

RENATO SOUZA CRUZ

EFICIÊNCIA DE ABSORVEDOR DE OXIGÊNIO NA CONSERVAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE MASSA FRESCA TIPO LASANHA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

RENATO SOUZA CRUZ

EFICIÊNCIA DE ABSORVEDOR DE OXIGÊNIO NA CONSERVAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE MASSA FRESCA TIPO LASANHA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

APROVADA EM: 16 de dezembro de 2003.

Prof. Nélio José de Andrade
(Conselheiro)

Prof. Luiz Henrique Mendes da Silva

Prof^a Joelma Perreira

Prof^a Vera Lúcia dos Santos

Prof^a Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Orientadora)

Aos meus pais Renato Cruz e Maria de Lourdes Souza Cruz.
À minha esposa Gal.

AGRADECIMENTO

A Deus, pela vida e por ter-me dado força e sabedoria nesta jornada.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

À CAPES e à FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudo.

A Vânia e Leonardo, proprietários da empresa MASSANOBRE Produtos Alimentícios Ltda., por terem disponibilizado as instalações e os insumos utilizados neste trabalho, bem como aos seus funcionários, pela colaboração.

À Professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela orientação e confiança.

Aos Professores Nélio José de Andrade e José Carlos Gomes, meus conselheiros, pela dedicação e amizade durante a realização deste trabalho.

Ao meu Mestre e Professor Renato Cruz, pelo apoio e pela dedicação não só profissionais, como também pessoais.

Aos demais professores do DTA, pelos conhecimentos e pela amizade.

À minha esposa Gal, por todo o seu apoio e pela sua compreensão.

Aos meus tios e à minha avó, pelo incentivo e apoio.

Aos funcionários do DTA Divino, Fernando, Sr. Manuel, Sr. Luiz, Juarez, Adão e José Thomaz (Perereca), pelo apoio à realização deste trabalho e pela amizade.

Às Secretárias Vânia, Geralda, Maria Rita e Sueli, pela atenção e amizade.

Aos meus amigos Róbson, Miriam, Alba, Maria do Socorro, Nathália, Rodrigo, Diego e Michele, pelo convívio no Laboratório de Embalagem, e aos meus demais amigos de pós-graduação, pelo companheirismo.

À minha amiga inseparável Mara lamim, pelo incentivo e carinho durante todos esses anos.

À minha cunhada Mara, ao meu sogro Tônico e à minha sogra D. Vanda, pelo incentivo e pela atenção.

A todos os meus amigos do tênis e do vôlei, pelas horas de prazer e relaxamento.

BIOGRAFIA

RENATO SOUZA CRUZ, filho de Renato Cruz e Maria de Lourdes Souza Cruz, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, no dia 7 de junho de 1972.

Realizou seus estudos primários, primeiramente, em Campinas, SP, e, posteriormente, em Viçosa, onde concluiu seus estudos secundários, no Colégio Universitário (COLUNI).

Em 1992, iniciou o Curso de Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, graduando-se em dezembro de 1997.

Em março de 1998, ingressou no Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, áreas de concentração em Química, Bioquímica e Análise de Alimentos, da UFV, defendendo a tese intitulada “Efeito da utilização de CO₂ no processamento de macarrão tipo massa fresca”, em fevereiro de 2000.

Em março de 2000, iniciou o Curso de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, áreas de concentração em Química, Bioquímica e Análise de Alimentos, na UFV, submetendo-se à defesa de tese em dezembro de 2003.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Tipos de embalagens ativas	5
2.1.1. Atmosfera modificada	6
2.1.2. Controladores dos níveis de etileno	6
2.1.3. Absorvedores de umidade	7
2.1.4. Liberadores de etanol	7
2.1.5. Liberadores de aditivos	7
2.1.6. Incorporação de enzimas	8
2.1.7. Sistemas monitoradores de temperatura de armazenamento	8
2.1.8. Absorção de radiação	9
2.1.9. Absorvedores de odores e sabores desagradáveis	9
2.1.10. Preservadores de cor	10
2.1.11. Revestimentos comestíveis como embalagens ativas	10
2.2. Absorvedores de oxigênio	11

	Página
2.2.1. Efeito do uso dos absorvedores de oxigênio	12
2.2.2. Sistemas absorvedores de O ₂	14
2.2.2.1. Compostos metálicos.....	16
2.2.2.2. Enzimas	17
2.2.2.3. Ácido ascórbico.....	19
2.2.2.4. Matriz fotossensível.....	20
2.2.2.5. Outros tipos de absorvedores	20
2.2.3. Aplicações de absorvedores de O ₂ em produtos alimentícios	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1. Determinação da curva de absorção dos sistemas absorvedores em umidades relativas e temperaturas diferentes	27
3.2. Determinação da concentração mínima de oxigênio requerida para o crescimento de <i>Aspergillus niger</i> e <i>Penicilium</i> spp.....	28
3.3. Avaliação microbiológica de massa fresca tipo lasanha, com e sem conservante, na presença de sachê absorvedor de O ₂	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. Efeito da umidade relativa e da temperatura na taxa de absorção de O ₂ pelo sachê.....	31
4.2. Determinação do tempo teórico de atividade de absorção do sachê	37
4.3. Aplicação do sistema absorvedor estudado em massa fresca de lasanha	41
4.3.1. Avaliação do teor mínimo de O ₂ exigido para crescimento de fungos	41
4.3.2. Avaliação da eficiência do absorvedor para inibição do crescimento de fungos filamentosos e leveduras, <i>Staphylococcus</i> spp., coliformes totais e <i>E. coli</i> em massa fresca tipo lasanha.....	42
5. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Diferentes tipos de substratos utilizados pelas empresas na produção comercial de absorvedores de O ₂	15
2. Energia de ativação da reação do ferro com o O ₂ nas diferentes umidades relativas e variação de temperatura de 10 ± 2 °C para 25 ± 2 °C	33
3. Quantidade máxima absorvida pelo sachê nas diferentes temperaturas e umidades relativas	34
4. Equações para determinação do volume absorvido pelo sachê nas temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C e umidades relativas na faixa de 75 a 85%	37
5. Valores encontrados, em médias, com os parâmetros utilizados na determinação do volume inicial de oxigênio dentro da embalagem, após o envase do produto.....	39
6. Influência da permeabilidade de filmes plásticos no tempo de absorção dos sachês, calculado pela Eq VI.....	41
7. Tempo de aparecimento das colônias de <i>Aspergillus niger</i> e <i>Penicilium</i> spp. nas diferentes atmosferas de oxigênio, obtidas pela injeção de nitrogênio ou ação química do sachê absorvedor de O ₂ ...	42

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Sistema de dessecador utilizado para conduzir as 1 ^a e 2 ^a etapas do experimento	28
2. Massas frescas tipo lasanha embaladas a vácuo, utilizadas no experimento	29
3. Consumo de oxigênio pelo absorvedor FT-300 nas diferentes umidades relativas à temperatura de 25 ± 2 °C, por um período de 12 dias	32
4. Consumo de oxigênio pelo absorvedor FT-300 nas diferentes umidades relativas à temperatura de 10 ± 2 °C, por um período de 19 dias	32
5. Quantidade média de oxigênio remanescente dentro dos sistemas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 25 ± 2 °C	35
6. Quantidade média de oxigênio remanescente dentro dos sistemas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 10 ± 2 °C	35
7. Quantidade de O ₂ absorvida nas primeiras 12 horas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 25 ± 2 °C.....	36
8. Quantidade de O ₂ absorvida nas primeiras 12 horas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 10 ± 2 °C.....	36
9. Superfície de resposta representativa da Eq à temperatura de 25 ± 2 °C	38

10. Superfície de resposta representativa da Eq à temperatura de III, 10 ± 2 °C	39
11. Logaritmo decimal do número de fungos filamentosos e leveduras (UFC/g) nas massas frescas tipo lasanha, às temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C. (☐ Absorvedor; ☒ Vácuo e ☑ Conservante químico)	44
12. Logaritmo decimal do número de Staphylococcus spp. (UFC/g) das massas de lasanha com e sem conservante, às temperaturas de 10 e 25 °C. (☐ Absorvedor, ☒ Vácuo e ☑ Conservante químico) ...	46
13. Logaritmo decimal do número de coliformes totais (NMP/g) das massas frescas tipo lasanha, às temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C. (☐ Absorvedor, ☒ Vácuo e ☑ Conservante químico)	47

RESUMO

CRUZ, Renato Souza, D. S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2003. **Eficiência de absorvedor de oxigênio na conservação microbiológica de massa fresca tipo lasanha.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Conselheiros: Nélio José de Andrade e José Carlos Gomes.

O desenvolvimento dos microrganismos é, em geral, acelerado em ambientes nutritivos, com umidade e atividade de água elevadas e temperatura e potencial de oxirredução adequados, fatores que variam em cada microrganismo. Assim, os processos de conservação são baseados na modificação dessas condições, de modo que o meio se torne inadequado ao desenvolvimento da microbiota presente. Este trabalho objetivou avaliar diferentes níveis de oxigênio, obtidos através de absorvedores de O₂ e atmosfera de N₂ no crescimento dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. Avaliou-se também a capacidade de absorção dos absorvedores de O₂ em umidades relativas de 75, 80 e 85%, em temperaturas de 10 ± 2 e 25 ± 2 °C. A influência dos absorvedores de O₂ no desenvolvimento de microrganismos em massa fresca de lasanha foi avaliada durante a estocagem a 10 ± 2 e 25 ± 2 °C. Suspensões com aproximadamente 5 x 10² UFC/mL dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. foram inoculadas em meio batata-dextrose-água e incubadas em dessecadores hermeticamente fechados, com diferentes

teores de oxigênio, obtidos pela injeção de nitrogênio 20,4; 5-7; e 0-1% e, ou, pela utilização de sachês absorvedores, em quantidades suficientes para atingir 5, 2 ou 1% de oxigênio. Notou-se que, em ambos os fungos, a concentração de 1% foi a que mais retardou o crescimento, tanto na atmosfera obtida por injeção de nitrogênio quanto na utilização de sachê. Foram determinadas as equações para prever o tempo teórico de atividade do sachê, as quais reportaram o valor estimado do volume absorvido, relacionado com a umidade relativa e com a permeabilidade da embalagem. Na temperatura de 25 ± 2 °C, a equação é: $V = -32,770 + 10,440 \cdot UR - 104,385 \cdot \ln(TP_{O_2})$, com um $R^2 = 0,9151$; na temperatura de 10 ± 2 °C, $V = 107,321 + 6,221 \cdot UR - 105,166 \cdot \ln(TP_{O_2})$, com um $R^2 = 0,8729$. Dessa forma, o tempo de atividade pode ser determinado pela equação $T = (V - V_i) / (TP_{O_2} \cdot A)$. Utilizando essa equação, o tempo de atividade do sachê quando armazenado a 10 °C foi de 435 dias e, a 25 °C, de 666 dias. Massas frescas de lasanha com e sem conservante foram produzidas para avaliação do efeito da presença do sachê absorvedor de O₂ no desenvolvimento da microbiota da massa. Três tratamentos foram obtidos: massa com conservante, massa sem conservante envasada com sachê e massa sem conservante envasada sem sachê. Em todos os tratamentos, as massas foram envasadas a vácuo, distribuídas aleatoriamente nas temperaturas de 25 ± 2 e 10 ± 2 °C e avaliadas microbiologicamente, por meio da análise de fungos filamentosos e leveduras, *Staphylococcus* spp., coliformes totais e *E. coli*. Nas massas armazenadas a 10 °C, todos os tratamentos foram eficientes em inibir o crescimento dos microrganismos avaliados durante 30 dias de armazenamento. No tratamento com absorvedor, no qual a massa não continha conservante, observou-se inibição de 1 e 1,5 ciclo logarítmico de fungos filamentosos e leveduras e *Staphylococcus* spp., respectivamente, em relação aos outros tratamentos. Quanto a coliformes, não se verificou diferença entre os tratamentos.

ABSTRACT

CRUZ, Renato Souza, D. S., Universidade Federal de Viçosa, December of 2003. **Oxygen absorber efficiency on the microbiological preservation of fresh mass type lasanha.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Committee members: Nélio José de Andrade and José Carlos Gomes.

The development of the microorganisms is, in general, accelerated in nutritious environments, with high humidity and water activity, temperature and oxi-reduction potential adequate, among other factors, varying for each microorganism the width of these conditions. So, the conservation processes are based on the modification of those conditions, so that the environment becomes inadequate to the development of the present microbiota. The present work aimed to evaluate different levels of oxygen, obtained through absorbers of O₂ and atmosphere of N₂ in the growth of the fungus *Aspergillus niger* and *Penicillium* spp. It was also evaluated the capacity of absorption of the absorbers of O₂ in relative humidities of 75%, 80% and 85%, in temperature of 10±2°C and 25±2°C. The influence of the absorbers of O₂ in the development of microorganisms in fresh pastry of lasagna was evaluated during the storage to 10±2°C and 25±2°C. Suspensions with approximately 5x10² UFC/mL of the fungus *Aspergillus niger* and *Penicillium* spp were inoculated in dextrose agar potato environment and incubated in tightly closed driers with different tenors of oxygen, obtained by the injection of nitrogen, 20,4, 5-7 and 0-1% and, or, for the

use of absorbent bags, in enough amounts to reach 5, 2 or 1% of oxygen. It was observed that for both fungus, the concentration of 1%, was what more delayed the growth, so much in the atmosphere obtained by injection of nitrogen as in the absorbent bags use. The equations to predict the theoretical time of activity of the bags were determined, the ones which report the dear value of the absorbed volume related with the relative humidity and the permeability of the packing. For the temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ the equation is: $V = -32.770 + 10.440 \cdot UR - 104.385 \cdot \ln(TP_{O_2})$, with a $R^2 = 0.9151$. For the temperature of $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ the equation is: $V = 107.321 + 6.221 \cdot UR - 105.166 \cdot \ln(TP_{O_2})$ with a $R^2 = 0.8729$. In that way the time of activity can be determined for the equation $T = (V - V_i) / (TP_{O_2} \cdot A)$. Using that equation, the time of activity of the bag when stored to 10°C was 435 days and at 25°C in 666 days. Fresh pastry of lasagna with and without conserver were produced. Three treatments were obtained, pastry with conserver, pastry without conserver wrapped with bags and pastry without conserver wrapped without bag. In all the treatments the pastries were wrapped under vacuum, being distributed randomly in the temperatures of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ and evaluated microbiologically, through the analysis of filamentous fungus and yeasts, *Staphylococcus* spp and total coliformes and *E. coli*. For the pastries stored to 10°C , all the treatments were efficient to inhibit the growth of the microorganisms appraised during 30 days of storage. In the treatment with absorber, in which the pastry didn't contain conserver, it was observed inhibition of 1 and 1.5 logarithmic cycles for the filamentous fungus and yeasts and *Staphylococcus* spp, respectively, in relation to the other treatments. It was not observed any difference for coliformes, among the treatments.

1. INTRODUÇÃO

A maior parte dos alimentos, seja de origem vegetal, seja animal, deteriora-se com facilidade, perdendo em qualidade e na extensão da “vida de prateleira”. Essa perda depende do tipo de alimento, da sua composição, das condições de estocagem e do tipo de embalagem que o protege.

A manutenção da qualidade de um produto e, conseqüentemente, a sua preservação são baseadas, primordialmente, no retardo, inibição ou prevenção do crescimento microbiano. Assim, o controle dos fatores que influenciam o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos é de fundamental importância na conservação dos alimentos.

O desenvolvimento dos microrganismos é, em geral, acelerado em ambientes nutritivos, com alta umidade e atividade de água, temperatura e potencial de oxirredução adequados, entre outros fatores, variando em cada microrganismo a amplitude dessas condições. Assim, os processos de conservação são baseados na modificação dessas circunstâncias, de modo que o meio se torne inadequado ao desenvolvimento da microbiota presente. Isso também pode ser conseguido pela adição de substâncias antimicrobianas que impeçam ou inibam seu desenvolvimento.

Dentre os fatores que influenciam o desenvolvimento de microrganismos, pode-se citar a presença ou ausência de oxigênio, o que determina a classe de microrganismo presente no alimento. A presença de oxigênio favorece o desenvolvimento dos aeróbios e a sua ausência, dos

anaeróbios. Alguns autores, como Hotchkiss (1988), sugerem que o teor de O₂ não deve ultrapassar a faixa de 5 a 10% no interior da embalagem.

A presença de oxigênio no interior das embalagens deve-se a falhas no processo de acondicionamento, como mistura de gases contendo resíduo de oxigênio, vácuo ineficiente e, ainda, altas taxas de permeabilidade a oxigênio da embalagem utilizada. Assim, pesquisas e desenvolvimentos na área de embalagens têm sido conduzidos visando à eliminação desse oxigênio remanescente. Nesse contexto, surgiu o conceito de embalagens ativas, que interagem com o produto acondicionado, modificando suas propriedades de maneira desejada.

Dentro desse novo conceito de embalagens estão incluídos os absorvedores de O₂ e etileno, absorvedores e emissores de CO₂, controladores de umidade e de sabor, filmes incorporados com agentes antimicrobianos e antioxidantes ou aqueles com propriedades biodegradáveis (VERMEIREN et al., 1999; HAN, 2002; BERENZON e SAGUY, 1998).

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a eficiência de absorção do sistema absorvedor de oxigênio comercial na presença de diferentes umidades relativas e diferentes temperaturas de trabalho, na tentativa de inibir o crescimento de fungos e bactérias, como *Staphylococcus* spp.

Objetivos específicos

1. Avaliar e determinar a taxa de absorção dos sistemas absorvedores em umidades relativas de 75, 80 e 85% e temperaturas de 10 e 25 °C.
2. Determinar a concentração mínima de oxigênio capaz de inibir o crescimento de *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp.
3. Avaliar a eficiência do absorvedor na inibição do crescimento de bolores e leveduras, *Staphylococcus* spp., coliforme totais e *E. coli* em massa fresca tipo lasanha.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Tradicionalmente, o material de embalagem tem sido selecionado no sentido de ter o mínimo de interação com o alimento que acondiciona, constituindo, assim, uma barreira inerte. Entretanto, nas últimas décadas diversos sistemas de embalagem vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de interagir, de forma desejável, com o produto (AZEREDO et al., 2000).

Esses sistemas são chamados de embalagens ativas, ou inteligentes, sendo geralmente planejadas para corrigir deficiências das tradicionais. Assim, embalagem ativa é um conceito inovador que tem sido estudado por mais de 40 anos, visando à proteção de alimentos e bebidas durante a distribuição, em que há uma grande distância entre a linha de produção e o consumidor final (BRODY, 2001). Dessa maneira, pode ser definida como um tipo de embalagem em que se muda a condição de embalagem para aumentar a vida de prateleira ou melhorar a segurança ou as propriedades sensoriais do produto, mantendo-se sua qualidade (European FAIR project CT-98-4170, citado por VERMEIREN et al., 1999; ROONEY, 1995).

Outras definições de embalagem ativa são encontradas na literatura. Uma delas afirma que é a embalagem que apresenta outras funções além de barreira contra o ambiente externo ao produto (DAWSON, 2002).

Segundo Han (2002), embalagens ativas são sistemas em que o processo e atribuições vão além das funções de barreira. As funções extras

são obtidas pela incorporação de ingredientes ativamente funcionais ou pela introdução de material dentro das embalagens.

De acordo com Gontard (1997), uma embalagem ativa é aquela que, além de proteger, interage com o produto. Dessa maneira, pode-se dizer que as embalagens ativas, quando comparadas com os sistemas convencionais, contribuem, de maneira mais efetiva, com o princípio da tecnologia de barreira, reportado por Leistner (1996).

A maioria das aplicações e tecnologias em embalagem ativa leva um grande benefício a indústria de alimentos, distribuidores e consumidores, devido ao aumento da vida de prateleira, maior segurança e manutenção da qualidade (HAN, 2002). Elas já são utilizadas em um grande número de produtos alimentícios e estão sendo testadas em vários outros. São usadas para pães, bolos, biscoitos, pizza, massa fresca, queijo, peixe, carnes curadas, desidratadas e defumadas, café, chá, leite em pó, feijão, frutas desidratadas, farinhas, vinhos, “snacks”, frutas, hortaliças e legumes, entre outros. Esses produtos, em sua maioria, possuem mecanismos diferentes de deterioração que deverão ser entendidos, para que se possa sugerir uma solução adequada para esse tipo de embalagem (WAGNER, 1990).

Existem vários fatores que levam à deterioração da qualidade e da segurança dos produtos alimentícios. Tais fatores podem ser classificados em físicos, químicos e, ou, biológicos. Assim, as condições de estocagem, como temperatura, umidade relativa e concentração de O₂; a composição do produto, em que se incluem atividade de água (Aw), pH e composição lipídica; e propriedades da embalagem, como volume, composição do espaço livre e propriedades de barreira, quando não controladas afetam a degradação do produto (ALLARCON e HOTCHKISS, 1993).

Através de algumas mudanças e reformulações, é possível aumentar a estabilidade intrínseca do produto, porém é muito difícil fazer isso sem mudança nas suas características ou sem o uso de aditivos, que têm uma imagem negativa na visão do consumidor. Um grande número de pesquisas para aumentar a vida de prateleira e a segurança do produto, mantendo a sua qualidade, propõe a substituição da manipulação ou processamento dos produtos pelo controle através dos sistemas de embalagens (SACHAROW, 1986; ZAGORY et al., 1988; FLOROS et al., 1997).

2.1. Tipos de embalagens ativas

Várias inovações em embalagens de alimentos têm sido desenvolvidas, impulsionadas pelo aumento da demanda por produtos de conveniência que mantenham as características dos produtos frescos.

Além dessa demanda, as mudanças nas práticas de armazenamento e distribuição, como as novas tendências de compras, por exemplo via Internet e internacionalização dos supermercados devido à facilidade de importação, resultam no aumento da distância de distribuição e na elevação do período de estocagem de uma grande variedade de produtos que requerem diferentes temperaturas de conservação. Tais mudanças exigem o desenvolvimento de embalagens que apresentem características de resistência, selabilidade, permeabilidade e compatibilidade com os novos produtos acondicionados.

Nos últimos anos, diferentes conceitos de embalagens de alimentos têm sido introduzidos, levando-se em conta o aumento da demanda por produtos que não sejam alterados em seu estado natural e que tenham melhor aparência de frescor e qualidade, além de maior vida de prateleira (VERMEIREN et al.,1999; ROONEY, 1995).

As mais importantes concepções de embalagens ativas referem-se ao uso das atmosferas modificadas, dos absorvedores de oxigênio e etileno, dos eliminadores de CO₂, dos reguladores de umidade, das embalagens antimicrobianas, dos liberadores de antioxidantes, dos liberadores e, ou, absorvedores de sabor e odores. Suas aplicações são numerosas, e seu uso está em franco crescimento.

De acordo com Vermeiren et al. (1999), nos EUA, Japão e Austrália o desenvolvimento de embalagens ativas vem sendo aplicado com sucesso. No entanto, na Europa o desenvolvimento e a aplicação desse tipo de embalagem têm sido limitado devido a restrições na legislação, medo ou resistência do consumidor, necessidade de conhecimento sobre a efetividade e impactos econômico e ambiental.

2.1.1. Atmosfera modificada

A atmosfera modificada é largamente empregada em alimentos frescos ou refrigerados, incluindo carnes cruas ou cozidas, aves, peixes, massa fresca, frutas, legumes, café, chá e produtos de panificação. Em alguns desses produtos, a embalagem em atmosfera modificada é o principal método utilizado. Na Inglaterra, 90 a 95% da massa fresca vendida é embalada usando-se essa tecnologia, a qual é definida por Church e Parsons (1995) como o acondicionamento de um produto em uma embalagem que seja barreira a gases envasados sob uma mistura gasosa que atuem na melhoria da qualidade do produto final.

Vários autores têm relatado os efeitos benéficos da atmosfera modificada na melhoria da qualidade sensorial de vegetais frescos minimamente processados (CARLIN et al., 1996).

Como toda técnica, a atmosfera modificada possui vantagens e desvantagens. Algumas vantagens foram sumarizadas por Farber (1991) e ampliadas por Davies (1995). Entre elas, incluem-se: i) aumento da vida de prateleira, levando a uma racionalização da produção, estocagem e distribuição; ii) comercialização de um produto de alta qualidade, conservando sua cor, aroma e frescor; iii) eliminação ou redução de conservantes; e iv) possibilidade de maior margem de lucro, pois agrega valor ao produto. Quanto às desvantagens, pode-se citar o custo adicional com material da embalagem, equipamentos e gases, bem como a necessidade de mistura específica de gases para cada tipo de produto.

2.1.2. Controladores dos níveis de etileno

O etileno é um composto liberado durante o metabolismo das frutas climatéricas, estimulando seu amadurecimento e senescência. Uma vez maduras, as frutas deterioram-se rapidamente, tendo sua vida de prateleira diminuída (LABUZA e BREENE, 1989). O retardamento do amadurecimento pode ser através da remoção do etileno por algum agente oxidante, por exemplo: o permanganato de potássio, geralmente incorporado ao sistema, na forma de sachê com alta permeabilidade ao etileno, ou adicionado diretamente

ao material de embalagem (ZAGORY, 1995). Além disso, existem pesquisas recentes avaliando a eficiência do uso do inibidor de etileno 1-metilcloropropeno (1-MCP). Esse composto, em presença de água, forma um gás, que é aplicado em câmaras de estocagem de frutas.

2.1.3. Absorvedores de umidade

A presença de níveis inadequados de umidade no interior de um sistema de embalagem pode levar ao crescimento microbiano e causar prejuízo às propriedades de barreira a gases de filmes hidrofílicos, além de promover o acúmulo de água condensada na superfície de hortaliças (ROONEY, 1995; LABUZA, 1996).

Uma das formas de reduzir os níveis de umidade de um sistema é por meio da incorporação de umectantes, por exemplo poliálcoois e carboidratos, entre duas camadas de um filme plástico de alta permeabilidade à umidade (ROONEY, 1995). Outra alternativa seria a utilização de sachês contendo compostos dessecantes (SHIRAZI e CAMERON, 1992).

2.1.4. Liberadores de etanol

Existem sistemas que liberam etanol, que ao se depositar na superfície do alimento inibe o crescimento microbiano, podendo ser usados em produtos de panificação e queijos (LABUZA, 1996; LABUZA e BREENE, 1989). Alguns sachês consistem de sílica-gel e etanol, que, ao serem expostos ao vapor de água do espaço livre da embalagem, liberam o etanol, devido à maior energia de adsorção entre a água e a sílica-gel (GONTARD, 1997).

2.1.5. Liberadores de aditivos

Vários aditivos químicos podem ser liberados a partir de uma embalagem, a fim de aumentar a vida de prateleira do produto. Os compostos assim liberados são, em sua maior parte, os conservantes, especialmente ácidos orgânicos ou peróxidos. Tais compostos capazes de prevenir o crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos podem ser liberados, de forma controlada, sobre a superfície de um alimento, através da

difusão e evaporação a partir do filme ou por meio de reação química ou enzimática com os compostos do alimento (LABUZA e BREENE, 1989). A liberação de conservantes químicos pode ser de grande aplicação, por exemplo no caso de produtos à base de frutas, em que a pasteurização é contra-indicada por conferir sabor “cozido” indesejável. Filmes comestíveis impregnados com conservantes podem ser utilizados para reduzir o crescimento microbiano superficial (LABUZA, 1996).

Além dos conservantes, outros agentes químicos, como antioxidantes, têm sido incorporados às embalagens para prolongar a vida de prateleira dos alimentos, como em alguns cereais (LABUZA e BREENE, 1989).

A liberação de aditivos, por embalagens ativas, aumenta a segurança do produto, já que esses compostos, em vez de serem diretamente adicionados ao alimento, são liberados gradativamente. Com isso, estão presentes em menores quantidades e apenas na superfície do produto, em que geralmente a maior parte das reações de deterioração ocorre (GONTARD, 1997).

2.1.6. Incorporação de enzimas

Enzimas específicas podem ser incorporadas ao material de embalagem, com objetivos bem-definidos. Alguns exemplos de aplicações foram mencionados por Broody e Budny (1995), como: i) adição de glicose oxidase mais catalase, para remoção de O₂ e de produtos de degradação microbiológica; ii) incorporação de lactase, para hidrólise de lactose do leite; iii) uso de enzimas modificadoras de colesterol, para hidrólise de colesterol de produtos ricos desse composto.

2.1.7. Sistemas monitoradores de temperatura de armazenamento

Os sistemas monitoradores de temperatura constituem recursos muito úteis para se monitorar a vida de prateleira de alimentos. Tais indicadores fornecem uma história do produto, através dos integradores tempo/temperatura, aos quais o alimento foi exposto. Oferecem uma indicação visual da vida de prateleira remanescente ou apenas uma indicação de que o

tempo ou a temperatura total excederam a um valor predeterminado (HOTCHKISS, 1995; LABUZA, 1996).

Os indicadores podem basear-se em uma série de princípios físicos e químicos, mas são poucos os comercialmente utilizados, devido às características requeridas. Dentre estas, incluem-se: i) a facilidade de ativação e utilização; ii) a resposta rápida, precisa, irreversível e de boa correlação com a taxa de deterioração do alimento; iii) o mecanismo baseado em uma alteração facilmente mensurável, com boa reprodutibilidade e dependente de tempo e temperatura. Alguns princípios utilizados são a temperatura de fusão do gelo, a taxa de difusão de um composto em géis e as reações químicas dependentes da temperatura ou do grau de exposição ao tempo e à temperatura (SELMAN, 1995). Entretanto, como diferentes alimentos perdem qualidade a diferentes taxas, é importante que a reação na qual se baseia o indicador tenha energia de ativação similar àquela que determina a deterioração do alimento em questão (TAOUKIS e LABUZA, 1989).

2.1.8. Absorção de radiação

A incorporação de absorvedores de radiação, especialmente da radiação ultravioleta (UV), em sistemas de embalagem pode ser benéfica para retardar processos de oxidação. Os absorvedores de UV são compostos orgânicos que absorvem energia incidente e inativam cromóforos fotoexcitados, protegendo, assim, produtos fotossensíveis da ação pró-oxidante da luz solar e de outras fontes de luz UV (PASCAL et al., 1995).

2.1.9. Absorvedores de odores e sabores desagradáveis

Alguns sabores indesejáveis podem se desenvolver no alimento durante sua estocagem, levando o produto à rejeição pelo consumidor antes mesmo que sua segurança microbiológica seja comprometida. Como exemplo, podem-se mencionar os aldeídos, resultantes da degradação de peróxidos, formados durante a autooxidação de óleos e gorduras. Uma embalagem ativa pode incorporar compostos que interagem com um grupo funcional presente em componentes de sabores estranhos. Um exemplo seria a incorporação de

ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, ao material de embalagem para interagirem com aminas resultantes da degradação protéica em pescados, neutralizando, assim, seu efeito (ROONEY, 1995).

2.1.10. Preservadores de cor

Alguns sistemas são compostos por filmes que liberam metais que auxiliam a preservação da cor. Labuza e Breene (1989) mencionaram a utilização de filmes que liberam zinco ou magnésio, que promovem a manutenção da cor verde conferida pela clorofila, no caso de hortaliças enlatadas.

2.1.11. Revestimentos comestíveis como embalagens ativas

O uso de revestimentos – filmes e coberturas – comestíveis tem recebido atenção de pesquisadores nos últimos anos em razão, principalmente, das suas propriedades de barreira e de melhoria da aparência, da integridade estrutural e das propriedades mecânicas do alimento (KESTER e FENNEMA, 1986). Filmes e coberturas diferem em sua forma de aplicação. As coberturas são aplicadas e formadas diretamente sobre o alimento, enquanto os filmes são pré-formados, separadamente, e depois usados no acondicionamento do produto (GONTARD e GUILBERT, 1995).

Revestimentos comestíveis são constituídos por pelo menos um componente capaz de formar uma matriz contínua e coesa, como polissacarídeos, proteínas ou lipídios (CUQ et al., 1995). Os polissacarídeos têm boas propriedades para formação de filmes. Sendo hidrofílicos, formam revestimentos com eficiente barreira contra compostos de baixa polaridade, como lipídios, entretanto não constituem boa barreira à umidade (KESTER e FENNEMA, 1986). Os revestimentos à base de proteínas têm, geralmente, propriedades mecânicas e de barreira superiores às dos formados por polissacarídeos, devido à sua estrutura, capaz de conferir maiores propriedades funcionais às embalagens (CUQ et al., 1995). Os revestimentos lipídicos são, geralmente, usados por sua excelente barreira à umidade; entretanto, apresentam algumas desvantagens, no que se refere à

estabilidade, por serem suscetíveis a oxidação e características sensoriais, como sabor e textura, às vezes desagradáveis (CUQ et al., 1995).

São diversas as possibilidades de aplicações dos revestimentos comestíveis, dependendo da propriedade de barreira necessária para a conservação do produto acondicionado. No caso de alimentos frescos, é fundamental o controle das trocas gasosas com o ambiente, já nos alimentos com componentes oxidáveis os revestimentos devem apresentar barreira ao oxigênio. Os revestimentos com baixa permeabilidade a vapor de água são aplicados a produtos com baixo teor de umidade (CUQ et al., 1995). Além disso, essas embalagens têm a vantagem da biodegradabilidade, que as tornam "ecologicamente corretas" (GONTARD, 1997).

2.2. Absorvedores de oxigênio

Esforços para conservar alimentos pelo uso de absorvedores de O₂ são citados em literaturas científicas desde a década de 20, quando foi relatado um método de remoção de O₂ usando substâncias facilmente oxidadas (NAKAMURA e HOSHINO, 1983).

A primeira patente de um absorvedor foi concedida em 1938, na Finlândia. Foi desenvolvida para remoção do O₂ residual do espaço livre de embalagens metálicas. Um método que chegou a ser comercializado na década de 60 foi a introdução do gás hidrogênio nas embalagens para reagir com o oxigênio na presença de paládio. Esse método nunca foi popularizado e nem muito aceito, pois o hidrogênio é um composto pouco estável durante a manipulação e estocagem, além de caro e nocivo à saúde (ABE e KONDOH, 1989).

Devido ao grande interesse pelo uso dos absorvedores, nos últimos anos foram registradas mais de 400 patentes desses equipamentos, principalmente nos EUA, no Japão e na Europa (ROONEY, 1995).

De forma geral, a tecnologia dos absorvedores baseia-se na oxidação ou combinação de um dos seguintes componentes: pó de ferro, ácido ascórbico, polímero fotossensível e enzimas, entre outros (VERMEIREN et al., 1999; FLOROS et al., 1997; ROONEY, 1995; LABUZA e BREENE, 1989). Segundo Labuza e Breene (1989), as várias

patentes existentes são baseadas nesses componentes. Além disso, há os polímeros aos quais os absorvedores de O₂ são incorporados. O potencial da aplicação dos plásticos absorvedores de O₂ inclui as bebidas embaladas em “bag-in-box” (DAWSON, 2002; ROONEY, 1995). Existem mais de 50 patentes registradas em sistemas poliméricos absorvedores de O₂.

Atualmente, os absorvedores de oxigênio são compostos de substâncias quimicamente reativas com O₂ acondicionados em material permeável, geralmente na forma de sachê (ABE e KONDOH, 1989; NAKAMURA e HOSHINO, 1983). Segundo Abbott (2002), as principais vantagens do uso dos absorvedores é a sua capacidade de reduzir os níveis de O₂ para menos de 0,01%, que é menor do que os tipicamente encontrados (0,3-3%) nos sistemas tradicionais de atmosfera modificada, vácuo ou substituição da atmosfera interna por gás inerte. Assim, esse método tem despertado interesse como uma nova tecnologia de embalagem para preservar os alimentos, podendo substituir ou, principalmente, complementar as tecnologias empregadas para diminuir o nível de oxigênio no interior das embalagens (ABE e KONDOH, 1989; NAKAMURA e HOSHINO, 1983).

2.2.1. Efeito do uso dos absorvedores de oxigênio

A remoção do O₂ do interior das embalagens tem vários efeitos, principalmente na redução ou inibição do crescimento de fungos e de bactérias aeróbias, bem como no retardo do processo de oxidação de vários compostos presentes nos produtos alimentícios. Ao prevenir o crescimento de fungos, os absorvedores de O₂ efetivamente contribuem para a ausência de micotoxinas nos produtos acondicionados (ABE e KONDOH, 1989).

A oxidação de gorduras e óleos leva à formação de peróxidos, que são compostos potencialmente nocivos à saúde humana. Esses peróxidos são posteriormente decompostos, formando moléculas de aldeído de baixo peso molecular e ácido carboxílico, produzindo odores indesejáveis. Portanto, a oxidação e a conseqüente deterioração do alimento causada pelo O₂, principalmente em produtos estocados sob alta temperatura e, ou, sob luz

fluorescente ou solar, podem ser prevenidas pela ausência desse gás, através do uso de sistemas absorvedores de O₂, sendo, portanto, desnecessário o emprego de aditivos, como antioxidantes e conservantes químicos (ABE e KONDOH, 1989; NAKAMURA e HOSHINO, 1983).

A carga microbiana dos alimentos é uma das principais causas de deterioração. Segundo Rooney (1995), níveis de 0,1% de oxigênio ou menores são requeridos para prevenir o crescimento da maioria dos fungos. Esses microrganismos sempre causam problemas, porque seus esporos são geralmente termorresistentes e a atividade de água (Aw) necessária para sua sobrevivência é baixa. Geralmente, a Aw para crescimento de fungos é de 0,85, podendo tolerar até valores menores que 0,70, como no leite em pó, em que a aw é em torno de 0,6. Com relação ao pH, fungos toleram pH de 2,0 a 9,0, sendo 5,6 o ótimo. A maioria dos fungos é de aeróbio estrito, portanto não crescem em ambientes anaeróbios criados pelo uso dos absorvedores de O₂. Porém, alguns fungos como *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp. e *Cladosporium* spp. apresentam uma considerável taxa de crescimento em ambientes com apenas 0,2% de O₂ (ABE e KONDOH, 1989; NAKAMURA e HOSHINO, 1983). Deve-se ressaltar que atmosferas livres de O₂, aliadas a uma Aw maior que 0,92, podem ser apropriadas para o crescimento de alguns microrganismos patogênicos, incluindo *Clostridium botulinum*. Assim, o uso de sachês absorvedores de O₂ deve ser combinado com outras técnicas de conservação, como baixas temperaturas, para a garantia da segurança alimentar.

Para se obter maior efetividade dos absorvedores, algumas condições devem ser observadas: o uso de embalagens ou filmes com alta barreira a O₂, apresentando taxa de permeabilidade ao oxigênio de no máximo 20 cm³/m².atm.dia. A selagem deve ser bem feita, de modo que o O₂ não se difunda através dela. Outro parâmetro importante é a seleção do absorvedor apropriado, tanto ao tipo quanto ao tamanho (capacidade) a ser usado (NAKAMURA e 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. Mesmo assim, essa associação é de uso comum no mercado para a redução do O₂ a níveis desejados.

Para escolher o absorvedor, alguns fatores inter-relacionados devem ser observados. Entre eles, podem-se citar o estado físico e atividade de água do alimento, a quantidade de O₂ dissolvido, o nível inicial de O₂ no espaço livre e a permeabilidade da embalagem a O₂ (SMITH et al., 1995; SMITH et al., 1990).

De acordo com Nakamura e Hoshino (1983), os compostos usados como absorvedores não devem gerar gás perigoso ou odor indesejável e nem ser nocivo para a saúde humana, pois podem contaminar, acidentalmente, o produto. Além disso, deve exibir uma taxa de absorção apropriada para que a redução do nível de O₂ no interior da embalagem ocorra em um tempo mínimo. A estabilidade na estocagem é alcançada através do acondicionamento dos sachês, normalmente em filmes de alta barreira a O₂ e sob vácuo. Devem apresentar grande capacidade de absorção, pois, devido aos diferentes tamanhos de embalagens, são necessários sachês de diferentes tamanhos. Outro fator importante é o custo. Atualmente, os sachês encontram-se na faixa de US\$0,05 a 0,10 (informação pessoal, novembro 2002).

Os absorvedores apresentam uma série de vantagens que têm contribuído para seu crescimento no mercado, pois são de fácil utilização, previnem crescimento de microrganismos aeróbios, retardam a oxidação de lipídios e dos compostos de sabor e podem, ainda, substituir pesticidas químicos para prevenção de danos causados por larvas de insetos. Entre as desvantagens, podem ser mencionadas a possibilidade de colapsagem da embalagem (que pode ser evitada pelo uso de um sistema absorvedor de O₂ e gerador de CO₂) e possível favorecimento ao crescimento de microrganismos anaeróbios. No caso da utilização de absorvedores na forma de sachê, pode-se ainda citar a necessidade de um fluxo livre de ar em torno do sachê para melhorar a eficiência seqüestrante do O₂ do interior da embalagem (AZEREDO et al., 2000; SMITH et al., 1995; SMITH et al., 1990).

2.2.2. Sistemas absorvedores de O₂

Várias empresas produzem os absorvedores de O₂ e utilizam diferentes substratos ou combinações deles, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Diferentes tipos de substratos utilizados pelas empresas na produção comercial de absorvedores de O₂

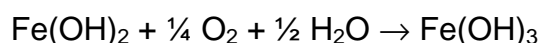
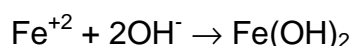
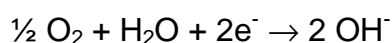
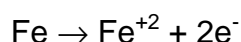
Empresa produtora do sistema	Nome comercial	Composição do absorvedor
Mitsubishi Gás Chemical Co. Ltd.	Ageless	Ferro em pó
Toppan Printing Co. Ltd.	Freshlizer	Ferro em pó
Toagosei Chem. Industry Co. Ltd.	Vitalon	Ferro em pó
Nippon Soda Co. Ltd.	Seagul	Ferro em pó
Finetec Co. Ltd.	Sanso-Cut	Ferro em pó
Toyo Seikan Kaisha Ltd.	Oxyguard	Ferro em pó
Multisorb Technologies Inc.	FreshMax	Ferro em pó
	FreshPax	Ferro em pó
	Fresh Pack	Ferro em pó
BP Amoco Chemicals	Amosorb	Copoliester PET
Chevro Chemical	N/A	Benzil acrilato
W.R. Grace Co. Ltd.	PureSeal	Ascorbato/sais metálicos
CSIRO/Southcorp Packaging	Zero2	Matriz fotossensível e compostos orgânicos
Cryovac Sealed Air	OS 1000	Matriz fotossensível e compostos orgânicos
Standa Industrie	Atco	Ferro em pó
	Oxycap	Ferro em pó
Amberley Adhesive Labels Ltd.	Atco	Ferro em pó
Johnson Matthey Pic	N/A	Platina como catalisador
Bioka Ltd.	Bioka	Sistema enzimático

Fonte: CCFRA New Technologies (DAY, 1998).

2.2.2.1. Compostos metálicos

Os absorvedores de O₂ comercialmente disponíveis estão em formas de pequenos sachês contendo agentes metálicos redutores, incluindo o óxido de ferro em pó, carbonato ferroso e platina metálica. A maioria desses absorvedores de constituição metálica utiliza o princípio da oxidação do ferro na presença de água (SMITH et al., 1990). Segundo McKedy (2002), as partículas de ferro são prontamente combinadas com o O₂, por isso são muito utilizadas. Porém, em ambiente seco é necessária a adição de um composto absorvedor de umidade para produzir uma ação eletrolítica necessária para ativar a ação do absorvedor de O₂.

Segundo Abe e Kondoh (1989), o mecanismo é muito complexo para ser expresso por uma fórmula simples, mas geralmente é representado como:



De acordo com Shorter (1982), se a taxa de oxidação do produto e a taxa de permeabilidade do O₂ forem conhecidas, torna-se possível calcular a quantidade de ferro requerida para manter o nível de O₂ desejado durante o tempo de estocagem (LABUZA e BREENE, 1989). Vários autores, como Vermeiren et al. (1999), Labuza (1987) e Nakamura e Hoshino (1983), relataram que 1 g de ferro reagirá com 300 cm³ de O₂.

Nakamura e Hoshino (1983), com base na reação do ferro com o oxigênio, na pressão atmosférica sob diferentes umidades relativas encontraram que, em geral, 1 g de ferro pode reagir com 0,0136 mol de oxigênio, o qual equivale a um consumo de 3,36 x 10⁻¹ L de oxigênio, se o ferro estiver em solução e totalmente disponível.

Além do ferro em pó, vários outros sistemas químicos, com ou sem a presença de ferro, também estão sendo pesquisados e utilizados, estando a grande maioria na forma de patentes.

Uma preocupação referente aos sachês à base de ferro é a ingestão desse metal contido nos sachês de forma acidental, podendo levar a uma

intoxicação. Assim, Labuza e Breene (1989) constataram, com base na LD₅₀ do ferro (16 g/kg de peso corpóreo) e na quantidade de ferro contida no sachê (7 g), que um sachê apresenta uma dose de ferro 160 vezes menor que a LD₅₀ para um adulto (70 kg).

Um problema que os absorvedores à base de metais enfrentam é quanto aos detectores de metais, nas linhas de processamento. Dessa forma, têm sido desenvolvidas formulações não-metálicas, com o intuito de amenizar esse problema e também o sabor metálico que pode ser transferido ao alimento. Essas formulações empregam componentes como ácido ascórbico (vitamina C) e seus sais e sistemas enzimáticos (ABBOTT, 2002).

2.2.2.2. Enzimas

Outro método para controlar o nível de O₂ em embalagem de alimentos é o de enzimas oxidativas imobilizadas em superfícies de polímeros utilizados na fabricação de embalagens. Tanto o polipropileno (PP) quanto o polietileno (PE) são bons substratos para imobilização de enzimas (LABUZA e BREENE, 1989). Uma patente de 1998 (STROBEL e GAGNON, 1998) descreveu uma poliolefina contendo glicose oxidase. A imobilização ocorre por diferentes processos, por exemplo adsorção e encapsulamento. As enzimas são imobilizadas ou colocadas em sachê. A difusão do substrato e do produto da reação através do polímero limita o uso desse processo em embalagens de alimentos (Scott, 1958, citado por LABUZA, 1994). Devem-se considerar também os fatores de inibição das enzimas. Estas são muito sensíveis a mudanças de pH, Aw, concentração salina, temperatura e vários outros fatores. Além disso, elas requerem certo teor de umidade para a atividade, o que dificulta o seu uso em alimentos (GRAFF, 1994). Dentre as enzimas potencialmente eficazes no processo de absorção de O₂, podem-se citar a glicose oxidase e a etanol oxidase (LABUZA e BREENE, 1989).

A glicose oxidase, uma enzima oxidorreductase, é uma das mais promissoras como absorvedor de oxigênio. Através da transferência de dois hidrogênios do grupo –CHOH da glicose para o O₂ ocorre a formação da glucono-delta lactona e do peróxido de hidrogênio. A lactona é espontaneamente reativa com água, formando o ácido glucônico. Um fator

negativo desse processo é a presença da catalase, um contaminante naturalmente encontrado na preparação de glicose oxidase. A catalase reage com o peróxido de hidrogênio, formando água e O₂ e diminuindo a eficiência do sistema. A produção da glicose oxidase isenta de catalase é um processo caro (VERMEIREN et al., 1999; LABUZA e BREENE, 1989).

As reações podem ser expressas da seguinte maneira:

$2G + 2 O_2 + 2 H_2O \rightarrow 2GO + 2 H_2 O_2$, sendo G o substrato glicose e GO, o produto gluco-delta lactona.

Como H₂O₂ é um produto final da reação e sua presença não é permitida, necessita-se da catalase para promover a quebra desse peróxido (BROODY e BUDNY, 1995).



Como visto pela reação, um mol de glicose oxidase reage com um mol de O₂. Assim, em uma embalagem impermeável com 500 cm³ de espaço livre, é necessário apenas 0,0043 mol de glicose (0,78 g) como substrato para obter 0% de O₂. Os fatores que mais influenciam a eficiência enzimática são a velocidade da reação enzimática (atividade/g), a quantidade de substrato e a taxa de permeabilidade da embalagem ao O₂.

Outra enzima com potencial de absorção de oxigênio é a etanol oxidase, que oxida o etanol a acetaldeído. Essa enzima tem sido exaustivamente estudada pela sua habilidade de detectar etanol em linha 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, mas é uma enzima de interesse nessa área (LABUZA e BREENE, 1989). Em uma 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 necessitará trocar 80 cm³/dia de O₂ em condições de refrigeração. Isso representa uma quantidade de 0,0036 mol de etanol requerida/dia. Assim, para 100 dias de vida de prateleira de um produto, aproximadamente 16 g de etanol serão requeridos como substrato. Essa quantidade elevada pode gerar um odor não-aceitável dentro da embalagem. Além disso, considerável quantidade de acetaldeído será formada,

dando ao produto um odor semelhante ao do iogurte (BROODY e BUDNY, 1995; LABUZA e BREENE, 1989).

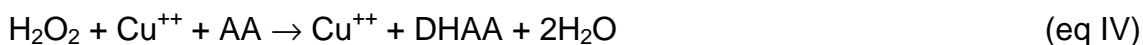
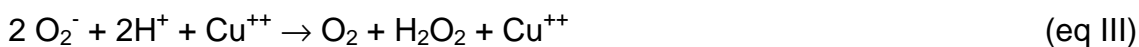
2.2.2.3. Ácido ascórbico

O ácido ascórbico é outro componente absorvedor de O₂ cuja ação se baseia na oxidação do ascorbato a ácido deidroascórbico. Esse tipo de absorvedor tem sido incorporado a vernizes com aplicação em embalagens metálicas para acondicionamento de cerveja. O contato do produto com o verniz diminui ou evita a oxidação dos compostos responsáveis pelo sabor da bebida (DAREX, 1998).

A maioria dessas reações é muito lenta e pode ser acelerada pela luz ou por um metal de transição, que irá funcionar como catalisador, a exemplo do cobre.

O ácido ascórbico reduz o Cu⁺⁺ a Cu⁺ para formar o ácido deidroascórbico (eq I), os íons cuprosos (Cu⁺) formam um complexo com o O₂ e uma transferência de elétrons ocorre, originando o íon cúprico (Cu⁺⁺) e o radical aniônico superóxido (eq II). Na presença de cobre, o radical rapidamente leva à formação de O₂ e H₂O₂ (eq III). O complexo cobre/ascorbato rapidamente reduz o H₂O₂ em H₂O (eq IV), sem a formação de OH⁻, um oxidante altamente reativo.

As reações abaixo indicam o processo de remoção do O₂:



Resumidamente:

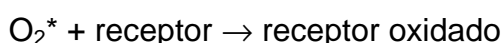
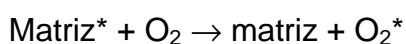
$AA + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow DHAA + H_2O$, em que AA é o ácido ascórbico e o DHAA, o deidroascórbico.

A capacidade total de remoção do O₂ é determinada pela quantidade de ácido ascórbico. A completa redução de um mol de O₂ em H₂O requer dois moles de ácido ascórbico. Em produtos sólidos, o sistema é envasado em sachê, que é colocado dentro da embalagem do produto. O sistema também

pode ser incorporado nas tampas de latas, jarras ou garrafas ou incorporado ao material de embalagem do produto (VERMEIREN et al., 1999).

2.2.2.4. Matriz fotossensível

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 singlet, DMA – dimetil antracina ou TPP – tetra-peril porfina, dissolvido no filme. Segundo Rooney (1995), a reação entre o ferro e o O_2 em seu estado natural, oxigênio triplet, é muito lenta, especialmente em temperatura ambiente ou refrigeração. Portanto, quando o O_2 é excitado, formando o oxigênio singlet, a reação ocorre mais rapidamente, e os absorvedores atuam com maior eficiência. Essa excitação ocorre através 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 triplet para o estado singlet. Essas moléculas reagem com o receptor de elétrons (DMA ou TPP), e o O_2 é, portanto, absorvido do sistema. O processo fotoquímico está representado a seguir (ROONEY, 1995):



2.2.2.5. Outros tipos de absorvedores

A Patente US nº 6,315,921, concedida a DeIDuca et al. (2001), consiste de um absorvedor à base de ferro adicionado de um acelerador, que nesse caso são água e, ou, soluções diluídas de ácidos. A água ativa o absorvedor e acelera o processo devido à presença de íons H^+ . No entanto, soluções diluídas de ácido são, preferencialmente, usadas como aceleradores. Os ácidos promovem um aumento no número de íons H^+ que aumenta a taxa de absorção de O_2 pelo ferro. Dessa maneira, segundo os autores dessa patente, a introdução de água ou solução aquosa de ácido, sal ou um metal apropriado dentro do sachê à base de ferro ativa e aumenta significativamente a taxa de eliminação do O_2 .

Outra Patente US nº 5,641,425, concedida a McKedy, Idol e Powers (1997), descreve um absorvedor de O₂ contendo um agente disperso em uma emulsão. O uso da emulsão, além de facilitar o espalhamento na superfície de um filme ou de um adesivo, permite a inclusão de outros componentes como hidrogel, que viabiliza o uso em produtos de baixa umidade, bem como em ambiente com alta umidade. O sistema de absorção de O₂ nessa patente foi composto por ferro, sais eletrolíticos e pela enzima glicose oxidase. As emulsões usadas foram as de gel de alginato e goma xantana e a celulose microcristalina. Outras emulsões adesivas comercialmente preparadas, como polímero acrílico, acetato de polivinil e um copolímero de acetato de etileno vinil, todas em emulsão de água, também foram testadas, ressaltando-se que a celulose microcristalina apresentou maior estabilização dos compostos.

A Patente US nº 5,721,187, concedida a Ogawa e Kume (1998), relata um absorvedor de O₂ que compreende um material de embalagem multicamada, sendo uma camada de absorvedor e a outra de um material de carbono ativado. O material é compreendido de 15 a 80% do peso de uma resina termoplástica e de 85 a 20% do peso de um agente absorvedor de O₂, que foram o ácido ascórbico e o ferro metálico. As resinas termoplásticas com potencial de uso são as olefinas, incluindo os homopolímeros de etileno, ou α -olefinas contendo 3 a 12 átomos de carbono como o polietileno de alta densidade (PEAD), o polietileno de baixa densidade (PEBD), o polipropileno, o polibuteno e o polimetilpenteno, entre outros.

Outra Patente americana, US nº 4,299,719, concedida a Mitsubishi Chemical Co e Teikoku Co, Osaka, Japan, foi o desenvolvimento de um método no qual o carbonato ferroso é usado como substrato oxidativo. Nesse sistema, para cada mol de O₂ reagido, um mol de CO₂ foi produzido. Os níveis de CO₂ alcançados foram suficientemente altos para obter efeitos antimicrobianos, além de evitar a colapsagem da embalagem.

Outro sistema é o Oxibar desenvolvido pela Carnoud-Metal Box da Inglaterra, que envolve a oxidação catalisada pelo cobalto, de um polímero de náilon (MXD-6), destinado especialmente a garrafas PET (polietileno tereftalato) usadas para embalagens de vinho, cerveja, molhos e outras bebidas (ROONEY, 1995).

É importante ressaltar que a velocidade e a capacidade de absorção de O₂ pelos filmes são consideravelmente menores quando comparadas com os sachês à base de ferro (DAY, 1998).

Segundo Rodgers e Compton (2002), vários polímeros são oxidáveis e, assim, podem ser utilizados como absorvedores. No entanto, em alguns casos essa oxidação poderá resultar na formação de produtos de degradação do próprio polímero que podem migrar da estrutura da embalagem para o produto nela acondicionado, causando problemas sensoriais. Dessa forma, esses pesquisadores desenvolveram um polímero que se liga quimicamente com o O₂ sem que haja essa degradação e conseqüente produção de compostos indesejáveis. Esses autores utilizaram sais de cobalto como catalisador, que promoveu a formação de radicais livres necessários para iniciar o mecanismo de absorção (CHING et al., 1997 – US Patente nº 5,627,239; CHING et al., 1998 – US Patente nº 5,736,616). Além disso, foi desenvolvido um fotoiniciador, que utiliza luz UV para ativar o sistema absorvedor. Portanto, esse sistema, denominado OSP (polímero absorvedor de oxigênio), é uma mistura de dois componentes, um polímero e um sistema ativador (fotoinicializador mais catalisador). O polímero oxidável, que compõe 90% da mistura, é o etileno metilacrilato ciclohexanometil acrilato (EMCM). A função do EMCM é remover o O₂ residual do espaço livre das embalagens, assim como o O₂ que permeiar através destas. Os outros 10% são formados por um catalisador, que consiste em um sal de cobalto e um fotoinicializador (PI).

De acordo com Leonard et al. (1998), a indústria de conversão de embalagens prevê a utilização do sistema absorvedor de O₂ (OSP) em uma estrutura multicamada. O OSP é aplicado entre uma camada de barreira a O₂, como náilon, etileno vinil álcool (EVOH) ou polietileno tereftalato (PET), e uma camada interna para selagem, como polietileno de baixa densidade (LDPE) ou polietileno de baixa densidade linear (LLDPE).

Rodgers e Compton (2002) e Rodgers e Solis (2002) reportaram que, no momento do envase, a camada de OSP deverá ser exposta à luz UV, em tempo suficiente para que se inicie o mecanismo absorvedor. Esse tempo de indução ou exposição à luz pode variar com base na quantidade de catalisador, fotoiniciador, material absorvedor e radiação usada. Estudos têm evidenciado que se podem produzir polímeros com capacidade para absorver de 45 a

70 cm³ de O₂*g⁻¹ de OSP. A quantidade de catalisador e fotoiniciador, a quantidade de O₂ disponível, a temperatura e a dose de luz UV podem afetar a taxa de remoção do O₂.

2.2.3. Aplicações de absorvedores de O₂ em produtos alimentícios

Em produtos de panificação, os fungos são os principais deterioradores. Além da repulsão visual causada pelo seu crescimento, esses microrganismos são responsáveis pela formação de sabor indesejado, produção de micotoxinas e compostos alergênicos. Nesse tipo de produto, *Penicillium commune*, *P. solitum*, *P. corylophilum*, *Aspergillus flavus* e *A. niger* são os mais comuns (NIELSEN, 2000). Alguns dados têm indicado melhorias significativas na vida de prateleira desses produtos com o uso dos absorvedores de O₂, especialmente na forma de sachês à base de ferro em pó (NAKAMURA e HOSHINO, 1983).

Por exemplo, pães brancos embalados em polipropileno apresentaram crescimento de fungos à temperatura ambiente em quatro a cinco dias, enquanto com o uso de absorvedor não foi observado nenhum crescimento de fungos por 45 dias. Em massa de pizza há crescimento de fungos em dois a três dias, o que pode ser retardado com o uso do absorvedor para até 10 dias (NAKAMURA e HOSHINO, 1983). Os sachês eliminam também a oxidação de gorduras que ocorre em batata “chips” e biscoitos de umidade intermediária. Em estudos com bolo de arroz embalado com absorvedor de O₂, o índice de peróxido não ultrapassou 10 meq*kg⁻¹, enquanto o estocado na presença de ar teve um índice de 100 meq*kg⁻¹ em 60 dias e aquele embalado em atmosfera de N₂ (5 a 7% de O₂), um índice de 100 meq*kg⁻¹ por 150 dias, que foi o tempo final do experimento. O Ministério da Saúde do Japão preconiza que os alimentos devem ter valores de índice de peróxido menores que 30 meq*kg⁻¹ de produto (LABUZA e BREENE, 1989). A ANVISA recomenda o máximo de 10 meq*kg⁻¹ de produto (RDC nº 482/MS, 1999).

Berenzon e Saguy (1997), trabalhando com alimentação para militares, estudaram a aplicação de absorvedor para aumentar a vida de prateleira de uma formulação especial à base de farinha de trigo contendo alto teor de óleo e estocado por um ano, em temperatura de 15 a 35 °C. Eles usaram

absorvedores FreshPax da Multiform desenvolvidos para uso em produtos desidratados. Para esses autores, os dados indicam que os absorvedores são uma maneira adicional de prevenir a oxidação e estender a vida de prateleira desses produtos estocados a 25 °C ou menos. Eles também mostraram que os absorvedores foram efetivos em reduzir a formação oxidativa do n-hexanal em sementes de flores e flocos de milho. Além disso, os absorvedores foram efetivos contra a oxidação lipídica em amostras gordurosas de niboshi (anchovas cozidas e secas) estocadas a 25 °C. Porém, segundo Takiguchi (1996), os absorvedores foram ineficazes na prevenção de escurecimento do produto. Resultados de análises sensoriais, das anchovas cozidas e secas, evidenciaram que os absorvedores de O₂ inibem a formação do odor indesejável de ranço durante testes com estocagem acelerada (ALLARCON e HOTCHKISS, 1993).

Segundo Abe e Kondoh (1989), bolos de chocolate embalados em um laminado PVDC/Nylon/PE de 40 µm adicionado de sachê absorvedor e estocados a 20 °C mantiveram-se livres de fungos após 30 dias de armazenamento e apresentaram sabor aceitável durante esse mesmo período. Por sua vez, o controle exibiu crescimento de fungos no 14^o dia e um sabor desagradável no 7^o dia de estocagem.

A US Army Natick RD&E Center, citada por Powers e Berkowitz (1990), por meio de pesquisas e desenvolvimento, produziu pães com alta qualidade e os armazenou por 12 meses, usando absorvedor de oxigênio para conservação.

Em experimentos com bebidas, verificou-se que um sachê contendo absorvedor reduziu o teor de O₂ dissolvido de 8 para 0,05 ppm. Estudo realizado por Smith et al. (1986) apontou que os sachês absorvedores reduzem o teor de O₂ do espaço livre de embalagens impermeáveis para valores menores que 0,05%. Esses mesmos pesquisadores também concluíram que não ocorreu o crescimento de fungos em produtos alimentícios acondicionados contendo teores de oxigênio de 0,4% no espaço livre das embalagens.

Os absorvedores também têm sido apresentados para prevenir a auto-oxidação de ácidos graxos polinsaturados em peixe (INGHAM e POTTER, 1988; ANONYMOUS, 1986).

Um estudo realizado por Ellis et al. (1994) evidenciou que a tecnologia dos absorvedores de O₂ é um método efetivo e economicamente viável para controlar o crescimento do fungo *Aspergillus parasiticus* e a produção de sua aflatoxina em produtos como amendoim embalado.

Smith et al. (1986), usando *Aspergillus niger* e esporos de *Penicillium* spp., que são contaminantes comuns em produtos de panificação, mostraram que os sachês absorvedores de O₂ são uma alternativa mais eficiente para estender a vida de prateleira desses produtos sem o aparecimento de fungos, em comparação com a atmosfera de nitrogênio. Seus estudos indicaram que nos produtos embalados com ar ocorreu o crescimento visível de fungos em cinco a seis dias; com a substituição do ar por nitrogênio, em 9 a 11 dias; e com a substituição do ar por CO₂/N₂ (60:40), de 16 a 18 dias. Ao utilizar essas mesmas atmosferas modificadas juntamente com o sachê absorvedor de O₂, o crescimento de fungos não foi visível até 60 dias de estocagem a 25 °C. A embalagem utilizada foi um laminado de náilon e polietileno com permeabilidade média de 40 cm³.m⁻².dia⁻¹ para O₂, 14 cm³.m⁻².dia⁻¹ para N₂ e 155 cm³.m⁻².dia⁻¹ para CO₂, a 25 °C e 100% de umidade relativa.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. O sistema absorvedor utilizado nesta pesquisa foi o absorvedor de oxigênio, à base de ferro, da marca O-Buster, no formato de sachê. O modelo usado foi o FT-300, desenvolvido para ser empregado em produtos com atividade de água (A_w) máxima de 0,85, com capacidade, segundo o fabricante, de absorver até 300 mL de oxigênio.

O experimento consistiu de quatro etapas:

1ª Etapa

Determinação da curva de absorção do sistema absorvedor, bem como sua taxa de absorção, em umidades relativas de 75, 80 e 85%, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

2ª Etapa

Determinação da curva de absorção do sistema absorvedor, bem como sua taxa de absorção em umidades relativas de 75, 80 e 85%, à temperatura de refrigeração (10 ± 2 °C).

3ª Etapa

Determinação da concentração mínima de oxigênio requerida para o crescimento dos fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Penicilium* spp., à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), em meio BDA (batata-dextrose-ágar).

4ª Etapa

Aplicação dos resultados obtidos pelas equações das etapas 1 e 2, que estimaram o volume de oxigênio absorvido, considerando a permeabilidade da embalagem e as umidades relativas estudadas. Neste experimento foi usado massa fresca, tipo lasanha, com e sem conservante, acondicionada em sacos plásticos de multicamada constituído de polivinilideno/polietileno, sob vácuo, e estocada a 10 ± 2 e 25 ± 2 °C. Os ingredientes básicos gastos na fabricação das massas foram: farinha de trigo, óleo, sal, água e sorbato de potássio como conservante químico.

3.1. Determinação da curva de absorção dos sistemas absorvedores em umidades relativas e temperaturas diferentes

As etapas 1 e 2 foram conduzidas em um sistema constituído de dessecadores com capacidade variando entre 5,3 e 5,5 L, onde foi inserido um sachê absorvedor (a) à base de ferro (FT-300, O-Buster). As tampas dos dessecadores continham septos de silicone (b), por onde foram retiradas as amostras de ar, as quais foram analisadas através de um determinador de oxigênio da MOCON. Um sistema de ventilação (c) foi instalado no interior de cada dessecador, para que se pudesse homogeneizar o ar antes da coleta para análise. Todo o sistema foi mantido hermeticamente fechado (Figura 1).

As umidades relativas de 75, 80 e 85% dentro dos dessecadores foram obtidas, utilizando soluções saturadas de cloreto de sódio, sulfato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente. As amostras foram coletadas, em intervalos de tempo, variando de acordo com a temperatura de armazenamento. Para o experimento conduzido a 25 ± 2 °C, as amostras foram coletadas de 30 em 30 minutos, até as primeiras quatro horas e após, de quatro em quatro horas. Para o experimento sob temperatura de 10 ± 2 °C, os intervalos foram de uma em uma hora nas primeiras 12 horas e após, de 12 em

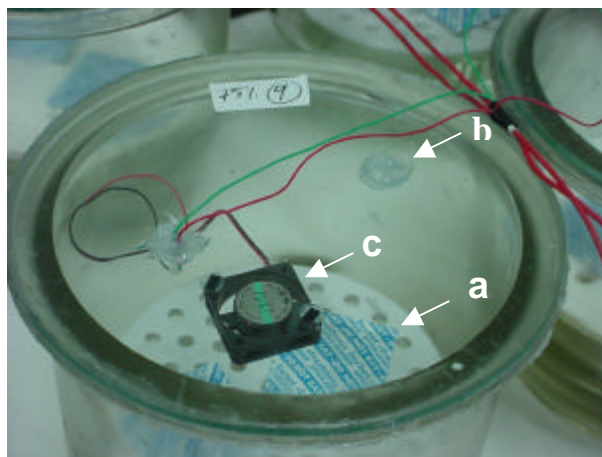


Figura 1 – Sistema de dessecador utilizado para conduzir as 1ª e 2ª etapas do experimento.

12 horas. Em ambas as temperaturas, as amostras foram coletadas até se constatar que o sachê não apresentava mais absorção de oxigênio. Os intervalos de tempo anteriormente citados foram obtidos por meio de experimentos preliminares, pela observação do comportamento da curva de absorção do sachê.

O volume de oxigênio absorvido e a taxa de absorção de oxigênio em função das umidades relativas avaliadas foram analisados através de regressão linear, e uma superfície de resposta foi gerada para cada temperatura. Por meio dessas regressões, foi possível prever o tempo em que o absorvedor ainda apresenta atividade.

O experimento foi conduzido em três repetições.

3.2. Determinação da concentração mínima de oxigênio requerida para o crescimento de *Aspergillus niger* e *Penicilium* spp.

Um mililitro de suspensões de esporos *Aspergillus niger* e de *Penicilium* spp., ambos isolados de massa de pizza, contendo em torno de 5×10^2 UFC/mL, foi inoculado, separadamente, em placas contendo meio BDA. As placas foram colocadas em dessecadores com solução saturada de NaCl, que origina uma umidade relativa de 75%, à temperatura de 25 ± 2 °C. Os

dessecadores foram hermeticamente fechados e as atmosferas internas, modificadas quanto ao teor de oxigênio.

Foram usadas seis atmosferas, sendo três por meio da substituição do gás interno por nitrogênio até que fossem atingidos os níveis de 20,4; 5 a 7; e 0 a 1% de O₂ e três através do uso de sachês absorvedores de O₂ em quantidades suficientes para atingir concentrações de oxigênio de 1, 2 e 5%. Alíquotas de ar no interior dos dessecadores foram retiradas e avaliadas quanto ao teor de oxigênio, através do analisador de oxigênio da MOCON, em intervalo de tempo de 24 horas.

As placas foram avaliadas visualmente até o surgimento da primeira colônia que indicou o término do experimento. O critério de avaliação visual é o preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da RDC nº 12/2001.

3.3. Avaliação microbiológica de massa fresca tipo lasanha, com e sem conservante, na presença de sachê absorvedor de O₂

A massa fresca foi produzida na indústria MASSANOBRE Produtos Alimentícios Ltda., localizada na cidade de Barbacena, MG. Foram produzidas massas com conservante e sem conservante (Figura 2).



Figura 2 – Massas frescas tipo lasanha embaladas a vácuo, utilizadas no experimento.

As massas foram embaladas a vácuo em uma embalagem multicamada, comercialmente utilizada, constituída de polivinilideno (PVdC) e polietileno (PE), de 80 µm de espessura, 53 g/m² de gramatura e 8,63 cm³/m².dia.atm de permeabilidade a O₂. Para a análise da permeabilidade foi empregado o Oxtran 2/20, da Mocon, à temperatura de 23 °C.

Com relação às massas sem conservante, uma parte foi embalada a vácuo e outra, a vácuo, contendo um sachê. Os tratamentos foram aleatoriamente divididos e armazenados às temperaturas ambiente (25 ± 2 °C) e de refrigeração (10 ± 2 °C).

Foi realizada também a determinação da atividade de água na massa fresca, utilizando-se o equipamento Aqualab, com temperatura controlada a 25 °C.

Os tratamentos foram avaliados, quanto ao crescimento microbiológico, através das análises de fungos filamentosos e leveduras (UFC/g), coliformes totais e *E. coli* (NMP/g) e *Staphylococcus* spp. (UFC/g), conforme metodologia proposta pela APHA (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992). Os resultados microbiológicos foram analisados mediante a comparação entre médias, pelo teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito da umidade relativa e da temperatura na taxa de absorção de O₂ pelo sachê

A absorção de oxigênio pelos absorvedores de O₂ é dependente de fatores ambientais, como umidade relativa e temperatura, razão pela qual se testou a capacidade de absorção em sistemas com teor de oxigênio em excesso, sob temperaturas de 25 ± 2 °C e 10 ± 2 °C e 75, 80 e 85% de umidade relativa.

Os resultados indicam uma maior e mais rápida absorção de oxigênio pelo sachê quanto maior a umidade relativa de exposição, em ambas as temperaturas de estocagem. Tal fato se deve à necessidade da presença de água para que a reação entre a molécula de O₂ e o ferro ocorra (Figuras 3 e 4). Pode-se observar também que a temperatura influenciou a taxa de absorção de O₂ pelo sachê. Deve-se ressaltar que, em ambos os experimentos, as quantidades de O₂ absorvidas foram maiores, 420 e 570 mL, nas temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C que a indicada pelo fabricante, que é de 300 mL.

No experimento conduzido a 10 ± 2 °C, o sachê absorveu os 300 mL em torno do sexto dia à umidade de 80 e 85%, enquanto na umidade de 75% foi em torno do 10^o dia. Já no experimento conduzido a 25 ± 2 °C a quantidade indicada pelo fabricante foi atingida após 24 horas na umidade de 85% e em torno de 36 horas, a 75 e 80% de umidade relativa. Essa diferença pode ser

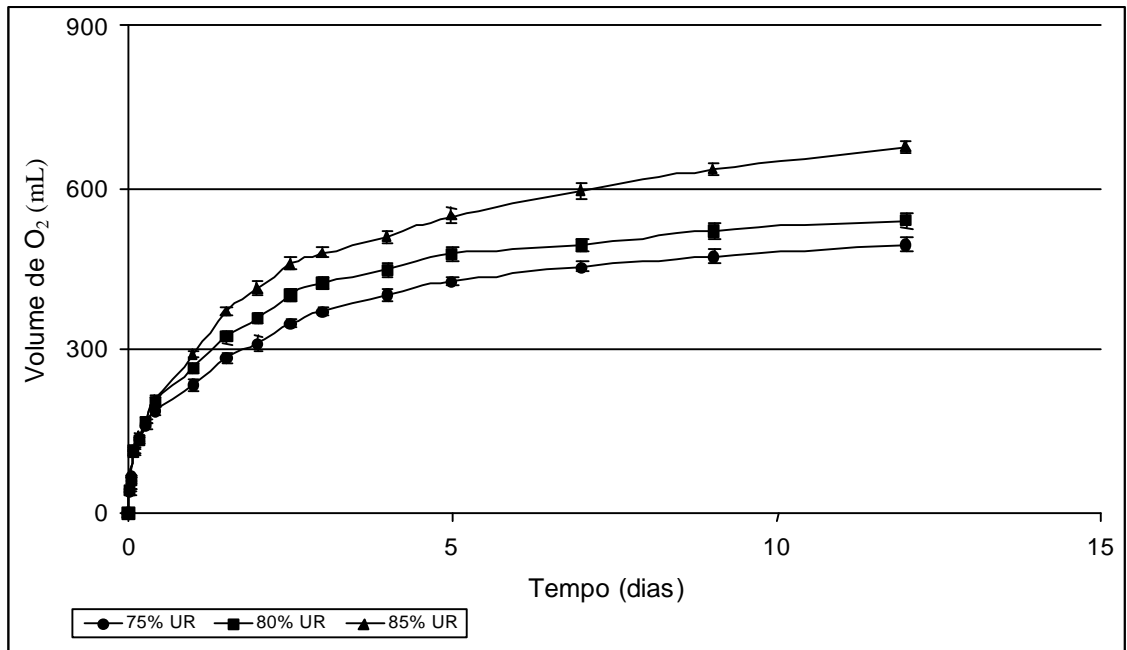


Figura 3 – Consumo de oxigênio pelo absorvedor FT-300 nas diferentes umidades relativas à temperatura de 25 ± 2 °C, por um período de 12 dias.

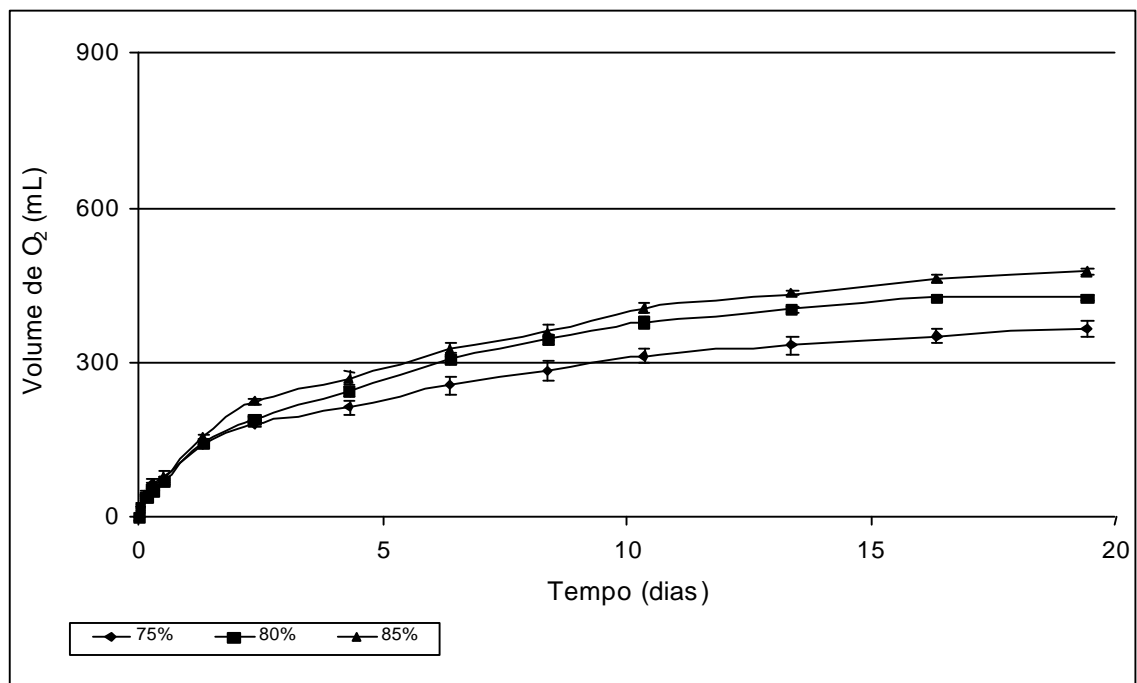


Figura 4 – Consumo de oxigênio pelo absorvedor FT-300 nas diferentes umidades relativas à temperatura de 10 ± 2 °C, por um período de 19 dias.

devida ao uso de umidades relativas nas faixas mais elevadas de recomendação de uso dos sachês, que é de no máximo 85% de umidade relativa.

A influência da umidade relativa na reação do O₂ com o ferro pode ser observada na variação da energia de ativação (Ea) mostrada na Tabela 2, calculada pela equação de Arrhenius (Eq I). A maior taxa de absorção dos sachês foi à umidade relativa de 85%, que apresenta, nessa condição, menor energia de ativação, cujo valor foi de 55,91 ± 0,71 KJ/mol (Tabela 2). Por sua vez, a velocidade de reação, expressa em volume de oxigênio absorvido por dia, variou com a temperatura de armazenamento, sendo de 50 mL/dia e de 18,5 mL/dia, a temperaturas de 25 ± 2 °C e 10 ± 2 °C, respectivamente.

$$K = K_0 * e^{\frac{-Ea}{RT}}$$
 equação de Arrhenius, que por transformação matemática pode ser escrita da seguinte forma:

$$\ln(K) = -\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + c \quad \text{Eq I}$$

em que:

Ea = energia de ativação;

R = constante dos gases, 8,314 J/mol.K;

T = temperatura absoluta, Kelvin; e

K = taxa de absorção do sachê.

Tabela 2 – Energia de ativação da reação do ferro com o O₂ nas diferentes umidades relativas e variação de temperatura de 10 ± 2 °C para 25 ± 2 °C

Umidade Relativa (%)	Ea (KJ/mol)
75	60,53±1,53 ^a
80	60,09±1,14 ^a
85	55,91±0,71 ^b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Além disso, a quantidade máxima de oxigênio absorvida pelo sachê no experimento conduzido a 10 ± 2 °C foi menor que no experimento a 25 ± 2 °C, em todas as umidades relativas estudadas (Tabela 3). Isso pode ser explicado pelo fato de que o sistema absorvedor utilizado absorve o oxigênio por meio de uma reação química, que é, portanto, influenciada pela temperatura. Em temperaturas mais elevadas, o grau de excitação das moléculas é maior, fazendo com que haja maior colisão entre as partículas e, portanto, a reação entre esses substratos. Assim, quanto maior a temperatura, mais rápida a reação e maior a quantidade de oxigênio absorvida.

Tabela 3 – Quantidade máxima absorvida pelo sachê nas diferentes temperaturas e umidades relativas

Umidade Relativa (%)	Quantidade Máxima Absorvida	
	10 ± 2 °C	25 ± 2 °C
75	$363,13 \pm 8,72$	$496,38 \pm 18,16$
80	$424,65 \pm 3,25$	$540,28 \pm 29,12$
85	$474,96 \pm 1,8$	$676,67 \pm 15,57$

O volume de O₂ absorvido pelo sachê diminui assintoticamente ao longo do tempo, devido à reação irreversível do ferro com o O₂ que se encontra disponível em excesso (Figuras 5 e 6). Outro fato é a formação de uma barreira, pelas partículas de ferro mais próximas às paredes do sachê que, ao reagirem, formam um composto estável, hidróxido de ferro, dificultando, assim, o contato do oxigênio com as partículas de ferro do interior do sachê.

Observou-se que, nas primeiras 12 horas de absorção, não houve diferença considerável na taxa de absorção dos sachês estocados sob as diferentes umidades relativas, em ambas as temperaturas de armazenamento (Figuras 7 e 8).

Esse fato ocorre, provavelmente, pela presença de agentes, como sílica ou ácido ascórbico (DELDUCA et al., 2001), que são incorporados aos compostos do sachê, acelerando a reação. Assim, mesmo sem ter atingido a

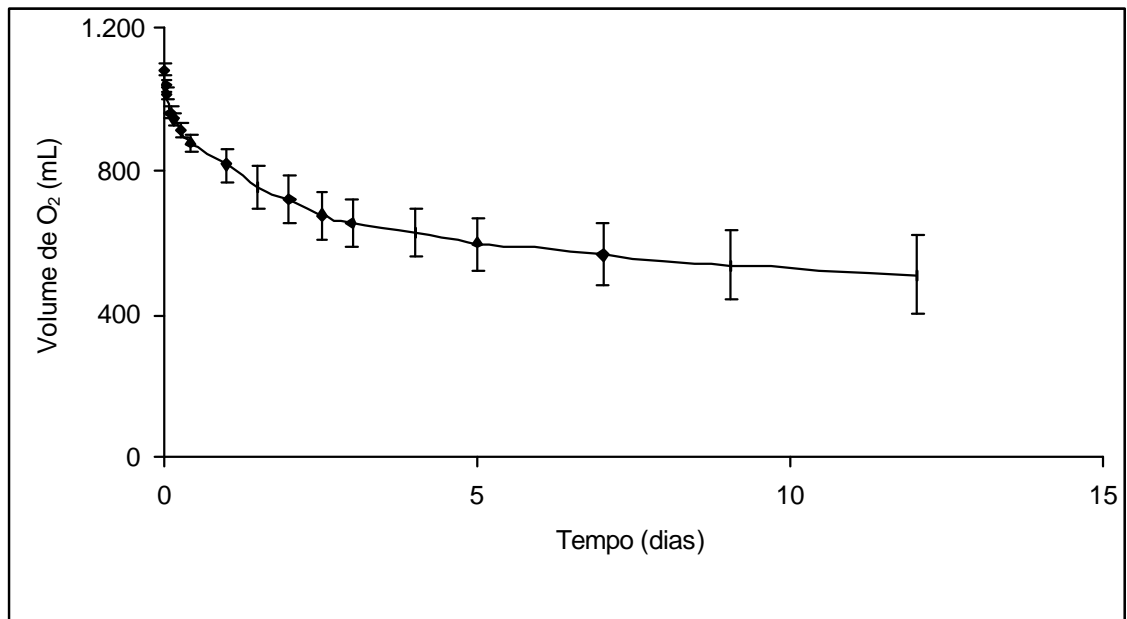


Figura 5 – Quantidade média de oxigênio remanescente dentro dos sistemas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 25 ± 2 °C.

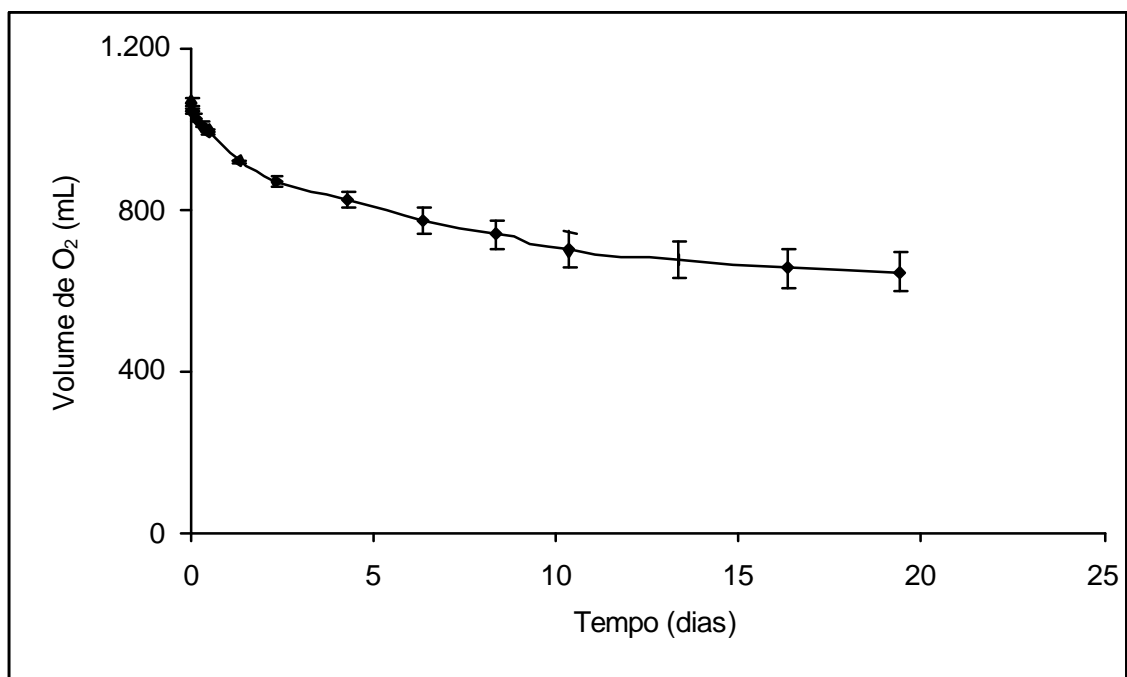


Figura 6 – Quantidade média de oxigênio remanescente dentro dos sistemas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 10 ± 2 °C.

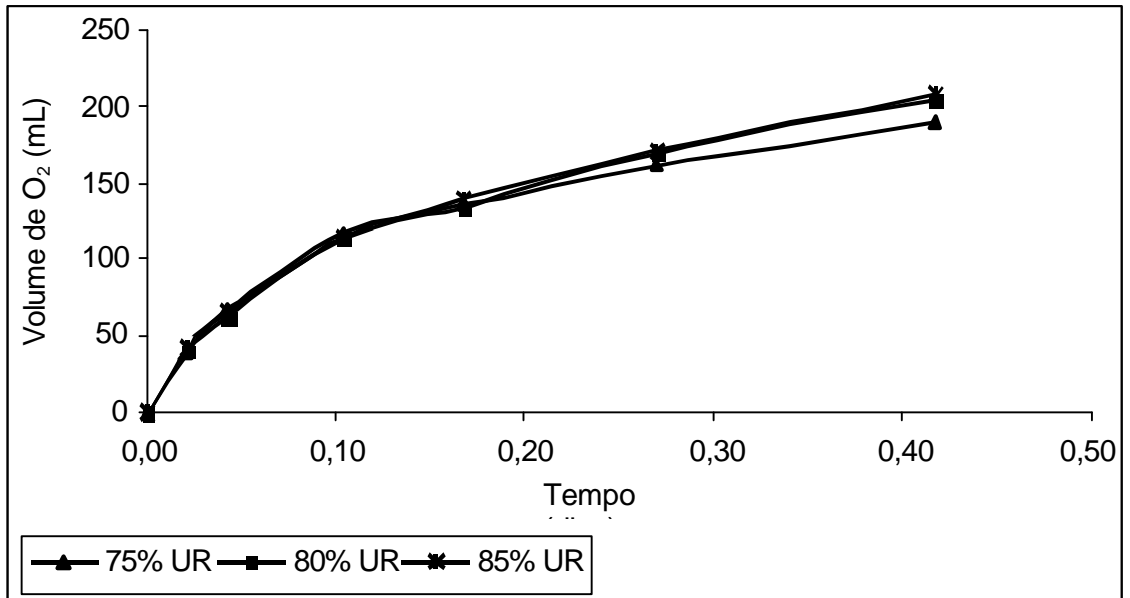


Figura 7 – Quantidade de O₂ absorvida nas primeiras 12 horas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 25 ± 2 °C.

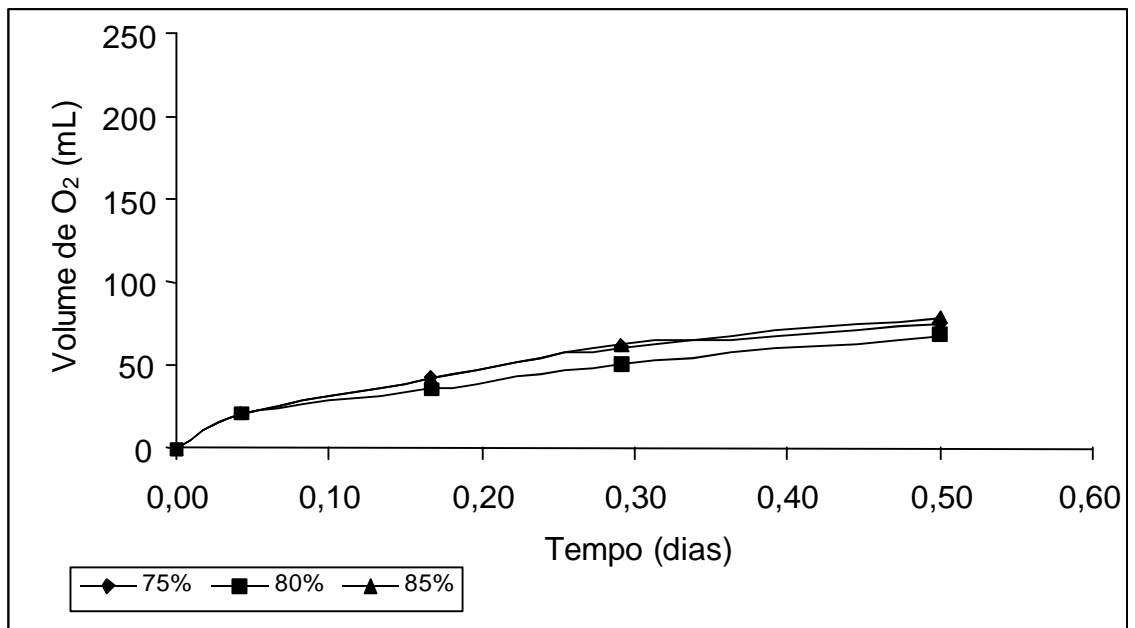


Figura 8 – Quantidade de O₂ absorvida nas primeiras 12 horas, nas diferentes umidades relativas, à temperatura de 10 ± 2 °C.

umidade relativa de equilíbrio, a quantidade de água absorvida pelos componentes é suficiente para iniciar a reação. Após a umidade relativa ter atingido os diferentes níveis, ocorre diferenciação nas taxas de absorção de acordo com as umidades relativas.

A temperatura afetou a taxa de absorção de oxigênio pelos sachês em todos os valores de umidades relativas estudadas. De modo geral, observou-se uma diminuição de 57% na taxa de absorção do sachê quando a temperatura decresceu de 25 ± 2 °C para 10 ± 2 °C.

4.2. Determinação do tempo teórico de atividade de absorção do sachê

Como exposto anteriormente, os sistemas absorvedores apresentam uma taxa de absorção não-constante, conforme mostrado no item 4.1. O conhecimento dessa taxa, associado ao valor da taxa de permeabilidade das embalagens plásticas a O₂, permite predizer o volume de oxigênio absorvido pelo sachê. Quando a taxa de absorção do sachê se torna igual à taxa de permeabilidade da embalagem, significa que o sistema absorvedor diminui sua eficiência; ela faz com que o teor de oxigênio dentro da embalagem comece a aumentar gradativamente. Para determinar esse tempo teórico de atividade de absorção, consideraram-se o volume de oxigênio absorvido pelo sistema, a taxa de permeabilidade da embalagem e a umidade relativa, às temperaturas de 25 ± 2 °C e 10 ± 2 °C. As equações determinadas são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Equações para determinação do volume absorvido pelo sachê nas temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C e umidades relativas na faixa de 75 a 85%

Temperatura	Equação	R ²	CC
25 °C (Eq II)	$V = - 32,770 + 10,440 \cdot UR - 104,385 \cdot \ln(TP_{O_2})$	0,9151	0,9765
10 °C (Eq III)	$V = 107,321 + 6,221 \cdot UR - 105,166 \cdot \ln(TP_{O_2})$	0,8729	0,932

V = volume máximo de oxigênio absorvido em mL.

UR = umidade relativa (75 – 85%).

TP_{O₂} = taxa de permeabilidade da embalagem (mL/m²/dia.atm).

As equações Eq II e Eq III estão representadas pelas Figuras 9 e 10, respectivamente.

Dois fatores importantes devem ser levados em consideração, a área da embalagem (A) e o volume inicial (Vi) de oxigênio remanescente na embalagem após o envase, sendo Vi determinado pela equação IV:

$$V_i = \left(V_t - \left(\frac{P}{d} \right) \right) * 0,204 \quad \text{Eq IV}$$

em que:

Vt = volume total do produto embalado, determinado por deslocamento de líquido (mL);

P = peso do produto embalado (g); e

d = densidade do produto (g/mL).

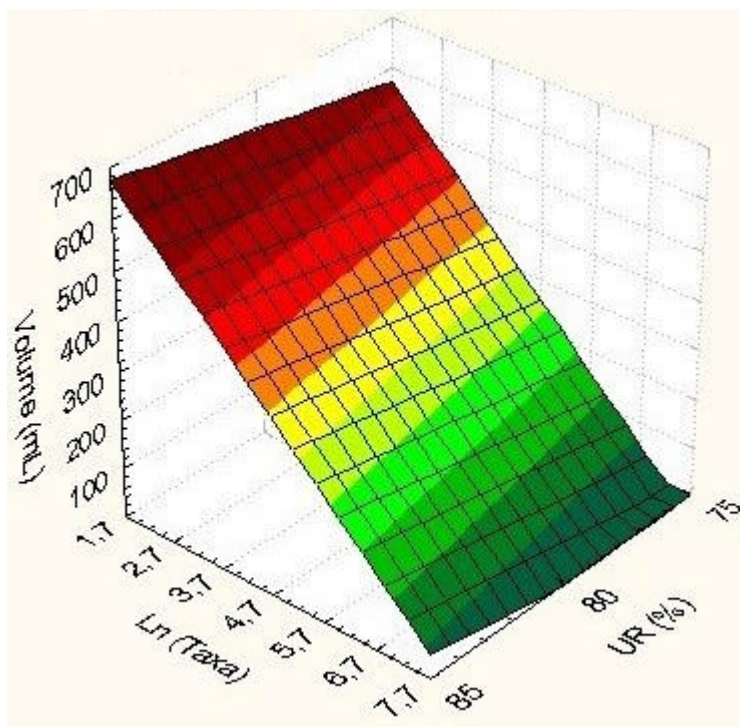


Figura 9 – Superfície de resposta representativa da Eq II, à temperatura de 25 ± 2 °C.

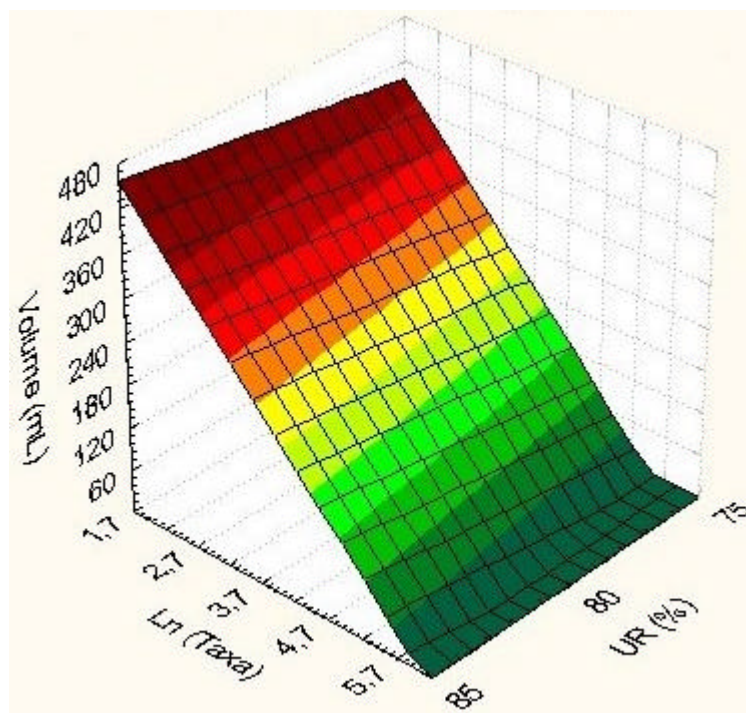


Figura 10 – Superfície de resposta representativa da Eq III, à temperatura de $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

No caso da embalagem contendo massa de lasanha embalada com sachê absorvedor de O_2 , os parâmetros necessários para o cálculo do tempo estimado de vida de prateleira são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores encontrados, em médias, com os parâmetros utilizados na determinação do volume inicial de oxigênio dentro da embalagem, após o envase do produto

Parâmetros	Valores
Peso do produto, P (g)	600
Volume total, Vt (mL)	520
Densidade do produto, d (g/mL)	1,18

Dessa forma, o tempo teórico estimado de atividade, T, pode ser determinado pela Eq V:

$$T = \frac{V - Vi}{TP_{O_2} * A} \quad \text{Eq V}$$

em que:

T = tempo teórico, em dias;

V = volume em mL, determinado pelas Eq II e III;

Vi = volume inicial em mL, determinado pela Eq IV;

TP_{O₂} = permeabilidade da embalagem, em mL de O₂/m².dia.atm; e

A = área da embalagem, em m².

Dessa forma, pode-se definir que, para a temperatura de trabalho de 25 ± 2 °C,

$$T = \frac{(-32,770 + 10,440 * UR - 104,385 * Ln(TP_{O_2})) - \left[Vt - \left(\frac{P}{d} \right) \right] * 0,204}{A * TP_{O_2}} \quad \text{Eq VI}$$

e para a temperatura de trabalho de 10 ± 2 °C:

$$T = \frac{(107,321 + 6,221 * UR - 105,166 * Ln(TP_{O_2})) - \left[Vt - \left(\frac{P}{d} \right) \right] * 0,204}{A * TP_{O_2}} \quad \text{Eq VII}$$

Nesse trabalho foi utilizada uma embalagem de 20 x 25 cm, dando uma área de 0,05 m² por face, com permeabilidade de 8,63 cm³/m².dia.atm. O volume inicial de O₂ no interior da embalagem foi, em média, de 2,5 mL. Considerando uma umidade relativa de 80%, pode-se estimar o tempo teórico de atuação do sistema absorvedor nessas condições, usando as Eq VI e VII. À temperatura de 25 ± 2 °C, o tempo estimado foi de 666 dias e a 10 ± 2 °C, de 436 dias. Portanto, após esse tempo o absorvedor não apresentará mais efeito, pois a taxa de absorção será igual à taxa de permeabilidade da embalagem.

Na Tabela 6, mostra-se a influência da permeabilidade no tempo de absorção dos sachês, pelas Eq VI e VII. Foram usados materiais plásticos mais comumente utilizados no acondicionamento de produtos alimentícios que apresentam alterações na presença de O₂.

Tabela 6 – Influência da permeabilidade de filmes plásticos no tempo de absorção dos sachês, calculado pela Eq VI

Filme	Produto	Taxa mL/dia.m ²	Tempo (dias)
PET/PE	Pré-mistura para bolo	110	28
PET-PVDC/PE	Frutas e hortaliças desidratadas	9	634
BOPP/PE	Frutas e hortaliças desidratadas	700	2
BOPP/PE	Biscoitos	1.000	1
PEBD	Minimamente processado	1.200	0
PEBD	Minimamente processado	6.500	0
PVC	Minimamente processado	7.000	0
PVC	Minimamente processado	22.000	0
PP	Biscoito	1.700	0
PP	Biscoito	1.850	0
PE	Biscoito	1.400	0
PE	Biscoito	2.000	0

Fonte: SARANTÓPOULOS et al. (2001).

em que: PET – polietileno tereftalato, PE – polietileno, PVDC – polivinilideno, BOPP – polipropileno biorientado, PVC – policloreto de vinila, PP – polipropileno e PEBD – polietileno de baixa densidade.

4.3. Aplicação do sistema absorvedor estudado em massa fresca de lasanha

4.3.1. Avaliação do teor mínimo de O₂ exigido para crescimento de fungos

Os fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. são aeróbios estritos, exigindo quantidades mínimas de oxigênio, abaixo das quais esses fungos não se desenvolvem. Nas atmosferas testadas, o aparecimento de colônias de *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. foi observado em períodos de tempos diferentes, de acordo com a concentração de O₂ em estudo (Tabela 7).

À medida que diminui o teor de O₂ do meio, seja pela substituição do ar no interior da embalagem por nitrogênio, ou pela ação dos absorvedores, aumenta-se o tempo necessário para o aparecimento das colônias dos fungos.

Entre as três concentrações de oxigênio utilizadas, notou-se que abaixo de 1% ocorre inibição significativa do crescimento dos fungos testados.

Tabela 7 – Tempo de aparecimento das colônias de *Aspergillus niger* e *Penicilium* spp. nas diferentes atmosferas de oxigênio, obtidas pela injeção de nitrogênio ou ação química do sachê absorvedor de O₂

Ambiente	% de Oxigênio	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicilium</i> spp.
		Dias	Dias
Nitrogênio	20,4	3 ^b	4 ^b
	5 a 7	4 ^b	4 ^b
	0,6 a 0,7	9 ^a	10 ^a
Absorvedor	5	4 ^b	5 ^b
	2	5 ^b	5 ^b
	<1	14 ^a	15 ^a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quando a concentração de O₂ diminuiu para valores abaixo de 1% utilizando nitrogênio, observou-se um aumento de 225 e 280% no tempo de aparecimento da primeira colônia, respectivamente, para *Aspergillus niger* e *Penicilium* spp. Com o uso do sachê, esse aumento foi de 250 e 300%, respectivamente. O crescimento mais rápido dos fungos, nos dessecadores com N₂, pode ser devido a uma melhor e mais rápida adaptação dos fungos na atmosfera restrita de O₂. Os dessecadores contendo sachês absorvedores de oxigênio tiveram sua atmosfera de O₂ decrescendo gradativamente, o que pode ter provocado adaptação mais demorada. Além disso, os sachês absorveram maior quantidade de oxigênio que o esperado, levando a uma concentração extremamente baixa, o que pode ter ocasionado o maior tempo de aparecimento das colônias.

4.3.2. Avaliação da eficiência do absorvedor para inibição do crescimento de fungos filamentosos e leveduras, *Staphylococcus* spp., coliformes totais e *E. coli* em massa fresca tipo lasanha

Os absorvedores FT-300 foram eficientes na inibição do crescimento de fungos filamentosos e leveduras, *Staphylococcus* spp., coliformes totais e *E. coli*. Durante 30 dias, a contagem de *Staphylococcus* spp. foi mantida abaixo de 5×10^3 UFC/g, conforme legislação vigente (RDC nº 12/MS de 2001), quando a lasanha foi armazenada a 10 ± 2 °C. Nas mesmas condições, o crescimento de

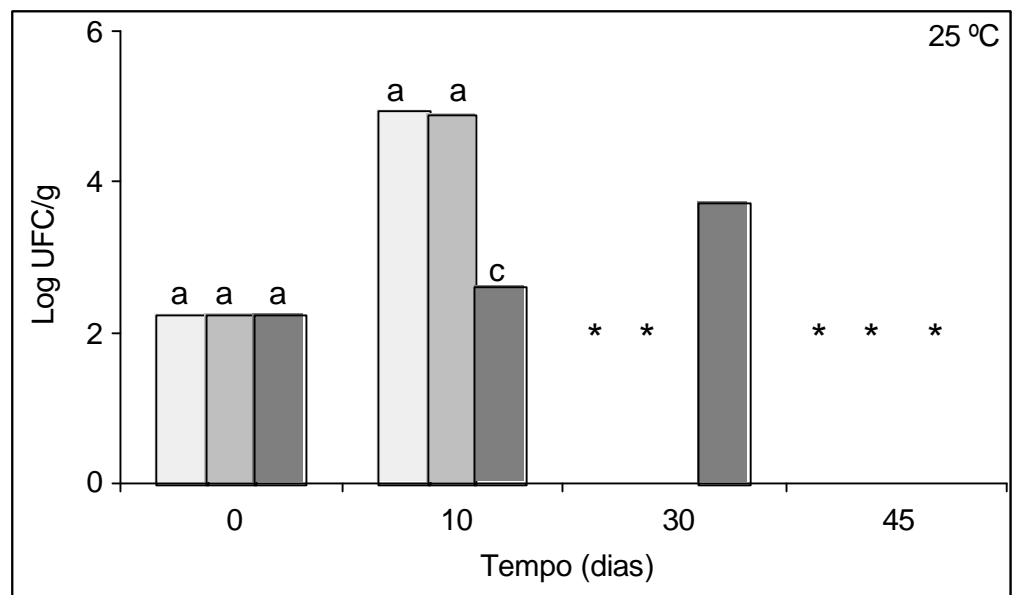
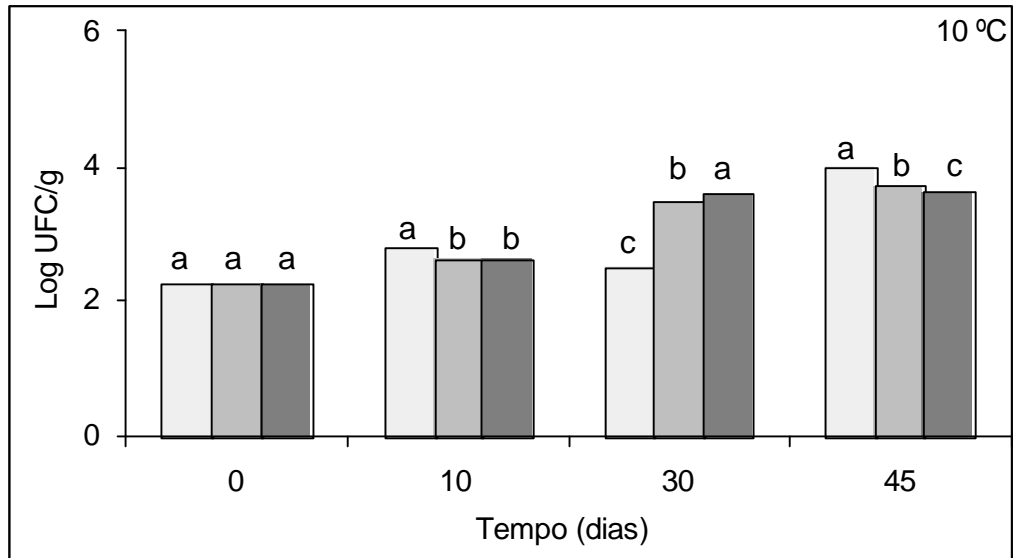
fungos filamentosos, leveduras e coliformes totais também foi mantido abaixo dos valores preconizados pela legislação, 10^4 UFC/g e 10^2 NMP/g, respectivamente.

Apesar da maior eficiência na absorção de oxigênio pelo sachê, à temperatura de 25 ± 2 °C, os absorvedores não foram eficientes para inibir o crescimento dos microrganismos avaliados, pois nessa temperatura o crescimento foi estimulado, deixando o produto fora dos padrões de segurança microbiológicos a partir do 10º dia.

Na Figura 11, mostra-se que todos os tratamentos foram eficientes para inibir o crescimento de fungos filamentosos e leveduras quando a massa fresca tipo lasanha foi armazenada a 10 ± 2 °C, por 45 dias. No entanto, até o 30º dia o tratamento com o absorvedor foi significativamente mais eficiente, apresentando uma contagem em torno de um ciclo logarítmico menor. Os produtos armazenados a 25 ± 2 °C apresentaram-se deteriorados no 10º dia.

Considerando que os fungos filamentosos comumente encontrados em massa fresca de lasanha são aeróbios estritos, eles não cresceriam quando acondicionados sob vácuo. Porém, conforme Vermeiren et al. (1999), Rooney (1995) e Hotchkiss (1988), essa técnica não retira todo o oxigênio da embalagem e não controla o oxigênio permeado através desta. Portanto, presume-se que existe oxigênio residual nas embalagens envasadas apenas a vácuo, o que permitiu o crescimento desses microrganismos. O tratamento utilizando conservante químico mostrou-se eficiente para inibir o crescimento de fungos filamentosos e leveduras em ambas as temperaturas, por 30 dias. A temperatura de armazenamento de 10 ± 2 °C foi eficiente para inibir o crescimento por 45 dias.

O conservante químico, ácido sórbico, atua não apenas inibindo o crescimento, mas eliminando células vegetativas. Esses conservantes são adicionados na forma de sais, sorbato de potássio, que, ao entrarem em contato com a água, retornam a sua forma de ácido, penetrando na célula do microrganismo em sua forma não-dissociada. No citoplasma microbiano, ocorre a dissociação do ácido, o que leva a um abaixamento do pH intracelular, causando a destruição do microrganismo. Dessa forma, o conservante diminui o número de células viáveis, prolongando o tempo de vida de prateleira do produto.



* Não foi realizada análise microbiológica, nesses tratamentos, pois o produto se encontrava deteriorado visualmente

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

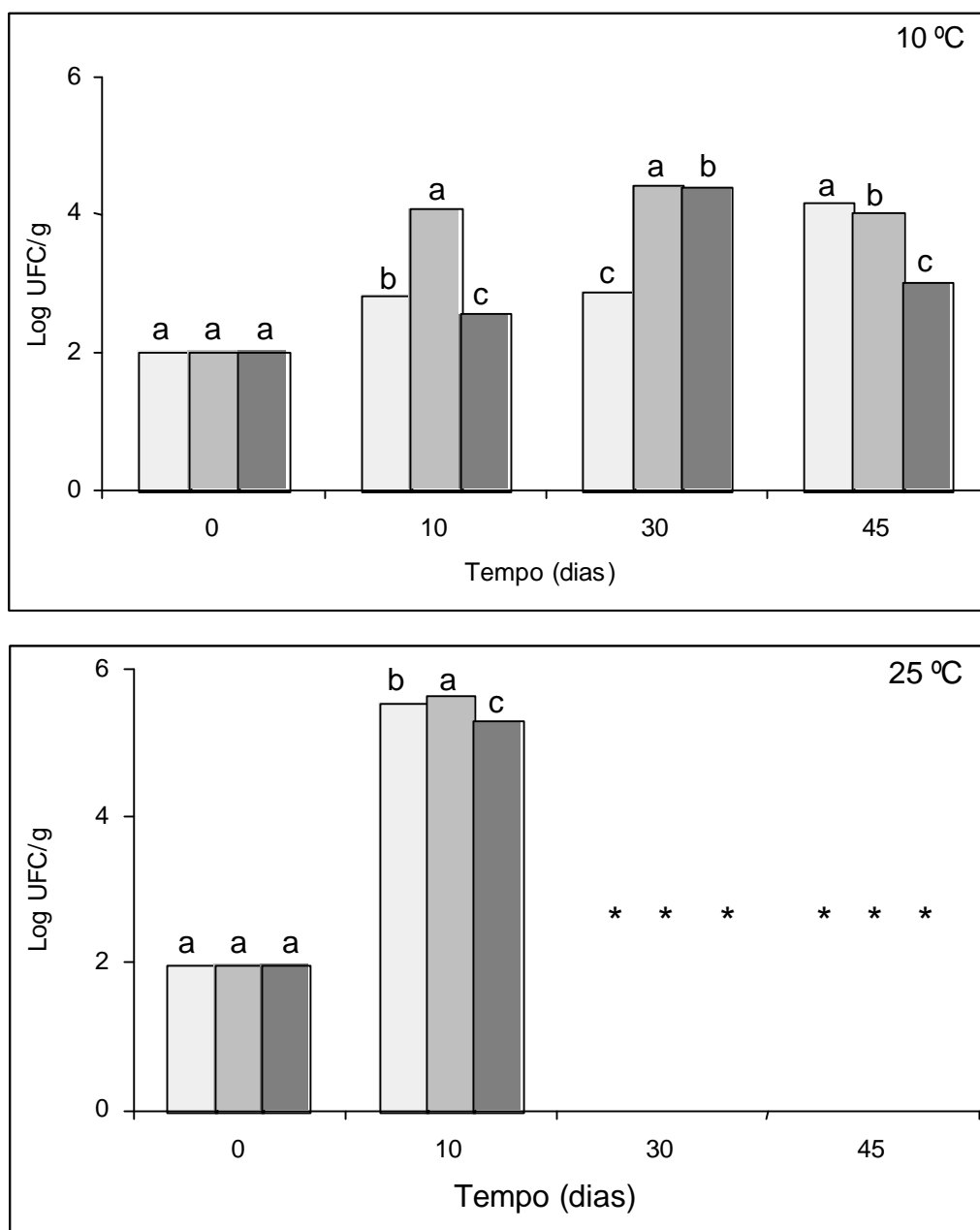
Figura 11 – Logaritmo decimal do número de fungos filamentosos e leveduras (UFC/g) nas massas frescas tipo lasanha, às temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C. (□ Absorvedor; ▨ Vácuo e ▩ Conservante químico).

Staphylococcus spp. são microrganismos anaeróbios facultativos, crescendo entre -150 e $+50$ mV. Portanto, apenas a restrição de oxigênio não seria suficiente para a sua inibição. A utilização do absorvedor de oxigênio mostrou-se estatisticamente ($P < 0,05$) mais eficiente para inibir o crescimento até os 30 dias, quando a massa fresca tipo lasanha foi armazenada a 10 ± 2 °C. Nesse tempo de armazenamento, a contagem de *Staphylococcus* spp. foi menor cerca de 1,5 ciclo logarítmico, quando se usou o sachê absorvedor, em comparação com os outros dois tratamentos.

Na massa fresca tipo lasanha armazenada a 25 ± 2 °C, a contagem extrapolou o valor preconizado pela legislação, 5×10^3 UFC/g, no 10º dia de armazenamento (Figura 12). Esse microrganismo para crescer em anaerobiose necessita de uma A_w mínima de 0,90 (JAY, 1991). A atividade de água do produto, nas condições estudadas, não apresentou variação durante o período de armazenamento. Em média, a A_w foi de $0,89 \pm 0,02$. Dessa forma, esse parâmetro não teve influência sobre o crescimento dos microrganismos.

O envase das massas de lasanha, sob vácuo, mostrou-se estatisticamente ($p < 0,05$) mais eficiente para inibir o crescimento de coliformes totais em até 45 dias quando armazenado a 10 ± 2 °C. Sob a temperatura de 25 ± 2 °C, o valor 10^2 NMP/g preconizado pela legislação foi ultrapassado a partir do 10º dia (Figura 13). Porém, até o 30º dia, todos os tratamentos mostraram-se eficientes para inibir o crescimento de coliformes totais.

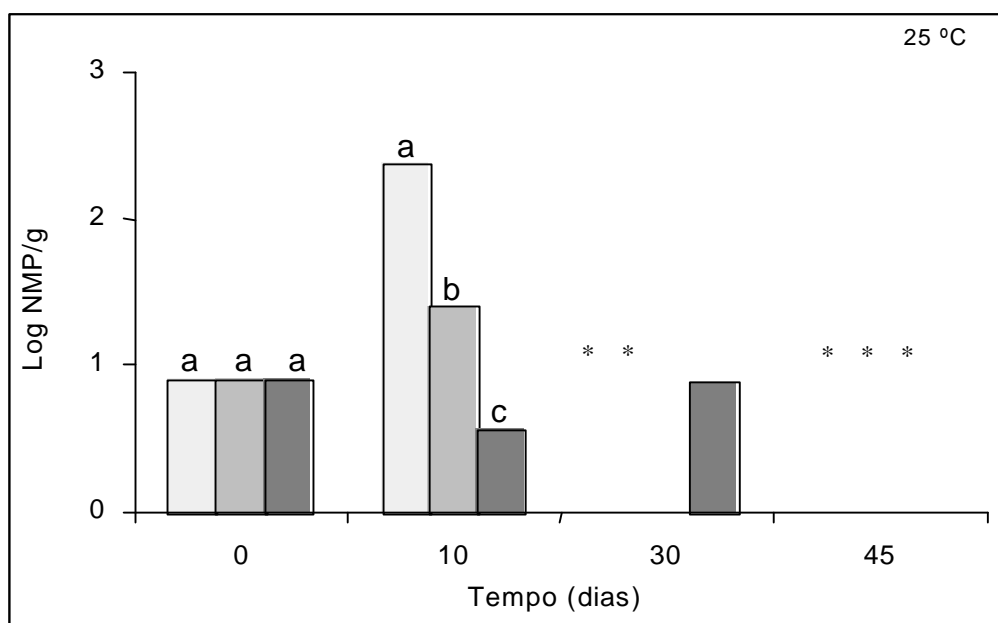
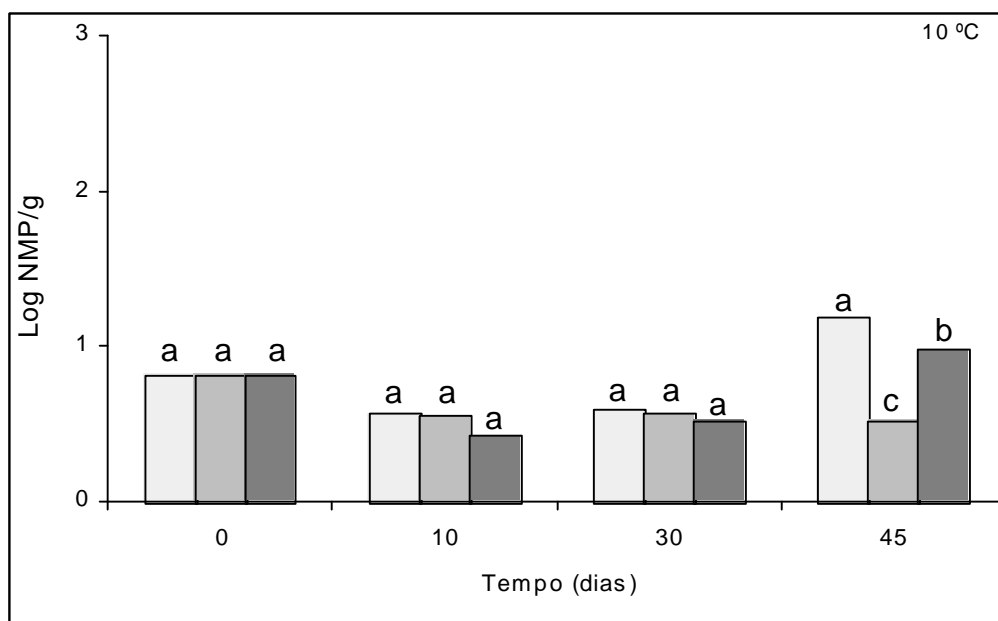
Deve ser ressaltado que, em todos os tratamentos, a contagem de *E. coli*, utilizando a técnica do número mais provável, foi menor que 3 NMP/g, durante 45 dias.



* Não foi realizada análise microbiológica, nesses tratamentos, pois o produto se encontrava deteriorado visualmente

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 12 – Logaritmo decimal do número de *Staphylococcus* spp. (UFC/g) das massas de lasanha com e sem conservante, às temperaturas de 10 e 25 °C. (□ Absorvedor, ▒ Vácuo e ▓ Conservante químico).



* Não foi realizada análise microbiológica nesses tratamentos, pois o produto se encontrava deteriorado visualmente

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 13 – Logaritmo decimal do número de coliformes totais (NMP/g) das massas frescas tipo lasanha, às temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C. (☐ Absorvedor, ☒ Vácuo e ☑ Conservante químico).

5. CONCLUSÕES

Os sachês absorvedores de oxigênio apresentaram maior atividade à temperatura de 25 ± 2 °C e 85% de umidade relativa.

Foi observado também que, em atmosfera com concentrações de oxigênio menor que 1%, os fungos *Aspegillus niger* e *Penicilium* spp. têm seu crescimento retardado. A equação estimada para prever o tempo de atividade dos absorvedores na faixa de 75, 80 e 85% de umidade relativa e temperaturas de 10 ± 2 °C e 25 ± 2 °C indica a influência da taxa de permeabilidade a O₂ do filme utilizado no acondicionamento, na presença do absorvedor.

Os absorvedores testados, FT-300 da O-Buster, mostraram uma capacidade de absorção maior que a indicada pelo fabricante. A massa fresca tipo lasanha fabricada sem adição do conservante químico, sorbato de potássio, e envasada com sachê absorvedor de O₂ mostrou melhor conservação do que aquela produzida com o conservante químico, ambas embaladas a vácuo.

Pode-se concluir que o uso do absorvedor de O₂ permitiu que o produto mantivesse segurança alimentar e contribuiu para a eliminação da adição de conservante no produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **RDC nº 12** – Ministério da Saúde, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **RDC nº 482** – Ministério da Saúde, 1999.

AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F.; AZEREDO, A.M.C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, 2000.

ABBOTT, R. **Intelligent paper packaging of unwrapped**. Disponível em: <www.pirapackaging.com>. Acesso em: out. 2002.

ABE, Y.; KONDOH, Y. Oxygen absorbers in: CA/MA Vacuum Packaging of Foods. Trumbull, Westport, CT. **Food and Nutrition**, p.149-158, 1989.

ALLARCON, B.; HOTCHKISS, J.H. The effect of freshpax oxygen absorbing packets on the shelf-life of foods. **Technical Report**. New York: Department of Food Science, Cornell University, 1993. p. 1-7.

ANONYMOUS. Antioxidants – The ultimate answer to oxidation. **Food Technology**, n. 40, p. 94-102, 1986.

BERENZON, S.; SAGUY, I.S. Oxygen absorbers for extension of crackers shelf-life, **Lebens. Wiss. U. Technol.**, v. 31, n. 1-5, 1998.

BRODY, A L. What´s active in active packaging. **Food Technology**, v. 55, n. 9, p. 104-106, 2001.

BROODY, A.L.; BUDNY, J.A. Enzymes as active packaging agents. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 174-192.

CARLIN, F.; NGUYEN-THE, C.; SILVA, A.A.; COCHET, C. effects of carbon dioxide on the fate of *Listeria monocytogenes*, of aerobic bacteria and on the development of spoilage in minimally processed fresh endive. **International Journal of Food Microbiology**, v. 32, p. 159-172, 1996.

CHING, T.Y.; KATSUMOTO, K.; CURRENT, S.P.; THEARD, L.P. **US Pat. 5627239**. [S. l.: s. n.], 1997. (nomeada para Chevron Chemical Co. (c)).

CHING, T.Y.; KATSUMOTO, K.; THEARD, L.P.; CURRENT, S.P. **US Pat 5736616**. [S. l.: s. n.], 1998. (nomeada para Chevron Chemical Co (d)).

CHURCH, I.J.; PARSONS, A.L. Modified atmosphere packaging technology: a review. **Journal Science of Food and Agriculture**, v. 67, p. 143-152, 1995.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p.111-142.

DAREX technical information. **Active packaging technology**. [S. l.]: Darex Container Products, W. R. Grace and Co, USA, 1998.

DAVIES, A.R. **Advances in modified atmosphere packaging**. Glasgow: Blackie, 1995. p. 304-320.

DAWSON, P.L. **Active packaging** – Coating and films for extending shelf-life. Disponível em: <www.wmrc.com> artigo disponibilizado em junho 2002. Acesso em: out. 2002.

DAY, B.P.F. **Active packaging of foods**. [S. l.: s. n.], 1998. 23 p. (CCFRA New Technologies Bulletin, 17).

DELDUCA, G.R.; DEYO, A.E.; LUTHRA,V.K.; WU, W.P. **Oxygen scavenger accelerator**. [S. l.: s. n.], nov. 2001. (Patente nº US 6,315,921 B1).

ELLIS, W.O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K.; RAMASWAMY, H.; DOYON, G. Novel techniques for controlling the growth of and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in packaged peanuts. **Food Microbiology**, n. 11, p. 357-368, 1994.

FARBER, J.M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology – A review. **Journal of Food Protection**, v. 54, n. 1, p. 58-70, 1991.

FLOSOS, J.D.; DOCK, L.L.; HAN, J.H. Active packaging technologies and applications. **Food Cosmetics and Drug Packaging**, v. 20, p. 10-17, 1997.

GONTARD, N. Active packaging. In: SOBRAL, P.J.A.; CHUZEL, G. (Eds.). **Workshop sobre biopolímeros**. Pirassununga, SP: FZEA, 1997. p. 23-27.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim do SBCTA**, v. 30, n. 1, p. 3-15, 1995.

GRAF, E. **Oxygen removal**. [S. l.: s. n.], feb. 1994. (Patente nº US 5,284,871).

HAN, J.H. **Active food packaging**. Disponível em junho de 2002: <www.wmrc.com>. Acesso em: out. 2002.

HOTCHKISS, J. Experimental approaches to determining the safety of food packaged in modified atmosphere. **Food Technology**, v. 42, n. 9, p. 55; 60-62; 64, 1988.

HOTCHKISS, J.H. Safety considerations in active packaging. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 238-255.

INGHAM, S.C.; POTTER, N.N. Growth of *Aeromonas hydrophilas* and *Pseudomonas fragi* on mince and surimis made from Atlantic pollock and stored under air or modified atmosphere. **Journal of Food Protection**, n. 51, p. 966-970, 1988.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 4. ed. New York: Chapman e Hall, 1991.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.

LABUZA, T.P. **Active packaging for high quality prepared cuisine**. Minnesota: Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, 1994.

LABUZA, T.P. An introduction to active packaging for foods. **Food Technology**, v. 50, n. 1, p. 68-71, 1996.

LABUZA, T.P. Oxygen scavenger sachets. **Food Research**, v. 32, p. 276-277, 1987.

LABUZA, T.P.; BREENE, W.M. Applications of "active packaging" for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 13, n. 1, p. 1-69, 1989.

LEISTNER, L. **Principles and applications of hurdle technology**. Glasgow: Blackie, 1996. p. 1-21.

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**. [S. l.]: TAPPI PLC, 1998.

MCKEDY, G.E. **Oxygen absorber**. Aug. 2002. (Patente nº US 6,436,872 B2).

MCKEDY, G.E.; IDOL, R.C.; POWERS, T.H. **Oxygen absorbing composition**. jun. 1997. (Patente nº US 5,641,425).

NAKAMURA, H.; HOSHINO, J. Technique for the preservation of food by employment of oxygen absorbers. In: — **Technical information Mitsubishi Gas Chemical Co**. Tokyo: Tokyo Ageless Division, 1983. p. 1-45.

NIELSEN, V.; RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, p. 219-239, 2000.

OGAWA, T.; KUME, T. **Oxygen absorber**, feb. 1998, (Patente nº US 5,721,187).

PASCALL, M.A.; HARTE, B.R.; GIACIN, J.R.; GRAY, J.I. Decreasing lipid oxidation in soybean oil by a UV absorber in the packaging material. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 1116-1119, 1995.

POWERS, E.M.; BERKOWITZ, D. Efficacy of an oxygen scavenger to modified atmosphere and prevent mold growth on meal ready-to-eat pouched bread. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 9, p. 767-771, 1990.

RODGERS, B.D.; COMPTON, L **New polymeric oxygen scavenging system for coextruded packaging structures**. Disponível em: <www.cpchem.com>. Acesso em: out. 2002a.

RODGERS, B.D.; SOLIS, J.A. **Factors affecting the performance of new oxygen scavenging polymer for flexible packaging applications**. Disponível em: <www.cpchem.com>. Acesso em: out. 2002.

ROONEY, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Blackie Academic and Profession, 1995.

SACHAROW, S. How to measure shelf-life in food packaging. **Prepared Foods**, v. 6, n. 155, p. 93-96, 1986.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. [S. l.]: CETEA/ITAL, 2001.

SELMAN, J.D. Time-temperature indicators. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. [S. l.: s. n.], 1995. p. 215-237.

SHIRAZI, A.; CAMERON, A.C. Controlling relative humidity in modified atmosphere packages of tomato fruit. **HortScience**, v. 13, n. 6, p. 565-569, 1992.

SHORTER, A. J. Evaluation of rapid methods for scavenging oxygen in flexible pouches. **Lebens. Wiss, u. Technol.**, n. 15, p. 380-381, 1982.

SMITH, J.P.; HOSHINO, J.; ABE, Y. Interactive packaging involving sachet technology. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. [S. l.: s. n.], 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**, v. 3, p. 315-320, 1986.

SMITH, J.P.; RAMASWAMY, H.S.; SIMPSON, B.K.; Development in food packaging technology, part 2: storage aspects. **Trends os Food Science and Technology**, v. 11, p. 111-118, 1990.

SMITH, J.P.; OORAIKUL, B.; KOERSTEN, W.J.; JACKSON, E. D.; LAWRENCE, R.A. Novel approach to oxygen control in modified atmosphere packaging of bakery products. **Food Microbiol**, n. 3, p. 315-320, 1986.

STROBEL, J.M.; GAGNON, D.R. **Enzymes loaded hydrophilic porous structure for protecting oxygen sensitive products and method for preparing same**. [S. l.: s. n.], 1998. (Patente n° US 5766473).

TAKIGUCHI, A. Changes in free amino acid composition caused by lipid oxidation in pulverized Niboshi (boiled and dried anchovy) during storage. **Fisheries Science**, n. 62, p. 240-245, 1996.

TAOUKIS, P.S.; LABUZA, T.P. Applicability of time-temperature indicators as shelf-life monitors of food products. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 4, p. 783-788, 1989.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. American public health association – APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. 3. ed. Washington: APHA, 1992. 1219 p.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; Van BEEST, M.; KRUIJF de N.; DEBEVERE, J. Development in the active packaging of foods. **Trends in Food Science e Technology**, v. 10, p. 77-86, 1999.

WAGNER, B.F. Getting to know the packaging activists – A comprehensive view of absorbers scavengers, getter and emitters, and their kin for food preservation. **Food & Beverage Packaging Expo & Conference**, San Francisco, California, 1990.

ZAGORY, D.; KADER, A.A. Modified atmosphere packaging for fresh produce. **Food Technology**, v. 42, n. 9, p. 70-77, 1988.

ZAGORY, D. Ethylene-removing packaging. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. [S. l.: s. n.], 1995. p. 38-54.