, p. 219-227, 2007.

GIESE, N.; DARBY, J. Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems. **Water Research**, Hallioxford, v. 34, p. 4007-4013, 2000.

GONÇALVES, A. A. Ozone: an emerging technology for the seafood industry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 6, p. 1527-1539, 2009.

GÓMEZ, P. L.; WELTI-CHANES, J.; ALZAMORA, S. M. Hurdle technology in fruit processing. **Annual Reviews in Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 2, p. 447-465, 2011.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, J.; DEVLIEGHERE, F. Pulsed light for food decontamination: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, p. 464-473, 2007.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 51, p. 72-75, 1997.

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. High hydrostatic pressure processing of peach puree with and without antibrowning agents. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 28, p. 69-85, 2004.

HENG, P. W. S.; LOH, Z. H.; LIEW, C. V.; LEE, C. C. Dielectric properties of pharmaceutical materials relevant to microwave processing: effects of field frequency, material density, and moisture content. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, DC, v. 99, n. 2, p. 941-957, 2010.

HIERRO, E.; MANZANO, S.; ORDÓÑEZ, J. A.; DE LA HOZ, L.; FERNÁNDEZ, M. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v.135, p.125-130, 2009.

HONG, S.I .; KIM, J .Y.; CHO, S. Y.; PARK, H. J. The effect of gamma irradiation on oleic acid in methyl oleate and food. **Food Chemistry**, London, GB, v. 121, n. 1, p. 93-97, 2010.

HUANG, K.; WANG, J. Designs of pulsed electric fields treatment chambers for liquid foods pasteurization process: a review. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, NL, v. 95, n. 2, p. 227-239, 2009.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. **Meat Science**, Barking, v. 62, n. 3, p. 359-371, 2002.

ICIER, F.; YILDIZ, H.; BAYSAL, T. Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. **Journal of Food Engineering**, Westport, v. 85, n. 3, p. 410-417, 2008.

JAMDAR, S. N.; HARIKUMAR, P. Radiation decontamination of poultry viscera. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 77, n. 4, p.467-472, 2008.

JUNQUEIRA-GONÇALVES, M. P.; GALOTTO, M. J.; VALENZUELA, X.; DINTEN, C. M.; AGUIRRE, P.; MILTZ, J. Perception and view of consumers on food irradiation and the Radura symbol. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 80, p. 119-122, 2011.

- KADKHODAEE, R.; POVEY, M. J. W. Ultrasonic inactivation of *Bacillus α-amylase*. I. effect of gas content and emitting face of probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 15, n. 2, p.133-142, 2008.
- KHADRE, M. A.; YUOSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.
- KHADRE, M. A.; YUOSEF, A. E. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 71, n. 2-3, p. 131-138, 2001.
- KNORR, D. '**HELP' for food safety and quality**'. Disponível em: <<http://flair-flow.com/industry-docs/fte35199.htm>>. Acesso em: 4 set. 2002.
- KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D. U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 15, p. 261-266, 2004.
- KOMANAPALLI, I. R.; LAU, B. H. S. Inactivation of bacteriophage 1, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* by ozone. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, DE, v. 49, p. 766-769, 1998.
- KUMAR, P.; CORONEL, P.; TRUONG, V. D.; SIMUNOVIC, J.; SWARTZEL, K. R.; SANDEEP, K. P.; CARTWRIGHT, G. Overcoming issues associated with the scale-up of a continuous flow microwave system for aseptic processing of vegetable purees. **Food Research International**, Ottawa, CA, v. 41, n.5, p. 454-461, 2008.
- LACROIX, M. Irradiation of foods. In: SUN, D. W. **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 354-386.
- LAMBERT, R. J. W.; BIDLAS, E. An investigation of the Gamma hypothesis: a predictive modelling study of the effect of combined inhibitors (salt, pH and weak acids) on the growth of *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 115, p. 12-28, 2007.
- LANDL, A.; ABADIAS, M.; SÁRRAGA, C.; VIÑAS, I.; PICOUET, P. A. Effect of high pressure processing on the quality of acidified Granny Smith apple purée product. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 11, p. 557-564, 2010.
- LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**, v.55, p.181–186, 2000.
- LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, NL, v. 6, n. 2, p. 41-46, 1995.

- LU, Y.; TURLEY, A.; DONG, X.; WU, C. Reduction of *Salmonella enterica* on grape tomatoes using microwave heating. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 145, n.1, p. 349-352, 2011.
- LYNG, J.; MCKENNA, B. M. Ohmic pasteurization of meat and meat products. In: KUTZ, M. (Ed.). **Handbook of Farm, dairy, and food machinery**. New York: William Andrew, 2007. 577 p.
- MA, F.; LI, P.; LI, W.; DONG, Y.; CHEN, Y. Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using pulsed light (PL): effect of process parameters and physical property. **Advanced Materials Research**, Amsterdam, NL, v. 183-185, p. 795-799, 2011.
- MCGREGOR, S. J.; ROWAN, N. J.; MCILVANEY, L.; ANDERSON, J. G.; FOURACRE, R. A.; FARISH, O. Light inactivation of food-related pathogenic bacteria using a pulsed power source. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 27, p. 67-70, 1998.
- MAÑAS, P.; MUÑOZ, B.; SANZ, D.; CONDÓN, S. Inactivation of lysozyme by ultrasonic waves under pressure at different temperatures. **Enzyme and Microbial Technology**, Guildford, v. 39, n. 6, p. 1177-1182, 2006.
- MASON, T. J.; RIERA, E.; VERCET, A.; LOPEZ-BUESA, P. Application of ultrasound. In: SUN, D. W. **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 323-351.
- MELLO, L. C. **Alimentos irradiados**. Disponível em: <<http://www.epub.org.br/nutriweb/n0202/irradiados.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2002.
- MOR-MUR, M.; YUSTE, J. Microbiological aspects of high-pressure processing. In: SUN, D. W. **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 47-65.
- MULET A.; BENEDITO, J.; GOLAS, Y.; CARCEL, J. A. Non-invasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Reviews International**, New York, v. 18, p. 123-133, 2002.
- NAJAFI, M. B.; KHODAPARAST, M. H. H. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. **Food Control**, Oxford, v. 20, n. 1, p. 27-30, 2009.
- NOCI, F.; RIENER, J.; WALKLING-RIBEIRO, M.; CRONIN, D. A.; MORGAN, D. J.; LYNG, J. G. Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 85, n. 1, p. 141-146, 2008.
- O'DONNELL, C. P.; TIWARI, B. K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 21, n. 7, p. 358-367, 2010.

OZEN, B. F.; FLOROS, J. D. Effects of emerging food processing techniques on the packaging materials. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 12, n. 2, p. 60-67, 2001.

PALGAN, I.; CAMINITI, I. M.; MUÑOZ, A.; NOCI, F.; WHYTE, P.; MORGAN, D. J.; CRONIN, D. A.; LYNG, J. G. Effectiveness of High Intensity Light Pulses (HILP) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk. **Food Microbiology**, London, GB, v. 28, p.14-20, 2011.

PATIL, S.; BOURKE, P.; FRIAS, J. M.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J. Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 10, n. 4, p. 551-557, 2009.

PIYASENA, P.; MOHAREB, E.; MCKELLAR, R. C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 87, n. 3, p. 207-216, 2003.

POLSHETTIWAR, V.; VARMA, R. S. **Aqueous microwave chemistry**: a clean and green synthetic tool for rapid drug discovery. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2008/cs/b716534j>>. Acesso em: 6 jun. 2008.

PUCCIARELLI, A. B.; BENASSI, F. O. Inactivation of *Salmonella enteritidis* on raw poultry using microwave heating. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 939-945, 2005.

ROBERTS, T. **Cold pasteurization of food by irradiation**. Disponível em: <<http://www.ext.vt.edu/pubs/foods/458-300/458-300.html>>. Acesso em: 23 jun. 2003.

ROWAN, N. J.; MCGREGOR, S. J.; ANDERSON, J. G.; FOURACRE, R. A.; MCILVANEY, L.; FARISH, O. Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 65, p. 1312-1315, 1999.

RUAN, R.; YE, X.; CHEN, P. Ohmic heating. In: HENRY, C. J. K.; CHAPMAN, C. (Ed.). **The nutrition handbook for food processors**. Boca Raton: CRC, 2002. p. 407-422.

SAN MARTÍN, M. F.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. Food processing by high hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 42, n. 6, p. 627-645, 2002.

SATIN, M. **Trends in post-production technology**. Disponível em: <http://www.fao.org/inpho/vlibrary/grey_lit/g0002e/g0002e.htm>. Acesso em: 22 mar. 2002.

- SAUER, A.; MORARU, C. Inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice and apple cider, using pulsed light treatment. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 72, n. 5, p. 937-944, 2009.
- SAXENA, S.; MISHRA, B. B.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Shelf stable intermediate moisture pineapple (*Ananas comosus*) slices using hurdle technology. **LWT – Food Science and Technology**, London, GB, v. 42, n. 10, p. 1681-1687, 2009.
- SCHILLING, S.; SCHMID, S.; JÄGER, H.; LUDWIG, M.; DIETRICH, H.; TOEPFL, S.; KNORR, D.; NEIDHART, S.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Comparative study of pulsed electric field and thermal processing of apple juice with particular consideration of juice quality and enzyme deactivation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, p. 4545-4554, 2008.
- SELMA, M. V.; IBÁÑEZ, A. M.; ALLENDE, A.; CANTWELL, M.; SUSLOW, T. Effect of gaseous ozone and hot water on microbial and sensory quality of cantaloupe and potential transferance of *Escherichia coli* O157:H7 during cutting. **Food Microbiology**, London, GB, v. 25, n. 1, p. 162-168, 2008.
- SHIRSAT, N.; LYNG, J. G.; BRUNTON, N. P.; MCKENNA, B. Ohmic processing: electrical conductivities of pork cuts. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 507-514, 2004.
- SHYNKARYK, M. V.; JI, T.; ALVAREZ, V. B.; SASTRY, S. K. Ohmic heating of peaches in the wide range of frequencies (50 Hz to 1 MHz). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 7, p. E493-E500, 2010.
- SINGH, I.; BAJPAI, P. K.; MALIK, D.; SHARMA, A. K.; KUMAR, P. Feasibility study on microwave joining of 'green' composites. **Akademeia**, Calgary, v. 1, n. 1, 2011. Disponível em: <<http://www.akademeia.ca/index.php/main/article/view/ea0101/12>>. Acesso em: 29 abr. 2011.
- SLOAN, A. E. Top ten trends to watch and work on. **Food Technology**, Chicago, v. 55, n. 4, p. 38-58, 2001.
- SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D. A.; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 379-385, 2008.
- SØLTOFT-JENSEN, J.; HANSEN, F. New chemical and biochemical hurdles. In: SUN, D. W. **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 387-416.
- STEELE, J. H. **Food irradiation:** a public health measure long overdue. Disponível em: <<http://www.food-irradiation.com/Steele.htm>>. Acesso em: 5 jun. 2002.

STEENSTRUP, L. D.; FLOROS, J.D. Inactivation of *E. coli* 0157:H7 in apple cider by ozone at various temperatures and concentrations. **Journal of Food Processing Preservation**, Westport, v. 28, p. 103-116, 2004.

SUMNU, G.; SAHIN, S. Recent developments in microwave heating. In: SUN, D. W. (Ed.). **Emerging technologies for food processing**. London, GB: Elsevier, 2005. p. 419-444.

TEWARI, G. **High-pressure processing of foods**: longer shelf-life and fresh flavour without preservatives. Disponível em: <<http://www.gftc.ca/newslett/2000-09/highpres.htm>>. Acesso em: 4 set. 2002.

TIWARI, B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P. J.; O'DONNEL, C.P. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, London, GB, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

TIWARI, B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Kinetics of freshly squeezed orange juice quality changes during ozone processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, p. 6416-6422, 2008.

TIWARI, B. K.; O'DONNEL, C. P.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; CULLEN, P. J. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. **Food Chemistry**, London, GB, v. 113, n. 4, p. 1119-1126, 2009.

TOEPFL, S.; HEINZ, V.; KNORR, D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. **Chemical Engineering and Processing**, Lausanne, v. 47, p. 537-546, 2007.

UNIVERSITY OF ILLINOIS. **Theoretical background on the camera spectrophotometer**. 2009. Disponível em: <<http://scheeline.scs.illinois.edu/~asweb/CPS/HSFiles/2.html>>. Acesso em: 10 jul. 2010.

WALKLING-RIBEIRO, M.; NOCI, F.; RIENER, J. The Impact of thermosonication and pulsed electric fields on *Staphylococcus aureus* inactivation and selected quality parameters in orange juice. **Food Bioprocessing Technology**, New York, v. 2, p. 422-430, 2009.

WAN, J.; COVENTRY, J.; SWIERGON, P.; SANGUANSRI, P.; VERSTEEG, C. Advances in innovative processing technologies for microbial inactivation and enhancement of food safety – pulsed electric field and low-temperature plasma. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 20, p. 414-424, 2009.

WANG, T.; MCGREGOR, S. J.; ANDERSON, J. G.; WOOLSEY, G. A. Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. **Water Research**, Hallixford, v. 39, p. 2921-2925, 2005.

- WEKHOF, A. Disinfection with flash lamps. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, Bethesda, v. 54, p. 264-276, 2000.
- WILSON, D. R.; DABROWSKI, L.; STRINGER, S.; MOEZELAAR, R.; BROCKLEHURST, T. F. High pressure in combination with elevated temperature as a method for the sterilisation of food. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, p. 289-299, 2008.
- YALDAGARD, M.; MORTAZAVI, S. A.; TABATABAIE, F. The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: a review of microbiological and quality aspects. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.7, n.16, p. 2739-2767, 2008.
- YEOM, H. W.; STREAKER, C. B.; ZHANG, Q. H.; MIN, D. B. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 48, p. 4597-4605, 2000.
- YILMAZ, I.; ARICI, M.; GÜMÜS, T. Changes of microbiological quality in meatballs after heat treatment. **European Food Research and Technology**, Berlin, DE, v. 221, p. 281-283, 2005.
- ZAREIFARD, M. R.; RAMASWAMY, H. S.; TRIGUI, M.; MARCOTTE, M. Ohmic heating behaviour and electrical conductivity of two-phase food systems. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 4, n. 1, p. 45-55, 2003.
- ZELL, M.; LYNG, J. G.; CRONIN, D. A.; MORGAN, D. J. Ohmic heating of meats: electrical conductivities of whole meats and processed meat ingredients. **Meat Science**, Barking, v. 83, n. 3, p. 563-570, 2009.
- ZHANG, H.; GE, L.; MA, L.; CHEN, K.; JIANG, S. Effects of microwave treatment on postharvest decay of fruits: a review. **Stewart Postharvest Review**, Ottawa, CA, v. 5, n. 6, p.1-7, 2009.

Capítulo 7

Embalagens e suas interações com os alimentos

*Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
José de Assis Fonseca Faria
Edy Sousa de Brito*

Introdução

Os sistemas de embalagem desempenham várias funções, sendo as principais:

Contenção – A embalagem tem a função primária de conter uma determinada quantidade do alimento, formando assim uma unidade do produto, facilitando seu transporte, estocagem, venda e utilização.

Proteção – Constitui uma barreira, protegendo o alimento contra os fatores ambientais que poderiam contaminá-lo ou acelerar sua deterioração.

Informação – A embalagem deve transmitir informações úteis ao consumidor, como:

- Identificação do conteúdo.
- Quantidade e composição do produto.
- Instruções de preparo.
- Eventuais precauções (como a presença de alérgenos).

Venda – O primeiro contato visual do consumidor com o produto se dá por meio da embalagem, determinando muitas vezes a decisão de compra. Assim, ela deve ser atraente e permitir rápida identificação do produto, pelo consumidor.

A função de proteção é considerada a mais importante, tendo relação direta com a segurança do consumidor. Nesse contexto, as propriedades de barreira contra a ação de fatores ambientais representam um papel de grande importância na estabilidade de alimentos durante a estocagem.

É importante que se considerem as características e os requerimentos do sistema produto-embalagem-ambiente como um todo. Assim, para planejar a embalagem de um produto, é importante considerar alguns fatores, a saber:

- As alterações a que o produto está mais sujeito, por suas características específicas, e os fatores ambientais que mais afetam tais alterações (fatores ambientais críticos).

- As propriedades de transferência de massa do material de embalagem e sua influência sobre a proteção do produto contra os fatores ambientais críticos.
- As condições ambientais a que o produto será provavelmente exposto durante sua estocagem e distribuição.
- A adequação da embalagem ao produto minimiza as alterações indesejáveis, aumentando a estabilidade do alimento. Entretanto, em função do tempo de contato do produto com a embalagem, ocorrem interações (exceção feita às embalagens de vidro, que não interagem significativamente com o alimento). Assim, a adequação da embalagem ao alimento pode reduzir as interações, mas não necessariamente as evita.

As últimas décadas têm sido marcadas pelo uso crescente de materiais poliméricos (plásticos) para embalagem de alimentos. Isso se deve a fatores mercadológicos, como:

- Transparência.
- Leveza.
- Resistência a quebras.
- Versatilidade de formatos e de sistemas de fechamento.

Além disso, seu custo altamente competitivo torna os plásticos extremamente atraentes para os produtores e usuários de embalagens.

Entretanto, os plásticos constituem uma classe de materiais de intensa interação com os alimentos e com o ambiente. Vários compostos provenientes do ambiente interno ou externo podem ser transportados através do polímero, resultando em alterações contínuas e gradativas da qualidade do produto.

Assim, o transporte de oxigênio (O_2), do ambiente externo para o produto, pode aumentar a taxa de oxidação de vitaminas, de proteínas, pigmentos e de lipídios, comprometendo a qualidade sensorial e nutricional do alimento.

O transporte de compostos voláteis – do produto para o ambiente externo – pode também afetar, negativamente, o sabor do alimento. Pode haver, também, interação direta do polímero com o alimento, como ocorre no caso da migração de compostos de baixa massa molecular presentes na estrutura do polímero para o produto, afetando sua segurança e qualidade.

Interações alimento-embalagem

Tipos de interação

Num sistema alimento-embalagem-ambiente, os processos de transferência de massa são descritos como interações alimento-embalagem, mostradas na Figura 1. As interações são classificadas em três categorias:

Migração – Transferência de moléculas originalmente presentes no material de embalagem para o alimento ou ambiente.

Sorção – Consiste na absorção de componentes pelo material de embalagem.

Permeação – Transferência de compostos do produto para o ambiente ou vice-versa, através do material de embalagem, em resposta a uma diferença na pressão parcial do permeante.

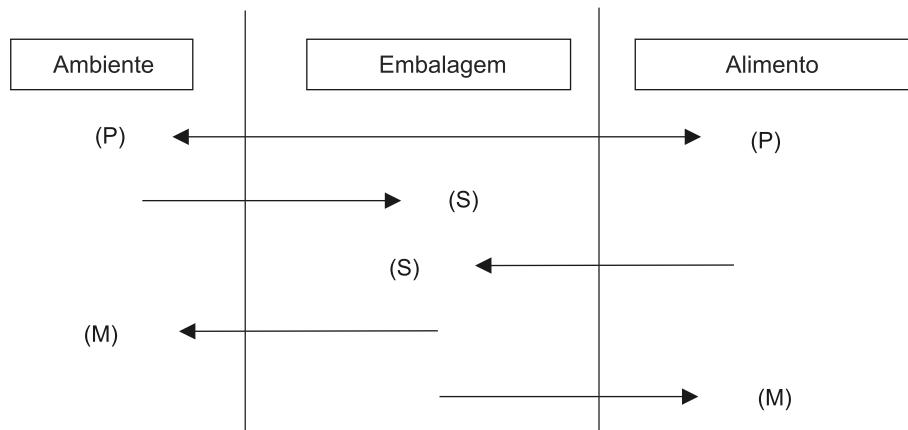


Figura 1. Interações alimento-embalagem. P: permeação; S: sorção; M: migração.

Fonte: adaptada de Gnanasekharan e Floros (1997).

Os tipos de interação podem afetar uns aos outros. A sorção pode resultar em aumento da permeabilidade a outros compostos e afetar a cinética dos processos de migração, além de comprometer a resistência química e mecânica do material de embalagem (HERNANDEZ; GIACIN, 1997).

A permeação

Conceitos

A permeação é função da difusão e da absorção de um composto no material de embalagem. A difusão é o movimento de moléculas num meio, tendo a diferença de concentração como força motriz. Por sua vez, a absorção tem relação com a afinidade molecular do composto pelo meio com o qual entra em contato. Os coeficientes de transferência de massa relativos à difusão e à absorção são, respectivamente, a difusividade e a solubilidade (HAN; SCANLON, 2005).

A ASTM D1434-82 (2003) apresenta as definições oficiais de termos associados aos processos de permeação. A taxa de transmissão refere-se à quantidade de permeante que se move através de uma área unitária de um material por unidade de tempo, sob condições específicas de temperatura e umidade relativa, sem considerar a espessura do material e o gradiente de pressão parcial, ou seja:

$$\text{Taxa de transmissão} = \frac{\text{quantidade de permeante}}{\text{área} \times \text{tempo}}, \quad (1)$$

cuja unidade no Sistema Internacional de Unidade (SI) é $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Por sua vez, a permeância é definida como:

$$\text{Permeância} = \frac{\text{quantidade de permeante}}{\text{área} \times \text{tempo} \times \text{gradiente de pressão parcial}}, \quad (2)$$

cuja unidade no SI é $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$. A permeância é uma avaliação do desempenho do filme, e não uma propriedade inerente ao material. Para converter a permeância (que depende da espessura do filme) a uma propriedade intensiva, a permeância é multiplicada pela espessura do filme para obter o valor de permeabilidade, que é o coeficiente de transferência de massa para a permeação:

$$\text{Permeabilidade} = \frac{\text{massa do permeante} \times \text{espessura do filme}}{\text{área} \times \text{tempo} \times \text{gradiente de pressão parcial}}, \quad (3)$$

A unidade de permeabilidade no SI é $\text{mol} \cdot \text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$. Geralmente, o conceito de permeabilidade é usado para se comparar o desempenho de um certo material com dados já conhecidos de outros materiais; já a taxa de transmissão e a permeância são usadas para se avaliar o desempenho de uma amostra real.

Fatores que afetam a permeação

Fatores relacionados ao polímero

O transporte de permeantes varia de um polímero para outro. As propriedades de transferência dependem do volume livre na estrutura do polímero e da mobilidade das cadeias poliméricas. A mobilidade das cadeias é afetada pelo grau de insaturação, número de ligações cruzadas, orientação, grau de cristalinidade e natureza dos substituintes.

A temperatura de transição vítreia (T_g) afeta muito as propriedades de transporte. Polímeros com baixa T_g têm maior mobilidade e, portanto, maior difusividade (GEORGE; THOMAS, 2001). Por sua vez, a solubilidade é afetada pela composição química do polímero, especialmente pela polaridade.

Efeitos de plastificantes

A adição de plastificantes aumenta a mobilidade das cadeias, elevando a difusividade. Di Gioia e Guilbert (1999) apresentaram alguns mecanismos de ação que têm sido sugeridos para explicar a ação dos plastificantes. A teoria da lubrificação sugere que os plastificantes atuam como lubrificantes, reduzindo as forças friccionais entre cadeias poliméricas.

Segundo a teoria do gel, a rigidez de um polímero deriva de sua estrutura tridimensional, e os plastificantes quebram interações entre cadeias poliméricas (como ligações de hidrogênio e forças de *van der Walls*), elevando as distâncias entre cadeias adjacentes, o que aumenta a flexibilidade da estrutura.

Os plastificantes mais eficientes são os de características similares aos dos polímeros. Assim, por exemplo, plastificantes hidrofílicos, como polióis, são mais adequados para polímeros hidrofílicos (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

Fatores relacionados ao permeante

As dimensões do permeante afetam sua taxa de transporte através da matriz polimérica, já que moléculas de maiores dimensões

têm menor difusividade. O formato do permeante também afeta a taxa de permeação, uma vez que moléculas achatadas ou alongadas têm maior difusividade que moléculas esféricas de igual volume molecular (GEORGE; THOMAS, 2001).

A permeação é ainda afetada pela polaridade do permeante, que interfere, diretamente, na sua solubilidade. Além disso, quanto maior a concentração do permeante, maior sua taxa de transporte através da estrutura do polímero (BRODY, 2002).

Efeitos de agentes de reforço

Agentes de reforço são aditivos sólidos adicionados aos polímeros durante o processamento, com a finalidade de melhorar suas propriedades mecânicas. Em polímeros reforçados, o transporte de permeantes depende da natureza do material de reforço (*filler*) e do seu grau de adesão e compatibilidade com a matriz. Se o agente for compatível com a matriz, ele preencherá parte do volume livre da matriz e criará um caminho tortuoso para as moléculas permeantes.

O grau de tortuosidade depende da fração volumétrica do agente de reforço e do formato e orientação das partículas. Se, ao contrário, o agente for incompatível com a matriz, espaços vazios tendem a se formar na interface, aumentando o volume livre e elevando a permeabilidade (GEORGE; THOMAS, 2001).

Efeito da temperatura

A difusividade, a solubilidade e, consequentemente, a permeabilidade variam com a temperatura, conforme a relação de Arrhenius:

$$D = D_0 (e^{-E_D/RT}) \quad (4)$$

$$S = S_0 (e^{-\Delta H_s/RT}) \quad (5)$$

$$P = P_0 (e^{-E_p/RT}) \quad (6)$$

em que:

E_D , E_p = energias de ativação de difusão e permeação, respectivamente.

ΔH_s = calor de sorção do permeante no polímero.

D_0 , S_0 , P_0 = fatores pré-exponenciais.

Sabendo-se que a permeabilidade é o produto da difusão pela solubilidade, a combinação dessas equações indica que:

$$E_P = E_D + \Delta H_S \quad (7)$$

Segundo George e Thomas (2001), existem desvios das relações anteriores, especialmente na região da temperatura de transição vítreia (T_g) do polímero, onde ocorre a quebra entre duas linhas retas no gráfico de Arrhenius. Geralmente, a energia de ativação é maior acima da T_g do que abaixo desta.

Interações inerentes aos materiais de embalagem

As consequências das interações alimento-embalagem são diversas. Por exemplo, o sabor dos alimentos pode sofrer alterações em decorrência de permeação de compostos do ambiente, reações químicas da embalagem com o alimento e migração de compostos da embalagem para o alimento. A migração de compostos da embalagem pode ter ainda consequências toxicológicas.

Do ponto de vista da estabilidade de alimentos, as interações mais importantes, que terão ênfase neste capítulo, são a permeação de compostos do ambiente para o alimento, através da embalagem, e a migração de compostos da embalagem para o alimento.

De acordo com o material básico – a partir do qual são formadas – existem várias categorias de embalagens. Na indústria de alimentos, as categorias de embalagens usadas são as seguintes:

Embalagens de vidro – Existem em diferentes formatos, como potes, garrafas, entre outros, com diferentes sistemas de fechamento.

Metálicas – Envolvem especialmente as latas. Materiais metálicos flexíveis, como folhas de alumínio, geralmente são usados em conjunto com outras embalagens (como no caso de chocolates, que recebem uma folha de alumínio envolvida por uma embalagem convertida) ou como componente de embalagens compostas.

Plásticas – Incluem grande variedade de materiais (poliolefínicos, poliésteres, poliamidas, etc.). Por sua vez, cada material pode ter diferentes graus de rigidez (flexíveis, semirrígidas ou rígidas), formatos e sistemas de fechamento.

Celulósicas – Geralmente, são usadas como embalagens na forma de papel ou cartão, ou como componentes de embalagens compostas. Esses componentes são comumente usados em embalagens de transporte, como caixas de papelão ondulado.

Compostas – São formadas de diferentes materiais, para combinar as vantagens de cada material e minimizar o efeito das limitações inerentes a cada um deles.

Os diversos materiais de embalagem apresentam diferentes comportamentos em relação às formas de interação com os alimentos. Os principais aspectos das interações inerentes a cada tipo de embalagem são descritos a seguir, com especial destaque para as embalagens plásticas, por seu crescente uso no setor industrial e sua diversidade de interação com os alimentos.

Embalagens de vidro

O vidro é um dos materiais mais抗igos para embalagem de alimentos. Basicamente, é constituído por sílica (SiO_2) combinada a vários outros óxidos inorgânicos. Sua composição pode ser modificada para alteração de algumas de suas propriedades físicas, como resistência, transparência e moldabilidade (YAM et al., 1999).

O vidro é considerado um material inerte, não acarretando problemas relacionados à migração de compostos. Segundo Heath e Reineccius (1986), é o único material de embalagem que não transfere sabores estranhos ao alimento. Contudo, na maioria das embalagens de vidro, os sistemas de fechamento são de material plástico ou metálico, o que pode resultar em algum grau de migração.

As embalagens de vidro são impermeáveis aos gases e vapores de água, desde que asseguradas sua integridade e hermeticidade do fechamento. Permite a passagem de luz, especialmente se não contiverem pigmentos.

Além de suas excelentes propriedades de barreira e inércia química, o vidro tem mais uma vantagem, a de ser visto pelo consumidor como um material nobre, o que tem assegurado a continuidade de seu uso como material de embalagem de vários produtos, agregando-lhes valor. Entretanto, o vidro tem sido largamente substituído por plásticos,

o que em grande parte se deve às limitações do vidro, especialmente o alto custo, a fragilidade e a alta densidade (encarecendo o transporte).

Embalagens metálicas

Os materiais metálicos constituem excelente barreira contra a passagem de luz, umidade e gases. Desde que garantida a continuidade do material (ausência de poros) e a hermeticidade do sistema de fechamento, a permeação através de embalagens metálicas é desprezível. Assim, as interações entre embalagens metálicas e alimentos se restringem à corrosão e à migração de componentes de vernizes.

Os materiais metálicos mais usados em embalagens de alimentos são o aço e o alumínio. As latas de aço mais comuns são aquelas feitas com folhas de flandres, constituídas por aço-base revestido em ambas as faces por camadas de estanho, que protege o aço contra corrosão (tanto interna, por interação com o alimento, quanto externa). Geralmente, é feito ainda um tratamento de passivação química ou eletroquímica, com cromo, que forma uma camada superficial protetora, consistindo numa mistura de cromo metálico e óxido de cromo.

Alternativamente, a camada de passivação pode ser formada por tratamento com titânio ao invés de cromo, substituição essa que tem sido motivada por preocupações associadas a efeitos tóxicos do cromo (ALMEIDA et al., 2005). Essa camada de passivação evita a formação de óxidos de estanho resultantes de interações do estanho da lata com o alimento (ALMEIDA et al., 2004).

Por sua vez, o alumínio é um material considerado mais nobre, sendo mais leve e flexível que o aço, e menos suscetível ao processo de corrosão, além de facilmente reciclável. Entretanto, é mais caro, e sua baixa rigidez pode ser outro problema, em casos que requerem maior resistência mecânica. Muitas vezes, a superfície interna de embalagens metálicas (tanto de aço quanto de alumínio) é revestida com vernizes à base de resinas orgânicas dispersas em solvente, cujos componentes podem, eventualmente, migrar para o alimento.

Geralmente, os lubrificantes contêm ácidos graxos e ésteres suscetíveis à oxidação, produzindo compostos que podem se transferir para o alimento. Caso haja poros ou riscos no verniz da superfície interna de latas, o alimento pode interagir com os metais da embalagem,

havendo a possibilidade de se desenvolverem processos de corrosão ou de sulfuração.

A corrosão é um processo eletroquímico, caracterizado por oxidação de metais por interação com alimentos, especialmente os de alta acidez. A reação de oxidação do metal (reação anódica – Equação 8) produz cátions do metal, que podem migrar para o alimento, e elétrons, que são consumidos por uma reação secundária (catódica – Equação 9). Como consequências da migração de metais para o alimento, podem ocorrer modificações na cor e/ou no sabor do produto.

Em casos extremos, pode haver ainda perfuração da lata, comprometendo a segurança do alimento. O gás hidrogênio (H_2) produzido pela reação catódica pode acarretar modificação na aparência interna da lata e até no seu estufamento. Embora o H_2 seja atóxico e não afete sensorialmente o alimento, compromete sua aceitação, já que o consumidor associa o estufamento da lata com as alterações microbiológicas (ANJOS et al., 1989).



A corrosão pode ser evitada por meio do revestimento da superfície interna da lata (que fica em contato direto com o alimento) com um verniz de alta resistência elétrica. A efetividade de um verniz depende de sua barreira a íons, que depende das propriedades eletroquímicas do material.

Deflorian et al. (2009) observaram que vernizes adicionados de pigmento (TiO_2) mostraram melhor desempenho (em termos de proteção ao alimento) quando comparados a vernizes sem TiO_2 . Grassino et al. (2010) observaram que óleo essencial de cebola apresentou bom desempenho como inibidor de corrosão em latas, comparável a um verniz epóxi-fenólico, que é bastante usado comercialmente.

A sulfuração é uma alteração que pode ocorrer em latas de folha de flandres. Compostos sulfurados, presentes no alimento, podem reagir com o estanho e o ferro da lata, produzindo sulfetos escuros, que formam manchas irregulares na superfície interna da lata.

Embora essa alteração represente apenas um defeito visual, o consumidor pode interpretar as manchas na lata como sinal de deterioração

do produto. A camada de passivação é especialmente importante no caso de latas para produtos sulfurados, para evitar a sulfuração (ALMEIDA et al., 2005).

Embalagens de celuloide

Os principais materiais celulósicos usados para embalagem de alimentos são o papel, o papelão e o celofane. O papel consiste numa estrutura porosa de microfibrilas de celulose. A natureza hidrofílica da celulose, devida aos grupos hidroxila da celulose, além da alta porosidade da rede de fibras, torna o material altamente permeável à umidade (que compromete a estabilidade do alimento acondicionado) e higroscópico (comprometendo as propriedades mecânicas e a integridade da embalagem propriamente dita). Geralmente, os materiais celulósicos são usados para embalagens secundárias ou terciárias, principalmente em se tratando de papelão.

Quando usados em embalagens primárias, geralmente esses materiais são associados a outros, como plásticos e alumínio, a fim de compensar sua porosidade e higroscopicidade, além de melhorar suas propriedades de barreira. Nesses casos, o material celulósico confere rigidez ao material composto. A desvantagem dessa combinação é que a embalagem composta perde sua característica de biodegradabilidade, além de dificultar a reciclagem (KHWALDIA et al., 2010).

Os solventes e adesivos usados na fabricação de embalagens celulósicas, assim como componentes das tintas aplicadas na impressão das embalagens, podem eventualmente migrar para o alimento. No entanto, isso é pouco provável, uma vez que raramente os materiais celulósicos ficam em contato direto com o alimento.

Embalagens plásticas

Os plásticos constituem a classe de embalagens que mais interage com os alimentos. Além disso, são inherentemente permeáveis, apesar de suas propriedades de barreira variarem grandemente entre os vários tipos de materiais. Em decorrência disso, as interações (diretas e indiretas) das embalagens plásticas com alimentos serão estudadas mais detalhadamente.

Os polímeros podem ser formulados de forma a se obter ampla gama de propriedades, que dependem da estrutura química, do grau de cristalinidade, do grau de ramificações, da massa molecular e sua distribuição, da orientação, etc. Como regra geral, maior cristalinidade implica em maior resistência mecânica e em melhores propriedades de barreira.

As características mais importantes a serem consideradas para escolha de polímeros, para embalagem de alimentos, são as seguintes:

- Propriedades de barreira a gases e vapor de água.
- Resistência mecânica.
- Rigidez.
- Flexibilidade.
- Resistência química.
- Termossoldabilidade.

Principais materiais poliméricos

As estruturas químicas dos principais polímeros usados em embalagem de alimentos são mostradas na Figura 2.

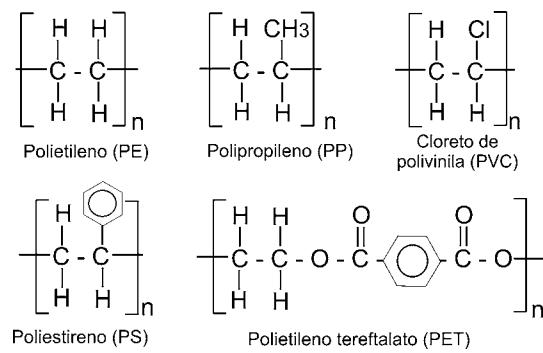


Figura 2. Estruturas dos principais polímeros usados em embalagem de alimentos.

Polietileno (PE) – Graças ao baixo custo, fácil processamento e boa termossoldabilidade, é o material polimérico mais usado em embalagem de alimento. O PE tem a composição química mais simples de todos os polímeros, sendo basicamente um hidrocarboneto de cadeia reta. A principal classificação do PE divide-o em três categorias (Figura 3):

- Polietileno de alta densidade (PEAD, ou HDPE – *high density polyethylene*).
- Polietileno de baixa densidade (PEBD, ou LDPE – *low density polyethylene*).
- Polietileno linear de baixa densidade (PELBD, ou LLDPE – *linear low density polyethylene*).

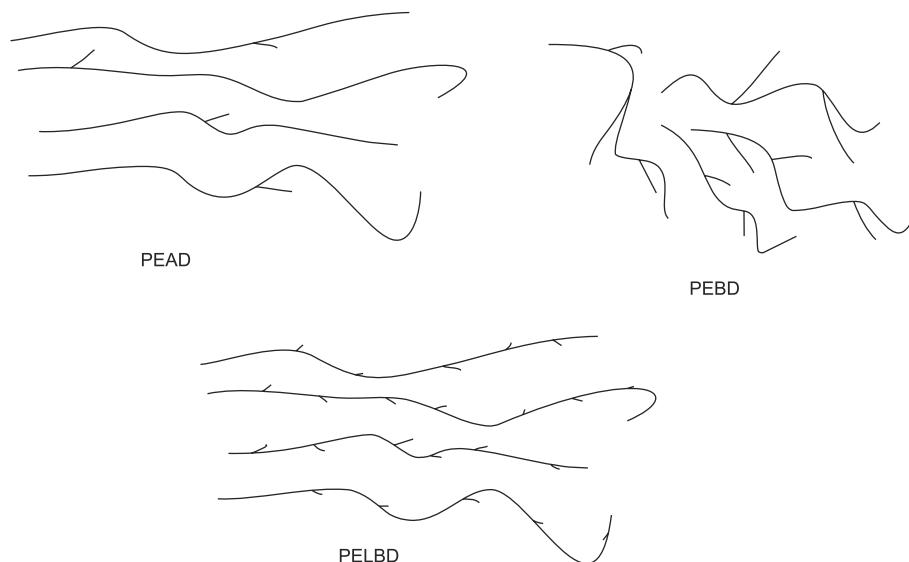


Figura 3. Arranjos moleculares das principais categorias de polietileno.

PEAD: polietileno de alta densidade.

PEBD: polietileno de baixa densidade.

PELBD: polietileno linear de baixa densidade.

O PEAD é um polímero linear, com poucas ramificações, cujas cadeias ficam empacotadas numa estrutura opaca e altamente cristalina. Se comparado ao PEBD, o PEAD tem maior ponto de fusão, maior

cristalinidade, maior resistência à tração, maior dureza, e melhor resistência química. É usado, principalmente, na confecção de garrafas sopradas para embalagem de leite e iogurte, por exemplo, embora também seja usado, também, na elaboração de filmes.

O PEBD tem muitas ramificações relativamente longas, sendo bastante flexível e esticável, com alta transparéncia e boa termossoldabilidade. É muito usado na elaboração de filmes e como camada adesiva e de termossoldagem em embalagens compostas. Por sua vez, o PELBD tem muitas cadeias laterais de baixo comprimento, combinando a transparéncia e a termossoldabilidade do PEBD à força e à rigidez do PEAD (YAM et al., 1999).

Polipropileno (PP) – É um polímero linear e cristalino. Quando comparado ao polietileno (PE), apresenta maior rigidez e resistência à tração. Apresenta, também, maior temperatura de fusão (cerca de 165 °C), o que o torna adequado para envase a quente e outras aplicações que requerem o uso de altas temperaturas (YAM et al., 1999). O polipropileno é altamente resistente a baixas temperaturas, o que faz dele um bom material para acondicionamento de alimentos congelados.

Os filmes de polipropileno podem ser encontrados nas formas não orientada e orientada. A orientação pode ser atingida pelo estiramento uni ou biaxial do filme durante seu processamento. O filme orientado tem melhor resistência à tração, maior rigidez e melhor barreira a gases; no entanto, é menos termossoldável. Um filme não orientado tem boa estabilidade dimensional e boa termossoldabilidade (YAM et al., 1999).

Poliestireno (PS) – É um polímero amorfó, cuja principal aplicação é na fabricação de copos e pratos descartáveis. Uma de suas principais características é a baixa resistência ao impacto, a menos que seja modificado. Existe certa preocupação associada a eventuais migrações do monômero estireno, que pode estar presente em níveis residuais em embalagens feitas com esse material.

A migração de estireno pode ocorrer principalmente para alimentos com alto teor de lipídios e/ou submetidos a altas temperaturas. Vários efeitos adversos têm sido atribuídos a esse monômero, incluindo irritações na pele, além de efeitos tóxicos ao fígado e ao sistema nervoso central (KHAKSAR; GHAZI-KHANSARI, 2009).

Poliestireno expandido (EPS) – Conhecido pela marca Isopor®, é produzido por meio da injeção de agentes expansores (geralmente metano) durante o processo de fabricação. Esse produto é especialmente usado em situações que requerem isolamento térmico.

Poliétileno tereftalato (PET) – É o poliéster mais usado em embalagens de alimentos. O PET amorfó é usado na elaboração de garrafas para bebidas carbonatadas (água, óleos, sucos, etc.). As garrafas apresentam boa transparência e resistência à tração, e razoável barreira a gases. O PET amorfó pode ser usado, também, na fabricação de filmes; nesse caso, devido à sua baixa termossoldabilidade, geralmente é combinado a uma camada termossoldável, como PEBD (YAM et al., 1999).

A forma cristalizada do PET (CPET) é um copolímero de PET com 6% de ciclohexano dimetanol. Por sua alta resistência térmica (suportando temperaturas de até 220 °C sem deformação), bandejas de CPET podem ser usadas em fornos de micro-ondas (YAM et al., 1999).

A partir da avaliação dos teores de três monômeros (ácido tereftálico, ácido isoftálico e dimetil tereftalato) em simulantes de alimentos acondicionados em garrafas de PET, Park et al. (2008) estimaram a ingestão média diária de cada um dos monômeros em menos de 0,04 mg/kg, o que corresponderia a apenas 0,6% dos limites especificados pela União Europeia.

Em 2008, o uso de PET reciclado em alimentos e bebidas foi permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), desde que a reciclagem, feita por uma empresa habilitada e registrada por essa agência, use tecnologia adequada para promover a devida esterilização das embalagens pós-consumo, o que permite que o material seja registrado como polietileno tereftalato pós-consumo reciclado (PET – PCR) na Anvisa (NOTÍCIAS DA ANVISA, 2008).

Cloreto de polivinila (PVC) – É um polímero amorfó, usado especialmente para elaboração de filmes aderentes e esticáveis, muito usados em embalagem de carnes frescas, frutas e hortaliças, já que têm permeabilidade moderada a gases, permitindo trocas gasosas quando estas se fazem necessárias (manutenção da cor vermelha de carnes, manutenção da respiração de frutas e hortaliças). Sem a adição de plastificantes, o PVC pode ser usado na forma de bandejas rígidas termoformadas para suporte de chocolates, biscoitos e outras aplicações.

Praticamente, as garrafas de PVC não têm sido usadas, em decorrência da baixa estabilidade térmica do polímero e das preocupações ambientais e sanitárias associadas à presença de cloro em sua composição, e da consequente formação de dioxinas (tóxicas) quando incinerado.

Barreira aos gases e vapor de água

Fatores que afetam as propriedades de barreira – Vários fatores afetam a taxa de transporte de moléculas através de um polímero. As dimensões do permeante exercem importante efeito sobre seu transporte, sendo que, quanto maior a sua massa molecular (MM), menor a sua difusividade. Além disso, a configuração molecular também afeta a permeação, sendo que moléculas alongadas apresentam maior difusividade que moléculas esféricas de mesma MM (GEORGE; THOMAS, 2001). Quanto aos fatores ambientais, os de maior importância são:

- A temperatura, que afeta tanto a difusão quanto a solubilidade.
- A umidade relativa, mais importante no caso de polímeros sensíveis à água.
- O aumento no teor de umidade desses polímeros compromete sua barreira, já que a água atua como plastificante (BRODY, 2002).

Quanto às propriedades dos polímeros, destacam-se as seguintes (BRODY, 2002; GEORGE; THOMAS, 2001):

- **Massa molecular (MM):** com o aumento da MM de um polímero, o número de extremidades de cadeia diminui. Como as extremidades de cadeia representam descontinuidades que favorecem a difusão de permeantes, a difusividade diminui com o aumento da MM.
- **Grau de insaturação:** a insaturação aumenta a mobilidade, favorecendo os processos de difusão.
- **Grupos funcionais:** a presença de certos grupos funcionais – na estrutura do polímero – pode prejudicar a difusão de compostos que interagem com esses grupos. Por exemplo, grupos funcionais de alta polaridade podem reduzir a permeabilidade ao O (oxigênio).

- **Cristalinidade:** é a medida do grau de organização das moléculas num polímero. Geralmente, um polímero tem dois tipos de regiões em sua estrutura: as cristalinas, altamente alinhadas, e as amorfas, de arranjo aleatório. A cristalinidade é favorecida por um arranjo regular ao longo da cadeia polimérica, que confere à estrutura alto grau de simetria. Por exemplo, o polietileno (PE) linear é altamente cristalino, enquanto o PE ramificado é predominantemente amorfo. Forças intermoleculares também favorecem a cristalinidade, já que cadeias vizinhas são atraídasumas às outras. Quanto maior for o grau de cristalinidade de um polímero, menor será a difusividade de moléculas através de sua estrutura.
- **Orientação:** quando um filme polimérico é formado, os cristais tendem a se arranjar aleatoriamente. Um estiramento do filme ordena as cadeias de forma que fiquem razoavelmente paralelasumas às outras. Um filme pode ser orientado uni ou biaxialmente, ou seja, em uma ou em duas direções, respectivamente. A orientação melhora as propriedades de barreira dos polímeros.
- **Ligações cruzadas:** as ligações cruzadas entre cadeias adjacentes restringem sua mobilidade, melhorando assim as propriedades de barreira.
- **Presença de plastificantes:** os plastificantes abrem a estrutura do polímero, aumentando a mobilidade das cadeias e favorecendo o transporte molecular.

Polímeros de alta barreira – Todos os materiais poliméricos são permeáveis aos gases e vapor de água, em maior ou menor grau. Alguns materiais poliméricos de alta barreira têm sido pesquisados para uso em embalagens de alimentos, como:

- O polietileno naftalato (PEN).
- O cloreto de polivinilideno (PVdC).
- O copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH).

O PEN (Figura 4) pode se apresentar na forma de homopolímero ou de copolimerizado com PET, tendo melhores propriedades de barreira que o último. Seus valores de permeabilidade aos gases e à umidade são cerca de 4 a 5 vezes menores que os do PET. As propriedades de

barreira dos copolímeros PET/PEN seguem um comportamento linear, em função das proporções de cada homopolímero (BP CHEMICALS, 2003).

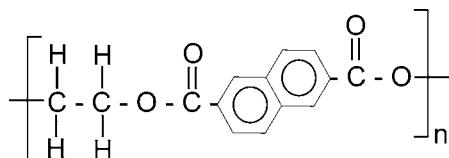


Figura 4. Estrutura do polietileno naftalato.

O PVdC (Figura 5), também conhecido pelo nome comercial *Saran®*, é um copolímero de cloreto de vinila e cloreto de vinilideno. A razão de se usar o copolímero, ao invés do homopolímero de cloreto de vinilideno, deve-se ao fato de o ponto de fusão do último ser próximo à sua temperatura de decomposição, o que dificulta seu processamento (BAKER, 2002). Os teores de cloreto de vinilideno variam de 72% a 92%, sendo que, quanto maior seu teor, melhor a barreira ao O₂ e ao vapor de água.

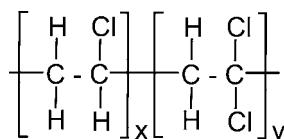


Figura 5. Estrutura química do copolímero PVdC.

Além das ótimas propriedades de barreira, o PVdC apresenta boas propriedades óticas, alta resistência química e alta termossoldabilidade. Sua principal limitação é a baixa resistência térmica, o que, muitas vezes, requer o uso de estabilizantes térmicos. Entretanto, geralmente o PVdC é usado como componente de embalagens multicamadas, representando a principal camada responsável pelas propriedades de barreira do filme.

O homopolímero álcool polivinílico PVOH (Figura 6a) apresenta alta barreira aos gases. Entretanto, sua resina é hidrossolúvel, e muito sensível à umidade. Por isso, esse produto é difícil de ser transformado em embalagens (MESSIAS DE BRAGANÇA; FOWLER, 2007). Assim,

são usados copolímeros do álcool vinílico com etileno EVOH (Figura 6b), que apresentam excelente barreira aos gases e aromas. O grupo OH é responsável pela alta barreira. Além disso, responde, também, pela natureza hidrofílica do polímero.

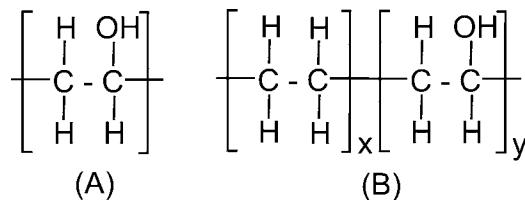


Figura 6. Estrutura química do homopolímero PVOH (A) e do copolímero EVOH (B).

Assim, quanto maior o teor de álcool vinílico, menor a permeabilidade aos gases, mas maior também a influência da umidade sobre as propriedades de barreira. As embalagens com EVOH são estruturadas em multicamadas, respondendo pela alta barreira aos gases e aromas (CATALÁ; GAVARA, 1997). O EVOH tem alta resistência térmica, podendo ser usado em aplicações que requeiram o uso de altas temperaturas (YAM et al., 1999).

Barreira à luz

A barreira de um material de embalagem à luz é especialmente importante quando o produto acondicionado contém compostos muito suscetíveis a oxidação, como é o caso de lipídios, de pigmentos naturais e de diversas vitaminas. A exposição à luz, especialmente na faixa ultravioleta (UV), catalisa reações de oxidação, acelerando a perda de qualidade de alimentos por meio de alterações de cor, formação de sabores desagradáveis e redução do valor nutricional.

As propriedades de transmissão de luz de uma embalagem dependem da estrutura química do material. Os materiais de embalagem dividem-se em três tipos básicos, com base nas propriedades de transmissão de luz:

Transparentes – Vidro e filmes plásticos em geral.

Opacos – Latas e folhas de alumínio.

Translúcidos (intermediários) – Papel, cartão e certas garrafas plásticas.

Os materiais de plástico diferem grandemente entre si, quanto à transmissão de luz, principalmente na região ultravioleta (UV). Quando comparados a outros polímeros, PE, PP e PVC, apresentam maior transmissibilidade à luz UV. O PET, por exemplo, absorve radiação UV de comprimento de onda de até 300 nm (ESPINOZA-ATENCIA; FARIA, 1994), e o PEN, até 370 nm (BP CHEMICALS, 2003).

Além disso, a presença de regiões cristalinas tende a reduzir o grau de transmissão de luz, sendo que, em espessuras intermediárias, os polímeros semicristalinos geralmente são translúcidos (CHARRIER, 1990). A barreira de uma embalagem à luz UV pode ser melhorada com a adição de absorvedores de UV (ver Capítulo 2).

Barreira aos aromas

O aroma de um alimento é formado por muitos compostos voláteis. Como geralmente a maioria desses compostos encontra-se em concentrações muito baixas, qualquer perda pode alterar, significativamente, o perfil de sabor do alimento. Também pode haver permeação de compostos voláteis do ambiente externo através da embalagem, alterando o sabor e comprometendo a qualidade do alimento (GNANASEKHARAN; FLOROS, 1997).

Alguns alimentos, como cebola e pimentão, liberam voláteis facilmente percebidos pelo consumidor, nos produtos que os absorvem. Já alimentos ricos em lipídios absorvem, com facilidade, aromas do ambiente. Produtos desidratados também são muito suscetíveis a absorverem aromas, o que se deve à sua grande área de superfície exposta, além do aumento do teor de lipídios como resultado do processo de secagem. Em alimentos congelados, a absorção é menor, porque a pressão de vapor e a difusão de voláteis são reduzidas por baixas temperaturas.

A manutenção do aroma de um alimento acondicionado é determinada pela pressão parcial de vapor de cada componente de aroma, suas interações com outros componentes do alimento e as propriedades de barreira da embalagem. As propriedades de barreira são específicas para cada sistema polímero-permeante, e dependem das propriedades químicas do permeante e do polímero (CATALÁ; GAVARA, 1997).

De qualquer forma, como a maioria dos compostos de aroma é de baixa polaridade, geralmente as técnicas e materiais usados para reduzir a permeabilidade a gases valem também para melhorar a retenção de compostos de aroma em sistemas de embalagem.

Migração de monômeros e aditivos

Vários componentes dos polímeros podem migrar para o alimento, principalmente monômeros residuais do processo de fabricação e aditivos incorporados ao material.

Os monômeros são as unidades básicas de uma cadeia polimérica, sendo os constituintes mais simples dos plásticos. Por exemplo, o monômero eteno ou etileno ($\text{H}_2\text{C} = \text{CH}_2$) polimeriza-se para formar o polietileno. A polimerização é uma reação de síntese, feita em reatores especiais, por meio de catalisadores. O polímero resultante é comercializado em forma de resina, na qual os resíduos de monômeros podem existir em concentrações suficientes para afetar o produto acondicionado, uma vez que os monômeros podem migrar para o alimento.

Entre os monômeros, tem havido uma preocupação especial com o estireno e o cloreto de vinila. O metabolismo do estireno, monômero do poliestireno, envolve o feniloxirano, composto mutagênico; além disso, o estireno pode afetar sensorialmente o produto (LAU; WONG, 2000). O teor residual máximo permitido de estireno na estrutura do polímero foi estabelecido pela legislação brasileira, em 0,25% (BRASIL, 1999). O cloreto de vinila, monômero do PVC, quando aquecido, libera ácido clorídrico e compostos voláteis tóxicos. Para este, a legislação brasileira estabelece o limite de 1 mg/kg na estrutura do polímero final (BRASIL, 1999).

Os aditivos são incorporados às resinas plásticas para modificar algumas características, melhorando o desempenho dos polímeros durante a fabricação e a aplicação desses aditivos. Os principais aditivos usados são:

Antioxidantes – Retardam as reações oxidativas que comprometeriam as propriedades mecânicas do material.

Plastificantes – Aumentam a flexibilidade do polímero.

Deslizantes – Lubrificam o material, reduzindo o coeficiente de atrito.

Aditivos antibloqueio – Reduzem a aderência entre superfícies de filmes, facilitando o manuseio.

Antiestáticos – Reduzem o efeito eletrostático, evitando a aderência de filmes entre si ou com partículas do ambiente carregadas eletrostaticamente.

Muitos aditivos apresentam potencial de atividade cancerígena, conforme apontam estudos toxicológicos. Esses aditivos podem migrar para o alimento, a taxas que dependem da concentração do aditivo, tempo e temperatura, representando uma fonte de contaminação e podendo comprometer a saúde do consumidor (LAU; WONG, 2000).

Um aditivo de embalagens, que tem recebido bastante atenção, é o dietil-hexil adipato (DEHA), um plastificante que pode migrar para certos alimentos, especialmente aqueles com alto teor de lipídios; entretanto, os níveis geralmente ingeridos são bem inferiores aos níveis avaliados em estudos com animais, que não apresentaram efeitos tóxicos (FDA, 2003).

A contaminação de alimentos – por migração de monômeros ou de aditivos – é assunto que compete à legislação sanitária. Os materiais de embalagem destinados ao acondicionamento de alimentos devem ser obrigatoriamente registrados e aprovados, entre outras coisas, quanto à inexistência de efeitos tóxicos.

Além da migração de compostos da embalagem para o alimento, também pode ocorrer o oposto. Compostos voláteis do alimento podem migrar para a embalagem (*flavor scalping*), afetando, de certa forma, a qualidade do produto ao longo da estocagem. Exemplo de tal fenômeno é a absorção de aroma de óleos essenciais de frutas cítricas por garrafas de polietileno.

Sorção de compostos de aroma

Além da permeação, os compostos de aroma podem ser perdidos por sorção, pelo material de embalagem. Materiais plásticos, envolvidos em sorção de compostos, geralmente são (mas não exclusivamente) as poliolefinas, como PE e PP. O PE é de particular importância, por ser

amplamente usado como componente interno de embalagens compostas, em contato direto com o alimento (BRODY, 2002).

Um dos exemplos mais conhecidos e pesquisados é a sorção de limoneno em suco de laranja para a camada interna de polietileno de embalagens cartonadas, mas muitos outros compostos de aroma podem ser também perdidos por sorção, como aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres, pirazinas, compostos sulfurados, entre outros. Esses compostos estão presentes numa grande variedade de produtos, incluindo frutas, hortaliças, laticínios e produtos cárneos.

A redução desses compostos resulta em perda ou em mudança de sabor, sendo frequentemente observada durante a avaliação sensorial de alimentos estocados por longo tempo, especialmente a temperatura ambiente. A sorção de compostos de aroma pode resultar ainda em delaminação de embalagens compostas ou em dilatação da estrutura polimérica, favorecendo ainda mais a sorção (BRODY, 2002).

Embalagens compostas

As interações das embalagens compostas com os alimentos dependem das propriedades dos materiais que a compõem. Geralmente, as embalagens compostas interagem menos com os alimentos que os materiais individuais, já que as limitações das propriedades de barreira de cada componente são pelo menos parcialmente compensadas pelos demais materiais usados.

Um exemplo típico são as embalagens do sistema patenteado pela Tetra Pak como Tetra Brik®, usadas para acondicionamento asséptico. Essas embalagens são formadas a partir de camadas de papel, alumínio e polietileno. O papel confere rigidez ao material; a folha de alumínio age como barreira à luz, aos gases e aos aromas; além de responder pela termossoldabilidade do material e permitir a laminação dos diferentes materiais, o polietileno confere barreira à umidade.

Além das embalagens cartonadas da Tetra Pak®, existem vários outros sistemas compostos sempre utilizando pelo menos um componente polimérico, ou seja, os sistemas compostos podem consistir em combinações entre polímeros de diferentes propriedades ou em combinações de polímeros com outros materiais, geralmente alumínio ou materiais celulósicos.

Tendências em sistemas de embalagens

Uma tendência na tecnologia de embalagem de alimentos é o estudo e o desenvolvimento de novos materiais de alta barreira, que possam reduzir a quantidade total de material requerido para cada aplicação, consequentemente reduzindo o impacto ambiental e os custos associados ao transporte e à distribuição.

Enquanto os sistemas tradicionais de embalagens têm foco na proteção passiva do alimento contra interações com os fatores ambientais, muitos avanços têm sido feitos para incorporar novas funções aos sistemas de embalagens, criando embalagens funcionais, com propriedades ativas ou inteligentes. As embalagens ativas são as que, além da função básica de proteção (passiva), interagem com o produto acondicionado, absorvendo compostos indesejáveis ou liberando substâncias que favorecem o aumento da estabilidade. Exemplos disso são as embalagens antimicrobianas e absorvedoras de oxigênio. Por sua vez, os sistemas de embalagem inteligente não aumentam propriamente a estabilidade, mas indicam ao consumidor o grau de deterioração do alimento, ou o nível (acumulado) de exposição a um determinado fator de deterioração. São exemplos dessa categoria, as embalagens com indicadores tempo-temperatura, e os sistemas com biossensores para indicar a presença de microrganismos patogênicos.

Muitas vezes, o conceito de embalagem inteligente é caracterizado como parte do conceito de embalagem ativa, embora a maioria dos autores considere os dois conceitos separadamente. Maiores detalhes sobre embalagens ativas e inteligentes são abordados no Capítulo 8.

Outra tendência importante é a substituição de polímeros derivados de petróleo por biopolímeros ambientalmente corretos, biodegradáveis ou até mesmo comestíveis. Muitas classes de biopolímeros podem ser usadas, como polissacarídeos (amido, derivados de celulose, entre outros), proteínas (gelatina, zeína, etc.) ou biopolíesteres (polihidroxialcanoatos). Geralmente, os biopolímeros têm desempenho inferior aos polímeros derivados de petróleo, o que tem estimulado pesquisas para melhorar suas propriedades mecânicas e de barreira.

Nesse contexto, uma das principais linhas de pesquisa tem relação com a adição aos biopolímeros de diversos tipos de nanopartículas, produzindo materiais nanocompósitos. A nanotecnologia também tem

sido explorada para incorporar propriedades ativas e inteligentes aos sistemas de embalagem. Os principais usos da nanotecnologia para o desenvolvimento de embalagem são abordados no Capítulo 9.

Pode-se ainda destacar a deposição superficial de óxido de silício para melhorar as propriedades de barreira de polímeros. Algumas técnicas podem ser usadas para deposição, entre elas a deposição química de vapor assistida por plasma (*plasma-enhanced chemical vapor deposition*, PECVD). Na deposição química de vapor, o substrato (no caso, o polímero) é colocado dentro de um reator, ao qual são fornecidos vários gases.

Uma reação química ocorre entre esses gases, produzindo um material sólido que se condensa sobre todas as superfícies no interior do reator, formando um filme. A introdução de plasma dentro da câmara de reação supre a energia de ativação necessária para que a deposição ocorra em temperaturas mais baixas, requeridas por alguns substratos (MEMS, 2003; ZHANG et al., 2003).

Uma vez que a tecnologia de desenvolvimento de embalagens caminha lado a lado com os desenvolvimentos na área de processamento de alimentos, muitos materiais e sistemas de embalagens têm sido alterados para adequar-se aos métodos não convencionais de processamento, de forma a otimizar a eficiência do processo. Por exemplo, embalagens a serem submetidas à irradiação devem ter resistência química suficiente para evitar a degradação durante o processo. Embalagens de alimentos – a serem tratados por UV – devem ser transparentes à luz UV (HAN, 2005).

Considerações finais

A embalagem afeta a estabilidade de um alimento, principalmente por meio do controle do efeito de fatores ambientais (umidade, oxigênio, luz) sobre a qualidade do produto. É importante considerar a embalagem como parte integrante de um sistema que engloba o produto, a embalagem e o ambiente. Esse sistema é dinâmico, alterando-se continuamente, desde o acondicionamento até o consumo.

As alterações resultantes de interações dentro do sistema levam à redução gradativa da qualidade do produto, reduzindo, sua vida de prateleira. Assim, a seleção de um material de embalagem deve consi-

derar as características e as suscetibilidades do alimento a ser acondicionado, bem como o impacto das condições de estocagem sobre as interações do sistema.

O projeto e a elaboração de uma embalagem requerem inclusive conhecimentos de marketing, lembrando que não se devem perder de vista os aspectos mercadológicos e de engenharia desse produto, os quais precisam ser constantemente adaptados às novas tecnologias de processamento de alimentos e às mudanças no estilo de vida dos consumidores. Além disso, é importante lembrar que o consumidor tende a procurar, continuamente, por novos materiais e sistemas de embalagem, com novas funções e novos aspectos de conveniência e praticidade.

Referências

- ALMEIDA, E.; COSTA, M. R.; DE CRISTOFARO, N.; MORA, N.; BASTIDAS, J. M.; PUENTE, J. M. Environmentally friendly coatings for tinplate cans in contact with synthetic food media. **Journal of Coating Technology and Research**, New York, v. 1, n. 2, p. 103-109, 2004.
- ALMEIDA, E.; COSTA, M. R.; DE CRISTOFARO, N.; MORA, N.; CATALÁ, R.; PUENTE, J. M.; BASTIDAS, J. M. Titanium passivated lacquered tinplate cans in contact with foods. **Corrosion Engineering, Science and Technology**, London, GB, v. 40, n. 2, p. 158-164, 2005.
- ANJOS, V. D. A.; FARIA, E. V.; SOLER, R. M.; DANTAS, S. T. **Interação de embalagens metálicas com produtos alimentícios**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem de AlimentosInstituto de Tecnologia de Alimentos. 1989. 91 p.
- ASTM D1434-82. **Standard test method for determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting**. West Conshohocken: ASTM International, 2003.
- BAKER, A. M. M. Thermoplastics. In: HARPER, C. A. **Handbook of plastics, elastomers, and composites**. 4th. ed. Dubuque: McGraw-Hill, 2002. p. 108.
- BP CHEMICALS. **Naphthalates**. Disponível em: <<http://www.bpcchemicals.com/naphthalates/pdfs/N-9GeneralPolymProp.pdf>>. Acesso em: 9 abr. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 105, de 19 maio 1999. Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial [da]**

República Federativa do Brasil, Brasília, DF. 20 maio 1999. Anexo II.

Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/105_99.htm>. Acesso em: 15 abr. 2003.

BRODY, A. L. Flavor scalping: quality loss due to packaging. **Food Technology**, Chicago, v. 56, n. 6, p. 124-125, 2002.

CATALÁ, R.; GAVARA, R. High-barrier polymers for the design of food packages. In: FITO, P.; ORTEGA-RODRÍGUEZ, E.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Food engineering 2000**. New York: Chapman & Hall, 1997. p. 327-345.

CHARRIER, J. M. **Polymeric materials and processing**: plastics, elastomers and composites. Munich: Hanser Publishers, 1990. p. 259-378.

DEFLORIAN, F.; ROSSI, S.; VADILLO, M. D. C.; FEDEL, M. Electrochemical characterisation of protective organic coatings for food packaging. **Journal of Applied Electrochemistry**, London, GB, v. 39, p. 2151-2157, 2009.

DI GIOIA, L.; GUILBERT, S. Amphiphilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 47, p. 1254-1261, 1999.

ESPINOZA-ATENCIA, E. J.; FARIA, J. A. F. Fotoxidação de óleos comestíveis em embalagens plásticas transparentes. **Óleos & Grãos**, São Paulo, v. 4, n. 19, p. 44-51, 1994.

FDA. Food and Drug Administration. **Plastics and the microwave**. Disponível em: <http://www.fda.gov/fdac/features/2002/602_plastic.html>. Acesso em: 7 abr. 2003.

GEORGE, S. C.; THOMAS, S. Transport phenomena through polymeric systems. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 26, p. 985-1017, 2001.

GNANASEKHARAN, V.; FLOROS, J. D. Migration and sorption phenomena in packaged foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 37, n. 6, p. 519-559, 1997.

GRASSINO, A. N.; GRABARIC, Z.; PEZZANI, A.; SQUITIERI, G.; BERKOVIC, K. Corrosion inhibition with different protective layers in tinplate cans for food preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, GB, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.4101/pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2010.

HEATH, H. B.; REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. New York: AVI, 1986. p. 112-141.

HERNANDEZ, R. J.; GIACIN, J. R. Factors affecting permeation, sorption, and migration processes in package-product systems. In: TAUB, I. A.; SINGH, R. P. (Ed.). **Food storage stability**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 269-329.

- HAN, J. H. New technologies in food packaging: overview. In: HAN, J. **Innovations in food packaging**. London, GB: Academic Press, 2005. p. 3-11.
- HAN, J. H.; SCANLON, M. G. Mass transfer of gas and solute through packaging materials. In: HAN, J.H. (Ed.). **Innovations in food packaging**. London, GB: Academic Press, 2005. p. 12-23.
- KHAKSAR, M. R.; GHAZI-KHANSAR, M. Determination of migration monomer styrene from GPPS (general purpose polystyrene) and HIPS (high impact polystyrene) cups to hot drinks. **Toxicology Mechanisms and Methods**, London, GB, v. 19, n. 3, p. 257-261, 2009.
- KHWALDIA, K.; ARAB-TEHRANY, E.; DESOBRY, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, p. 82-91, 2010.
- LAU, O. W.; WONG, S. K. Contamination in food from packaging material. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, NL, v. 882, n. 1-2, p. 255-270, 2000.
- MEMS. **MEMS thin film deposition processes**. Disponível em: <<http://www.memsnet.org/mems/beginner/deposition.html>>. Acesso em: 8 abr. 2003.
- MESSIAS DE BRAGANÇA, R.; FOWLER, P. A. Industrial water soluble polymers in packaging. In: WILLIAMS, P.A. **Handbook of industrial water soluble polymers**. New York: Wiley-Blackwell, 2007. p. 298-324.
- NOTÍCIAS DA ANVISA. **Anvisa libera uso de embalagens PET recicladas em alimentos**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/190308_2.htm. Acesso em: 19 mar 2008.
- PARK, H. J.; LEE, Y. J.; KIM, M. R.; KIM, K. M. Safety of polyethylene terephthalate food containers evaluated by HPLC, migration test, and estimated daily intake. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 6, p. T83-T89, 2008.
- SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in food packaging**. London, GB: Academic Press, 2005. p. 403-433.
- YAM, K. L.; SABA, R. G.; HO, Y. C. Packaging materials. In: FRANCIS, F. J. (Ed.) **Encyclopedia of Food Science and Technology**. New York: John Wiley & Sons, 1999. p. 1824-1829.
- ZHANG, X.; MIAO, Y.; HROMADA, L. **Plasma-enhanced chemical vapor deposition (PECVD)**. Disponível em: <<http://www.enee.umd.edu/class/enee416.S2002/report5.pdf>>. Acesso em: 8 abr. 2003.

Capítulo 8

Embalagem ativa na conservação de alimentos

Nilda de Fátima Ferreira Soares

Renato Souza Cruz

Alba Manuela Durango Villadiego

Nathália Ramos de Melo

Miriam Fontes Araújo Silveira

Maria do Socorro Rocha Bastos

Robson Maia Geraldine

Nédio Jair Wurlitzer

Washington Azevêdo da Silva

Patrícia Pinheiro de Campos Fonseca Rodrigues

Introdução

Ao longo do tempo, a indústria de alimentos vem sofrendo constantes mudanças para se adaptar às crescentes exigências dos consumidores. A demanda por produtos minimamente processados, sensorialmente similares aos correspondentes in natura, tem aumentado consideravelmente. Além disso, as mudanças nas vendas a varejo e nas práticas de distribuição, como a centralização das atividades de venda, compras via internet e internacionalização do mercado, têm resultado na necessidade de aumentar o tempo de estocagem de produtos com diferentes exigências de condições de armazenamento. Com isso, o mercado tem requerido o desenvolvimento de embalagens para assegurar uma vida de prateleira adequada ao produto.

Os sistemas de embalagens tradicionais têm como função principal atuar como uma barreira a impactos físicos e/ou mecânicos, reações químicas e invasão por microrganismos, além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento. Tradicionalmente, os materiais de embalagem são selecionados, visando ao mínimo de interação com o alimento que acondicionam, constituindo, assim, barreira inerte.

Contudo, nas últimas décadas, têm sido introduzidos diferentes conceitos sobre embalagens de alimentos, levando-se em conta o aumento da demanda por produtos que aparentem mais frescor e melhor qualidade. Nesse contexto, diversos sistemas de embalagem vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de interagir, de forma desejável, com o produto.

Esses sistemas são as embalagens ativas ou inteligentes. Assim, embalagem ativa é um conceito que vem sendo estudado há mais de 40 anos, sendo de grande importância para a proteção de alimentos e bebidas durante a distribuição e a estocagem. Esses sistemas mudam a condição de acondicionamento para aumentar a vida de prateleira e melhorar a segurança ou as propriedades sensoriais do produto, mantendo sua qualidade.

Geralmente, embalagens ativas são sistemas em que as atribuições vão além das funções de barreira contra o ambiente externo ao produto. As funções extras são obtidas pela incorporação de ingredientes ou materiais ativos aos materiais de embalagens, ou por incorporação de sachês aos sistemas.

Desenvolvimentos de embalagens ativas vêm sendo aplicados em diversos países, dentre eles, Estados Unidos, Japão e Austrália. Em vários outros países, incluindo-se o Brasil – e a maioria dos países europeus – o desenvolvimento e a aplicação desse tipo de embalagem ainda é limitado, em decorrência das restrições de legislação, receio ou resistência do consumidor, necessidade de conhecimento sobre a sua efetividade e impacto econômico e ambiental.

As mais importantes concepções de embalagens ativas são os filmes antimicrobianos, absorvedores de oxigênio, absorvedores de etileno, reguladores de umidade, liberadores e/ou absorvedores de sabores e odores. Suas aplicações são numerosas e seu uso está em franco crescimento. A tecnologia de embalagem ativa é uma área promissora da tecnologia de alimentos, que pode conferir vários benefícios de preservação numa larga escala de produtos.

No entanto, pesquisas devem ser conduzidas para diferentes aplicações, a fim de se avaliar a potencialidade tecnológica, econômica e, principalmente, de segurança ~~alimentar~~. Além disso, precisa-se familiarizar o consumidor com o conceito e com as aplicações de embalagens ativas, e esperar que haja boa aceitação, visando-se os inúmeros benefícios possíveis.

Filmes antimicrobianos

Esses filmes são uma inovação dentro do conceito de embalagem ativa, e têm sido desenvolvidos com o objetivo de reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos na superfície dos alimentos, quando em contato com produtos acondicionados (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

Tradicionalmente, os compostos antimicrobianos são adicionados diretamente aos alimentos, mas sua atividade pode ser inibida ou reduzida por substâncias do próprio alimento (QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Por exemplo, emulsificantes e ácidos graxos no leite interagem com a nisina¹, reduzindo sua atividade antibacteriana (JUNG et al., 1992).

¹ Antimicrobiano da classe das bacteriocinas (ver Capítulo 5).

Além disso, na maioria dos alimentos frescos ou processados, a contaminação microbiana ocorre predominantemente na superfície, requerendo, assim, um controle efetivo do crescimento microbiano nesse local (PADGETT et al., 1998). Nesses casos, o emprego de filmes antimicrobianos pode ser mais eficiente do que o uso direto de agentes antimicrobianos no alimento, pois o agente migra seletiva e gradualmente da embalagem para a superfície do alimento, onde mantém-se em concentração necessária para inibir o desenvolvimento de microrganismos (OUATTARA et al., 2000).

Alguns estudos já indicaram que a adição de ácido sórbico e seus sais a matrizes de filmes comestíveis foi mais efetiva contra o crescimento microbiano do que a adição dos antimicrobianos diretamente sobre o alimento (GUILBERT et al., 1997; VOJDANI; TORRES, 1989). Ou seja, o uso de embalagens antimicrobianas é mais eficiente, por apresentar uma migração lenta do agente antimicrobiano para o alimento, ajudando a manter a concentração adequada onde ela é requerida e, portanto, sua atividade sobre o produto, estendendo, assim, sua vida de prateleira.

Filmes incorporados com agentes antimicrobianos devem atender aos seguintes requisitos:

- Ser efetivos contra um largo espectro de microrganismos.
- Ser eficientes em baixas concentrações dos aditivos incorporados.
- Não causar alterações sensoriais no produto.
- Ter custo compatível.
- Atender à legislação vigente.

Os maiores desafios dessa tecnologia têm sido:

- A estabilidade térmica.
- A eficácia em baixas temperaturas.
- O atendimento às exigências legais.

Por sua vez, quando os agentes antimicrobianos são incorporados ao material de embalagem, as propriedades físicas e mecânicas dos filmes podem ser prejudicadas, sendo que os efeitos variam para cada combinação antimicrobiano-polímero. Limjaroen et al. (2003) registraram prejuízo às propriedades mecânicas e de barreira de filmes de

copolímero de cloreto de polivinila e cloreto de polivinilideno, quando incorporados com ácido sórbico, sorbato de potássio ou nisina.

Os filmes antimicrobianos têm sido desenvolvidos para serem usados em produtos de panificação, queijo, frutas, peixes, carnes, entre outros. Cada um desses produtos tem mecanismos distintos de deterioração, que devem ser considerados para definição da embalagem ativa adequada ao produto acondicionado.

Os agentes antimicrobianos presentes nas embalagens podem controlar a contaminação microbiana nos alimentos, mediante três mecanismos (QUINTAVALLA; VICINI, 2002):

- Redução da taxa de crescimento dos microrganismos.
- Prolongamento da fase *lag*.
- Inativação por contato.

Os antimicrobianos mais usados são os ácidos orgânicos, como o sórbico, propiônico, benzoico e seus sais (QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Bacteriocinas, como nisina e pediocina, têm sido também usadas (SEBTI; COMA, 2002). Algumas enzimas podem ser utilizadas, como a peroxidase e a lisozima, esta última para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas (PADGET et al., 1998). Existem ainda polissacarídeos com propriedades antimicrobianas naturais, como a quitosana (DEBEAUFORT et al., 1998), além de agentes quelantes, como EDTA e alguns metais.

Os agentes antimicrobianos podem apresentar-se de várias formas em embalagens antimicrobianas:

- Contidos em sachês (no interior de embalagens).
- Incorporados diretamente ao polímero.
- Adsorvidos na superfície do polímero.
- Imobilizados no polímero por ligações iônicas ou covalentes.
- Na forma de polímeros com atividade antimicrobiana.

Um fator de fundamental importância é a temperatura de processamento à qual o filme antimicrobiano será submetido, uma vez que o agente antimicrobiano pode não manter sua atividade após tratamento a alta temperatura e pressão. Os antimicrobianos podem ser adicionados aos polímeros por fusão ou solubilização do composto na matriz. Pelo fato de muitos antimicrobianos serem sensíveis ao calor, o método por solubilização é o mais indicado (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

Por exemplo, para evitar a desnaturação da lisozima, Appendini e Hotchkiss (1997) usaram o método de solubilização para sua incorporação em filmes à base de ésteres de celulose. Mesmo as bacteriocinas, embora relativamente resistentes ao calor, mantêm-se mais ativas quando não se usam altas temperaturas. A atividade da nisina em filmes em que sua incorporação foi feita por solubilização, em solventes, é maior que em filmes processados sob maiores temperaturas e pressões (CHA et al., 2001).

Compostos hidrofóbicos são frequentemente adicionados a matrizes poliméricas hidrofílicas, para melhorar as propriedades de barreira do polímero a vapor de água. No entanto, no caso de filmes antimicrobianos, a difusão dos antimicrobianos nas matrizes poliméricas pode ser reduzida pela adição de compostos hidrofóbicos, o que reduz a atividade antimicrobiana.

Isso ocorre porque os antimicrobianos geralmente são hidrofóbicos, com alta afinidade por qualquer componente hidrofóbico adicionado à formulação do filme. Redl et al. (1997) demonstraram que a adição de cera de abelha e acetilmonglicerídeos em filmes de glúten de trigo reduziu a difusão do ácido sôrbico.

Efeito similar foi observado por Vojdani e Torres (1990), em filmes à base de metilcelulose e hidroxipropilmetylcelulose, nos quais a adição de ácidos graxos diminuiu a liberação do sorbato de potássio. Ouattara et al. (2000) observaram que a taxa de liberação de ácido acético de filmes de quitosana foi menor quando foi adicionado ácido laurico. A liberação de nisina também foi restrita pela presença de ácido esteárico (SEBTI; COMA, 2002).

Do ponto de vista de segurança do alimento, as substâncias antimicrobianas usadas no desenvolvimento das embalagens ativas devem ser aprovadas para contato com alimentos, ou seja, devem ser substâncias Gras (geralmente reconhecidas como seguras). Os antimicrobianos devem ser inseridos às embalagens, de tal forma que a concentração liberada para o alimento seja a permitida pelas normas vigentes.

A quitosana tem sido muito usada em embalagem antimicrobiana, porque, além de apresentar boas propriedades formadoras de filmes, possui ação bactericida e fungicida. Em fungos, a quitosana pode produzir alterações na permeabilidade da membrana, por interação com

sua superfície eletronegativa, levando a distúrbios metabólicos e morte celular (FANG et al., 1994).

Segundo Muzzarelli et al. (1990), a atividade da quitosana sobre bactérias deve-se à natureza policatônica da molécula de quitosana, que permite a interação e a formação de complexos polieletrolitos com polímeros ácidos (lipopolissacarídeos, ácido teicoico e teicurônico) produzidos na superfície da bactéria.

Absorvedores de etileno

No mercado brasileiro de frutas e hortaliças, os altos índices de perdas apontam para a necessidade de sistemas adequados de transporte e acondicionamento desses produtos. Diferentemente de outros alimentos, esses produtos continuam respirando após a colheita e durante o transporte e a comercialização.

Além de proteção mecânica, as tecnologias envolvidas no desenvolvimento de embalagem para frutas e hortaliças visam a retardar a respiração, o amadurecimento, a senescência e, consequentemente, todas as alterações indesejáveis advindas desses processos fisiológicos.

A conservação da qualidade de um produto vegetal, associada às diferentes práticas de produção, é um dos principais objetivos técnicos para comercialização de frutas e hortaliças. Para alcançar tal objetivo, deve-se reduzir a atividade metabólica do produto.

Entre as várias práticas de manejo empregadas para controle do amadurecimento e prolongar a vida pós-colheita de frutos climatéricos, destacam-se as estratégias para manipulação da síntese e ação do etileno, hormônio natural do amadurecimento, que marca a transição entre as fases de crescimento e senescência do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

O etileno (C_2H_4) é um composto liberado durante o metabolismo das frutas climatéricas, e atua como hormônio vegetal, com diferentes efeitos fisiológicos em frutas e hortaliças frescas, acelerando a respiração, a maturação e a senescência do vegetal. O controle dos níveis desse composto tem sido indicado para aumentar a estabilidade de vegetais, o que pode ser alcançado por meio de remoção do etileno por algum agente oxidante, como KM_nO_4 (permanganato de potássio),

geralmente incorporado ao sistema na forma de sachês com alta permeabilidade ao etileno, ou encapsulado na estrutura dos filmes de embalagens.

Os absorvedores de etileno, como $KMnO_4$ -amargosite, sílica gel permanganato de potássio absorvem e oxidam o etileno liberado por frutos, ao longo da maturação. O mecanismo de ação baseia-se no poder oxidativo do permanganato de potássio, que oxida o etileno a ácido acético.

O permanganato tem a coloração púrpura e, quando reduzido, torna-se marrom, sendo a cor indicativa da capacidade do absorvedor. Contudo, esses absorvedores não podem entrar em contato com os alimentos devido à sua toxicidade; usam-se então sachês, para evitar a migração do absorvedor e a transferência de cor para o alimento.

Alguns autores têm evidenciado o benefício dos absorvedores de etileno em vegetais. Lin e Zhang (1993) e Jiang et al. (1997) constataram que embalagens de PVC contendo absorvedores de etileno, $KMnO_4$ -amargosite e $KMnO_4$, foram mais eficazes em prolongar a conservação pós-colheita de bananas, por proporcionar um pré-climatério mais longo, em relação às embalagens sem os absorvedores.

Morangos embalados com filme de PVC, contendo absorvedor de etileno ($KMnO_4$), armazenados a baixas temperaturas, apresentaram decréscimo na taxa respiratória e aumento da vida de prateleira de 20 para 30 dias, mantendo a relação açúcares/ácidos aceitável para consumo (HAO; HAO, 1993).

Vários compostos têm sido desenvolvidos para bloquear os receptores de etileno e inibir seus efeitos (SISLER et al., 1990). Entretanto, alguns compostos não são aceitáveis, por sua toxicidade. Os ciclopropenos têm sido eficientes antagonistas do etileno, e competem com esse hormônio pelos sítios de ligação nos receptores das membranas (SISLER; SEREK, 1997).

Entre os ciclopropenos mais estudados como inibidores do etileno, destaca-se o 1-metilciclopropeno (1-MCP), que bloqueia a ação do etileno em plantas e frutos armazenados. Esse composto age por meio da fixação preferencial ao receptor de etileno, bloqueando os efeitos do etileno procedente de fontes internas e externas. O 1-MCP é atóxico, potente em concentrações da ordem de $nL\cdot L^{-1}$ (BENASSI et al., 2003), inodoro e com preço competitivo (SELVARAJAH et al., 2001).

São vários os benefícios promovidos pela aplicação de 1-MCP em frutas e em hortaliças. Feng et al. (2000) demonstraram que o tratamento com 1-MCP retardou o amadurecimento de abacates. Almeida et al. (2000) observaram que o 1-MCP retardou o amadurecimento de mangas, promovendo atraso no pico climatérico, redução da taxa respiratória, perda de massa e de firmeza.

Os mesmos autores, trabalhando com 1-MCP em melão Cantaloupe, registraram diminuição da intensidade e atraso nos picos de produção de etileno, com aumento de vida útil dos frutos tratados em relação ao controle. Geralmente, o 1-MCP tem sido usado na conservação de frutas e hortaliças frescas. Além disso, seu uso em embalagens ativas pode tornar-se um promotor da tecnologia de conservação de frutas e hortaliças por processamento mínimo.

Absorvedores de oxigênio

Os esforços para conservar alimentos com absorvedores de O₂ (oxigênio atmosférico), são encontrados na literatura científica desde a década de 1920, quando foi registrado um método de remoção de O₂ por meio de substâncias facilmente oxidáveis (NAKAMURA; HOSHINO, 1983). A primeira patente de um absorvedor foi concedida em 1938, na Finlândia, e foi desenvolvida para remover O₂ residual do espaço livre de embalagens metálicas. Na década de 1960, um método que chegou a ser comercializado foi a introdução de H₂ nas embalagens, para reagir com o O₂ na presença de paládio. Contudo, esse método não se tornou comercial devido à pouca estabilidade dos compostos durante a manipulação e a estocagem, e pelo fato de o H₂ ser caro e nocivo à saúde (ABE; KONDOH, 1989).

Nas últimas décadas, diante do grande interesse pelos absorvedores, inúmeras patentes têm sido registradas, incluindo métodos baseados na oxidação de um dos seguintes componentes: pó de ferro, ácido ascórbico, polímero fotossensível, enzimas, entre outros (FLOROS et al., 1997; LABUZA; BREENE, 1989; VERMEIREN et al. 1999). Além disso, existem mais de 50 patentes registradas em sistemas poliméricos, nos quais os absorvedores de O₂ são incorporados.

Atualmente, os absorvedores de O₂ são compostos de substâncias quimicamente reativas com O₂ acondicionadas em material

permeável, geralmente na forma de sachê (ABE; KONDOH, 1989; NAKAMURA; HOSHINO, 1983).

Segundo Abbott (2002), a principal vantagem do uso dos absorvedores é sua capacidade de reduzir os níveis de O₂ de um sistema para menos de 0,01%, valor menor do que os tipicamente encontrados (0,3% a 3%) nos sistemas tradicionais de atmosfera modificada, vácuo ou substituição da atmosfera interna por gás inerte.

Assim, esse método tem despertado interesse como nova tecnologia de embalagem para preservar os alimentos, podendo substituir ou complementar as tecnologias empregadas para reduzir o nível de O₂ no interior das embalagens (ABE; KONDOH, 1989; NAKAMURA; HOSHINO, 1983).

A remoção do O₂ do interior das embalagens tem vários efeitos, principalmente a redução ou inibição do crescimento de fungos e de bactérias aeróbias, bem como a redução das taxas de oxidação de vários compostos presentes nos alimentos. Ao prevenir o crescimento de fungos, os absorvedores de O₂ efetivamente contribuem para a ausência de micotoxinas nos produtos acondicionados (ABE; KONDOH, 1989).

Os absorvedores apresentam uma série de vantagens, que têm contribuído para a expansão de sua demanda:

- Fácil utilização.
- Redução do crescimento de microrganismos aeróbios.
- Redução das taxas de oxidação de lipídeos e de compostos de sabor.

Entre as desvantagens, podem ser mencionadas as possibilidades de colapsagem da embalagem (que pode ser evitada pelo uso de um sistema absorvedor de O₂ e gerador de CO₂) e de favorecimento ao crescimento de microrganismos anaeróbios.

No caso de se usar absorvedores na forma de sachês, pode-se ainda citar a necessidade de um fluxo livre de ar em torno do sachê, para melhorar a eficiência sequestrante do O₂ do interior da embalagem (AZEREDO et al., 2000; SMITH et al., 1990, 1995).

Uma das principais causas de deterioração de alimentos é o crescimento de fungos, porque seus esporos geralmente são termorresistentes, e a atividade de água (a_w) necessária para sua sobrevivência

é baixa. A maioria dos fungos é aeróbio estrito, portanto não cresce em ambientes anaeróbios criados pelo uso de absorvedores de O₂. Contudo, alguns fungos, como *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp. e *Cladosporium* spp., apresentam considerável taxa de crescimento em ambientes com apenas 0,2% de O₂ (ABE; KONDOH, 1989; NAKAMURA; HOSHINO, 1983).

Deve-se ressaltar que atmosferas livres de O₂ aliadas a uma $a_w > 0,92$ podem ser apropriadas para o crescimento de alguns microrganismos patogênicos, incluindo-se *Clostridium botulinum*. Assim, o uso de sachês absorvedores de O₂ deve ser combinado com outras técnicas de conservação, como o uso de baixas temperaturas.

A oxidação de gorduras e óleos leva à formação de peróxidos, que são potencialmente nocivos à saúde humana. Esses peróxidos são posteriormente decompostos, formando produtos de odor desagradável, como aldeídos e ácidos carboxílicos de baixo peso molecular. Portanto, a oxidação e a consequente deterioração do alimento, causada pelo O₂, principalmente em produtos estocados sob alta temperatura e/ou expostos à luz (fluorescente ou solar), pode ser prevenida pela ausência desse gás, por meio de sistemas absorvedores de O₂. Esses sistemas podem tornar até mesmo desnecessário o uso de aditivos, como antioxidantes e conservantes químicos (ABE; KONDOH, 1989; NAKAMURA; HOSHINO, 1983).

Para se obter maior efetividade dos absorvedores, algumas condições devem ser observadas, como o uso de embalagens com alta barreira a O₂ (com taxa de permeabilidade a O₂ de no máximo 20 cm³m⁻²atm⁻¹dia⁻¹). A selagem deve ser bem feita, de modo que o O₂ não se difunda através dela. Outro parâmetro importante é a seleção do tipo de absorvedor mais adequado a cada caso, assim como do tamanho (capacidade) a ser usado (NAKAMURA; HOSHINO, 1983).

De acordo com Abbott (2002), os absorvedores podem ser usados sozinhos ou combinados com atmosfera modificada. No caso dessa associação, além da necessidade dos equipamentos para aplicação da atmosfera modificada, ocorre uma diminuição na velocidade do envase. Contudo, essa associação é de uso comum no mercado, para reduzir o O₂ a níveis desejados.

Para se escolher o absorvedor, alguns fatores interrelacionados devem ser considerados. Entre eles, podem-se mencionar (SMITH et al., 1990, 1995):

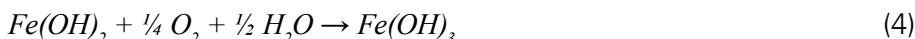
- O estado físico e a atividade de água do alimento.
- A quantidade de O_2 dissolvido.
- A concentração inicial de O_2 no espaço livre.
- A permeabilidade a O_2 da embalagem.

De acordo com Nakamura e Hoshino (1983), os compostos usados como absorvedores não devem gerar gases tóxicos ou odores indesejáveis, nem ser nocivos à saúde humana, pois eles podem contaminar, acidentalmente, o produto. Além disso, devem exibir uma taxa de absorção apropriada para que a redução do nível de O_2 no interior da embalagem ocorra em tempo mínimo.

A estabilidade na estocagem é alcançada por meio do acondicionamento dos sachês, normalmente em filmes de alta barreira a O_2 e sob vácuo. Além disso, esses sachês devem apresentar grande capacidade de absorção e serem comercializados em tamanhos diferentes, em razão dos diferentes tamanhos de embalagens.

Os absorvedores de O_2 comercialmente disponíveis são apresentados em forma de sachês, contendo agentes metálicos redutores, incluindo óxido de ferro em pó, carbonato ferroso e platina metálica. A maioria desses absorvedores de constituição metálica usa o princípio da oxidação do ferro na presença de água (SMITH et al., 1990). Contudo, em ambiente seco, é necessária a adição de um absorvedor de umidade para produzir uma ação eletrolítica necessária para ativar a ação do absorvedor de O_2 .

Segundo Abe e Kondoh (1989), o mecanismo é muito complexo para ser expresso por uma única equação, mas geralmente é representado pelas equações:



De acordo com Shorter (1982), conhecendo-se a taxa de oxidação do produto e de permeabilidade do O₂, torna-se possível calcular a quantidade de ferro requerida para manter o nível de O₂ desejado durante o tempo de estocagem (LABUZA; BREENE, 1989).

Uma preocupação referente aos sachês à base de ferro é com a ingestão accidental desse metal, podendo levar a intoxicação. Assim, Labuza e Breene (1989) empreenderam estudos e constataram, com base na LD50² do ferro (16 g/kg de peso corpóreo) e na quantidade de ferro contida num sachê (7 g), que a dose de ferro presente no sachê é 160 vezes menor que a LD₅₀ para um adulto (70 kg).

O uso de absorvedores de O₂, especialmente na forma de sachês à base de ferro em pó, tem aumentado significativamente a vida de prateleira de produtos de panificação. Nakamura e Hoshino (1983) observaram que o uso de sachês absorvedores de O₂ estenderam em pelo menos dez vezes a vida de prateleira de pães brancos, e em mais de três vezes a de massa para pizza.

Os sachês reduziram, também, a oxidação de gorduras em bolo de arroz, que, ao final de 150 dias, apresentou índice de peróxido cerca de dez vezes inferior ao apresentado após 60 dias pelo controle (estocado em presença de ar). Segundo Abe e Kondoh (1989), bolos de chocolate acondicionados numa embalagem convertida com sachê absorvedor tiveram sua vida de prateleira prolongada para mais de 30 dias de estocagem, enquanto o controle apresentou crescimento de fungos aos 14 dias e sabor indesejado aos 7 dias de estocagem.

Smith et al. (1986), usando *Aspergillus nigere* esporos de *Penicillium* spp., contaminantes comuns em produtos de panificação, observaram que o uso de sachês absorvedores de O₂ foi mais eficiente para aumentar a estabilidade dos produtos de panificação do que o processo de retirada de ar por N (nitrogênio).

Outro método para controlar o nível de O₂ em embalagem de alimentos é o de enzimas oxidativas imobilizadas em superfícies de polímeros usados na fabricação de embalagens. Tanto o polipropileno (PP) quanto o polietileno (PE) são bons substratos para imobilizar enzimas (LABUZA; BREENE, 1989).

² Dose letal mediana (LD50, da sigla inglesa, que significa *Lethal Dosis 50%*), ou seja, dose letal para 50% da população em teste.

A imobilização ocorre por diferentes processos como, por exemplo, adsorção e encapsulamento. As enzimas são imobilizadas ou colocadas em sachês. A difusão do substrato e do produto da reação através do polímero limita o uso desse processo em embalagens de alimentos (LABUZA, 1994).

Devem-se considerar, também, os fatores de inibição das enzimas, como pH, a_w , concentração salina, temperatura e vários outros fatores. Dentre as enzimas potencialmente eficazes, no processo de absorção de O_2 , podem-se citar a glicose oxidase e a etanol oxidase (LABUZA; BREENE, 1989).

A glicose oxidase, uma oxidoredutase, é uma das enzimas mais promissoras para absorção de oxigênio. Por meio da transferência de dois hidrogênios do grupo –CHOH da glicose para o O_2 , ocorre a formação de glucono-delta lactona e peróxido de hidrogênio (Equação 5). A lactona reage, espontaneamente, com água, formando o ácido glucônico.

Um fator negativo desse processo é a presença da enzima catalase, um contaminante naturalmente encontrado na preparação de glicose oxidase, que reage com o peróxido de hidrogênio, formando água e O_2 (Equação 6), diminuindo, assim, a eficiência do sistema (LABUZA; BREENE, 1989; VERMEIREN et al., 1999). Entretanto, como a presença de H_2O_2 não é permitida, a presença da catalase torna-se uma necessidade (BRODY; BUNDY, 1995).



em que:

G = substrato glicose.

GO = produto gluco-delta lactona.

Assim, um mol de glicose reage com um mol de O_2 . Portanto, numa embalagem impermeável com 500 cm³ de espaço livre, apenas 0,0043 mol de glicose (0,78 g) é necessário para se atingir 0% de O_2 . Os fatores que mais influenciam a eficiência enzimática são:

- A velocidade da reação enzimática.
- A quantidade de substrato.
- A taxa de permeabilidade ao O_2 da embalagem.

Outra enzima com potencial de absorção de O₂ é a etanol oxidase, que oxida o etanol a acetaldeído. Essa enzima tem sido exaustivamente estudada por seu uso potencial na detecção de etanol em linhas de gás, essencialmente porque ela pode reagir com o etanol no estado de vapor. Não se tem conhecimento da aplicação dessa enzima na conservação de alimentos, apesar de ser uma enzima de interesse nessa área (LABUZA; BREENE, 1989).

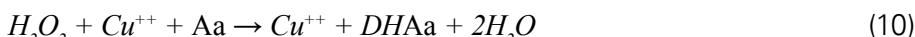
Numa embalagem de 0,4 m² de área, com uma taxa de permeabilidade de 100 cm³/(m².dia.atm) e 1% de O₂ interno, a enzima absorve 80 cm³ de O₂ por dia, sob condições de refrigeração, requerendo para isso 0,0036 mol de etanol. Assim, para 100 dias de vida de prateleira de um produto, aproximadamente 16 g de etanol serão requeridos como substrato, o que pode gerar um odor inaceitável, dentro da embalagem.

Além disso, uma considerável quantidade de acetaldeído será formada, conferindo ao produto odor semelhante ao do iogurte (BRODY; BUNDY, 1995; LABUZA; BREENE, 1989).

O ácido ascórbico é outro composto absorvedor de O₂, cuja ação se baseia na oxidação do ácido ascórbico a dehidroascórbico. Esse tipo de absorvedor tem sido incorporado a vernizes com aplicação para embalagens metálicas no acondicionamento de cerveja. O contato do produto com o verniz diminui ou evita a oxidação dos compostos responsáveis pelo sabor da bebida.

Geralmente, a reação é muito lenta, podendo ser acelerada pela luz ou por um metal de transição, como o cobre. O ácido ascórbico reduz o Cu⁺⁺ a Cu⁺, formando o ácido dehidroascórbico (Equação 7); ocorre então uma transferência de elétrons entre os íons Cu⁺ e o O₂, originando o íon Cu⁺⁺ e o radical superóxido (Equação 8).

Na presença de cobre, o radical superóxido rapidamente leva à formação de O₂ e H₂O₂ (Equação 9). O complexo cobre-ascorbato rapidamente reduz o H₂O₂ a H₂O (Equação 10) sem a formação de OH⁻, um oxidante altamente reativo.



A reação resumida é a seguinte:



em que:

AA = o ácido ascórbico.

$DHAA$ = o dehidroascórbico.

Em produtos sólidos, o sistema absorvedor de O_2 pode ser envasado em sachês colocados dentro da embalagem, ou incorporados a tampas ou ao material de embalagem (VERMEIREN et al., 1999).

Outra técnica de absorção é composta por pequenos discos de filme de etil celulose contendo um composto fotossensível (eritrosina) e um receptor de O_2 singlete (DMA – dimetil antracina ou TPP – tetraperil porfina) dissolvido no filme. Segundo Rooney (1985) a reação entre o ferro e o O_2 em seu estado natural (triplete) é muito lenta, especialmente em temperatura ambiente ou refrigeração. Portanto, quando o O_2 é excitado, formando o oxigênio singlete, a reação ocorre mais rapidamente e os absorvedores atuam com maior eficiência.

O processo fotoquímico está esquematizado nas Equações 12 a 14. A excitação ocorre a partir da incidência de luz em comprimento de onda adequado, que excita as moléculas de eritrosina difusas no polímero. A matriz excitada leva o O_2 do estado triplete para o singlete, que reage com o receptor de elétrons (DMA ou TPP) e o O_2 é absorvido do sistema (ROONEY, 1985).



O sistema Oxibar (*Carnoud-Metal Box*, Inglaterra) envolve a oxidação, catalisada pelo cobalto, de um polímero de *nylon* (MXD-6) incorporado a garrafas de PET (polietileno tereftalato) (ROONEY, 1995).

Segundo Rodgers e Compton (2002), vários polímeros são oxidáveis, podendo ser usados como absorvedores. No entanto, em alguns casos, essa oxidação pode resultar na formação de produtos de degradação, que podem migrar da embalagem para o produto, causando problemas sensoriais. Esses pesquisadores desenvolveram um polímero que se liga quimicamente ao O_2 , sem que haja essa degradação.

Sais de cobalto foram usados como catalisadores, promovendo a formação de radicais livres necessários para iniciar o mecanismo de absorção. Além disso, foi desenvolvido um fotoiniciador, que usa luz ultravioleta (UV) para ativar o sistema absorvedor. Portanto, esse sistema, denominado de OSP (polímero absorvedor de oxigênio), é uma mistura de dois componentes, um polímero e um sistema ativador (fotoinicializador mais catalisador).

O polímero oxidável é o etileno metilacrilato ciclohexanometil acrilato (EMCM), que remove o O₂ residual do espaço livre e o permeado através da embalagem. A indústria de conversão de embalagens prevê o uso do OSP numa estrutura multicamada, sendo aplicado entre uma camada de barreira a O₂, como *nylon* ou PET, e uma camada interna para selagem, como polietileno de baixa densidade (LEONARD et al., 1998).

Segundo Rodgers e Compton (2002) e Rodgers e Solis (2002), no momento do envase, a camada de OSP deve ser exposta à luz UV, por tempo suficiente para que se inicie o mecanismo absorvedor. Esse tempo de indução varia em função da quantidade de catalisador, fotoinicializador, material absorvedor e radiação usada. É importante ressaltar que a velocidade e a capacidade de absorção de O₂, pelos filmes, são consideravelmente menores, quando comparadas aos sachês à base de ferro (DAY, 1998).

Absorvedores de umidade

O acondicionamento de produtos com elevado teor de umidade pode levar ao aumento da umidade relativa (UR) no interior da embalagem, favorecendo o crescimento microbiano, comprometendo as propriedades de barreira do filme, e promovendo uma série de alterações indesejáveis no alimento.

Para prevenir o transporte de umidade e estabelecer a UR desejada no espaço livre da embalagem, novas tecnologias têm sido desenvolvidas no setor de embalagens. Uma das formas de se reduzir os níveis de umidade de um sistema é por meio da incorporação de umectantes (polialcoois e carboidratos) entre duas camadas de um filme plástico, sendo o externo de baixa permeabilidade e o interno de alta permeabilidade à umidade; outra alternativa é usar sachês contendo compostos dessecantes como álcool, propilenoglicol e carboidratos.

O principal objetivo dos controladores de umidade é reduzir a atividade de água dos produtos, aumentando sua estabilidade.

Alguns sistemas absorvedores de umidade, como Thermarite® (Austrália), Toppan® (Japão) ou Pecksorb® (Austrália), consistem de um polímero superabsorvente entre duas camadas de filme. Os polímeros mais indicados para absorver umidade, são os sais de poliacrilato e copolímeros de amido.

A Sha Denko Co., empresa japonesa, desenvolveu um filme (*Pichit film*) com alta permeabilidade a vapor de água e baixa permeabilidade ao umectante (propilenoglicol). Esse filme consiste de uma camada de propilenoglicol envolvida por duas camadas de polivinil álcool, altamente permeável ao vapor de água e de alta barreira ao propilenoglicol. A camada de umectante reage com o vapor de água, que permeia através do filme, mantendo baixa umidade relativa (UR) no interior da embalagem.

Atualmente, no mercado de embalagens de carnes e de peixes, os absorvedores de umidade representam um nicho estratégico. São sachês compostos de polpa de celulose virgem, amido, dentre outros carboidratos. Atuam na retenção do exsudado liberado, mantendo a bandeja limpa. Podem ter sua atividade potencializada quando se combina seu poder de absorção de umidade com um agente antimicrobiano.

Liberadores e absorvedores de sabor e odor

A absorção de sabor de um produto por um polímero (*scalping*) usado numa embalagem pode resultar na perda de sabor e em outras alterações sensoriais no produto. Geralmente, o *scalping* é fator determinante da qualidade dos alimentos, mas também pode ser usado para absorver odores e sabores indesejáveis.

Um exemplo é a embalagem ativa, desenvolvida para reduzir o gosto amargo em suco de toranja ou *grapefruit* (*Citrus paradisi*), efeito atribuído à presença de altos níveis de limonina e naringina. Foi desenvolvida uma embalagem ativa na forma de filme de acetato de celulose, adicionado da enzima naringinase (SOARES; HOTCHKISS, 1998).

Alguns sabores indesejáveis podem desenvolver-se nos alimentos, durante o período de estocagem, levando o consumidor à rejeição do produto. Como exemplo, podem-se mencionar aldeídos resultantes da degradação de peróxidos formados durante a autoxidação de óleos e gorduras, além de aminas, resultantes da degradação proteica em pescados. Assim, um filme para remoção de odores de aminas foi desenvolvido por uma companhia japonesa (a Anico), contendo sais de ferro e ácidos orgânicos, que oxidam aminas.

Alguns sachês comercializados, como Minipax® ou Strippax® são usados para absorver mercaptanas (compostos orgânicos) formadas em alguns alimentos, cuja fórmula é:

R-SH,

em que:

R = radical orgânico.

S = átomo de enxofre.

H = átomo de hidrogênio.

Outro sistema, o Profresh®, foi desenvolvido com o objetivo de manter o frescor, bem como o controle de odores indesejáveis; seu componente ativo, ADI50, é sugerido para absorver etileno, etilálcool, acetato de etila e mercaptanas.

A adição de aromas aos materiais de embalagens pode melhorar a qualidade sensorial dos produtos, pela própria liberação do composto, durante o período de estocagem.

Embalagens comestíveis como sistemas ativos

O uso de embalagens comestíveis vem-se tornando tema de grande interesse, em decorrência do seu potencial para evitar a deterioração dos alimentos por degradação oxidativa e reações respiratórias, melhorando, assim, a qualidade dos alimentos e aumentando sua vida de prateleira (MCHUGH et al., 1996).

As embalagens comestíveis têm múltiplos objetivos, dos quais os mais importantes são (ARVANITOYANNIS et al., 1996):

- Reduzir a perda de umidade.
- Controlar a permeabilidade a gases.
- Controlar a atividade microbiana.
- Preservar a integridade estrutural dos produtos.
- Permitir a liberação controlada de compostos de sabor e de antioxidantes.

A embalagem comestível é definida por dois princípios. Primeiro, comestível implica que os compostos usados na elaboração da embalagem devem ser seguros para consumo humano. Segundo, a embalagem deve ser feita a partir de um polímero, tipicamente um biopolímero, já que a cadeia longa é necessária para conferir certa insolubilidade e estabilidade à matriz da embalagem em meio aquoso (KLAHORST, 1999).

As embalagens comestíveis são apresentadas de duas formas: filme ou revestimento (cobertura). Frequentemente, os dois termos são usados indistintamente. No entanto, para definição mais clara, o filme é uma fina película formada separadamente do alimento e depois aplicada sobre ele, enquanto o revestimento é uma suspensão ou emulsão aplicada, diretamente, sobre a superfície do alimento (por imersão ou aspersão), ocorrendo então a formação da película sobre o produto (GENNADIOS; WELLER, 1990).

O fino recobrimento sobre o produto alimentício age como barreira aos elementos externos, como umidade, óleo ou vapores orgânicos, protegendo o produto e aumentando sua vida de prateleira (GUILBERT et al., 1996; KLAHORST, 1999; KROCHTA; DeMULDER-JOHNSTON, 1997).

Pesquisas sobre embalagens comestíveis têm-se intensificado, especialmente em função da necessidade de substituição de materiais não biodegradáveis (como os polímeros derivados de petróleo), que causam enorme impacto ambiental negativo. Essas pesquisas têm sido direcionadas a filmes comestíveis à base de biopolímeros, como proteínas e polissacarídeos, que são completamente biodegradados num período curto de tempo, contribuindo sobremaneira para a diminuição da poluição ambiental (GUILBERT et al., 1996).

Dentre os polissacarídeos, o amido é o biopolímero natural mais usado na produção de filmes e revestimentos (LAWTON, 1996; MALI

et al., 2002). Outros polissacarídeos usados são os éteres de celulose, solúveis em água e com boas propriedades formadoras de filmes, como a metilcelulose (MC), hidroxipropil celulose (HPC), hidroxipropil metilcelulose (HPMC) e carboximetilcelulose (CMC) (GENNADIOS et al., 1997; PETERSEN, 1999).

Estudos têm sido feitos com quitosana, um polissacarídeo obtido da desacetilação da quitina, que produz filmes claros, consistentes e flexíveis, com boa barreira ao O₂ (oxigênio) (KROCHTA; DeMULDER-JOHNSTON, 1997). Outros polissacarídeos, como alginato, pectina, carragenina, pululana, dentre outros, também têm sido muito pesquisados como base para filmes e revestimentos comestíveis.

Dentre as proteínas, são usadas tanto as de origem animal (colágeno, gelatina, caseína e proteínas do soro de queijo), quanto as de origem vegetal (zeína, derivada do milho, a proteína do glúten de trigo e proteínas da soja) (GENNADIOS; WELLER, 1990; KROCHTA; DeMULDER-JOHNSTON, 1997). As embalagens comestíveis, à base de proteínas, podem ser usadas para dar brilho, ou como impermeabilizantes para sementes, nozes e grãos inteiros (KLAHORST, 1999).

Embora os lipídeos não sejam biopolímeros, podem ser usados como matrizes de revestimentos, especialmente em frutas e hortaliças in natura. Em filmes pré-formados, eles encontram-se presentes apenas quando em combinação com matrizes biopoliméricas. Entre os lipídeos usados, estão a cera de abelha, a parafina, a cera de carnaúba, os óleos minerais e vegetais, os glicerídeos e os acetilglicerídeos (GENNADIOS et al., 1997).

Em função de sua composição, as embalagens comestíveis podem ser classificadas em três categorias:

Hidrocoloidais – São à base de polissacarídeos ou proteínas, com boas propriedades de barreira ao oxigênio, dióxido de carbono e lipídeos; no entanto, por sua natureza hidrofílica, têm baixa resistência ao vapor de água (KROCHTA et al., 1994). Contudo, alguns trabalhos mostraram ser possível produzir filmes e revestimentos comestíveis com taxa de transmissão a vapor de água, similar ou melhor que alguns plásticos convencionais (BUTLER et al., 1996; RINDLAV-WESTLING et al., 1998). Uma embalagem com eficiente barreira ao vapor de água é desejável para conservação de muitos alimentos, como no caso de

produtos frescos ou congelados, evitando a desidratação na superfície (DEBEAUFORT et al., 1998).

Em razão dessa natureza hidrofílica, as embalagens comestíveis hidrocoloidais apresentam boas propriedades de barreira ao O₂ (oxigênio), até melhores que muitas embalagens sintéticas (BUTLER et al., 1996; RINDLAV-WESTLING et al., 1998), o que é desejável, quando se quer baixar a taxa de respiração para retardar o amadurecimento de frutas (DEBEAUFORT et al., 1998; KROCHTA et al., 1994).

Lipídicas – Por sua natureza hidrofóbica, apresentam boas propriedades de barreira ao vapor de água (GUILBERT et al., 1996).

Compostas – Geralmente, são à base de proteínas ou polissacarídeos combinados a lipídeos, em multicamadas ou associados. As embalagens compostas combinam as vantagens de cada componente (KROCHTA et al., 1994).

A eficiência funcional das embalagens comestíveis depende da natureza de seus componentes, da composição e da estrutura do filme. De acordo com a composição, esse tipo de embalagem apresenta diferentes funções. Por isso, sua escolha deve ser feita em função da natureza do produto a ser acondicionado.

As embalagens comestíveis têm muitas aplicações na indústria de alimentos. Na indústria de carnes, têm sido usados revestimentos à base de polissacarídeos para evitar a desidratação superficial de carnes frescas e congeladas (DEBEAUFORT et al., 1998) e para manter a cor desejada em carne bovina (WILLIAMS et al., 1978).

Outra aplicação frequente das embalagens comestíveis é o revestimento de frutas e de hortaliças frescas. Henrique e Cereda (1999) observaram que morangos revestidos com amido de mandioca apresentaram menor perda de peso, maior retenção de cor e aumento da vida de prateleira, em relação ao controle (morangos sem revestimento). Essa técnica tem-se mostrado efetiva (XU et al., 2002):

- Na preservação de frutas e de hortaliças.
- Na manutenção da aparência dos produtos (frescos, firmes brilhantes).
- Na melhoria do valor agregado dos produtos.

Os revestimentos comestíveis também têm sido usados em frutas e em hortaliças minimamente processadas. Nesses produtos,

esse tipo de revestimento promove uma barreira semipermeável aos gases e ao vapor de água, podendo:

- Reduzir a taxa de respiração.
- Evitar a perda de água.
- Melhorar a textura e a integridade mecânica.
- Diminuir as alterações de cor e sabor.
- Reduzir o crescimento microbiano.
- Aumentar a vida de prateleira do produto.

Os revestimentos comestíveis reduzem as trocas de CO₂ e de O₂, criando uma atmosfera modificada com níveis relativamente altos de CO₂ e reduzidos de O₂. Contudo, essa atmosfera não deve criar condições de anaerobiose que permitam crescimento de microrganismos anaeróbios e formação de sabores indesejáveis (BALDWIN et al., 1995).

Estudos conduzidos por Wong et al. (1994) indicaram que revestimentos compostos à base de diferentes polissacarídeos adicionados de acetilmonganoglicerídeos reduziram, substancialmente, as taxas de liberação de CO₂ e etileno de maçãs cortadas em cubos. Avena-Bustillos et al. (1994) observaram que o uso de revestimentos à base de caseinato de sódio/ácido esteárico, em cenouras descascadas, ajudou a manter o teor de umidade e reduziu o esbranquiçamento na superfície do produto, que, segundo Tatsumi et al. (1991), deve-se à desidratação.

Durango et al. (2003) desenvolveram e avaliaram um revestimento comestível à base de amido de inhame, visando seu uso na conservação de cenouras minimamente processadas. Após a estocagem, as cenouras revestidas apresentaram melhor aparência (inclusive maior brilho), maior estabilidade da cor e menor esbranquiçamento, além de menor perda de peso em relação ao controle (cenoura não revestida).

Os mesmos autores desenvolveram, também, um revestimento comestível antimicrobiano à base de amido de inhame e quitosana, para ser usado em cenoura minimamente processada. Após 15 dias de armazenamento a 10 °C, a cenoura revestida apresentou significativas reduções nas contagens microbianas.

Assim, embora os filmes comestíveis ainda não possam substituir totalmente as embalagens sintéticas, eles têm potencial para substituir as embalagens convencionais em muitas aplicações (MALI et al., 2002).

Embalagens inteligentes

As embalagens inteligentes consistem em modernos sistemas de acondicionamento capazes de monitorar as condições do alimento e/ou do ambiente e transmitir informações ao consumidor. Esses sistemas de embalagem consistem de sensores e indicadores baseados em reações químicas, enzimáticas, imunoquímicas ou mecânicas (WILSON, 2007).

São usados para detectar e comunicar informações como histórico de tempo/temperatura, teor de O₂ e CO₂, deterioração da embalagem, frescor e amadurecimento de produtos agrícolas, crescimento microbiano, presença de toxinas e de patógenos específicos.

Alguns exemplos de embalagens inteligentes incluem:

- Indicadores de tempo/temperatura e outros que podem transmitir/emitir um sinal para o consumidor sobre o estado do produto acondicionado ou da embalagem.
- Biosensores para informar o usuário sobre o crescimento microbiano geral ou de determinado microrganismo.
- Códigos de barras para informar sobre reaquecimento ou cozimento do alimento acondicionado.
- Sensores de etileno para monitorar o amadurecimento de frutas frescas.
- Indicadores das concentrações de gases no interior de embalagens, para atmosfera modificada.

Um sensor é definido como um dispositivo usado para detectar, localizar e quantificar a energia ou a matéria, produzindo um sinal para detectar ou medir uma propriedade física ou química para a qual o dispositivo responde. Para se qualificar como um sensor, um dispositivo deve fornecer, continuamente, um sinal.

A maioria dos sensores pode conter duas unidades funcionais básicas: um receptor e um transdutor. No receptor físico ou químico, a informação é transformada em energia, que pode ser medida pelo transdutor, um dispositivo capaz de transformar a energia química ou física (que transporta as informações sobre o produto) num sinal analítico.

Yam et al. (2005) citam que outra área com grande aplicação em embalagens inteligentes é a tecnologia dos biosensores, que são dispositivos compactos analíticos que detectam, registram e transmitem informações em resposta a reações biológicas. Os biosensores consistem de um biorreceptor, para analisar, e de um transdutor para converter os sinais biológicos quantificáveis, fornecendo resposta elétrica.

Biorreceptores são materiais orgânicos como enzimas, antígenos, microrganismos, hormônios e ácidos nucleicos. Os transdutores podem ser operados por mecanismos eletroquímicos, óticos ou calorimétricos, entre outros. Sistemas de embalagens inteligentes, incorporando biosensores, apresentam potencial de alta especificidade e confiabilidade.

Quando a embalagem entra em contato com a bactéria-alvo, um sinal visual alerta o consumidor ou fabricante. Esse sistema tem sido desenvolvido, também, para detectar a perda de frescor do alimento, bem como a presença de contaminantes específicos, como pesticidas, ou indicar modificação genética (KERRY; BUTLER, 2008).

Já os indicadores podem ser definidos como substâncias que indicam a presença, a ausência ou a concentração de uma substância, ou grau de reação entre duas ou mais substâncias pela medida da característica alterada, especialmente cor. Contrastando com os sensores, indicadores não compreendem componentes como receptor e transdutor, e comunicam a informação por meio de mudança visual.

Existem inúmeras formas de indicadores, dentre os quais os indicadores de integridade, de frescor e de tempo/temperatura. Tais sistemas fornecem informação qualitativa ou semiquantitativa por meio de alterações colorimétricas ou comparação com um padrão-referência. Os indicadores têm sido desenvolvidos para testar a integridade das embalagens, pois a causa mais comum de danos em embalagens flexíveis é o rompimento da selagem.

A anexação de um selo indicador e de um sensor à embalagem proporciona um meio para assegurar sua integridade ao longo da cadeia de distribuição. Boa parte desses indicadores se baseia no aumento da concentração de O₂ no interior da embalagem, com exceção, principalmente, daquelas destinadas ao acondicionamento de carne sob atmosfera modificada ou controlada, em que a concentração de O₂ é alta.

Para a maioria dos produtos, os teores de O₂ são baixos (de 0% a 2%) e quando ocorre o rompimento da selagem e/ou da embalagem, a concentração de O₂ aumenta, facilitando a identificação por meio do indicador. Contudo, esses indicadores apresentam desvantagens, como alta sensibilidade e reversibilidade (neste caso, a diminuição dos níveis de O₂ pode ser devida ao consumo do gás para crescimento microbiano).

Os indicadores de frescor dos alimentos proporcionam informação direta sobre sua qualidade. Esses indicadores se baseiam em reações químicas e em crescimento microbiológico no produto acondicionado na embalagem. Eles têm sido desenvolvidos, principalmente, para produtos cárneos, pois nesses produtos surgem diferentes tipos de metabólitos associados ao crescimento e ao metabolismo de microrganismos deteriorantes.

Esses metabólitos da deterioração são dependentes do tipo de produto, dos microrganismos deteriorantes associados, das condições de estocagem e do sistema de acondicionamento. As alterações na concentração de ácidos orgânicos (como L-lático e acético) resultam de mudanças no pH de produtos cárneos, assim como alterações nos teores de etanol, de ácido lático e de ácido acético são indicativos do metabolismo fermentativo de bactérias do ácido lático em carne.

A identificação por radiofrequência (RFID) é um sistema eletrônico que usa tarjas/etiquetas afixadas ao sistema de embalagem, para transmitir diretamente, em tempo real, informações ao usuário. Trata-se de uma tecnologia de identificação automática que oferece benefícios para a produção, a distribuição e a cadeia de consumo. Consiste de uma fina etiqueta e de uma antena dotada de número único ou sequência alfanumérica; a etiqueta responde a sinais recebidos do leitor/antena e os transmite ao leitor/fabricante (HOGAN; KERRY, 2008).

Referências

- ABBOTT, R. **Intelligent paper packaging of unwrapped**. Disponível em: <www.pirapackaging.com>. Acesso em: 15 out 2002.
- ABE, Y.; KONDOH, Y. Oxygen absorbers. In: BRODY, A. L. (Ed.). **Controlled/modified atmosphere/vacuum packaging of foods**. Trumbull: Food and Nutrition Press, 1989. p.149-158.
- ALMEIDA, A. S.; PEREIRA, M. E. C.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MENEZES, J. B. Amadurecimento de manga 'Tommy Atkins' em dois estádios de maturação submetidas à aplicação pós-colheita de 1-MCP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2000, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. CD-ROM.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial film. **Packaging Technology and Science**, Malden, v. 10, p. 271-279, 1997.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 3, p. 113-126, 2002.
- ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part 1. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 31, p. 179-192, 1996.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT JÚNIOR, M. E. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, NL, v. 4, p. 319-329, 1994.
- AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 337-341, 2000.
- BALDWIN, E. A., NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 35-38, 1995.
- BENASSI, G.; CORREA, G. A. S. F.; KLUGE, R. A.; JACOMINO, A. P. Shelf life of custard apple treated with 1-methylcyclopropene: an antagonist to the ethylene action. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 1, p. 115-120, 2003.

- BRODY, A. L.; BUNDY, J. A. Enzyme as active packaging agents. In: ROONEY, M. L. (Ed.). **Active food packaging**. London, GB: Blackie Academic Professional, 1995. p.174-192.
- BUTLER, B. L.; VERGANO, P. J.; TESTIN, R. F.; BUNN, J. M.; WILES, J. L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 5, p. 953-956, 1996.
- CHA, D.; PARK, H.; COOKSEY, K. Preparation and diffusion rate of a nisin incorporated antimicrobial film. In: IFT ANNUAL MEETING TECHNICAL PROGRAM, New Orleans. **Book of abstracts...** Chicago: IFT, 2001, p. 73D-8.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: Esal-Faepe, 1990. 320 p.
- DAY, B. P. F. Active packaging of foods. **CCFRA New Technologies Bulletin**, London, GB, n. 17, 1998. 23p.
- DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow packaging: a review. **Critical Reviews in Food Science**, Cleveland, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.
- DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; BENEVIDES, S.; CARVALHO, M. M.; TEIXEIRA, J.; ANDRADE, N. J. Desenvolvimento e avaliação de um filme comestível antimicrobiano à base de amido de inhame e quitosana In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22., 2003, Florianópolis. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, Florianópolis 2003.
- FANG, S. W.; LI, C. F.; SHIH, D. Y. C. Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied kumquat. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 56, p. 136-140, 1994.
- FENG, X.; APELBAUN, A.; SISLER, E. C.; GOREN, R. Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, NL, v. 20, p. 143-150, 2000.
- FLOROS, J. D.; DOCK, L. L.; HAN, J. H. Active packaging technologies and applications. **Food, Cosmetics and Drug Packaging**, Amsterdam, NL, v. 1, n. 20, p. 10-16, 1997.
- GENNADIOS, A.; HANNA, M. A.; KURTH, L. B. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Zurich, v. 30, n. 4, p. 337-350, 1997.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, Chicago, v. 44, n. 10, p. 63-69, 1990.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, Hants, v. 14, n. 6-7, p. 741-751, 1997.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensmittel Wissenschaft und- Technologie**, Zurich, v. 29, n. 1-2, p. 10-17, 1996.

HAO, H. P.; HAO, L. Study on storing strawberry at a temperature near the freezing point of water. **Journal of Fruit Science**, Philadelphia, v. 10, n. 1, p. 21-24; 1993.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morango (*Fragaria ananassa* Duch) CV IAC Campinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 231-233, 1999.

HOGAN, S. A.; KERRY, J. P. Smart packaging of meat poultry products. In: KERRY, J.; BUTLER, P. [Ed.]. **Smart packaging technologies for fast moving consumer goods**. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd. 2008. p. 33-54.

JIANG, Y. M.; CHEN, F.; LIU, S. X.; LI, Y. Y. B. Effect of pre- and post-harvest treatments on the keeping quality of banana. **Journal of Fruit Science**, Philadelphia, v. 14, n. 2, p. 115-116, 1997.

JUNG, D.; BODYFELT, F. W.; DAESCHEL, M. A. Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *listeria monocytogenes* in fluid milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 2, p. 387-393, 1992.

KERRY, J. P.; BUTLER, P. **Smart packaging technologies for fast moving consumer goods**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2008. 348 p.

KLAHORST, S. J. Credible edible films. **Food product design**: a computer-aided statistical approach, New York, p.1-6, set. 1999.

KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. **Edible coatings and films to improve food quality**. Pennsylvania: Technomic, 1994. 379 p.

KROCHTA, J. M.; DeMULDER-JOHNSTON C. Edible and biodegradable polymer films: challengers and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997.

LABUZA, T. P. **Active packaging for high quality prepared cuisine**. St. Paul: University of Minnesota, 1994. (Technical report).

LABUZA, T. P.; BREENE, W. M. Application of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 13, p. 1-69, 1989.

- LAWTON, J. W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 29, p. 203-208, 1996.
- LEONARD, J. P.; RODGERS, B. D.; SCHMIDT, R. P. GOODRICH, J.; CHING, T. Y.; RUSSELL, K.; ABBOTT, R. **New materials for extended shelf life packaging**. Atlanta: TAPPI-PLC, 1998.
- LIMJAROEN, P.; RYSER, E.; LOCKHART, H.; HARTE, B. Development of a food packaging coating material with antimicrobial properties. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, Lancaster, v. 19, n. 2, p. 95-109, 2003.
- LIN, R. L.; ZHANG, Q. C. Preliminary report on study of treating banana with freshness-preserving agent K_2MnO_4 -amargosite. **Fujian Agricultural Science and Technology**, Fuzhou Shi, v. 3, p. 15-16, 1993.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY N. E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 50, p. 379-386, 2002.
- McHUGH, T. H.; HUXSOLL, C. C.; KROCHTA, J. M. Permeability properties of fruit puree edible films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 1, p. 88-91, 1996.
- MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILIPPINI, O.; GIOVANETTI, E.; BIAGINI, G.; VARALDO, P. R. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 34, n. 10, p. 2019-2023, 1990.
- NAKAMURA, H.; HOSHINO, J. **Techniques for the preservation of food by employment of an oxygen absorber**. Tokyo, JP: Ageless Division, 1983. p.1-45. (Technical information, Mitsubishi Gas Chemical Co.).
- OUATTARA, B.; SIMARD, R.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY R.A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 62, p. 139-148, 2000.
- PADGETT, T.; HAN, L. Y.; DAWSON, P. L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 10, p. 1330-1335, 1998.
- PETERSEN, K.; NIELSEN, P. V.; BERTELSEN, G.; LAWTHON, M.; OLSEN, M. B.; NILSSON, N. H.; MORTENSEN, G. Potential of biobased materials for food packaging. **Food Science and Technology**, London, GB, v. 10, p. 52-68, 1999.
- QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 373-380, 2002.

REDL, A.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Determination of sorbic acid diffusivity in edible wheat gluten and lipid films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p.116, 1997.

RINDLAV-WESTLING, Å.; STADING, M.; HERMANSSON, A-M.; GATENHOLM, P. Structure, barrier and mechanical properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 36, 217-224, 1998.

RODGERS, B. D.; COMPTON, L. **New polymeric oxygen scavenging system for coextruded packaging structures**. Disponível em: <www.cpchem.com>. Acesso em: 17 out. 2002.

RODGERS, B. D.; SOLIS, J. A. **Factors affecting the performance of new oxygen scavenging polymer for flexible packaging applications**. Disponível em: <jpf.sagepub.com/content/17/4/339.full.pdf>. Acesso em: 17 out. 2002.

ROONEY, M. L. Active packaging in polymer films. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 74-110.

ROONEY, M. L. Oxygen scavenging from air in packaging headspace by singlet oxygen reaction in polymer media. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, p. 291-294, 298, 1985.

SEBTI, I.; COMA, V. Active edible polysaccharide coating and interactions between solution coating compounds. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 49, p. 139-144, 2002.

SELVARAJAH, S.; BAUCHOT, A. D.; JOHN, P. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, NL, v. 23, p. 167-171, 2001.

SHORTER, A. J. Evaluation of rapid methods for scavenging oxygen in flexible pouches. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Zurich, v. 15, p. 380-381, 1982.

SISLER, E. C.; BLANKENSHIP, S. M.; GUEST, M. Competition of cyclooctenes and cyclooctadienes for ethylene binding and activity in plants. **Plant Growth Regulators**, New York, v. 9, p. 157-164, 1990.

SISLER, E. C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 100, p. 577-582, 1997.

SMITH, J. P.; HOSAHALLI, S.; SIMPSON, B. K. Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 11, p. 111-118, 1990.

- SMITH, J. P.; HOSHINO, J.; ABE, Y. Interactive packaging involving sachet technology. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p.143-173.
- SMITH, J. P.; OORAIKUL, B.; KOERSEN, W. J.; JACKSON, E. D.; LAWRENCE, R. A. Novel approach to oxygen control in modified atmosphere packaging of bakery products. **Food Microbiology**, London, GB, v. 3, p. 315-320, 1986.
- SOARES, N. F. F.; HOTCHKISS, J. H. Naringinase immobilization in packing films for reducing naringin concentration in grapefruit juice. **Journal of Food Science**, Chicago. v. 63, n. 1, p. 61-65, 1998.
- TATSUMI, Y.; WATADA, A. E.; WERGIN, W. P. Scanning electron microscopy of carrots stick surface to determine cause of white translucent appearance. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 1357-1359, 1991.
- VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; VAN BEEST, M.; KRUIJF, N.; DEBEVERE, J. Development in the active packaging of food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 77-86, 1999.
- VOJDANI, F.; TORRES, A. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose multi-layers films. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 13, p. 417-430, 1989.
- VOJDANI, F.; TORRES, A. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: effect of fatty acids. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 3, p. 841-846, 1990.
- WILLIAMS, S. K.; OBLINGER, J. I.; WEST, R. I. Evaluation of calcium alginate films for use on beef cuts. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 292, 1978.
- WILSON, C. L. **Intelligent and active packaging for fruits and vegetables**. Boca Raton: CRC Press, 2007. 358 p.
- WONG, D. W. S.; TILLIN, S. J.; HUDSON, J. S.; PAVLATH, A. E. Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 42, n. 10, p. 2278-2285, 1994.
- XU, S.; XU, L. D.; CHEN, X. Determining optimum edible films for kiwifruits using an analytical hierarchy process. **Computers & Operations Research**, New York, v. 908, p. 1-9, 2002.
- YAM, K. L.; TAKHISTOV, P. T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, p. 1-10, 2005.

Capítulo 9

Aplicação da nanotecnologia em embalagens de alimentos

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Roselayne Ferro Furtado

Morsyleide de Freitas Rosa

Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Introdução

Todos os sistemas biológicos têm seu primeiro nível de organização na nanoescala. O conceito de nanotecnologia foi introduzido por Richard Feynman em 1959, num encontro promovido pela American Physical Society (KHADEM-HOSSEINI; LANGER, 2006), sendo considerado um campo multidisciplinar da ciência, com grande potencial de aplicação tecnológica.

A nanotecnologia pode ser definida como a aplicação do conhecimento científico em trabalhos associados à nanoescala (1 nm a 100 nm), para se entender, criar, caracterizar e manipular estruturas e sistemas que apresentem novas propriedades derivadas de suas nanoestruturas (ROCO, 2003).

As técnicas empregadas na nanotecnologia permitem imitar a natureza tanto na montagem de moléculas (*bottom-up*) para formar novos compostos químicos ou nanoestruturas, quanto na desmontagem de produtos macro ou microscópicos (*top-down*) até o nível nanométrico (ROCO, 2003).

Na área de embalagens de alimentos, existe uma vasta gama de aplicações da nanotecnologia. Entre essas aplicações, muitas favorecem, diretamente, a estabilidade dos alimentos acondicionados, como as que envolvem sistemas de embalagens ativas. Outras aplicações têm efeitos indiretos, uma vez que melhoram o desempenho dos materiais (especialmente as propriedades mecânicas e de barreira), aumentando o grau de proteção conferido pelo sistema de embalagem. É o caso das aplicações que envolvem materiais de reforço nanométricos, especialmente indicados para melhorar o desempenho físico-mecânico de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis, contribuindo para a utilização de materiais de embalagem ambientalmente corretos.

A seguir, são relatadas as principais aplicações da nanotecnologia em embalagens de alimentos. Muitos materiais serão apresentados segundo suas funções e aplicações principais. No entanto, vale ressaltar que alguns desses materiais têm aplicações que podem se sobrepor, como no caso de enzimas imobilizadas que podem agir como compostos antimicrobianos, absorvedores de O₂ (oxigênio) e/ou biossensores.

Nanopartículas como materiais de reforço

Um compósito é um material derivado da combinação de dois ou mais componentes, havendo sempre um componente matricial (contínuo) e uma carga (descontínua), que pode ter função estrutural, para se obter propriedades específicas desejadas, geralmente distintas das propriedades de cada um dos componentes individuais.

No caso do componente estrutural, que age como reforço, aumentando a resistência do material, a matriz transfere a solicitação mecânica (tensão) para o componente estrutural através da interface matriz/carga de reforço. O desenvolvimento de compósitos tem possibilitado novas aplicações para vários polímeros, melhorando não apenas suas propriedades, mas também a relação custo/benefício dos materiais (SORRENTINO et al., 2007).

Muitos compósitos apresentam baixa interação/adesão na interface entre seus componentes, o que compromete seu desempenho. No entanto, esses problemas de interação são reduzidos com o aumento da afinidade matriz/reforço e/ou com o aumento da relação área superficial/volume do material de reforço (LUDUEÑA et al., 2007).

O uso de materiais de reforço – com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica (nanopartículas) – produz os nanocompósitos (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000). Como as nanopartículas dispõem de alta área superficial específica, a dispersão uniforme numa matriz resulta em grande área interfacial entre ambos os componentes, alterando a mobilidade molecular e as propriedades térmicas e mecânicas do material.

As nanopartículas apresentam-se sob várias formas (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000):

Esféricas – Com três dimensões na escala nanométrica.

Bastões (nanotubos e nanofibras) – Estruturas elongadas, com duas dimensões na nanoescala e uma terceira, que pode ter mais de 100 nm.

Lamelas (placas) – É o caso das nanoargilas, que têm apenas a espessura na dimensão nanométrica.

Materiais de reforço com alta razão de aspecto, ou seja, alta relação entre a maior e a menor dimensão, são especialmente eficientes, por causa de sua alta área superficial específica (DALMAS et al., 2007).

Além dos efeitos das nanopartículas por si só, a interface que circunda cada nanopartícula afeta também as propriedades do material, já que é uma região de possibilidade de contato e adesão com a matriz (QIAO; BRINSON, 2009). Para um mesmo teor de nanopartículas, uma redução nas dimensões de cada partícula aumenta seu número e sua área superficial específica, favorecendo assim o efeito de reforço (JORDAN et al., 2005).

Materiais à base de nanoargilas

As nanoargilas

As nanoargilas têm sido a classe de nanomateriais mais estudada, graças à sua alta disponibilidade, baixo custo, bom desempenho e boa processabilidade. O conceito de nanocompósitos, entre polímeros e argilas (silicatos lamelares), foi introduzido no final da década de 1980, quando a Toyota lançou carros com autopeças formadas por nanocompósitos (COLLISTER, 2002). Após cerca de 1 década, iniciaram-se as publicações sobre o uso de nanocompósitos polímeros/argilas para embalagens de alimentos (RAY et al., 2006).

Geralmente, as argilas usadas em nanocompósitos consistem de placas bidimensionais, com baixíssima espessura (frequentemente 1 nm) e vários micrômetros de comprimento. Atualmente, as nanoargilas são as nanopartículas mais usadas na área de embalagem de alimentos, respondendo por cerca de 70% do mercado (OBSERVATORY NANO, 2009).

A argila mais estudada é a montmorilonita (MMT), cuja fórmula química geral é $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$. Essa argila pertence ao grupo dos filossilicatos 2:1, cujas placas são caracterizadas por estruturas constituídas por duas camadas de tetraedros de sílica, “recheadas” com uma folha central com octaedros de alumina. As camadas são unidas, entre si, por átomos de oxigênio comuns a duas camadas vizinhas (PAIVA et al., 2008).

O empilhamento das placas é regido por forças eletrostáticas. Esse tipo de argila se caracteriza por uma moderada carga negativa superficial (capacidade de troca de cátions), importante para definir o espaçamento das camadas (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000). A MMT é

um excelente material de reforço, graças à sua alta área superficial e alta razão de aspecto, que varia de 50 a 1000 (UYAMA et al., 2003).

Compósitos poliméricos com argilas

Em compósitos convencionais (microcompósitos), o polímero e as camadas de argila geralmente permanecem imiscíveis, Figura 1a, o que resulta em aglomeração da argila e propriedades mecânicas pobres (ALEXANDRE et al., 2009; LUDUEÑA et al., 2007). Além disso, as interações entre polímeros e nanoargilas produzem dois tipos de nanocompósitos:

Intercalados – Resultam da penetração de cadeias poliméricas entre as camadas de argila, resultando numa estrutura multicamada ordenada e uniforme, com camadas de polímero alternadas com camadas de argila a distâncias de poucos nanômetros, Figura 1b, (WEISS et al., 2006).

Esfoliados – Caracterizados por uma dispersão aleatória da argila na matriz polimérica, Figura 1c, (LUDUEÑA et al., 2007). Geralmente, apresentam melhores propriedades que os intercalados, por causa da ótima interação argila/polímero e melhor dispersão da argila (ADAME; BEALL, 2009; ALEXANDRE et al., 2009; OSMAN et al., 2005).

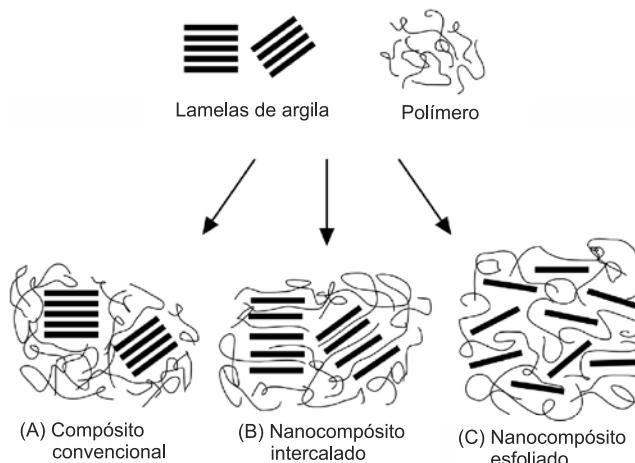


Figura 1. Tipos de compósitos derivados da interação argila/polímero.

Fonte: Alexandre e Dubois (2000).

Funcionalização de nanoargilas

A alta polaridade da superfície da maioria das argilas compromete sua dispersão homogênea em polímeros orgânicos de baixa polaridade (como as poliolefinas), o que tem sido contornado com técnicas de organofiliação usadas para produzir argilas funcionalizadas com compostos orgânicos (KIM et al., 2003b).

Uma organofiliação adequada melhora a compatibilidade das argilas com polímeros orgânicos, sendo importante para garantir uma boa esfoliação e dispersão nas matrizes poliméricas. Com isso, o processo aumenta o espaçamento entre camadas, facilitando a intercalação das cadeias poliméricas (PAIVA et al., 2008).

Organomontmorilonitas (oMMT) têm sido produzidas, pela troca de cátions inorgânicos de MMT com cátions amônio (OSMAN et al., 2003; PAUL et al., 2003), o que melhora a distribuição das camadas na matriz polimérica e reduz a absorção de água pelos nanocompósitos (PICARD et al., 2007).

Para organofiliação de argilas, os compostos mais usados são os sais quaternários de amônio de cadeias longas. O tipo de sal a ser usado na modificação é definido em função da polaridade do polímero ao qual a argila será aplicada, uma vez que ele afeta a polaridade e, consequentemente, a afinidade da argila por diferentes matrizes poliméricas (PAIVA et al., 2008).

Também podem-se usar surfactantes para melhorar a dispersibilidade da argila. Osman et al. (2005) usaram copolímeros anfifílicos de polietileno, para melhorar a dispersão de oMMT numa matriz de polietileno. O aumento do espaçamento entre as camadas de argila, pelos surfactantes, variou em função do número de unidades polares na molécula do copolímero.

Efeitos das nanoargilas

Como as argilas constituem uma boa barreira a gases e umidade, sua presença em compósitos poliméricos resulta em excelentes propriedades de barreira a gases (ADAME; BEALL, 2009; BHARADWAJ et al., 2002; MIRZADEH; KOKABI, 2007). As teorias mais conhecidas para explicar a melhoria das propriedades de barreira de polímeros,

pela adição de argilas, são baseadas num modelo proposto por Nielsen (1967), que se baseia no caminho tortuoso em torno das placas de argila (Figura 2), forçando os permeantes a percorrer um caminho mais longo para se difundir através do material.

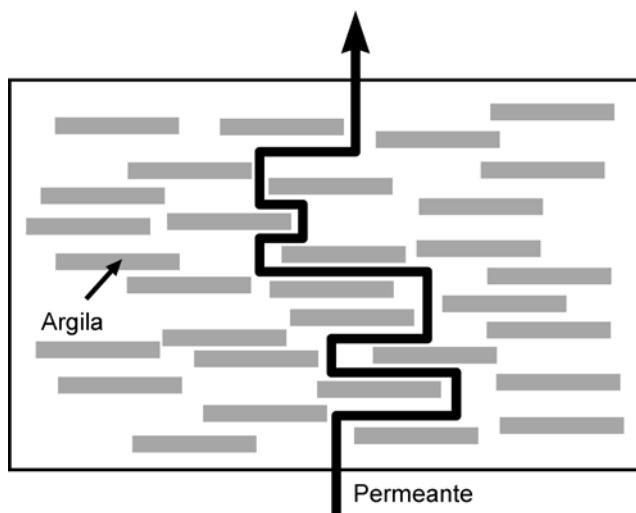


Figura 2. Caminho tortuoso de um gás permeante num nanocompósito polímero/argila.

Fonte: adaptado de Adame e Beall (2009).

O aumento do caminho percorrido pelo permeante é função da fração volumétrica ocupada pela argila no material e de sua razão de aspecto. Esse modelo prediz, com boa precisão, a permeabilidade de sistemas com menos de 1% de argila, mas para concentrações maiores, especialmente para polímeros amorfos, há desvios significativos dos dados experimentais em relação aos valores preditos (ADAME; BEALL, 2009).

Um modelo proposto por Beall (2000) considera a interface polímero/argila como um fator adicional para definir a permeabilidade dos nanocompósitos. Segundo esse modelo, que envolve a aplicação de um fator de correção ao modelo de Nielsen, existe uma região na interface polímero/argila que pode se estender de 50 nm a 100 nm da superfície da argila como uma interfase, que tem menor coeficiente de difusão que o polímero puro.

Além de melhorar as propriedades de barreira, as argilas têm outros efeitos que favorecem o desempenho de polímeros e tornam seu uso mais viável, como a melhoria das propriedades mecânicas (PARK et al., 2003; WEISS et al., 2006), o aumento da temperatura de transição vítrea (PETERSSON; OKSMAN, 2006a; YU et al., 2003) e da temperatura de degradação (CYRAS et al., 2008; PAUL et al., 2003; YU et al., 2003). Uma das poucas desvantagens do uso de argilas é a redução da transparência (YU et al., 2003).

Materiais à base de nanocelulose

Nanoestruturas à base de celulose

A celulose é o polímero natural mais abundante e o principal constituinte estruturante das fibras vegetais, conferindo-lhes estabilidade e resistência. As nanoestruturas de celulose têm baixo custo, são ambientalmente corretas e exibem características mecânicas excepcionais, o que as torna uma das mais atraentes classes de materiais para elaboração de nanocompósitos (HELBERT et al., 1996; PODSIADLO et al., 2005).

As cadeias de celulose são sintetizadas nos organismos, formando microfibrilas (ou nanofibras), que são feixes de moléculas alongadas e estabilizadas por meio de ligações de hidrogênio (AZIZI SAMIR et al., 2005; MATTOSO et al., 2009; WANG; SAIN, 2007). As microfibrilas (Figura 3) têm diâmetros de 2 nm a 20 nm (dependendo da origem), e comprimentos geralmente micrométricos (AZIZI SAMIR et al., 2005; OKSMAN et al., 2006).

Cada microfibrila, formada por agregação de fibrilas elementares, é constituída de partes cristalinas e amorfas. As partes cristalinas – que podem ser isoladas por vários tratamentos – são os nanocristais (*whiskers*), com até 20 nm de diâmetro e centenas a milhares de nanômetros de comprimento (AZIZI SAMIR et al., 2004; DUJARDIN et al., 2003; LIMA; BORSALI, 2004), apresentando, altas razões de aspecto. Cada microfibrila pode ser considerada como um colar de nanocristais ligados entre si, por domínios amorfos (que agem como defeitos estruturais).

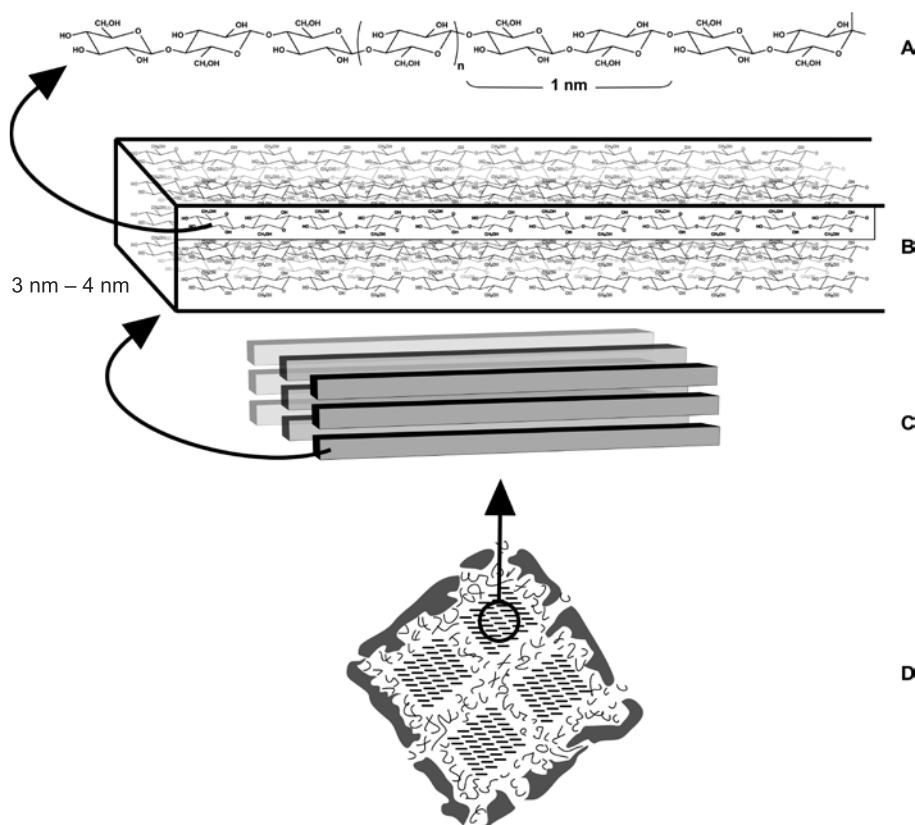


Figura 3. Estrutura interna de uma microfibrila de celulose: cadeia de celulose (A); fibrila elementar contendo feixes de cadeias de celulose (B); fibrilas elementares paralelas (C); quatro microfibrilas unidas por hemicelulose e lignina (D).

Fonte: adaptado de Ramos (2003).

O método mais comum para se obter nanocristais é a hidrólise ácida, que remove as regiões amorfas e conserva as porções cristalinas. Após hidrólise, as dimensões dos nanocristais dependem das condições de processo e da fonte de fibra celulósica da qual os nanocristais foram extraídos (GARDNER et al., 2008). A celulose microcristalina (CMC), semelhante aos nanocristais, é formada por partículas de celulose hidrolisada, consistindo de nanocristais juntamente com algumas áreas amorfas (PETERSSON; OKSMAN, 2006a).

Algumas espécies de bactérias produzem celulose com diâmetros já na faixa nanométrica, mesmo sem qualquer processamento (SUN et al., 2007), o que tem feito com que a celulose bacteriana seja o material de escolha para elaboração de nanocompósitos, por várias equipes de pesquisa (BROWN; LABORIE, 2007; DAMMSTRÖM et al., 2005; KIM et al., 2009; YANO et al., 2008).

Efeitos das nanofibras de celulose

As nanoestruturas de celulose, mencionadas genericamente como nanofibras de celulose (NFC), têm grande efeito sobre o módulo de elasticidade de matrizes poliméricas (BHATNAGAR; SAIN, 2005; HELBERT et al., 1996; WU et al., 2007). Segundo Helbert et al. (1996), tal efeito se deve não apenas à geometria e à rigidez das NFCs, mas também à formação de uma rede de nanofibras na matriz polimérica, ligadas, entre si, provavelmente por ligações de hidrogênio (H).

Zimmermann et al. (2004) observaram que até 5% de NFC não surtiram efeito significativo sobre as propriedades mecânicas de compostos de álcool polivinílico (PVA), e sugeriram que um teor mínimo de nanofibras seja provavelmente necessário para induzir interações significativas entre as nanofibras, resultando na formação de uma rede.

Também não há consenso a respeito do efeito de NFC sobre a elongação dos compósitos. Alguns estudos indicam que as nanofibras comprometem a elongação de biopolímeros (LU et al., 2005; KIM et al., 2009; TANG; LIU, 2008), enquanto outros sugerem que a elongação de alguns materiais não é afetada (IWATAKE et al., 2008) ou até mesmo melhorada pela adição de NFC (PETERSSON; OKSMAN, 2006b; ZIMMERMANN et al., 2004).

Wu et al. (2007) observaram que as dimensões das fibras de celulose determinaram seu efeito sobre a elongação de poliuretano; a elongação foi melhorada pela adição de nanofibras, e reduzida pela inserção de fibras com diâmetros na escala micrométrica. Essas diferenças – entre os resultados obtidos para elongação de materiais – provavelmente estão relacionadas a diferentes graus de interação matriz/celulose.

Materiais à base de amido têm sido estudados para agregar biodegradabilidade a sistemas compostos por polímeros derivados de petróleo, ou para serem aplicados na elaboração de materiais totalmente biodegradáveis. Entretanto, o aproveitamento do amido é limitado por sua característica quebradiça, a qual requer o uso de plastificantes que melhoram sua flexibilidade, mas comprometem as demais propriedades mecânicas e de barreira.

A adição de nanocristais de celulose a materiais à base de amido melhora suas propriedades termomecânicas e reduz a sensibilidade do material à umidade, que é outra limitação do amido, mantendo sua biodegradabilidade (LIMA; BORSALI, 2004). A absorção de água varia inversamente com a concentração de nanocristais de celulose (DUFRESNE et al., 2000; DUFRESNE; VIGNON, 1998; 2000; LU et al., 2005).

A redução da característica quebradiça do amido, pela adição de nanocristais, observada por Dufresne e Vignon (1998), parece ter relação com o efeito de transcrystalização, descrito por Hulleman et al. (1996) como a orientação dos cristais de uma matriz semicristalina perpendicularmente às nanofibras de celulose.

Alguns estudos indicam que a barreira de filmes poliméricos à umidade também é melhorada com NFC (PARALIKAR et al., 2008; SANCHEZ-GARCIA et al., 2008; SVAGAN et al., 2009). Segundo Sanchez-Garcia et al. (2008), acredita-se que esse efeito decorra do aumento da tortuosidade do caminho a ser percorrido pelos permeantes, como foi mencionado, anteriormente, com referência às nanoargilas. Assim, quanto mais impermeável for a nanoestrutura, melhor será a barreira, que também é favorecida por boa dispersão na matriz e por alta razão de aspecto (LAGARON et al., 2004).

As NFCs também podem melhorar a estabilidade térmica de alguns polímeros (HELBERT et al., 1996; OKSMAN et al., 2006; PETERSSON et al., 2007), ao passo que os registros dos seus efeitos sobre a transição vítreia (T_g) de polímeros têm se mostrado controversos.

Alguns estudos indicam que a T_g tem relação direta com a concentração de NFC na matriz (ALEMDAR; SAIN, 2008; ANGLÈS; DUFRESNE 2000), enquanto outros indicam que essa relação é inconsistente (AZIZI SAMIR et al., 2004; MATHEW; DUFRESNE 2002; SANCHEZ-GARCIA et al., 2008) ou insignificante (AZIZI SAMIR et al., 2004).

Outros materiais de reforço

Os nanotubos de carbono (NTC), que podem consistir de tubos com espessura de um único átomo de carbono (nanotubos de carbono de parede simples, NTCPS) ou de vários tubos concêntricos (nanotubos de carbono de paredes múltiplas, NTCPM), têm razões de aspecto altíssimas e podem conferir excelentes propriedades mecânicas a matrizes poliméricas (ZHOU et al., 2004).

Vários estudos têm indicado os benefícios da adição de NTC sobre as propriedades mecânicas de polímeros derivados de petróleo de uso comum em embalagem de alimentos, como polipropileno (LÓPEZ MANCHADO et al., 2005) e poliamida (ZENG et al., 2006).

Nanopartículas de sílica também têm sido usadas para melhoria das propriedades mecânicas (JIA et al., 2007; TANG et al., 2008; WU et al., 2002; XIONG et al., 2008) e de barreira (VLADIMIROV et al., 2006) de diferentes matrizes poliméricas, além de aumentarem a resistência de matrizes de amido à umidade (TANG et al., 2008; XIONG et al., 2008). Outros nanomateriais têm sido associados à melhoria das propriedades mecânicas de polímeros, como nanocristais de amido (KRISTO; BILIADERIS, 2007), nanocristais de quitina (LU et al., 2004) e nanopartículas de quitosana (De MOURA et al., 2009).

Filmes nanocompósitos ativos

Filmes antimicrobianos

Nanopartículas têm maior relação superfície/volume quando comparadas às partículas correspondentes com maiores dimensões, o que permite aos nanomateriais antimicrobianos atingir maior número de moléculas biológicas, aumentando sua eficiência (LUO; STUTZENBERGER, 2008). Nanomateriais têm sido estudados para inibir crescimento microbiano (CIOFFI et al., 2005), destruir microrganismos (HUANG et al., 2005; KUMAR; MÜNSTEDT, 2005; LIN et al., 2005; QI et al., 2004; STOIMENOV et al., 2002) ou para servir como veículos para antibióticos (GU et al., 2003).

Os filmes nanocompósitos antimicrobianos mais comuns envolvem o uso de nanopartículas de prata (NAg), muito conhecidas por sua

alta eficiência contra ampla gama de microrganismos (LIAU et al., 1997), com alta estabilidade térmica e baixa volatilidade (KUMAR; MÜNSTDÉT, 2005). Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar as propriedades antimicrobianas das NAg (MORONES et al., 2005):

- Adesão à superfície das células.
- Degradação de lipopolissacarídeos.
- Formação de poros nas membranas, aumentando sua permeabilidade (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).
- Penetração nas células bacterianas, danificando o material genético (LI et al., 2008).
- Liberação de íons Ag⁺ por dissolução das NAg.

Segundo Kumar e Münstedt (2005), a atividade antimicrobiana de nanocompósitos com prata depende da liberação de íons Ag⁺, que se ligam a grupos doadores de elétrons em biomoléculas contendo enxofre (S), oxigênio (O) ou nitrogênio (N).

A redução química é o método mais usado para se preparar NAg na forma de dispersões coloidais. A redução de Ag⁺ em meio aquoso produz partículas de prata coloidal, com diâmetros nanométricos (WILEY et al., 2005). Inicialmente, a redução leva à formação de átomos de prata (Ag⁰) e à subsequente formação de agregados oligoméricos, que resulta na formação de NAg (KAPOOR et al., 1994).

As NAg têm-se mostrado eficientes como antimicrobianos (AYMONIER et al., 2002; SON et al., 2006; SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004; TANKHIWALE; BAJPAI, 2009; YU et al., 2007), com efeito melhor que partículas maiores de Ag (AN et al., 2008; KVÍTEK et al., 2008). A atividade antimicrobiana de nanocompósitos de prata tem sido demonstrada em vários estudos.

Damm et al. (2007) observaram que poliamida adicionada de 2% (p/p) de NAg foi efetiva contra *Escherichia coli*, mesmo após imersa em água por 100 dias. An et al. (2008) registraram que um revestimento contendo NAg reduziu o crescimento microbiano e aumentou a vida útil de aspargos.

Além da atividade antimicrobiana, as NAg têm outros efeitos que favorecem o aumento da estabilidade de alimentos. Elas decompõem etileno, aumentando a vida de prateleira de frutas e hortaliças (LI et al.,

2009). Além disso, Mbhele et al. (2003) observaram que as NAg melhoraram as propriedades mecânicas e térmicas de uma matriz de PVA.

Dióxido de titânio (TiO_2) é também amplamente usado como material antimicrobiano photocatalítico (FUJISHIMA et al., 2000). A photocatálise por TiO_2 , que promove peroxidação de fosfolipídios poli-insaturados de membranas celulares microbianas (MANESS et al., 1999), tem sido usada para inativar bactérias patogênicas associadas a alimentos (KIM et al., 2003a, 2005; ROBERTSON et al., 2005). A dopagem com prata aumenta a absorbância do TiO_2 (ANPO et al.; 2001) e melhora sua atividade photocatalítica (PAGE et al.; 2007; REDDY et al.; 2007). Cheng et al. (2006) elaboraram compósitos de cloreto de polivinila (PVC) com nanopartículas TiO_2/Ag^+ , que apresentaram boas propriedades antibacterianas.

Qi et al. (2004) observaram atividade antibacteriana de nanopartículas de quitosana. Segundo esses autores, um possível mecanismo de atividade envolve interações entre a quitosana (com cargas positivas) e as membranas celulares (cargas negativas), aumentando a permeabilidade das membranas, podendo causar ruptura e vazamento de material intracelular. Outros possíveis mecanismos foram propostos por Rabea et al. (2003): quelação de metais, inibindo atividade de enzimas. E, no caso de fungos:

- Penetração nas células.
- Ligação ao DNA.
- Inibição da síntese de RNA.

Nanotubos de carbono (NTC) têm sido apresentados, também, como portadoras de propriedades antibacterianas. Kang et al. (2007) demonstraram que o contato direto com agregados de NTC pode destruir *E. coli*, possivelmente, por causa da sua penetração pelas membranas celulares, causando danos irreversíveis. Entretanto, há estudos que indicam que algumas formas de NTC são também citotóxicas para células humanas, pelo menos quando em contato com a pele (MONTEIRO-RIVIERE et al., 2005; SHVEDOVA et al., 2003) e com os pulmões (WARHEIT et al., 2004).

Por causa da possibilidade de migração, o risco de ingestão de partículas incorporadas a sistemas de embalagem de alimentos deve

ser considerado. Assim, é de extrema importância que se conheçam os eventuais danos à saúde, decorrentes da ingestão de NTC.

Filmes inativadores de oxigênio

A incorporação de inativadores de O₂ em sistemas de embalagem de alimentos é útil para reduzir as taxas de diversas alterações dependentes de O₂, favorecendo assim a estabilidade de vários tipos de alimentos. A atividade photocatalítica do TiO₂ – sob exposição à radiação UV – tem sido particularmente estudada. Xiao-e et al. (2004) desenvolveram filmes nanocompósitos inativadores de O₂ por incorporação de nanopartículas de TiO₂ a vários polímeros. Um dos inconvenientes de tal sistema seria a necessidade de exposição à luz UV.

Sistemas de imobilização de moléculas biológicas

As enzimas são amplamente usadas na indústria de alimentos. Em alguns casos, seu uso é limitado pelas condições de processamento e/ou pela presença de inibidores enzimáticos. No entanto, quando imobilizadas, as enzimas podem apresentar boa estabilidade a pH e temperatura, e resistência a proteases e compostos desnaturalantes, além de proporcionar um ambiente adequado para liberação controlada (KANDIMALLA et al., 2006; LOPEZ-RUBIO et al., 2006).

Nas últimas décadas, a imobilização de enzimas tem sido considerada, também, para aplicações em sistemas de embalagem (APPENDINI; HOTCHKISS, 1997; SOARES; HOTCHKISS, 1998). A incorporação de enzimas, como lactase ou colesterol redutase no material de embalagem, pode aumentar o valor do produto e atender as necessidades de consumidores com problemas de saúde associados à deficiência de determinadas enzimas (FERNÁNDEZ et al., 2008).

Enzimas e outras moléculas biológicas podem ser imobilizadas por diferentes métodos:

- Oclusão (aprisionamento).
- Encapsulamento (confinamento em pequenas esferas).
- Adsorção física (interações do tipo iônica, polar e ligação de hidrogênio).

- Ligação covalente cruzada e covalente, empregando-se diferentes compostos químicos nos procedimentos de imobilização (Figura 4).

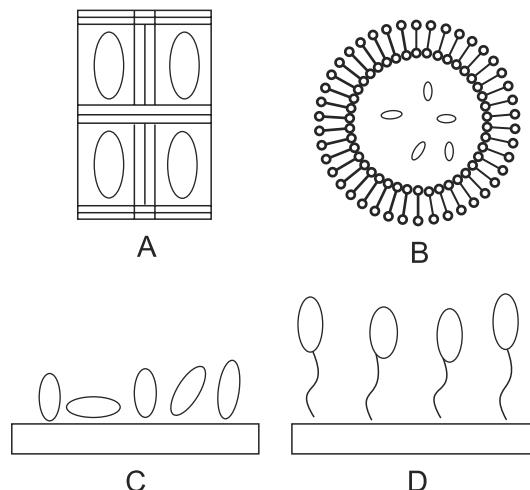


Figura 4. Métodos de imobilização de material biológico: por oclusão (A); por encapsulamento (B); por adsorção física (C); por ligação covalente (D).

Nota: o símbolo (0) representa o material biológico.

Sistemas de imobilização de moléculas biológicas, em escala nanométrica, podem apresentar melhor desempenho quando comparados aos sistemas em maior escala, graças à maior área superficial de contato disponível (FERNÁNDEZ et al., 2008). Suportes inorgânicos, como nanoargilas, apresentam alta capacidade de adsorção de proteínas (GOPINATH; SUGUNAN, 2007; SINEGANI et al., 2005) e seu uso possibilita aplicações que envolvem a adsorção de enzimas a polímeros incorporados de nanoargilas (RHIM; NG, 2007). Nanopartículas de SiO₂ foram modificadas por Qhobosheane et al. (2001), para imobilizar glutamato desidrogenase e lactato desidrogenase, que apresentaram excelente atividade enzimática.

Diferentes técnicas podem ser usadas na produção de filmes ultrafinos ou nanofibras para imobilização enzimática. A seguir, são relatadas três técnicas:

- Técnica de automontagem.
- Técnica de Langmuir Blodgett (ou filmes LB).
- Técnica de *electrospinning*.

Técnica de automontagem – Possibilita a imobilização de proteínas sobre uma superfície, sem o contato direto, reduzindo assim as possibilidades de desnaturação das proteínas adsorvidas (KATZ et al., 1994; PATERNO et al., 2001). Basicamente, o método consiste da imersão de um substrato sólido, quimicamente modificado, numa solução contendo moléculas bifuncionais, como tióis e organossilanos.

Esses compostos podem ser imobilizados por meio da formação de ligação química covalente com o substrato. Como as moléculas desses materiais são bifuncionalizadas, a extremidade que não se liga ao substrato funciona como sítio para uma nova monocamada específica desejada. A repetição sistemática desses processos leva à formação de um filme multicamadas.

Rudra et al. (2006) obtiveram um nanofilme antimicrobiano multicamada, constituído por camadas negativamente carregadas de poli (L-ácido glutâmico) alternadas com camadas positivamente carregadas de lisozima, muito usada como agente antimicrobiano em alimentos. Os nanofilmes foram efetivos para inibir o crescimento de *Micrococcus luteus*.

O controle da taxa de liberação de lisozima foi feito pelo ajuste da quantidade de camadas do filme. Caseli et al. (2007) imobilizaram glicose oxidase (GOx) em filmes automontados com quitosana. A atividade enzimática foi comparável à de uma solução de GOx, confirmando a adequação da técnica, que poderia ser usada em vários sistemas envolvendo catálise por GOx, como biossensores.

Técnica de Langmuir Blodgett (ou filmes LB) – Essa técnica, que tem sido empregada na formação de filmes (BLODGETT; LANGMUIR, 1937; FERREIRA et al., 2003), consiste na imersão de substratos sólidos através da monocamada no estado condensado, de tal forma que cada imersão ou emersão proporcione a deposição de uma camada de cada lado do substrato.

Assim, um controle da espessura do filme é obtido por meio do controle das camadas transferidas. A emersão do substrato provoca a transferência preferencial pela parte polar (cabeça hidrofílica) e a imersão

pela parte apolar (cauda hidrofóbica) (NASCIMENTO, 2007). Imersões e retiradas subsequentes de um mesmo substrato permitem a deposição de multicamadas. Os filmes LB são dotados de elevada organização estrutural, em escala nanométrica, cujas propriedades dependem das condições de sua fabricação (velocidade de compressão e de transferência, pH e temperatura da subfase, força iônica, entre outras), do número de monocamadas e do tipo de material.

Os filmes podem ser obtidos de uma grande variedade de materiais (PATERNO et al., 2001):

- Ácidos graxos.
- Derivados de hidrocarbonetos aromáticos.
- Porfirinas.
- Ftalocianinas.
- Tetracianoquinodimetano-TCNO.
- Biomoléculas (fosfolipídios, proteínas, pigmentos, lignina, etc.).
- Polímeros convencionais.
- Copolímeros.
- Cristais líquidos poliméricos.
- Polímeros condutores).

A preparação de fosfolipídeos, proteínas e polímeros condutores no meio líquido – e sua transferência para suportes sólidos – tem despertado interesse para o desenvolvimento de nanossensores (RIUL JÚNIOR et al., 2003).

Técnica de *electrospinning* – Essa técnica é simples e rápida na produção de nanofibras de uma ampla variedade de materiais (PICCIANI et al., 2009). Tem sido usada, também, na fabricação de suportes para imobilizar enzimas. Comparada a outros suportes nanoestruturados, os nanofibrosos apresentam várias vantagens, entre elas, alta porosidade e interconectividade.

Essa técnica consiste no emprego de um campo elétrico, para formar jatos muito finos de uma solução de polímero a partir de um capilar. O jato emitido solidifica via evaporação do solvente ou congelamento, resultando numa estrutura fibrilar que permite o aprisionamento de moléculas bioativas (HUANG et al., 2003; FERNÁNDEZ et al., 2008).

A grande área específica da superfície, os múltiplos sítios para interação, a baixa limitação na transferência de massa – e a fina estrutura porosa das nanofibras produzidas por *electrospinning* – fazem delas excelente suporte enzimático (WU et al., 2005), a exemplo do demonstrado para quimiotripsina (JIA et al., 2002), glicose oxidase (REN et al., 2006) e celulase (WU et al., 2005). As enzimas podem ser imobilizadas nos suportes nanofibrosos, por ligação covalente ou encapsulamento (WANG et al., 2009).

Embalagens com nanossensores

Embalagens com sensores são classificadas como embalagens inteligentes. Um sistema inteligente pode ser definido como um sistema que “percebe” algumas propriedades do alimento acondicionado, e usa algum mecanismo para informar sobre o histórico ou o estado atual de tais propriedades, permitindo ao fabricante, comerciante ou consumidor do produto obter informações sobre a qualidade e/ou segurança do alimento.

Yam et al. (2005) definem embalagem inteligente como um sistema que incorpora funções como detectar, perceber, rastrear, registrar e comunicar. É diferente do conceito de embalagem ativa, uma vez que o sistema inteligente detecta e comunica um estado desfavorável ou alteração indesejável (por exemplo, a presença de uma espécie microbiana patogênica), enquanto o sistema ativo efetua uma ação (liberação de antimicrobianos) para proteger o produto (YAM et al., 2005).

O prazo de validade de um alimento é estimado pela indústria, com base nas condições (temperatura e umidade relativa) de distribuição e estocagem às quais espera-se que o alimento seja exposto. Entretanto, sabe-se que as condições previstas nem sempre são as reais, uma vez que os alimentos são frequentemente expostos a temperaturas abusivas.

Isso é muito preocupante, principalmente para alimentos que obrigatoriamente devem ser distribuídos e estocados sob uma cadeia de frio. Além disso, microporos ou defeitos de selagem de sistemas de embalagem podem fazer com que um produto seja exposto a níveis não esperados de umidade e O₂, além de contaminação biológica, o

que pode resultar em alterações indesejáveis nas suas características sensoriais e riscos à saúde humana.

Nanopartículas podem ser incorporadas a materiais de embalagem, como partículas reativas. Os chamados nanossensores são capazes de responder a alterações ambientais (alterações de temperatura ou umidade em ambientes de estocagem; níveis de exposição a O₂), à presença de produtos de degradação ou à contaminação microbiana e química (BOUWMEESTER et al., 2009).

Quando integrados a uma embalagem, os nanossensores podem detectar a presença de determinados compostos químicos, patógenos ou toxinas, sendo assim úteis para definir o estado (em tempo real) de segurança e qualidade de um alimento, sem a necessidade de se estabelecerem datas de validade imprecisas (LIAO et al., 2005).

Os nanossensores têm várias vantagens sobre os métodos convencionais de detecção como cromatografia líquida de alto desempenho, que são caros e demorados, acarretando (NACHAY, 2007):

- Maior rapidez de detecção.
- Maior simplicidade e custo/efetividade.
- Menor requerimento de energia.
- Fácil reciclagem.

Um exemplo de aplicação de nanossensores é a detecção de O₂, para garantir a ausência de O₂ em sistemas de embalagem a vácuo ou sob atmosfera de nitrogênio. Lee et al. (2005) desenvolveram um indicador colorimétrico de O₂ ativado por luz UV, que usa nanopartículas de TiO₂ para fotossensibilizar a redução de azul de metíleno pela trietanolamina num meio polimérico. Uma vez exposto à radiação UV, o sensor sofre descoloração, e permanece incolor até que seja exposto a O₂, quando então a coloração azul é recuperada.

A taxa de recuperação de cor é proporcional ao nível de exposição ao O₂. Mills e Hazafy (2009) usaram um sistema semelhante, em que SnO₂ nanocrystalino foi usado como fotossensibilizante num indicador colorimétrico que consiste de um doador de elétrons (glicerol), um indicador de oxirredução (azul de metíleno) e uma matriz polimérica (hidroxietil celulose).

A exposição à luz UVB promoveu fotorredução (descoloração) do indicador pelas nanopartículas de SnO₂. A cor do filme variou segundo o grau de exposição ao O₂, passando de incolor, quando não exposto, ao azul, quando exposto.

Outro exemplo é a detecção de gases produzidos por deterioração de alimentos. Com base em estudos aplicados sobre propriedades de superfícies, têm sido desenvolvidos vários tipos de sensores de gases capazes de traduzir interações químicas entre partículas num sinal.

Nos Estados Unidos, a Kraft Foods, em parceria com pesquisadores da Rutgers University, de New Jersey, vem desenvolvendo uma língua eletrônica a ser incorporada a embalagens de alimentos, que consiste num arranjo de nanossensores extremamente sensíveis a gases liberados por microrganismos deterioradores, produzindo alteração de cor, que indica a ocorrência de deterioração (JOSEPH; MORRISON, 2006).

Arshak et al. (2007) desenvolveram sensores contendo fuligem (negro de fumo ou negro de carbono) numa matriz de polianilina, que se mostraram úteis para detectar e identificar diferentes espécies de patógenos por meio de uma resposta-padrão para cada microrganismo.

Polímeros condutores (ou polímeros conjugados eletroativos) têm sido bastante estudados no desenvolvimento de nanossensores em decorrência de suas propriedades elétricas, eletrônicas, magnéticas e óticas, relacionadas a cadeias de elétrons π conjugados (AHUJA et al., 2007; RETAMA, 2005; WIZIACK et al., 2007).

Um tipo de nanossensor – que tem ganhado destaque nos últimos anos – são os biossensores, dispositivos constituídos de moléculas biológicas na superfície sensora. Várias vantagens são proporcionadas por eles:

- Elevada sensibilidade e seletividade.
- Simples preparo da amostra (praticidade).
- Rapidez nas análises.
- Gasto mínimo de reagentes.

Essas vantagens agilizam os resultados e reduzem os custos financeiros.

Os biossensores são considerados nanossensores, quando dotados de moléculas biológicas com diâmetros menores que 100 nm, a exemplo de anticorpos (diâmetro de cerca de 10 nm) e DNA (diâmetro de cerca de 2 nm) e/ou quando se empregam técnicas de nanodepoção, como as citadas anteriormente.

Biossensores de diferentes tipos e finalidades estão em desenvolvimento. Enfatizando a área de alimentos, biossensores podem ser aplicados para detectar contaminação biológica, contaminação química (SEZGINTURK et al., 2005), monitoramento de amadurecimento e qualidade de frutas. Jawaheer et al. (2003) desenvolveram biossensores enzimáticos, para monitorar o estado fisiológico e a qualidade de frutos.

Os biossensores foram baseados em oxidases e sensíveis à detecção de β -D-glicose, D-glicose total, sacarose e ácido ascórbico. Considerando o processo de maturação de frutos que incluem mudanças em acidez, adstringência e sólidos solúveis totais – diretamente relacionados com quantidade de ácido orgânico, açúcares e voláteis presentes nos tecidos (RHODES, 1970). Esses componentes podem ser usados como indicadores de maturação, estádio de amadurecimento e/ou qualidade de frutos.

Entre a diversidade de moléculas biológicas, enzimas, anticorpos e DNA têm sido os mais frequentemente imobilizados em suportes para compor sistemas de embalagem inteligente e biossensores. Nanopartículas de ouro e de látex podem ser conjugadas a biomoléculas, para elaboração de diferentes dispositivos de detecção de espécies de interesse.

Nanopartículas de ouro podem ser conjugadas a anticorpo e peroxidase e, em presença do antígeno, a peroxidase catalisa a oxidação do substrato em sinal ótico proporcional à quantidade do antígeno. Em trabalho de Jia et al. (2009), a aplicação desse método resultou na detecção de 5 pcg.L⁻¹ de proteína (antígeno) em menos de 2 horas. Sensores do tipo sentinel, baseados em ensaio de imunoesferas de fase sólida e princípio de anticorpo-sanduíche, estão em desenvolvimento para detectar microrganismos como *Salmonella* sp., *E. coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*.

Esses microrganismos se ligam às imunoesferas (anticorpos específicos conjugados a microesferas de látex escuro) e migram em direção a um anticorpo secundário, para então serem capturados. Esse

anticorpo está imobilizado à membrana da embalagem, formando parte do código de barras. Na presença de bactéria, é formada uma barra escura na membrana, como resultado do aglutinado complexo imuno-esfera/antígeno na região do anticorpo secundário imobilizado.

As membranas são desenhadas de forma a permitir a entrada de bactéria patogênica e prevenir a entrada de substâncias interferentes, além de manter o complexo sensor dentro do sistema. O sistema de sentinela também não é caro e permite um contínuo monitoramento do produto, uma vantagem quando comparado a outros métodos tradicionais.

Outro tipo de sistema sentinela, desenvolvido pela Sira Technologies, em parceria com pesquisadores da Universidade de Rhode Island, nos Estados Unidos, é baseado em código de barra sensível a variações de temperatura para embalagem. O sistema consiste num polímero adicionado à tinta do código de barras, para ser usado como indicador de descongelamento. Assim, quando o produto é descongelado, uma barra colorida surge no código de barras, despertando a atenção do consumidor e impossibilitando o reconhecimento do código, pelo leitor.

Basicamente, os sensores de tempo/temperatura comerciais são classificados, em três tipos (SHING, 2000):

Sensor de temperatura crítica – É útil, para indicar se determinada temperatura foi alcançada, sem levar em consideração a questão da integração tempo/temperatura.

Sensor de histórico de temperaturas parcial – Providenciam uma resposta só quando a temperatura excede ou fica abaixo de um valor pré-determinado.

Sensor de histórico de temperatura total – Providenciam uma resposta contínua, baseada nas mudanças de temperatura.

Os sensores de tempo/temperatura têm sido importantes no monitoramento de alimentos durante o armazenamento e a distribuição. No entanto, o grande desafio desses sensores é o desenvolvimento de um dispositivo de temperatura/código de barras que permita obter outras informações e histórico da temperatura, simultaneamente.

Os dispositivos inteligentes, como os sensores, são apenas um componente do sistema de embalagem, produzidos, a priori, isoladamente e que, posteriormente, devem ser integrados lenta e eficiente-

mente ao sistema, como um todo. Essa integração proporcionaria a combinação de diferentes funções num único dispositivo, por exemplo, o dispositivo de temperatura/código de barras citado anteriormente, ou embalagem inteligente e embalagem ativa, e traria inúmeras vantagens.

Um sistema de embalagem, consistindo de um biossensor para detecção de contaminação microbiana ou mudança química do produto, poderia acionar a liberação de agentes antimicrobianos ou antioxidantes, com a finalidade de prolongar a vida de prateleira do produto.

Considerações finais

A incorporação de nanopartículas em polímeros como nanoaditivos tem sido investigada, buscando-se a melhoria de propriedades de degradação e estabilização de polímeros. Entretanto, o sucesso desses nanocompósitos dependerá da natureza química e das interações com os polímeros escolhidos. Nanocompósitos – aplicados a embalagens de alimentos – têm sido desenvolvidos para disponibilizar novos filmes comestíveis e biodegradáveis, a fim de favorecer a redução do volume de lixo gerado a partir do descarte de embalagens sintéticas.

As nanopartículas podem ainda incorporar propriedades ativas ou inteligentes aos materiais de embalagem. Assim, os nanocompósitos podem não apenas melhorar as propriedades de proteção (passiva) da embalagem a fatores ambientais, mas também incorporar propriedades que a tornem capaz de melhorar a estabilidade do alimento, ou indicar a ocorrência de eventuais alterações indesejáveis.

Entretanto, há muitas incertezas relacionadas a aspectos de segurança, envolvendo o uso de nanomateriais, já que suas dimensões podem permitir que elas penetrem em células e, eventualmente, permaneçam no organismo. Na sua forma bruta, as propriedades e a segurança dos materiais são bem conhecidas, mas as nanopartículas frequentemente exibem propriedades diferentes daquelas apresentadas pelos correspondentes materiais na macroescala.

Assim, a degradação e a durabilidade de sistemas polímero/nanopartícula devem ser avaliadas, considerando a combinação de cada nanopartícula com diferentes polímeros sob condições ambientais ad-

versas para se conhecer melhor o comportamento desses nanomateriais. Em atinência aos efeitos toxicológicos das nanopartículas em embalagem – uma vez que há escassez de dados científicos sobre o potencial de migração de nanopartículas do material de embalagem para os alimentos – é razoável considerar, a priori, que a migração possa ocorrer. Assim, é de extrema importância o levantamento de dados científicos sobre os eventuais efeitos da exposição a diferentes tipos de nanopartículas sobre a saúde humana, em longo prazo.

Referências

- ADAME, D.; BEALL, G. W. Direct measurement of the constrained polymer region in polyamide/clay nanocomposites and the implications for gas diffusion. **Applied Clay Science**, Amsterdam, NL, v. 42, p. 545-552, 2009.
- AHUJA, T.; MIR, I. A.; KUMAR, D.; RAJESH. Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications. **Biomaterials**, Surrey, v. 28, p. 791-805, 2007.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 68, p. 557-565, 2008.
- ALEXANDRE, B.; LANGEVIN, D.; MÉDÉRIC, P.; AUBRY, T.; COUDERC, H.; NGUYEN, Q. T.; SAITER, A.; MARAIS, S. Water barrier properties of polyamide 12/montmorillonite nanocomposite membranes: structure and volume fraction effects. **Journal of Membrane Science**, New York, v. 328, n. 1-2, p. 186-204, 2009.
- ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**, Lausanne, v. 28, p. 1-63, 2000.
- AN, J.; ZHANG, M.; WANG, S.; TANG, J. Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 41, n. 6, p. 1100-1107, 2008.
- ANGLÈS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. **Macromolecules**, Easton, v. 33, p. 8344-8353, 2000.
- ANPO, M.; KISHIGUCHI, S.; ICHIHASHI, Y.; TAKEUCHI, M.; YAMASHITA, H.; IKEUE, K.; MORIN, B.; DAVIDSON, A.; CHE, M. The design and development of

second-generation titanium oxide photocatalysts able to operate under visible light irradiation by applying a metal ion-implantation method. **Research on Chemical Intermediates**, Amsterdam, NL, v. 27, n. 4-5, p. 459-467, 2001.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Immobilisation of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. **Packaging Technology and Science**, Chichester, v. 10, p. 271-279, 1997.

ARSHAK, K.; ADLEY, C.; MOORE, E.; CUNNIFFE, C.; CAMPION, M.; HARRIS, J. Characterisation of polymer nanocomposite sensors for quantification of bacterial cultures. **Sensors and Actuators B**, Lausanne, v. 126, p. 226-231, 2007.

AYMONIER, C.; SCHLÖTTERBECK, U.; ANTONIETTI, L.; ZACHARIAS, P.; THOMANN, R.; TILLER, J.C.; MECKING, S. Hybrids of silver nanoparticles with amphiphilic hyperbranched macromolecules exhibiting antimicrobial properties. **Chemical Communications**, London, GB, v. 2002, n. 24, p. 3018-3019, 2002.

AZIZI SAMIR, M. A. S.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 6, p. 612-626, 2005.

AZIZI SAMIR, M. A. S.; ALLOIN, F.; SANCHEZ, J. Y.; DUFRESNE A. Cellulose nanocrystals reinforced poly(oxyethylene). **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 45, p. 4149-4157, 2004.

BEALL, G. W. New conceptual model for interpreting nanocomposite behavior. In: PINNAVAIA, T. J.; BEALL, G. W. (Ed.). **Polymer-clay nanocomposites**. New York: Wiley, 2000. p. 267-279.

BHARADWAJ, R. K.; MEHRABI, A. R.; HAMILTON, C.; TRUJILLO, C.; MURGA, M.; FAN, R.; CHAVIRA, A.; THOMPSON, A. K. Structure-property relationships in cross-linked polyester-clay nanocomposites. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 43, n. 13, p. 3699-3705, 2002.

BHATNAGAR, A.; SAIN, M. Processing of cellulose nanofiber-reinforced composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, Westport, v. 24, n. 12, p. 1259-1268, 2005.

BLODGETT, K. B.; LANGMUIR, I. Built-up films of barium stearate and their optical properties, **Physical Review**. New York, v. 51, n. 11, p. 964-982. 1937.

BOUWMEESTER, H.; DEKKERS, S.; NOORDAM, M. Y.; HAGENS, W. I.; BULDER, A. S.; DE HEER, C.; TEN VOORDE, S. E. C. G.; WIJNHOVEN, S. W. P.; MARVIN, H. J. P.; SIPS, A. J. A. M. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v. 53, p. 52-62, 2009.

BROWN, E. E.; LABORIE, M. P. G. Bioengineering bacterial cellulose/poly(ethylene oxide) nanocomposites. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 8, n. 10, p. 3074-3081, 2007.

CASELI, L.; SANTOS JÚNIOR, D. S.; FOSCHINI, M.; GONÇALVES, D.; OLIVEIRA JÚNIOR., O. N. Control of catalytic activity of glucose oxidase in layer-by-layer films of chitosan and glucose oxidase. **Materials Science and Engineering C**, Lausanne, v. 27, p. 1108-1110, 2007.

CHENG, Q.; LI, C.; PAVLINEK, V.; SAHA, P.; WANG, H. Surface-modified antibacterial TiO_2/Ag^+ nanoparticles: preparation and properties. **Applied Surface Science**, Amsterdam, NL, v. 252, p. 4154-4160, 2006.

CIOFFI, N.; TORSI, L.; DITARANTO, N.; TANTILLO, G.; GHIBELLI, L.; SABBATINI, L.; BLEVE-ZACHEO, T.; D'ALESSIO, M.; ZAMBONIN, P. G.; TRAVERSA, E. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. **Chemistry of Materials**, Washington, DC, v. 17, p. 5255-5262, 2005.

COLLISTER, J. Commercialisation of polymer nanocomposites. In: KRISHNAMOORTI, R.; VAIA, R. A. (Ed.). **Polymer nanocomposites**: synthesis, characterisation and modelling. Washington, DC: American Chemical Society, 2002. p. 7-14.

CYRAS, V. P.; MANFREDI, L. B.; TON-THAT, M. T.; VÁZQUEZ, A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 73, p. 55-63, 2008.

DALMAS, F.; CAVAILLÉ, J. Y.; GAUTHIER, C.; CHAZEAU, L.; DENDIEVEL, R. Viscoelastic behavior and electrical properties of flexible nanofiber filled polymer nanocomposites. Influence of processing conditions. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 67, p. 829-839, 2007.

DAMM, C.; MÜNSTEDT, H.; RÖSCH, A. Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 42, n. 15, p. 6067-6073, 2007.

DAMMSTRÖM, S.; SALMÉN, L.; GATENHOLM, P. The effect of moisture on the dynamical mechanical properties of bacterial cellulose/glucuronoxylan nanocomposites. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 46, n. 23, p. 10364-10371, 2005.

DE MOURA, M. R.; AQUADA, F. A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 92, p. 448-453, 2009.

- DUFRESNE, A.; DUPEYRE, D.; VIGNON, M. R. Cellulose microfibrils from potato tuber cells: processing and characterization of starch-cellulose microfibril composites. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 76, n. 14, p. 2080-2092, 2000.
- DUFRESNE, A.; VIGNON, M. R. Improvement of starch film performances using cellulose microfibrils. **Macromolecules**, Easton, v. 31, p. 2693-2696, 1998.
- DUJARDIN, E.; BLASEBY, M.; MANN, S. Synthesis of mesoporous silica by sol-gel mineralisation of cellulose nanorod nematic suspensions. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 13, n. 4, p. 696-699, 2003.
- FERNÁNDEZ, A.; CAVA, D.; OCIO, M. J.; LAGARON, J. M. Perspectives for biocatalysts in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 4, p. 198-206, 2008.
- FERREIRA, M.; RIUL JÚNIOR, A.; WOHNRAH, K.; FONSECA, F. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, O. N.; MATTOSO, L. H. C. High-performance taste sensor made from Langmuir-Blodgett films of conducting polymers and a ruthenium complex. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 75, n. 4, p. 953-955, 2003.
- FUJISHIMA, A.; RAO, T. N.; TRYK, D. A. Titanium dioxide photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: photochemistry reviews**, Amsterdam, NL, v. 1, n. 1, p. 1-21, 2000.
- GARDNER, D. J.; OPORTO, G. S.; MILLS, R.; AZIZI SAMIR, M. A. S. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, Utrecht, v. 22, p. 545-567, 2008.
- GOPINATH, S.; SUGUNAN, S. Enzymes immobilized on montmorillonite K 10: effect of adsorption and grafting on the surface properties and the enzyme activity. **Applied Clay Science**, Amsterdam, NL, v. 35, n. 1-2, p. 67-75, 2007.
- GU, H. W.; HO, P. L.; TONG, E.; WANG, L.; XU, B. Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities. **Nano Letters**, Washington, DC, v. 3, p. 1261-1263, 2003.
- HELBERT, W.; CAVAILLÉ, C. Y.; DUFRESNE, A. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part I: processing and mechanical behaviour. **Polymer Composites**, Brookfield, v. 17, n. 4, p. 604-611, 1996.
- HUANG, L.; LI, D. Q.; LIN, Y. J.; WEI, M.; EVANS, D. G.; DUAN, X. Controllable preparation of nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 99, p. 986-993, 2005.
- HUANG, Z. M.; ZHANG, Y.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites.

Composites Sciences and Technology, Roskilde, v. 63, n. 15, p. 2223-2253, 2003.

HULLEMAN, S. H. D.; HELBERT, W.; CHANZY, H. Single crystals of V amylose complexed with glycerol. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 18, p. 115-122, 1996.

IWATAKE, A.; NOGI, M.; YANO, H. Cellulose nanofiber-reinforced polylactic acid. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 68, p. 2103-2106, 2008.

JAWAHEER, S.; WHITE, S. F.; RUGHOOPUTH, S. D. D. V.; CULLEN, D. C. Development of a common biosensor format for an enzyme based biosensor array to monitor fruit quality. **Biosensors and Bioelectronics**, Essex, v. 18, p. 1429-1437, 2003.

JIA, C-P.; ZHONG, X-Q.; HUA, B.; LIU, M-Y.; JING, F-X.; LOU, X-H.; YAO, S-H.; XIANG, J-Q.; JIN, Q-H.; ZHAO, J-L. Nano-ELISA for highly sensitive protein detection. **Biosensors and Bioelectronics**, London, GB, v. 24, n. 9, p. 2836-2841, 2009.

JIA, H. F.; ZHU, G. Y.; VUGRINOVICH, B.; KATAPHINAN, W.; RENEKER, D. H.; WANG, P. Enzyme-carrying polymeric nanofibers prepared via electrospinning for use as unique biocatalysts. **Biotechnology Progress**, New York, v. 18, n. 5, p. 1027-1032, 2002.

JIA, X.; LI, Y.; CHENG, Q.; ZHANG, S.; ZHANG, B. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)/silica nanocomposites derived from copolymerization of vinyl silica nanoparticles and vinyl acetate. **European Polymer Journal**, New York, v. 43, p. 1123-1131, 2007.

JORDAN, J.; JACOB, K. I.; TANNENBAUM, R.; SHARAF, M. A.; JASIUK, I. Experimental trends in polymer nanocomposites: a review. **Materials Science & Engineering A**, Lausanne, v. 393, n. 1-2, p. 1-11, 2005.

JOSEPH, T.; MORRISON, M. **Nanotechnology in agriculture and food**. Institute of Nanotechnology, 2006. Disponível em: http://www.nanoforum.org/nf_06~modul~showmore~folder~99999~scid~377~.html?action=longview_publication. Acesso em: 18 out. 2008.

KANDIMALLA, V. B.; TRIPATHI, V. S.; JU, H. Immobilization of biomolecules in sol-gels: biological and analytical applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 36, n. 2, p. 73-106, 2006.

KANG, S.; PINAULT, M.; PFEFFERLE, L.D.; ELIMELECH, M. Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity. **Langmuir**, Washington, DC, v. 23, p. 8670-8673, 2007.

- KAPOOR, S.; LAWLESS, D.; KENNEPOHL, P.; MEISEL, D.; SERPONE, N. Reduction and aggregation of silver ions in aqueous gelatin solutions. **Langmuir**, Washington, DC, v. 10, n. 9, p. 3018-3022, 1994.
- KATZ, E.; SCHLERETH, D. D. Electrochemical study of pyrroloquinoline covalently immobilized as a monolayer onto a cystamine-modified gold electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry A**: Lousanne, v. 367, p. 59-70, 1994.
- KHADEMHSOSSEINI, A.; LANGER, R. Nanobiotechnology: drug delivery and tissue engineering. **Chemical Engineering Progress**, New York, v. 102, n. 2, p. 38-42, 2006.
- KIM, B.; KIM, D.; CHO, D.; CHO, S. Bactericidal effect of TiO_2 photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 277-281, 2003a.
- KIM, K. Y.; LIM, H. J.; PARK, S. M.; LEE, S. J. Synthesis and characterization of high impact polystyrene/organically modified layered silicate nanocomposites. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 27, p. 377-384, 2003b.
- KIM, T. Y.; LEE, Y. H.; PARK, K. H.; KIM, S. J.; CHO, S. Y. A study of photocatalysis of TiO_2 coated onto chitosan beads and activated carbon. **Research on Chemical Intermediates**, Amsterdam, NL, v. 31, n. 4-6, p. 343-358, 2005.
- KIM, Y.; JUNG, R.; KIM, H. S.; JIN, H. J. Transparent nanocomposites prepared by incorporating microbial nanofibrils into poly(L-lactic acid). **Current Applied Physics**, Amsterdam, NL, v. 9, n. 1, p. S69-S71, 2009.
- KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 68, p. 146-158, 2007.
- KUMAR, R.; MÜNSTEDT, H. Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. **Biomaterials**, Surrey, v. 26, p. 2081-2088, 2005.
- KVÍTEK, L.; PANÁČEK, A.; SOUKUPOVÁ, J.; KOLÁŘ, M.; VEČEŘOVÁ, R.; PRUCEK, R.; HOLECOVÁ, M.; ZBOŘIL, R. Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). **The Journal of Physical Chemistry C**, Washington, DC, v. 112, n. 15, p. 5825-5834, 2008.
- LAGARON, J. M.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Structural characteristics defining high barrier polymeric materials. **Materials Science and Technology**, London, GB, v. 20, p. 1-7, 2004.
- LEE, S. K.; SHERIDAN, M.; MILLS, A. Novel UV-activated colorimetric oxygen indicator. **Chemistry of Materials**, Washington, DC, v. 17, n. 10, p. 2744-2751, 2005.

LI, H.; LI, F.; WANG, L.; SHENG, J.; XIN, Z.; ZHAO, L.; XIAO, H.; ZHENG, Y.; HU, Q. Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd). **Food Chemistry**, London, GB, v. 114, n. 2, p. 547-552, 2009.

LI, Q.; MAHENDRA, S.; LYON, D. Y.; BRUNET, L.; LIGA, M. V.; LI, D.; ALVAREZ, P. J. J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. **Water Research**, Hallixford, v. 42, p. 18, p. 4591-4602, 2008.

LIAO, F.; CHEN, C.; SUBRAMANIAN, V. Organic TFTs as gas sensors for electronic nose applications. **Sensors and Actuators B: chemical**, Lausanne, v. 107, n. 2, p. 849-855, 2005.

LIAU, S. Y.; READ, D. C.; PUGH, W. J.; FURR, J. R.; RUSSELL, A. D. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 25, p. 279-283, 1997.

LIMA, M. M. D.; BORSALI, R. Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications. **Macromolecular Rapid Communications**, Weinheim, v. 25, n. 7, p. 771-787, 2004.

LIN, Y. J.; LI, D. Q.; WANG, G.; HUANG, L.; DUAN, X. Preparation and bactericidal property of MgO nanoparticles on $\square\text{-Al}_2\text{O}_3$. **Journal of Materials Science: materials in medicine**, London, GB, v. 16, p. 53-56, 2005.

LÓPEZ MANCHADO, M. A.; VALENTINI, L.; BIAGOTTI, J.; KENNY, J. M. Thermal and mechanical properties of single-walled carbon nanotubes-polypropylene composites prepared by melt processing. **Carbon**, Elmsford, v. 43, p. 1499-1505, 2005.

LOPEZ-RUBIO, A.; GAVARA, R.; LAGARON, J. M. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, p. 567-575, 2006.

LU, Y.; WENG, L.; CAO, X. Biocomposites of plasticized starch reinforced with cellulose crystallites from cottonseed linter. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 5, p. 1101-1107, 2005.

LU, Y.; WENG, L.; ZHANG, L. Morphology and properties of soy protein isolate thermoplastics reinforced with chitin whiskers. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 5, p. 1046-1051, 2004.

LUDUEÑA, L. N.; ALVAREZ, V. A.; VASQUEZ, A. Processing and microstructure of PCL/clay nanocomposites. **Materials Science and Engineering**, Lausanne, v. 460-461, p. 121-129, 2007.

- LUO, P. G.; STUTZENBERGER, F. J. Nanotechnology in the detection and control of microorganisms. In: LASKIN, A. I.; SARIASLANI, S.; GADD, G. M. (Eds.) **Advances in applied microbiology**. London, GB: Elsevier, 2008.
- MANESS, P. C.; SMOLINSKI, S.; BLAKE, D. M.; HUANG, Z.; WOLFRUM, E. J.; JACOBY, W. A. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 65, n. 9, p. 4094-4098, 1999.
- MATHEW, A. P.; DUFRESNE, A. Morphological investigation of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 3, n. 3, p. 609-617, 2002.
- MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; BAKER, A. D.; AVLONI, J.; WOOD, D. F.; ORTS, W. J. Electrically conductive nanocomposites made from cellulose nanofibrils and polyaniline. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, Valencia, v. 9, p. 2917-2922, 2009.
- MBHELE, Z. H.; SALEMANE, M. G.; SITTERT, C. G. C. E. van; NEDELJKOVÍC, J. M.; DJOKOVÍC, V.; LUYT, A. S. Fabrication and characterization of silver-polyvinyl alcohol nanocomposites. **Chemistry of Materials**, Washington, DC, v. 15, n. 26, p. 5019-5024, 2003.
- MILLS, A.; HAZAFY, D. Nanocrystalline SnO₂-based, UVB-activated, colourimetric oxygen indicator. **Sensor and Actuators B: chemical**, Boca Raton, v. 136, n. 2, p. 344-349, 2009.
- MIRZADEH, A.; KOKABI, M. The effect of composition and draw-down ratio on morphology and oxygen permeability of polypropylene nanocomposite blown films. **European Polymer Journal**, New York, v. 43, n. 9, p. 3757-3765, 2007.
- MONTEIRO-RIVIERE, N. A.; NEMANICH, R. J.; INMAN, A. O.; WANG, Y. Y.; RIVIERE, J. E. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. **Toxicology Letters**, Amsterdam, NL, v. 155, n. 13, p. 377-384, 2005.
- MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMIREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, Bristol, v. 16, p. 2346-2353, 2005.
- NACHAY, K. Analyzing nanotechnology. **Food Technology**, Chicago, v. 61, n. 1, p. 34-36, 2007.
- NASCIMENTO C. V. **Influência da temperatura e de aditivos na matriz fosfolipídica usada para incorporação de fosfatase alcalina pela técnica de Langmuir Blodgett**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Filosofia, Ciências e Letras)-Ribeirão Preto, São Paulo.

NIELSEN, L. E. Models for the permeability of filled polymer systems. **Journal of Macromolecular Science, Part A**: pure and applied chemistry, New York, v. 1, n. 5, p. 929-942, 1967.

OBSERVATORYNANO. **Full market report on nanotechnology in agrifood sector**. Disponível em: <http://www.observatorynano.eu/project/document/2545/>. Acesso em: 19 dez. 2009.

OKSMAN, K.; MATHEW, A. P.; BONDESON, D.; KVIEN, I. Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 66, p. 2776-2784, 2006.

OSMAN, M. A.; PLOETZE, M.; SUTER, U. W. Surface treatment of clay minerals - thermal stability, basal-plane spacing and surface coverage. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 13, p. 2359-2366, 2003.

OSMAN, M. A.; RUPP, J. E. P.; SUTER, U. W. Effect of non-ionic surfactants on the exfoliation and properties of polyethylene-layered silicate nanocomposites. **Polymer**, v. 46, p. 8202-8209, 2005.

PAGE, K.; PALGRAVE, R.G.; PARKIN, I. P.; WILSON, M.; SAVIN, S.L.P.; CHADWICK, A.V. Titania and silver-titania composite films on glass-potent antimicrobial coatings. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v.17, n.1, p.95-104, 2007.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, São Paulo, v. 54, p. 213-226, 2008.

PARALIKAR, S. A.; SIMONSEN, J.; LOMBARDI, J. Poly(vinyl alcohol)/cellulose nanocrystal barrier membranes. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, NL, v. 320, n. 1-2, p. 248-258, 2008.

PARK, H. M.; LEE, W. K.; PARK, C. Y.; CHO, W. J.; HA, C. S. Environmentally friendly polymer hybrids: Part I. Mechanical, thermal, and barrier properties of the thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Journal of Materials Science**, Norwell, v. 38, p. 909-915, 2003.

PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, O. N. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 228-235, 2001.

PAUL, M. A.; ALEXANDRE, M.; DEGÉE, P.; HENRIST, C.; RULMONT, A.; DUBOIS, P. New nanocomposite materials based on plasticized poly(L-lactide) and organo-modified montmorillonites: thermal and morphological study. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 44, n. 2, p. 443-450, 2003.

- PETERSSON, L.; KVIEN, I.; OKSMAN, K. Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 67, p. 2535-2544, 2007.
- PETERSSON, L.; OKSMAN, K. Biopolymer based nanocomposites: Comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 66, p. 2187-2196, 2006a.
- PETERSSON, L.; OKSMAN, K. Preparation and properties of biopolymer based nanocomposite films using microcrystalline cellulose. In: OKSMAN, K.; SAIN, M. (Ed.). **Cellulose nanocomposites, processing, characterization and properties**. Oxford: Oxford University Press, 2006b. p.132-150. (ACS Symposium Series 938).
- PICARD, E.; GAUTHIER, H.; GÉRARD, J. F.; ESPUCHE, E. Influence of the intercalated cations on the surface energy of montmorillonites: consequences for the morphology and gas barrier properties of polyethylene/montmorillonites nanocomposites. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 307, p. 364-376, 2007.
- PICCIANI, P. H. S.; MEDEIROS, E. S.; PAN, Z.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C.; SOARES, B. G. Development of conducting polyaniline/poly(lactic acid) nanofibers by electrospinning. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 112, p. 744-753, 2009.
- PODSIADLO, P.; CHOI, S. Y.; SHIM, B.; LEE, J.; CUDDIHY, M.; KOTOV, N. A. Molecularly engineered nanocomposites: layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 6, p. 2914-2918, 2005.
- QHOBOSHEANE, M.; SANTRA, S.; ZHANG, P.; TAN, W. H. Biochemically functionalized silica nanoparticles. **Analyst**, London, GB, v. 126, n. 8, p. 1274-1278, 2001.
- QI, L. F.; XU, Z. R.; JIANG, X.; HU, C.; ZOU, X. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, NL, v. 339, p. 2693-2700, 2004.
- QIAO, R.; BRINSON, L. C. Simulation of interphase percolation and gradients in polymer nanocomposites. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 69, n. 3-4, p. 491-499, 2009.
- RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.
- RAMOS, L.P. The chemistry involved in the stream treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 863-871, 2003.

RAY, S.; EASTEAL, A.; QUEK, S. Y.; CHEN, X. D. The potential use of polymer-clay nanocomposites in food packaging. **International Journal of Food Engineering**, Berkeley, v. 2, n. 4, 2006.

REDDY, M. P.; VENUGOPAL, A.; SUBRAHMANYAM, M. Hydroxyapatite-supported Ag-TiO₂ as Escherichia coli disinfection photocatalyst. **Water Research**, Hallioxford, v. 41, p. 379-386, 2007.

REN, G. L.; XU, X. H.; LIU, Q.; CHENG, J.; YUAN, X. Y.; WU, L. L.; WAN, Y. Electrospun poly(vinyl alcohol)/glucose oxidase biocomposite membranes for biosensor applications. **Reactive & Functional Polymers**, Amsterdam, NL, v. 66, n. 12, p. 1559-1564, 2006.

RETAMA, R. J. Synthesis and characterization of semiconducting polypyrrole/polyacrylamide microparticles with GOx for biosensor applications. **Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, Haworth, v. 270-271, p. 239-244, 2005.

RHIM, J. W.; NG, P. K. W. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 47, n. 4, p. 411-433, 2007.

RHODES, M. J. C. The climacteric and ripening of fruits. In: HULME, A.C. (Ed.) **The biochemistry of fruits and their products**. London, GB: Academic Press; New York Academic Press, 1970.

RIUL JÚNIOR, A.; MALMEGRIN, R. R.; FONSECA, F. J.; MATTOSO, L. H. C. An artificial taste sensor based on conducting polymers. **Biosensors & Bioelectronics**, Essex, v. 18, p. 1365-1369, 2003.

ROBERTSON, J. M. C.; ROBERTSON, P. K. J.; LAWTON, L. A. A comparison of the effectiveness of TiO₂ photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: chemistry**, Lausanne, v. 175, n. 1, p. 51-56, 2005.

ROCO, M. C. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. **Current Opinion in Biotechnology**, London, GB, v. 14, n. 3, p. 337-346, 2003.

RUDRA, J. S.; DAVE, K.; HAYNIE, D. T. Antimicrobial polypeptide multilayer nanocoatings. **Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition**, Utrecht, v. 17, n. 11, p. 1301-1315, 2006.

SANCHEZ-GARCIA, M. D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 71, p. 235-244, 2008.

SEZGINTÜRK, M. K.; GÖKTUĞ, T.; DINÇKAYA, E. A biosensor based on catalase for determination of highly toxic chemical azide in fruit juices. **Biosensors and Bioelectronics**, Essex, v. 21, p. 684-688, 2005.

SHING, R. P. Scientific principles of shelf-life evaluation. In: MAN, D.; JONES, A. **Shelf-life evaluation of food**. Gaithersburg: Aspens Publishes, 2000. p. 2-22.

SHVEDOVA, A.; CASTRANOVA, V.; KISIN, E.; SCHWEGLER-BERRY, D.; MURRAY, A.; GANDELSMAN, V.; MAYNARD, A.; BARON, P. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Hampshir, v. 66, n. 20, p. 1909-1926, 2003.

SINEGANI, A. A. S.; EMZITAI, G.; SHARIAMADARI, H. Sorption and immobilization of cellulase on silicate clay minerals. **Journal of Colloid Interface Science**, New York, v. 290, p. 39-44, 2005.

SOARES, N. F. F.; HOTCHKISS, J. H. Naringinase immobilization in packaging films for reducing naringin concentration in grapefruit juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, p. 61-65, 1998.

SON, W. K.; YOUNG, J. H.; PARK, W. H. Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 65, p. 430-434, 2006.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid Interface Science**, New York, v. 275, p. 177-182, 2004.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, n. 2, p. 84-95, 2007.

STOIMENOV, P.; KLINGER, R. L.; MARCHIN, G. L.; KLABUNDE, K. J. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. **Langmuir**, Washington, DC, v. 18, p. 6679-6686, 2002.

SUN, D. P.; ZHOU, L. L.; WU, Q. H.; YANG, S. L. Preliminary research on structure and properties of nano-cellulose. **Journal of Wuhan University of Technology - Materials Science Edition**, Wuhan, v. 22, n. 4, p. 677-680, 2007.

SVAGAN, A. J.; HEDENQVIST, M. S.; BERGLUND, L. Reduced water vapour sorption in cellulose nanocomposites with starch matrix. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 69, n. 3-4, p. 500-506, 2009.

TANG, C.; LIU, H. Cellulose nanofiber reinforced poly (vinyl alcohol) composite film with high visible light transmittance. **Composites Part A: applied science and manufacturing**, Amsterdam, NL, v. 39, n. 10, p. 1638-1643, 2008.

TANG, S.; ZOU, P.; XIONG, H.; TANG, H. Effect of nano-SiO₂ on the performance of starch/polyvinyl alcohol blend films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 72, p. 521-526, 2008.

TANKHIWALE, R.; BAJPALI, S. K. Graft co-polymerization onto cellulose-based filter paper and its further development as silver nanoparticles-loaded antibacterial food packaging material. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, Amsterdam, NL, v. 69, n. 2, p. 164-168, 2009.

UYAMA, H.; KUWABARA, M.; TSUJIMOTO, T.; NAKANO, M.; USUKI, A.; KOBAYASHI, S. Green nanocomposite from renewable resources: plant oil-clay hybrid materials. **Chemistry of Materials**, Washington, DC, v. 15, p. 2492-2494, 2003.

VLADIMIROV, V.; BETCHEV, C.; VASSILIOU, A.; PAPAGEORGIOU, G.; BIKIARIS, D. Dynamic mechanical and morphological studies of isotactic polypropylene/fumed silica nanocomposites with enhanced gas barrier properties. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 66, p. 2935-2944, 2006.

WANG, B.; SAIN, M. Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 67, n. 11-12, p. 2521-2527, 2007.

WANG, Z-G.; WAN, L-S.; LIU, Z-M.; HUANG, X-J.; XU, Z.-K. Enzyme immobilization on electrospun polymer nanofibers: An overview. **Journal of Molecular Catalysis B: enzymatic**, Amsterdam, NL, v.56, p.189-195, 2009.

WARHEIT, D. B.; LAURENCE, B. R.; REED, K. L.; ROACH, D. H.; REYNOLDS, G. A. M.; WEBB, T. R. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. **Toxicological Sciences**, Orlando, v. 77, p. 117-125, 2004.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, D.J. Functional materials in food nanotechnology. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 9, p. R107-116, 2006.

WILEY, B.; SUN, Y.; MAYERS, B.; XIA, Y. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver. **Chemistry - A European Journal**, Easton, v. 11, n. 2, p. 454-463, 2005.

- WIZIACK, N. K. L.; PATERNO, L. G.; FONSECA, F. J.; MATTOSO, L. H. C. Effect of film thickness and different electrode geometries on the performance of chemical sensors made of nanostructured conducting polymer films. **Sensors and Actuators B, Chemical**, Lausanne, v. 122, p. 484-492, 2007.
- WU, C. L.; ZHANG, M. Q.; RONG, M. Z.; FRIEDRICK, K. Tensile performance improvement of low nanoparticles filled-polypropylene composites. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 62, p.1327-1340, 2002.
- WU, L.; YUAN, X.; SHENG, J. Immobilization of cellulase in nanofibrous PVA membranes by electrospinning. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, NL, v. 250, n. 1-2, p. 167-173, 2005.
- WU, Q.; HENRIKSSON, M.; LIU, X.; BERGLUND, L.A. A high strength nanocomposite based on microcrystalline cellulose and polyurethane. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 8, p. 3687-3692, 2007.
- XIAO-E, L.; GREEN, A. N. M.; HAQUE, S. A.; MILLS, A.; DURRANT, J. R. Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: chemistry**, Lausanne, v. 162, p. 253-259, 2004.
- XIONG, H. G.; TANG, S. W.; TANG, H. L.; ZOU, P. The structure and properties of a starch-based biodegradable film. **Carbohydrate Polymers**, Barding, v. 71, p. 263-268, 2008.
- YAM, K. L.; TAKHISTOV, P. T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 1, p. R1-R10, 2005.
- YANO, S.; MAEDA, H.; NAKAJIMA, M.; HAGIWARA, T.; SAWAGUCHI, T. Preparation and mechanical properties of bacterial cellulose nanocomposites loaded with silica nanoparticles. **Cellulose**, New York, v. 15, n. 1, p. 111-120, 2008.
- YU, H.; XU, X.; CHEN, X.; LU, T.; ZHANG, P.; JING, X. Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 103, p. 125-133, 2007.
- YU, Y. H.; LIN, C. Y.; YEH, J. M.; LIN, W. H. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)-clay nanocomposite materials. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 44, n. 12, p. 3553-3560, 2003.
- ZENG, H.; GAO, C.; WANG, Y.; WATTS, P. C. P.; KONG, H.; CUI, X.; YAN, D. In situ polymerization approach to multiwalled carbon nanotubes-reinforced nylon 1010 composites: Mechanical properties and crystallization behavior. **Polymer**, Amsterdam, NL, v. 47, p. 113-122, 2006.

ZHOU, X.; SHIN, E.; WANG, K. W.; BAKIS, C. E. Interfacial damping characteristics of carbon nanotube-based composites. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 64, n. 15, p. 2425-2437, 2004.

ZIMMERMANN, T.; PÖHLER, E.; GEIGER, T. Cellulose fibrils for polymer reinforcement. **Advanced Engineering Materials**, Weinheim, v. 6, n. 9, p. 754-761, 2004.



Na Livraria Embrapa, você encontra
livros, fitas de vídeo, DVDs e
CD-ROMs sobre agricultura,
pecuária, negócio agrícola, etc.

Para fazer seu pedido, acesse
www.embrapa.br/liv

ou entre em contato conosco
Fone: (61) 3448-4236
Fax: (61) 3448-2494
vendas@sct.embrapa.br

Impressão e acabamento
Embrapa Informação Tecnológica

*O papel utilizado nesta publicação foi produzido conforme
a certificação da Bureau Veritas Quality International (BVQI) de Manejo Florestal.*