

Embalagem ativa para alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada

Active packaging for fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Tatiana Marin^{1*}; Jonatas Renan Montanucci²;
Marta de Toledo Benassi³; Fábio Yamashita⁴

Resumo

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

Palavras-chave: Filmes biodegradáveis, vida útil, pós-colheita

Abstract

The minimal processing of horticultural products endears the raw material and is convenient to the consumer due to the facility for preparing and consuming. The objective of this work was to develop an active packaging for fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.) to increase its shelf life. Minimally processing methodology was defined and the product quality was determined by sensorial, physico-chemical and microbiological analysis. The lettuce tree was selected, trimmed, pre-washed, soaked in sanitized water (100ppm of active chlorine) for 15 minutes and centrifuged. The lettuce leaves were packed in polypropylene pots with a sachet containing 1-methylcyclopropene (1-MCP) and sealed with biodegradable starch film. Soon after the processing, the product was stored at 4°C for 12 days. Periodically samples were evaluated in terms of appearance and purchase intention, soluble solids and vitamin C contents, pH, texture, color, weight loss and total count of mesophilic and psychotrophic microorganisms, lactic bacteria, mould and yeast. Using 1-MCP in sachet format did not increase the

¹ Mestrado em Ciências de Alimentos- UEL; Especialização em Gestão de Qualidade de Alimentos –UEL; Graduação em Nutrição. Centro de Estudos Superiores de Londrina, CESULON. Faculdade de Apucarana: Coordenação Curso de Nutrição; Ensino, Turismo com ênfase em Hotelaria. E-mail: marintati@yahoo.com.br

² Graduação em Química pela Universidade Estadual de Londrina. E-mail: jonatasmontanucci@yahoo.com.br

³ Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas; Professor Associado da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: martatb@uel.br

⁴ Doutor em Engenharia de Alimentos pela UNICAMP e docente da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: fabioy@uel.br

* Autor para correspondência

lettuce shelf life but the minimal processing combined with packaging sealed with biodegradable film is practicable as the product showed good sensorial acceptance, low microbiological counts and shelf life of 5 days at 4°C.

Key words: Biodegradable film, shelf life, postharvest

Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no país, sendo fonte de fibras, sais minerais e vitaminas para a dieta (KATAYAMA, 1993). Entre as variedades de alface cultivadas atualmente, tem-se destacado a alface americana principalmente devido à crocância das folhas internas, que têm coloração amarela ou branca, são imbricadas, semelhantes ao repolho (YURI et al., 2000).

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2002-2003, realizada pelo INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2008), revela que as famílias brasileiras consomem muitos alimentos com alto teor de açúcar, principalmente refrigerantes, e poucas hortaliças.

A região Sul obteve a maior quantidade de hortaliças anual adquirida (39 kg), enquanto que o Norte (20 kg) apresentou a menor aquisição, inferior a média nacional (29 kg) e das regiões Sudeste (32 kg), Centro-Oeste (23 kg) e Nordeste (22 kg). Isso representa decréscimo de 16% no consumo de hortaliças de 1996 a 2003, em relação com 34,4 Kg/ano. Essas médias são inferiores a países Europeus, Asiáticos e Norte americanos (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008).

Para a vida útil e apresentação do produto ao consumidor, as hortaliças mais consumidas e/ou perecíveis podem ser minimamente processadas, acondicionadas em embalagens adequadas e armazenadas sob refrigeração (ROSA, 2002). Segundo Jacomino, Arruda e Moreira (2005), a técnica de processamento mínimo é relativamente recente, tendo início na década de 90, devido à necessidade de se conservar os alimentos com crescimento tanto

na pesquisa como na comercialização decorrente da demanda.

Dados do Ministério da Integração Nacional (2008) mostram que as hortaliças minimamente processadas já participam ativamente no mercado a varejo de hortaliças frescas, onde atingindo um grande percentual na preferência dos consumidores: Ceará (30%), Distrito Federal (29%), Goiás (29%), Minas Gerais (12%), Rio de Janeiro (13%) e São Paulo (32%).

Inicialmente, devido à falta ou alto custo da tecnologia, as hortaliças minimamente processadas caracterizadas por produtos em folhas inteiras, isolados ou associados com outros produtos, e embalados sob atmosfera modificada passiva, por meio da utilização de sacos plásticos. Atualmente, com avanços tecnológicos e maior socialização das tecnologias, as hortaliças minimamente processadas são apresentadas de várias formas, isoladas ou em associação com outras hortaliças, sendo embaladas em sacos plásticos ou bandejas, sob atmosfera modificada passiva ou ativa.

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

O 1-metilciclopropeno (1-MCP ou C_4H_6) é um composto volátil comercializado na forma de pó e libera o princípio ativo se misturado a uma solução básica ou água. Em frutas, hortaliças e flores o composto age através da fixação preferencial ao receptor de etileno, bloqueando os efeitos do etileno proveniente de fontes internas e externas (SEREK; SISLER; REID, 1995).

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

Material e Métodos

Preparo das amostras

Alface americana (*Lactuca sativa* L.) produzida na região de Londrina – PR no estádio de desenvolvimento comercial, foi colhida e imediatamente transportado em sacos plásticos para o laboratório dentro de 20 min.

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) utilizado nos experimentos foi doado pela Rohm and Haas Química Ltda, comercializado como Smartfresh®, com 0,14% de 1-MCP ativo.

No processamento mínimo as alfaces foram selecionadas, lavadas, mantidas em solução de 100 µg/ml de cloro ativo por 15 min, centrifugadas e acondicionadas em potes de polipropileno de 500 mL, juntamente com sachês com 1-MCP.

Os filmes biodegradáveis foram produzidos por *casting* conforme descrito por Nakagawa (2003). Os biofilmes foram produzidos misturando-se solução contendo 3,5% de amido de mandioca (base úmida), 1% de glicerol líquido (base úmida) e água destilada. A técnica consistiu em hidratar o amido em água destilada e adicionar o glicerol. Após a hidratação e homogeneização, a solução foi transferida para o viscógrafo Brabender® para gelatinização completa do amido, com agitação constante de 75 rpm, e aquecimento de 3° C por minuto a partir de 30° C, até atingir 95° C, mais 2 minutos de estabilização. A solução gelatinizada foi transferida para um béquer, homogeneizada manualmente até atingir 65° C,

despejada em placas de acrílico dotada de borda com medidas de 200mm x 120mm x 20mm e mantidas em estufa com circulação de ar a 40° C até secarem e formarem os filmes, após aproximadamente 20 horas.

A permeabilidade ao vapor de água dos biofilmes foi determinada de acordo com a norma E96 da ASTM (1995).

Na seqüência as embalagens foram seladas com filmes biodegradáveis, produzidos com amido de 100 µm de espessura.

10mg e 15mg de SmartFresh® foram misturados com 5g de amido e embalados em sachês de 50mm x 50mm produzidos com o biofilme descrito anteriormente.

Três tratamentos foram realizados: embalagens contendo apenas alface e biofilme (controle); embalagens contendo alface, biofilme e sachês com 10 mg de SmartFresh® e embalagens contendo alface, biofilme e 15 mg de SmartFresh®.

As hortaliças embaladas foram armazenadas a 4±1°C B.O.D. (Marconi, modelo MA415, Brasil) a e a umidade relativa monitoradas, mas não controlada, sendo amostras retiradas a cada 2 dias, num total de 12 dias.

As alfaces foram avaliadas sensorialmente por 30 provadores não treinados em termos da aceitação da aparência, utilizando uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (de “desgostei muitíssimo” a “gostei muitíssimo”) e a intenção de compra numa escala de 5 pontos (de “certamente não compraria” a “certamente compraria”) (DUTCOSKY, 1996).

Análise físico-química

A determinação da perda de massa, pH e teor de sólidos solúveis, foram determinados de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976). A vitamina C foi determinada pelo método padrão da AOAC modificado por Benassi e Antunes (1988).

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

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* foram obtidos no sistema CIELAB, utilizando um colorímetro digital Minolta (modelo CR10, Japão), e a partir destes valores foi calculada a diferença de cor (ΔE) através da equação abaixo:

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

Onde:

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

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

As medidas foram tomadas em quatro pontos diferentes da folha de alface. Foram utilizadas duas folhas por tratamento.

Tabela 1. Avaliação sensorial de aceitação e intenção de compra de alface americana minimamente processada armazenada a 4°C.

AVALIAÇÃO SENSORIAL	TEMPO (dia)	TRATAMENTO		
		Controle	Sachê 10mg de 1-MCP	Sachê 15mg de 1-MCP
Aceitação	1	5,7 a	5,7 a	5,7 a
	3	4,0 b	5,1 a	4,9 a
	5	2,9 a	2,7 a	3,1 a
	7	i.c.	i.c.	i.c.
Intenção de Compra	1	4,2 a	4,2 a	4,2 a
	3	2,7 b	3,7 a	3,5 a
	5	2,9 a	2,7 a	3,1 a
	7	i.c.	i.c.	i.c.

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

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

Análise microbiológica

A avaliação microbiológica constituída de contagem total de microrganismos mesófilos, pela semeadura em profundidade em *Plate Count Agar* (PCA) e incubadas a 37°C por 48 horas. Os psicotróficos foram analisados em PCA, incubando a 7°C por 7-10 dias (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). A contagem de bactérias lácticas foi realizada em ágar *Man, Rogosa e Sharpe* (M.R.S.) incubada por 3 dias à 37°C. Os bolores e leveduras foram analisadas em Ágar Batata Dextrose incubado por 3-5 dias à 25°C (SIQUEIRA, 1995).

Resultados e Discussão

As alfaces foram analisadas sensorialmente após 1, 3 e 5 dias de armazenagem, a (Tabela 1) mostra as notas médias de aceitação e intenção de compra.

No primeiro dia de avaliação sensorial o produto obteve uma média de 5,7, onde a nota 5 correspondia a “gostei moderadamente” e 6 a “gostei muito”, demonstrando boa aceitação do produto. No terceiro dia da avaliação as alfaces dos tratamentos 10 e 15mg de 1-MCP obtiveram as maiores médias, 5,1 e 4,9, respectivamente, mostrando que a aceitação do produto foi maior para esses dois tratamentos em relação ao controle, que obteve nota 4,0. No quinto dia não houve diferença entre as notas dadas para os três tratamentos.

Na análise da intenção de compra, no terceiro dia as alfaces com maiores médias foram dos tratamentos 10 mg de 1-MCP e 15mg de 1-MCP, que obtiveram notas 3,7 e 3,5, respectivamente. No quinto dia não houve diferença entre as notas dadas para os três tratamentos. O valor agregado ao produto foi uma preocupação do consumidor no momento da análise, sendo um dos comentários mais citados nas fichas preenchidas pelos provadores. A aceitação do produto mostra como o consumidor observa a qualidade e conservação do produto. A conservação de frutas e hortaliças minimamente processadas torna-se crítica exatamente em virtude das injúrias mecânicas causadas nos tecidos pelas operações de descascamento/desfolhamento e corte que aceleram o metabolismo, aumentando a taxa respiratória e produção de etileno e conseqüente decréscimo da vida de prateleira. Os fatores que determinam a qualidade destes produtos estão relacionados com sua composição química e segurança (DURIGAN; SILVA; PINTO, 2002).

A perda de massa pode ser observada na (Figura 1).

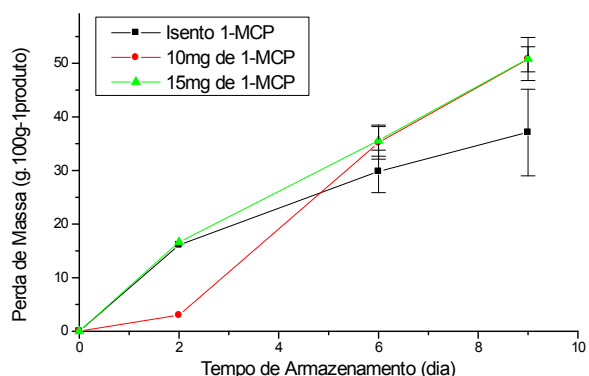


Figura 1. Perda de massa da alface americana durante a armazenagem.

Salienta-se que nos tratamentos com sachê ocorreu maior perda de massa em relação ao sem sachê, provavelmente devido à retenção de água pelo amido utilizado para diluir o 1-MCP.

O teor de sólidos solúveis no início de armazenagem foi de 1,5° Brix e manteve-se constante ao longo da armazenagem. O comportamento do pH em função do tempo pode ser observado na (Figura 2).

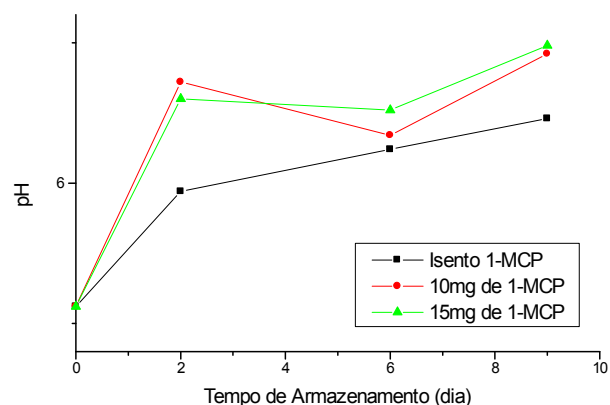


Figura 2. pH da alface americana durante a armazenagem.

Os valores de pH aumentaram no início da armazenagem (Figura 2), provavelmente devido à alta taxa de respiração do produto, e consumiu os ácidos orgânicos, aumentando o pH do produto. No decorrer do armazenagem, a taxa de respiração diminuiu e, os valores de pH aumentam de maneira menos acentuada ou estabilizaram. O aumento de pH também foi observado em outras hortaliças minimamente processadas, em couve o pH tende a se elevar após cinco dias de armazenagem à 5° C (CARNELOSSI, 2000).

A vitamina C teve tendência ao aumento durante o armazenagem, isso pode ser observado na (Figura 3).

Os teores de vitamina C nas alfaces dos tratamentos que continham sachê com 1-MCP apresentaram uma grande variação, que pode ser observada pelos desvios-padrão (Figura 3), mas percebe-se uma tendência de aumento ao longo do período de armazenagem. Esse aumento ocorre devido à perda de massa ao longo da armazenagem,

concentrando a vitamina C no produto, já que nenhum tipo de antioxidante foi adicionado ao tratamento.

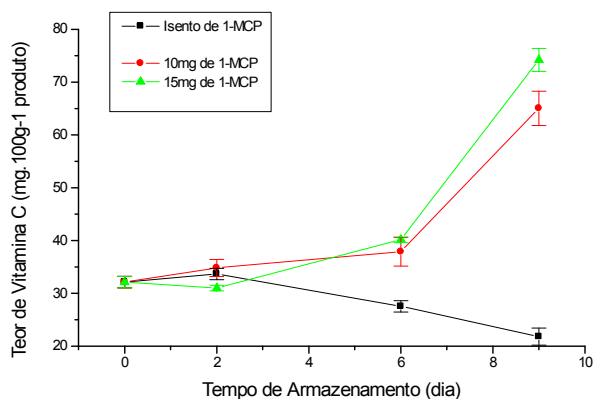


Figura 3. Teores de vitamina C na alface americana durante a armazenagem.

Em todos os tratamentos a firmeza da alface apresentou desvios-padrão altos, causados pela variabilidade na textura das amostras de um mesmo tratamento (Figura 4). Apesar desta variação percebe-se uma tendência de aumento ou manutenção da firmeza em função do tempo de armazenagem, ou seja, a embalagem preservou a crocância característica do produto.

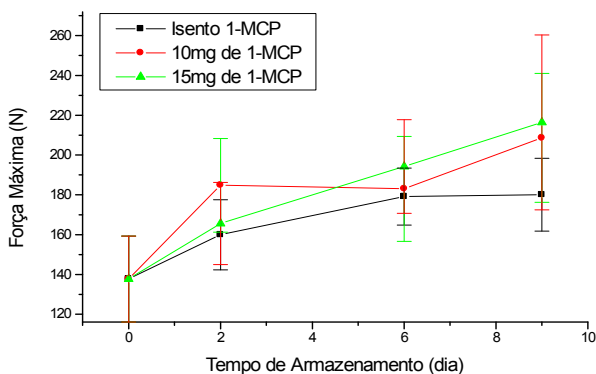


Figura 4. Firmeza da alface americana durante a armazenagem.

Berrang, Brackett e Beuchat (1990) não observaram efeito significativo de atmosfera controlada nas texturas de floretes de brócolis e de

couves-flores. Por outro lado, Kader e Ben-Yehoshua (1986) relata estudos de outros pesquisadores que ao armazenarem brócolis sob 10% de CO₂ a 5°C por 2 semanas, observaram que eles estavam mais macio que os mantidos em atmosfera normal.

Foi calculada a diferença de cor das alfaces, onde maiores diferenças indicam maiores alterações em relação à cor inicial do produto (Figura 5).

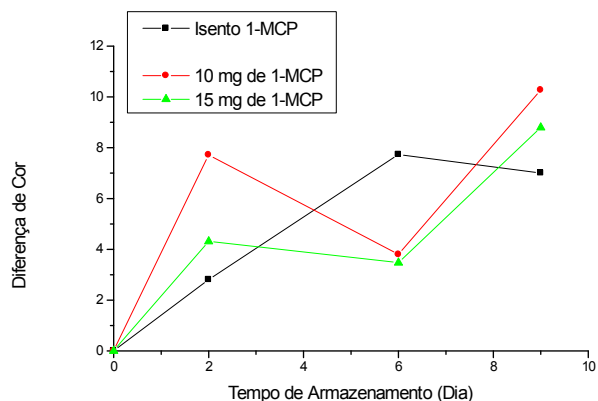


Figura 5. Diferença de cor na alface americana durante a armazenagem.

Em alfaces minimamente processadas houve uma alteração da cor ao longo da armazenagem (Figura 5), o que se refletiu na redução da intenção de compra do produto (Tabela 1), pois a cor das hortaliças é um atributo de qualidade importante para o consumidor na hora de decidir sobre a compra do produto, embora não reflita necessariamente sobre o valor nutricional e sabor do produto (POMERANS; MELOAN, 1994).

As alfaces não apresentaram contagens microbiológicas para mesófilos, psicrotróficos e bactérias lácticas (Tabela 2), devido a sanitização adequada e sem cortes não ocorreu liberação de substrato para crescimento microbiano. Houve apenas crescimento de bolores e leveduras no decorrer do tempo de armazenagem (Tabela 2), pois esses microrganismos apresentam menor exigência em relação à umidade, pH, temperatura e nutrientes, comparados às bactérias (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Tabela 2. Contagem Total de bolores e leveduras em alface americana minimamente processada, armazenada a 4°C

TRATAMENTO	CONTAGEM BOLORES E LEVEDURAS (UFC/g)			
	0 dia	2 dias	6 dias	9 dias
Alface sem Sanitização	<10 ⁻³			
Alface Isenta de 1-MCP	<10 ⁻²	1 x 10 ⁻²	1x 10 ⁻²	<10 ⁻³
Alface com 10 mg de 1-MCP	<10 ⁻²	<10 ⁻³	1 x 10 ⁻²	<10 ⁻³
Alface com 15 mg de 1-MCP	<10 ⁻²	5 x10 ⁻²	1 x10 ⁻²	3 x10 ⁻²

Conclusão

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

A técnica de processamento mínimo associado à embalagem selada com filme biodegradável mostrou ser viável para conservação de alface americana altamente perecível, com produto apresentando boa aceitação sensorial, baixa contaminação microbiológica e vida de prateleira adequada.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo auxílio financeiro e bolsa de estudo e à CAPES pela bolsa de estudo.

Referências

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL – ASTM. *Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-95*. Philadelphia: ASTM, 1995. 8 p.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. *Carbohydrate Polymers*, France, v. 56, n. 2, p. 111-122, 2004.

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

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

CARNELOSSI, M. A. G. *Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (Brassica oleracea cv. acephala) minimamente processadas*. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Departamento de Ciência de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

DURIGAN, J. F.; SILVA, E. O.; PINTO, S. A. A. *Processamento mínimo de frutas e hortaliças*. Fortaleza: Instituto Frutal, 2002.

DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. 20. ed. Curitiba: Editora Universitária Champagnat, 1996. 123 p.

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

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sistema IBGE de recuperação de automática: SIDRA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 05 dez. 2008.

JACOMINO, A. P.; ARRUDA, M. C. de; MOREIRA, R. C. Tecnologia de processamento mínimo de frutas

cítricas. In: SIMPOSIUM “NUEVAS TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN Y ENVASADO DE FRUTAS Y HORTALIZAS. VEGETALES FRESCOS CORTADOS. 2005, La Habana, Cuba. *Anais...* La Habana, Cuba, mar. 2005. p. 11-17.

KADER, A. A.; BEN-YEHOSHUA, S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, USA, v. 20, n. 6, p. 1-13, 2000.

- KATAYAMA, M. Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. In: FERREIRA, M. E.; CASTELLANE, P. D.; CRUZ, M. C. P. *Nutrição e adubação de hortaliças*. Jaboticabal: Potafós, p. 141-148, 1993.
- MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. In: SIMPOSIUM ESTADO ACTUAL DEL MERCADO DE FRUTOS Y VEGETALES CORTADOS EN IBEROAMÉRICA. PROYECTO XI 22. 2004, San José, Costa Rica. *Anais eletrônicos...* San José, Costa Rica. abr. 2004. p. 87-99. Disponível em: <<http://www.integracao.gov.br/>>. Acesso em: 05 dez. 2008.
- NAKAGAWA, A. *Embalagem ativa biodegradável para acerolas in natura*. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2003.
- POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. *Food analysis: theory and practices*. 3.ed. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 87-98.
- ROSA, O. O. Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Vigilância Sanitária de Lavras. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2002.
- SEREK, M.; SISLER, E. C.; REID, M. S. 1-Metilciclopropeno, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improves the life of fruit, cut flowers and potted plants. *Acta Horticulturae*, Leuven, v. 394, n. 394, p. 337-345, 1995.
- SIGRIST, J. M. *Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processadas*. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Ciências Agrárias. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.
- SIQUEIRA, R. S. *Manual de microbiologia de alimentos*. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1995. 159 p.
- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOSSER, D. F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219 p.
- YURI, J. E.; RESENDE, G. M. de.; MOTA, J. H.; FREITAS, S. A. C. de., SOUZA, R. J. de. *Avaliação de cultivares de alface americana em duas épocas de plantio e dois locais do sul de Minas Gerais*. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Agronomia. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2000.