

MODELAGEM DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM MAMÃO MINIMAMENTE PROCESSADO

Wilmer Edgard Luera Peña¹, Marcela Tassia Pazeto Perim², Salatir Rodrigues Junior¹, Schalana Oliveira dos Reis², Luciano José Quintão Teixeira¹

¹Professor doutor do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CP 16, CEP 29500-000, ES – Brasil (edgard@cca.ufes.br)

²Graduandos do Curso de Engenharia de Alimentos, CCA/UFES

Data de recebimento: 02/05/2011 - Data de aprovação: 31/05/2011

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi modelar o efeito antimicrobiano de uma solução conservadora composta por ácido cítrico (0 a 0,7%), ácido ascórbico (0 a 1,5%), cloreto de cálcio (0 a 1%), e tempo de estocagem a 10°C (0 a 14 dias), em mamão minimamente processado com revestimento comestível de amido de mandioca. A variável resposta foi a contagem total de micro-organismos mesófilos. Foi usado como planejamento um desenho composto central e os dados experimentais foram ajustados a um polinômio de segunda ordem. A análise estatística do modelo quadrático mostrou que a contagem microbiana aumentou com o aumento do tempo de estocagem, e diminuição das concentrações do ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. O modelo implementado teve um $R^2 = 0,88$. Fator bias e fator exatidão foram 1,004 e 1,085, respectivamente. Conclui-se então que o modelo quadrático explicou bem os dados experimentais e que a manipulação de mais de um fator pode ser alternativa na prevenção da deterioração microbiana de mamão minimamente processado.

PALAVRAS-CHAVES: modelagem, mamão, revestimento comestível, processamento mínimo.

MICROBIAL MODELING GROWTH IN MINIMALLY PROCESSED PAPAYA

ABSTRACT

The aim of this research was to analyze the effect of a preservation solution composed by citric acid (0 to 0,7%), ascorbic acid (0 to 1,5%) and calcium chloride (0 to 1%), and storage time at 10°C (0 to 14 days) in minimally processed papaya coated with cassava's edible coating. A rotational central composite design was used to modeling the effect of conservative solutions and time of storage as a function of mesophilic microorganisms total count. It was adjusted to a quadratic function to render a response surface. The statistic analysis of this function showed that total count was increased with higher time of storage and lower concentrations of ascorbic acid, citric acid, and calcium chloride. The model has a $R^2 = 0,88$, a bias factor of 1,004 and a accuracy factor of 1,085. It may be concluded that the quadratic model adjusted well to the experimental data, and that prevention of microbial spoilage of papaya treated could be avoided by changes in the concentration of more than one solute in the preservative solution.

KEYWORDS: modeling, papaya, edible coating, minimal processing

INTRODUÇÃO

A produção de frutas pré-cortadas e embaladas e de saladas minimamente processadas causou uma explosão nas vendas e no consumo nos últimos anos. Basicamente, as saladas são compostas de vegetais, como alface e cenoura, e frutas, como melão, melancia e mamão, cortados, higienizados, embalados em recipientes incolores e armazenados sob temperaturas de refrigeração, tornando-se prontos para o consumo (JAY, 2005). A enorme aceitação deste tipo de produto se deve à conveniência, grau de frescor, sabor e aos aspectos nutricionais oferecidos (WANG, 2006). Este tipo de produto pode ser caracterizado como aquele que sofreu alguma alteração em sua condição natural, mas que mantém estado de frescor semelhante aos produtos *in-natura* (ROSA, 2002). No entanto, os cortes e danos mecânicos resultam em aumento das taxas de respiração (SALTVEIT, 1997; HEREDIA, *et al.*, 2009). O estresse causado por essas operações de corte pode levar ao aparecimento de mudanças indesejáveis do produto (VAROQUAUX, P; WILEY, R.C., 1994). A senescência é acelerada e pode haver aparecimento de odores estranhos (WATADA, *et al.* 1990). Por outro lado uma ampla variedade de micro-organismos pode se desenvolver em frutas e hortaliças processadas durante o período de estocagem sob refrigeração ou em temperaturas de abuso, sendo que os principais são os micro-organismos psicrotóxicos e mesófilos patogênicos (MARTH, 1998).

Para avaliar as mudanças microbiológicas em frutas minimamente processadas é necessário conhecer a composição inicial da microbiota predominante. Há várias medidas de controle que podem ser adotadas para evitar problemas de desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis, como o uso de soluções conservadoras. WONG *et al.* (1994) propuseram o uso de uma solução conservadora para vegetais minimamente processados, composta por ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. As principais funções esperadas dessa solução são evitar ou minimizar o escurecimento de tecidos, perda de aroma e de sabor, mudanças na textura, redução na qualidade nutricional, além de reduzir o crescimento microbiano, por suas propriedades antimicrobianas. Por outro lado, estudar os efeitos de vários fatores numa mesma resposta é observar o fenômeno desde um ponto de vista multivariável. Desenhos experimentais como a metodologia de superfície de resposta pode ser de grande ajuda para este propósito (BRUNS, *et al.* 1995; PEÑA & MASSAGUER, 2006).

O objetivo desta pesquisa foi modelar o efeito antimicrobiano de uma solução conservadora composta por ácido cítrico (0 a 0,7%), ácido ascórbico (0 a 1,5%), cloreto de cálcio (0 a 1%) e tempo de estocagem a 10°C (0 a 14 dias) em mamão minimamente processado com revestimento comestível de amido de mandioca.

METODOLOGIA

Obtenção da matéria prima

Os mamões foram adquiridos no mercado local da cidade de Alegre-ES e levados para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas do CCA/UFES. Foram lavados com água para retirar sujidades mais grosseiras, sendo em seguida imersos em soluções de hipoclorito de sódio a 200ppm por cinco minutos para evitar a contaminação durante o processamento.

Processamento

Os mamões foram processados em câmara fria a 12°C seguindo as seguintes etapas: a) descascamento, b) fatiamento em pedaços de 5x2,5 cm, c) desinfecção em solução de cloro de 20 ppm por 20 s, d) imersão em solução conservadora (ácido ascórbico, ácido cítrico, e cloreto de cálcio) por dois min, e) drenagem, f) imersão em solução de amido de mandioca (10% p/v) por dois min, g) secagem a 15°C por 15 min, h) embalagem em bandejas recobertas com filme de polietileno – cerca de 300g de fruta/embalagem, j) estocagem a 10°C.

Planejamento experimental

Foram estudados quatro fatores: ácido ascórbico (0,0, 0,37, 0,75, 1,12 e 1,5%); ácido cítrico (0,0, 0,17, 0,35, 0,52 e 0,7%); cloreto de cálcio (0,0, 0,25, 0,5, 0,75 e 1%) e tempo de estocagem a 10°C (0,0, 3,5, 7,0, 10,5 e 14 dias). O revestimento da fruta foi feito com solução de amido de mandioca 10% (p/v). O planejamento usado foi desenho composto central rotacional (Tabela 1). A variável resposta foi contagem da população microbiana, realizada em meio Agar Padrão para Contagem (PCA) seguindo o procedimento de VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (2001).

Para cada um dos ensaios apresentados na tabela 1, foram feitas as medidas de pH e de concentração de sólidos solúveis, segundo AOAC (1990).

Modelagem

Os dados das contagens da Tabela 1 foram ajustados através de regressão para o modelo da equação 1, a 0,05 de probabilidade, usando o Software Statistica 7.0.

Em que: Y= Log(UFC/g); t = tempo de incubação (dias); AA = ácido ascórbico (%); AC = ácido cítrico (%); CC = cloreto de cálcio (%); b₀...b₁₄ = coeficientes do modelo; ε=erro.

$$Y = b_0 + b_1t + b_2t^2 + b_3AA + b_4AA^2 + b_5AC + b_6AC^2 + b_7CC + b_8CC^2 + b_9t * AA + b_{10}t * AC + b_{11}t * CC + b_{12}AA * CC + b_{13}AA * AC + b_{14}CC * AC + \varepsilon$$

Equação 1

Os fatores bias e exatidão também foram calculados, como descrito por ROSS (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenvolvimento microbiano em mamão minimamente processado

Os resultados das contagens estão apresentados na Tabela 1. Observa-se por esta Tabela que não houve aumento significativo das contagens por um período de até 3,5 dias. TEIXEIRA *et al.* (2001) indicaram que a contagem microbiana do mamão minimamente processado mostrou-se bastante baixa após sete dias de armazenamento a 9°C.

TABELA 1. Desenho composto central para o estudo da contagem de mesófilos em mamão minimamente processado.

AA	AC	CC	t	Log(ufc/g)
0,37	0,17	0,25	3,50	4,5
1,11	0,17	0,25	3,50	3,6
0,37	0,52	0,25	3,50	2,9
1,11	0,52	0,25	3,50	2,8
0,37	0,17	0,75	3,50	4,0
1,11	0,17	0,75	3,50	2,4
0,37	0,52	0,75	3,50	2,8
1,11	0,52	0,75	3,50	1,5
0,37	0,17	0,25	10,50	5,6
1,11	0,17	0,25	10,50	4,5
0,37	0,52	0,25	10,50	5,5
1,11	0,52	0,25	10,50	3,7
0,37	0,17	0,75	10,50	5,6
1,11	0,17	0,75	10,50	4,5
0,37	0,52	0,75	10,50	4,5
1,11	0,52	0,75	10,50	3,8
0,00	0,35	0,50	7,00	6,7
1,50	0,35	0,50	7,00	2,3
0,75	0,00	0,50	7,00	5,2
0,75	0,70	0,50	7,00	4,2
0,75	0,35	0,00	7,00	5,5
0,75	0,35	1,00	7,00	4,6
0,75	0,35	0,50	0,00	2,0
0,75	0,35	0,50	14,00	5,5
0,75	0,35	0,50	7,00	4,8

AA (ácido ascórbico em %); AC (ácido cítrico em %); CC (cloreto de cálcio em %); t(tempo em dias)

Após 10,5 dias de incubação houve um aumento considerável da população microbiana, que atingiu mais de 10^5 UFC/g. Para os pontos estrelas houve um maior ou menor aumento das contagens dependendo dos valores testados.

Estes resultados mostram durante os primeiros dias, a eficiência dos cuidados higiênicos tomados durante a produção, e a ação conservadora da solução sugerida

por WONG *et al.* (1994) bem como da ação positiva do hipoclorito de sódio na desinfecção, conforme o observado por HONG & GROSS (1998) quando trabalharam com tomates minimamente processados, e do efeito conservador da refrigeração para este produto. O'CONNOR-SHAW *et al.* (1994) também observaram que temperaturas maiores que 4°C aumentavam a deterioração e o crescimento microbiano em produtos minimamente processados de melão, mamão e abacaxi. MATTIUZ *et al.* (2003) também observaram aumento da contagem de mesófilos em goiaba minimamente processada ao longo de nove dias de estocagem. Entretanto a acidez elevada do produto conjugado com baixa temperatura (3°C) mantiveram a sanidade do produto. A concentração de sólidos solúveis (°Brix) das a, ostras variou entre 9,8 a 15,2 °Brix. Já o pH variou entre 4,6 a 6,7. Valores parecidos desses parâmetros físico químicos foram reportados por CARVALHO *et al* (1998)

Modelagem

Os dados das contagens de mesófilos totais (Tabela 1) em função dos efeitos principais ácido ascórbico, ácido cítrico, cloreto de cálcio e tempo de estocagem, e suas interações, foram ajustados mediante regressão ao modelo da equação 1. A Tabela 2 apresenta os ajustes dos coeficientes com nível de probabilidade de 0,05.

TABELA 2. Coeficientes do modelo quadrático.

Parâmetro	Coeficientes	p-valor
media	4,746364	0,000082
A. a	-0,716046	0,000452
A. a2	-0,166242	0,009309
A. c	-0,378250	0,001617
A. c2	-0,118098	0,018197
C. c	-0,240072	0,004000
C. c2	-0,027223	0,233956
t	0,835818	0,000332
t2	-0,352480	0,002093
A.a.*A.c	0,061149	0,081779
A.a.*C.c.	-0,039302	0,169659
A.a.*t	-0,041413	0,156546
A.c.*C.c.	-0,037015	0,185610
A.c.*t	0,120720	0,023048
C.c.*t	0,136441	0,018178

Observa-se que todas as variáveis estudadas no nível linear foram significativas ($p < 0,05$). No nível quadrático apenas a concentração de cloreto de cálcio não foi significativo. Em relação às interações, apenas ácido cítrico*tempo e cloreto de cálcio*tempo foram significativas.

O gráfico de Pareto, da Figura 1, apresenta os efeitos padronizados dos diferentes parâmetros do modelo encontrado. Este efeito padronizado foi definido como o coeficiente estimado dividido pelo erro standardizado (*bi/sei*). Qualquer efeito que excedeu a linha vertical ($p = 0,05$) foi considerado significativo. Assim, os seguintes fatores em ordem decrescente de importância tiveram efeito significativo: tempo, A. ascórbico, A. cítrico, tempo², C. cálcio, A. ascorbico², cloreto de

cálcio*tempo, ácido cítrico² e ácido cítrico*tempo. O tempo de estocagem foi o fator com maior impacto na resposta como mostrado pelo gráfico de Pareto.

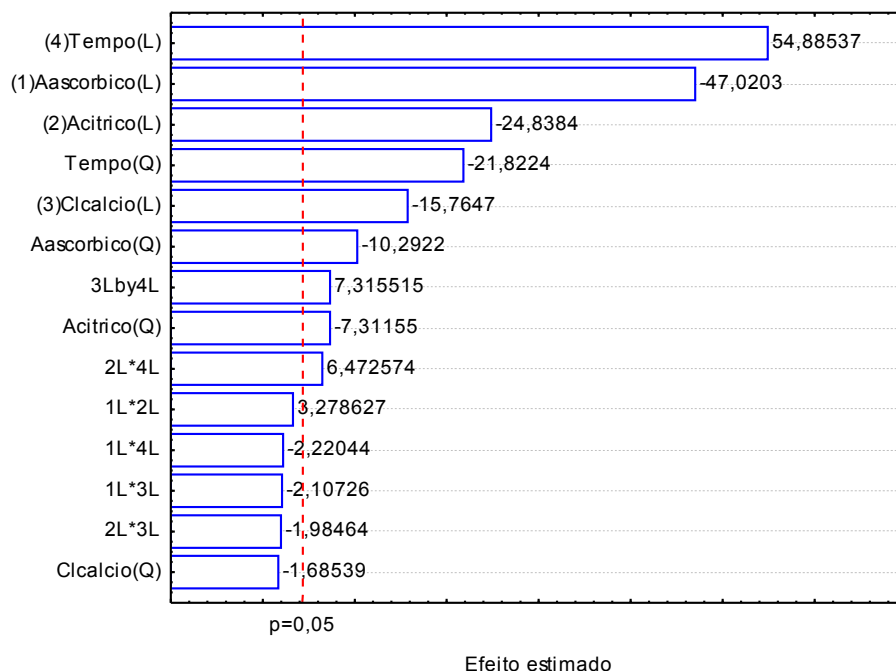


FIGURA 1. Gráfico de Pareto para as variáveis estudadas.

A equação 2 mostra o modelo quadrático encontrado:

$$\begin{aligned} \text{Log}(UFC / g) = & 4,7463 - 0,7160Aa - 0,1662Aa^2 - 0,3782Ac - 0,1181Ac^2 - \\ & - 0,2401Cc + 0,3525t - 0,3524t^2 + 0,1207Ac * t + 0,1364Cc * t \end{aligned} \quad (2)$$

O R² deste modelo foi de 0,88. PENA & MASSAGUER. (2006) também usaram modelo quadrático para estudar o efeito da temperatura, concentração de nisina e concentração de sólidos solúveis no tempo de lag de *Alicyclobacillus acidoterrestris* obtendo R² = 0,816. Os fatores bias e exatidão ficaram em 1,004 e 1,08, respectivamente, mostrando um grau de desvio de apenas 8% das previsões realizada pelo modelo e os valores experimentais, em média (fator exatidão). DELIGNETTE-MULLER *et al.* (1995), estudando 755 casos de predição da literatura, onde 468 usaram modelo polinomial e 287 modelos de raiz quadrada, mostraram que os erros médios foram altos para modelos polinomiais quando usados para modelar o tempo de geração e tempo de adaptação, resultando em média em torno de 25%, e leve tendência para o lado não seguro.

A Figura 2 apresenta a superfície de resposta para contagem microbiana em mamão minimamente processada. Observa-se pela Figura 2 o comportamento quadrático do ácido ascórbico e ácido cítrico, mostrando que as maiores concentrações inibiram o crescimento microbiano.

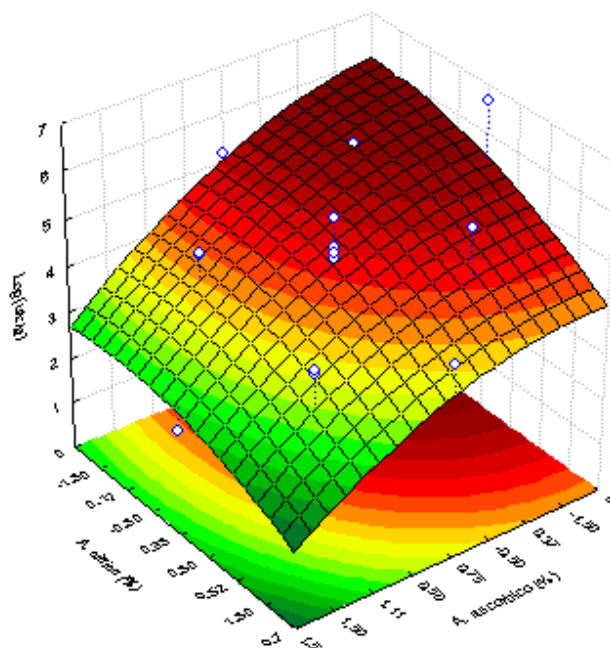


FIGURA 2. Superfície de resposta para contagem de micro-organismos mesófilos em mamão minimamente processado.

CONCLUSÃO

A análise estatística do modelo quadrático mostrou que a contagem microbiana aumentou com o aumento do tempo de estocagem, e diminuição das concentrações do ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. O R^2 de 0,88 e os fatores bias e exatidão do modelo implementado indicaram o bom ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático. Assim, a modelagem matemática é uma boa ferramenta para estudar o efeito de vários fatores em uma mesma resposta e que a manipulação de mais de um fator pode ser alternativa para prevenir a deterioração microbiana de mamão minimamente processado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 12 ed. Washington, DC. 1975. 1094p.

BRUNS, R.E., BARROS NETO, B. AND SCARMINIO, J.S. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. 2 ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 1995. 299p.

CARVALHO, A.V.; DAIUTO, A.R.; LIMA, L.C.O. Qualidade de mamão (Carica papaya) minimamente processado e armazenado em condições refrigeradas. **R. Un. Alfenas, Alfenas**, 4, p.137-140, 1998

DELIGNETTE-MULLER, M.L.; ROSSO, L.; FLANDROIS, J.P. Accuracy of microbial growth predictions with square root and polynomial models. **International Journal of Food Microbiology**. v.27, p.139-146, 1995

HEREDIA J.B.; CISNEROS-ZEVALLOS L. The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on pal activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. **Postharvest Biology and Technology**, v.51, p. 242–249, 2009.

HONG, J. H.; GROSS, K. C. Surface sterilization of whole tomato fruit with sodium hypochlorite influences subsequent postharvest behavior of fresh-cut slices. **Postharvest Biology and Technology**, v.13, n.1, p.51-58, 1998.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**, 6 ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005. 560p.

MARTH, E.H. Extended shelf life refrigerated foods: microbiological quality and safety. **Food Technology**, Chicago, v.52, n.2, p.57-62, 1998.

MATTIUZ, B.; DURIGAN, J.F.; JUNIOR, O.D. Processamento mínimo em goiabas 'paluma' e 'pedro sato'. Avaliação química, sensorial e microbiológica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.409-413, 2003.

O'CONNOR-SHAW, R. E.; ROBERTS, R.; FORD, A. L.; NOTTINGHAM, S. M. Shelf-life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. **Journal of Food Science**, v.59, p.1202-1206, 1994.

PENA, W.E.L.; MASSAGUER, P.R.; Microbial modeling of *Alicyclobacillus acidoterrestris* CRA 7152 growth in orange juice with nisin added. **Journal of Food Protection**, v.6, n.8, p.1904-1912, 2006.

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

ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food Microbiology. **Journal of Applied Bacteriology**, v.81, p.501-508, 1996.

SALTVEIT, M.E.. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In TOMÁS-BARBERÁN, F.A., ROBINS, R.J., **Phytochemistry of Fruit and Vegetables**. Oxford, UK: Oxford University Press, 1997. 392p.

TEIXEIRA, G.H.A.; DURIGAN, J.F.; MATTIUZ, B.; JÚNIOR, O.D.R., Processamento mínimo de mamão formosa, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.47-50, 2001.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**. Washington: American Public Health Association, 2001. 1219p.

VAROQUAUX, P., WILEY, R. C. Biological and biochemical changes in minimally processed fruits and vegetables. In WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall,. p.226-268, 1994.

WANG, C.Y. Chilling injury and browning of fresh-cut fruits and vegetables. In: **Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças**, 4. 2006. WATADA, A.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, v.20, p.116-120, 1990.

WONG, D.W.S.; TILLIN, S.J.; HUDSON, J.S.; PAVLATH, A.E. Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.42, n.10, p.2278-2285, 1994.