

MARCIA JOAQUIM DA SILVA

**ÁGUA OZONIZADA EM SISTEMA COM MICROBOLHA NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE ALFACE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Ernandes Rodrigues de Alencar

Coorientadoras: Lêda Rita D'Antonino Faroni
Solimar Gonçalves Machado

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586a
2023
Silva, Marcia Joaquim da, 1995-
Água ozonizada em sistema com microbolha na qualidade
microbiológica e físico-química de alface / Marcia Joaquim da
Silva. – Viçosa, MG, 2023.

1 dissertação eletrônica (40 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Ernandes Rodrigues de Alencar.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Agrícola, 2023.

Referências bibliográficas: f. 35-40.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.677>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Alface - Efeito do ozônio. 2. Alface - Armazenamento.
3. Alface - Tecnologia pós-colheita. 4. *Lactuca sativa*.
5. Microrganismos - Controle. I. Alencar, Ernandes Rodrigues
de, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Engenharia Agrícola. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 635.5268

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552


MARCIA JOAQUIM DA SILVA

**ÁGUA OZONIZADA EM SISTEMA COM MICROBOLHA NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE ALFACE**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **MARCIA JOAQUIM DA SILVA**
Data: 25/10/2023 19:42:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Marcia Joaquim da Silva
Autora

Documento assinado digitalmente
 **ERNADES RODRIGUES DE ALENCAR**
Data: 30/10/2023 04:53:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ernandes Rodrigues de Alencar
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e por ter me dado força para realizar este trabalho, e ser presença constante na minha vida.

A minha tia e os meus pais, pelo amor, carinho e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu amado marido, pelo companheirismo, por sempre me querer o bem e me erguer quando minhas forças não eram suficientes. Suas palavras e conselhos foram essenciais para que eu me mantivesse de pé.

Ao professor, Ernandes Rodrigues de Alencar, pela orientação desse trabalho.

À Carollayne Gonçalves-Magalhães, pela companhia e importante colaboração para o desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realizar meu curso e crescimento profissional.

Ao Marcus Vinícius de Assis Silva e Handina da Graça Lurdes Langa Massango por todo apoio e colaboração.

A Daniele Almeida Teixeira, Emanuel Henrique Fialho Ferreira e Allyfe Henrique Ribeiro Martins da Iniciação Científica pelo apoio.

O meu especial reconhecimento e a minha gratidão a todos que, direta ou indiretamente, deram a sua contribuição para a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

“Nem sempre o nosso melhor momento acontece na nossa melhor fase, aquilo que você sempre sonhou não vai acontecer num dia bom, a vida não respeita regras, entender que a felicidade está no caminho e não no final, então não esqueça de aproveitar o caminho...”

Kell Smith.

RESUMO

SILVA, Marcia Joaquim da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Água ozonizada em sistema com microbolha na qualidade microbiológica e físico-química de alface**. Orientador: Ernandes Rodrigues de Alencar. Coorientadoras: Lêda Rita D'Antonino Faroni e Solimar Gonçalves Machado.

A ozonização tem sido estudada na conservação de produtos agrícolas. O ozônio pode ser aplicado na forma gasosa ou como água ozonizada. Este trabalho teve como objetivo determinar a qualidade microbiológica e físico-química da alface tratada com água ozonizada obtida em sistema com microbolhas durante o armazenamento. O trabalho foi dividido em duas etapas. A primeira etapa correspondeu ao experimento 1, composto por quatro tratamentos: tratamento controle (alface não tratada); exposição ao ozônio por 5 min; exposição do oxigênio por 5 min; e exposição ao sanitizante comercial clorin por 15 min. No Experimento 1, o processo de ozonização da água no sistema de microbolhas e o tratamento das amostras de alface ocorreram simultaneamente. O experimento 2 correspondeu a segunda etapa do trabalho e foi constituído por seis tratamentos: tratamento controle (alface não tratada); exposição ao ozônio por 5 min; exposição ao ozônio por 10 min; exposição ao oxigênio por 5 min; exposição ao oxigênio por 10 min; e exposição ao sanitizante comercial clorin por 15 min. No experimento 2, obteve-se primeiramente a água ozonizada. Em seguida, efetuou-se a imersão das amostras de alface na água ozonizada. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas imediatamente após a ozonização (dia 0) e depois de 3 e 6 dias de armazenamento. Foram analisadas a perda de massa fresca, o teor de sólidos solúveis totais, o pH, a acidez total titulável, a cor, o teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos. Depois dos tratamentos, as alfaces foram armazenadas a 5 °C e umidade relativa de 80%. No experimento 1, apesar de ter sido verificada redução na contagem de mesófilos aeróbios, especialmente imediatamente depois da ozonização, verificou-se alteração expressiva da cor da alface, o que afeta a comercialização do produto. No Experimento 2, verificou-se redução expressiva da carga microbiana nas amostras de alface, com alterações na cor minimizadas. Apesar do aumento expressivo do extravasamento de eletrólitos, principalmente quando se adotou tempo de exposição à água ozonizada de 10 min, considerou-se que as condições adotadas no Experimento 2 favorecem a conservação da alface, sem provocar alterações que tornam o

produto não comercializável. Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que é viável utilizar água ozonizada obtida em sistema com microbolhas na conservação de alface. Entretanto, é adequado obter primeiramente a água ozonizada e, em seguida, efetuar a imersão do produto.

Palavras-chave: Ozônio. *Lactuca sativa* L. Controle de microrganismos. Armazenamento.

ABSTRACT

SILVA, Marcia Joaquim da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023. **Ozonated water in a microbubble system in the microbiological and physicochemical quality of lettuce.** Adviser: Ernandes Rodrigues de Alencar. Co-advisers: Lêda Rita D'Antonino Faroni and Solimar Gonçalves Machado.

Ozonation has been studied in the conservation of agricultural products. Ozone can be applied in gaseous form or as ozonated water. This work aimed to determine the microbiological and physicochemical quality of lettuce treated with ozonated water obtained in a system with microbubbles during storage. The work was divided into two stages. The first stage corresponded to experiment 1, composed of four treatments: control treatment (untreated lettuce); exposure to ozone for 5 min; oxygen exposure for 5 min; and exposure to the commercial sanitizer chlorin, for 15 min. In Experiment 1, the process of ozonation of water in the microbubble system and the treatment of lettuce samples occurred simultaneously. Experiment 2 corresponded to the second stage of the study and consisted of six treatments: control treatment (untreated lettuce); exposure to ozone for 5 min; exposure to ozone for 10 min; exposure to oxygen for 5 min; exposure to oxygen for 10 min; and exposure to the commercial sanitizer, chlorin, for 15 min. In experiment 2, ozonated water was first obtained. Then, the lettuce samples were immersed in ozonated water. A completely randomized experimental design was adopted. Microbiological and physicochemical analyses were performed immediately after ozonation (day 0) and after 3 and 6 days of storage. Fresh mass loss, total soluble solids content, pH, total titratable acidity, color, chlorophyll content, and electrolyte leakage were analyzed. After the treatments, the lettuces were stored at 5 °C and relative humidity of 80%. In experiment 1, although there was a reduction in the aerobic mesophilic count, especially immediately after ozonation, there was a significant change in the color of the lettuce, which affects the commercialization of the product. In Experiment 2, there was a significant reduction in the microbial load in lettuce samples, with minimized color changes. Despite the significant increase in electrolyte leakage, especially when exposure time to ozonated water of 10 min was adopted, it was considered that the conditions adopted in Experiment 2 favor the conservation of lettuce, without causing changes that make the product non-marketable. The results allowed in the present study allow us to conclude that it is feasible to use ozonated water obtained in a system with microbubbles in the

conservation of lettuce. However, it is appropriate to obtain the ozonated water first and then immerse the product.

Keywords: Ozone. *Lactuca sativa* L. Control of microorganisms. Storage.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1. Obtenção e seleção inicial da alface.....	13
2.2. Obtenção e quantificação do gás ozônio.....	13
2.3. Condições de tratamento das amostras de alface.....	13
2.4. Armazenamento das alfaces após os tratamentos.....	15
2.5. Análises microbiológicas.....	15
2.6. Análises físico-químicas.....	16
2.6.1. Perda de massa fresca.....	16
2.6.2. Sólidos solúveis totais.....	17
2.6.3. pH.....	17
2.6.4. Acidez total titulável.....	17
2.6.5. Cor.....	17
2.6.6. Clorofila.....	18
2.6.7. Extravasamento de eletrólitos.....	18
2.7. Análises estatísticas.....	19
3. RESULTADOS	20
3.1. Experimento 1.....	20
3.1.1. Análises microbiológicas.....	20
3.1.2. Sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável.....	21
3.1.3. Cor.....	22
3.1.4. Teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos.....	23
3.2. Experimento 2.....	25
3.2.1. Análises microbiológicas.....	25
3.2.2. Perda de massa fresca.....	26
3.1.3. Sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável.....	28
3.1.4. Cor.....	29
3.1.5. Teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos.....	30
4. DISCUSSÃO.....	31
5. CONCLUSÕES.....	34
6. REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa pertencente à família Asteraceae, destacando-se como uma das principais hortaliças da alimentação humana, normalmente consumida na forma de salada (MARTINEZ et al., 2016; DAS; BHATTACHARJEE, 2020; HAMEED et al., 2023). As cultivares de alface variam quanto as cores, tamanhos, formatos e grupos. Os principais grupos são divididos entre alface crespa e romana e as folhas podem se apresentar nas cores verde, vermelho, semi-vermelho e roxo (KIM et al., 2016).

Além de ser pouco calórica, a alface também contém nutrientes como cálcio, fósforo, potássio, vitaminas A e K e provitamina A (MARTINEZ et al., 2016; DAS; BHATTACHARJEE, 2020; YANG et al., 2022). As folhas de alface também possuem fitonutrientes e pigmentos fotossintéticos importantes para a nutrição e prevenção de estresse oxidativo, como a clorofila, carotenóides, tocoferóis, flavonóides e ácidos fenólicos (YANG et al., 2022). Os maiores produtores e consumidores de alface são os Estados Unidos e China, seguidos por Espanha, Itália e Brasil (MENDES et al., 2020). No Brasil, a maior produção de alface concentra-se nas regiões Sul e Sudeste, sendo os estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais, os principais produtores dessa hortaliça (DEMARTELAERE et al., 2020; CONAB, 2022).

As folhas de alface são altamente perecíveis, o que implica, em geral, na comercialização próxima a região de produção. Ressalta-se que as seguintes etapas fazem parte do manuseio de hortaliças folhosas: colheita, limpeza e sanitização, embalagem, transporte e comercialização (PALTRINIERI, 2014). No Brasil, é fundamental que o manuseio pós-colheita desta hortaliça seja aprimorado, especialmente em decorrência da demanda dos consumidores por alimentos saudáveis e seguros. Tendo em vista que, o consumo de alimentos frescos pode ser um fator de risco para a transmissão de patógenos transmitidos por alimentos (GIBSON et al. 2019). No que se refere a segurança no cuidado da alface é essencial o controle de microrganismos, sobretudo aqueles classificados como patogênicos.

A sanitização das folhas de alface é uma tarefa fundamental na fase de pós-colheita. Dentre os sanitizantes químicos mais utilizados para o tratamento de alface, estão os produtos comerciais a base de cloro, por serem relativamente baratos e de fácil acesso e manuseio (COELHO et al., 2015). Contudo, os sanitizantes a base de cloro possui como subprodutos os compostos organoclorados, os trihalometanos (THMs) e os ácidos haloacéticos (HAAs),

considerados tóxicos, mutagênicos e cancerígenos aos consumidores (PASCUAL et al., 2007; COELHO et al., 2015).

A ozonização tem sido estudada como método alternativo aos sanitizantes convencionais para o controle de microrganismos em alimentos, inclusive os patogênicos (PANDISELVAM et al., 2020). O ozônio pode ser aplicado em alimentos na forma gasosa ou em meio aquoso (água ozonizada) (SHARMA; DEMIRCI, 2003; OLIVEIRA et al., 2020; PANDISELVAM et al., 2020). Este sanitizante é classificado como um GRAS (*Generally Recognized as Safe*), pelo *United States Department of Agriculture* (USDA), pela capacidade de se converter novamente em oxigênio (O₂) após a aplicação, evitando a presença de resíduos tóxicos nos produtos e no ambiente (DUBEY et al., 2022; PANDISELVAM et al., 2022).

É importante mencionar que diversas variáveis influenciam a concentração do ozônio na água, tais como temperatura, concentração de matéria orgânica e pH (GRAHAM et al., 1997). A inativação de microrganismos utilizando água ozonizada depende diretamente da quantidade de ozônio dissolvido nela. A temperatura da água, além da concentração de ozônio injetada, deve ser observada para que se obtenha quantidade desejada do gás solubilizado. A concentração de ozônio presente na água ozonizada é inversamente proporcional à temperatura dela, bem como é diretamente proporcional à quantidade de gás injetado (USEPA, 1986). A solubilidade do ozônio em água aumenta com a redução da temperatura (KIM et al., 2003). Tem-se ainda que temperatura elevada, hidróxidos e peróxidos aceleram a decomposição do ozônio (COELHO et al., 2015; SILVA et al., 2011).

A utilização da água ozonizada pode ser uma alternativa para controle de microrganismos em alimentos com características similares às da alface. A efetividade do ozônio, já foi comprovada sobre diferentes grupos de microrganismos, tais como bactérias, fungos filamentosos, leveduras e vírus (NATHA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2020; KAAVYA et al., 2021; REZENDE et al., 2022). O potencial do ozônio na sanitização das alfaces, já foi comprovado na redução da incidência de bactéria aeróbios mesófilos e enterobactérias, coliformes totais, coliformes termotolerantes e bolores e leveduras (CAVALCANTE et al., 2015), *E. coli* O157:H7 e *Bacillus subtilis* (SINGH et al., 2002; CAVALCANTE et al. 2014).

Estudos sobre o uso de ozônio na pós-colheita de hortaliças ainda são escassos, especialmente utilizando água ozonizada em sistema com microbolhas. É possível utilizar difusor em sistema convencional ou gerador de microbolhas para obter água ozonizada (RICE et al., 2009). Salienta-se que o tipo de dispositivo utilizado para obter a água ozonizada

influencia diretamente o tamanho das bolhas, sendo que as microbolhas são bolhas que se destacam por apresentarem diâmetro da ordem de dezenas de μm (CHU et al., 2007). É importante mencionar que as características das bolhas estão diretamente relacionadas à área de superfície, e conseqüentemente a transferência de massa de ozônio e a distribuição de espécies reativas de oxigênio (MITANI et al., 2005; PANTEGE et al., 2019).

Diante do exposto, objetivou-se com o presente estudo determinar a qualidade microbiológica e físico-química da alface tratada com água ozonizada obtida em sistema com microbolhas durante o armazenamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Obtenção e seleção inicial da alface

O trabalho foi realizado no Laboratório de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícola, do Departamento de Engenharia Agrícola – DEA, na Universidade Federal de Viçosa Minas Gerais. Utilizou-se alface crespa proveniente de produtor do município de Viçosa, MG. Após a colheita, as alfaces foram transportadas imediatamente para o local de realização dos experimentos. Os pés de alface foram selecionados conforme a uniformidade da cor e tamanho, retirando-se folhas com lesões. Em seguida cada pé de alface foi lavado com água corrente, durante 20 s para retirada de resíduos de solo ou outras sujidades.

2.2. Obtenção e quantificação do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido por um gerador de ozônio, modelo M10® (myOZONE, Jaguariúna, São Paulo, Brazil) com capacidade de produção de 10 g h^{-1} , baseado em descarga de barreira dielétrica-DBD). O oxigênio utilizado no processo de produção do gás ozônio, apresentava pureza de 90% e foi oriundo de um concentrador de oxigênio modelo EverFlo™ OPI 5LPM (Philips Respironics Inc., México). A vazão volumétrica do processo de ozonização foi de $1,0 \text{ L min}^{-1}$, aferida por medidor de vazão modelo MF5700® (Siargo Ltd, Chengdu, Sichuan, China). A quantificação das concentrações de ozônio foi feita pelo método iodométrico de titulação indireta (RAKNESS et al., 1996), de acordo com a International Ozone Association (IOA).

2.3. Condições de tratamento das amostras de alface

Os tratamentos analisados no trabalho foram definidos, baseando-se em resultados de testes preliminares. Na Figura 1 é apresentado os esquemas experimentais adotados na pesquisa. A pesquisa foi dividida em duas etapas. A primeira etapa correspondeu ao experimento 1, composto por quatro tratamentos: tratamento controle (alface não tratada); exposição ao ozônio por 5 min; exposição do oxigênio por 5 min; e exposição ao sanitizante comercial clorin por 15 min (Figura 1). O experimento 2 correspondeu a segunda etapa do trabalho e foi constituído por seis tratamentos: tratamento controle (alface não tratada); exposição ao ozônio por 5 min; exposição ao ozônio por 10 min; exposição ao oxigênio por 5 min; exposição ao oxigênio por 10 min; e exposição ao sanitizante comercial clorin por 15 min (Figura 1).

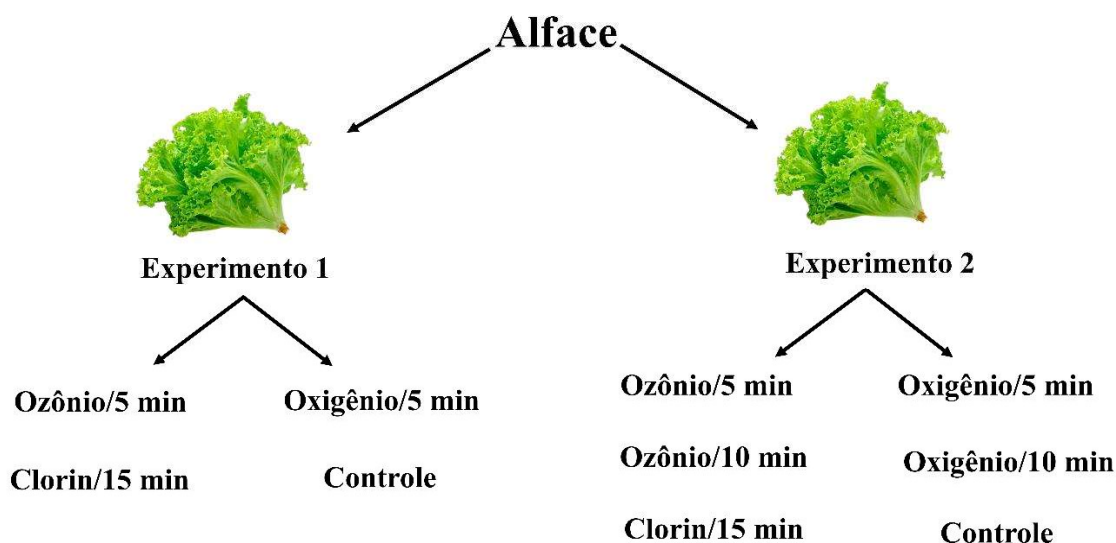


Figura 1. Esquema dos experimentos 1 e 2 da alface.

Para o tratamento das amostras de alface com água ozonizada, com oxigênio e com clorin, utilizou-se um tanque quadrado modelo myOZONE (Jaguariúna, São Paulo, Brazil) com capacidade para 30 L (53,0 cm comprimento x 19,5 cm largura x 26,5 cm altura) (Figura 2). O tanque era preenchido com 15 L de água destilada para o tratamento das hortaliças, realizando-se a imersão de 4 pés de alface por vez. A água do tanque era trocada a cada nova imersão. O ozônio e o oxigênio foram incorporados na água através de um gerador de microbolha modelo MB600® (myOZONE, Jaguariúna, São Paulo, Brasil) (Figura 2). Antes da imersão das hortaliças, o ozônio ou o oxigênio eram injetados na água por 10 min. Após o período de injeção, o sistema de microbolha permaneceu ligado durante o tratamento com ozônio e oxigênio apenas no primeiro experimento. No experimento 1, a concentração de entrada do gás ozônio foi de 20 mg L⁻¹, que permitiu a obtenção de 4,84 mg L⁻¹ de ozônio em água. No experimento 2, a concentração de entrada do gás ozônio foi fixada em 3,5 mg L⁻¹, que permitiu a obtenção de 1,60 mg L⁻¹ de ozônio na água, depois de 18 min. Decorrido esse período, o sistema de ozonização era desligado e efetuava-se a imersão das amostras de alface na água. Para o tratamento com clorin, 7,5 comprimidos do produto comercial foram dissolvidos na água, seguindo as recomendações descritas pelo fabricante, sendo 1 comprimido para cada 2 litros de água, de modo a obter 100 ppm de de cloro ativo. Durante o processo de tratamento com ozônio, oxigênio e clorin, a temperatura da água foi mantida continuamente em 5 °C.

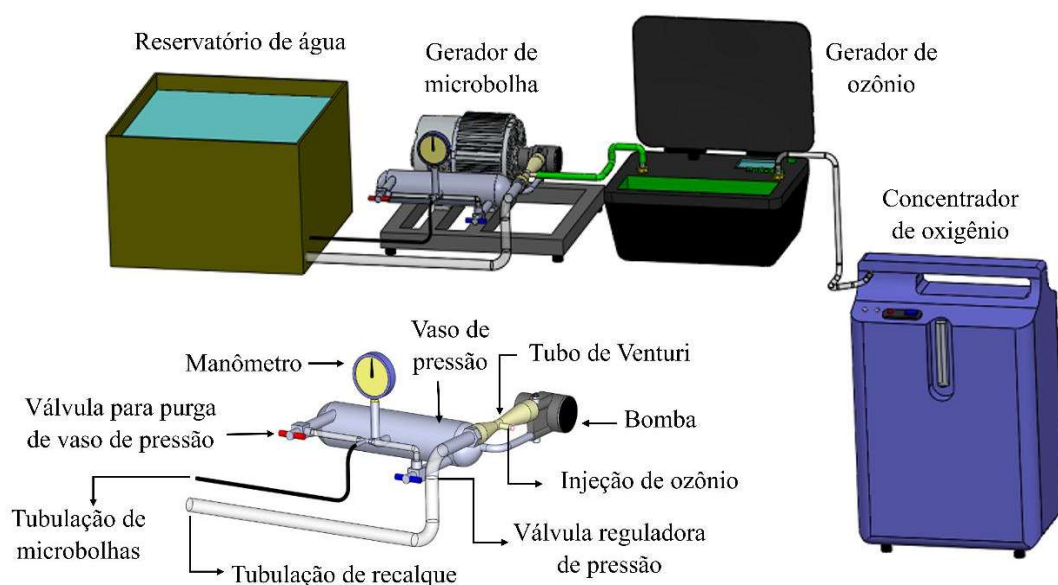


Figura 2. Esquema experimental adotado no tratamento das alfaces, com a disposição dos equipamentos para realização da ozonização da água, com incorporação de ozônio a partir de um gerador de microbolha

2.4. Armazenamento das alfaces após os tratamentos

Após o processo de tratamento das alfaces, as amostras foram alocadas em embalagens de poliestireno (35 cm x 44,5 cm), pesadas e identificadas de acordo com os tratamentos. As amostras foram armazenadas por seis dias em câmara climática tipo BOD, na temperatura de 5 °C e umidade relativa de 80%. as análises microbiológicas e físico-químicas das amostras de alface foram realizadas imediatamente após a ozonização e decorridos de três e seis dias de armazenamento, exceto para a perda de massa fresca, que foi avaliada diariamente no experimento 2.

2.5. Análises microbiológicas

Nas análises microbiológicas, foram determinadas as contagens de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras. Em cada repetição, retirava-se aleatoriamente 10 g de alface, com auxílio de uma forma metálica circular de 5 cm de diâmetro. Os cortes eram realizados na região das folhas contendo as nervuras, dispensando-se os talos. Para a desinfecção das bandejas que acondicionavam os discos foliares de alface e de todos os utensílios metálicos utilizados durante as análises microbiológicas, foi utilizado o álcool 70%. Os discos foliares

eram transferidos para sacos plásticos esterilizados, macerados manualmente e diluídos em 90 mL de solução salina 20% (diluição 10^{-1}), previamente esterilizada para obtenção das diluições posteriores.

No experimento 1, considerou-se as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} e 10^{-5} para mesófilos aeróbios e de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} para bolores e leveduras. No experimento 2, as diluições foram de 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} e 10^{-6} para mesófilos aeróbios totais e de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} para bolores e leveduras. Para contagem de mesófilos aeróbios, utilizou-se meio de cultura Agar Padrão para Contagem (PCA) e os bolores e leveduras, em meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) acidificado com ácido tartárico 10%. O plaqueamento ocorreu em câmara de fluxo laminar vertical modelo PCR FLV-1266/4 (Filterflux, Piracicaba, São Paulo, Brasil). As placas para mesófilos foram incubadas por 48 h a 35 °C e as placas de bolores e leveduras por 120 h a 25 °C. Os resultados finais foram expressos em log UFC g⁻¹.

2.6. Análises físico-químicas

Na avaliação da qualidade físico-química foram determinados a perda de massa fresca, o teor de sólidos solúveis totais, o pH, a acidez total titulável, a cor, teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos. Para a determinação do teor de sólidos solúveis totais, do pH e da acidez total titulável as amostras foram processadas em Mixer-processador de alimentos modelo RI1341 (Philips Walita, China).

2.6.1. Perda de massa fresca

A perda de massa fresca foi determinada considerando-se a diferença entre a massa inicial (M_i) de cada amostra no início do experimento (dia 0) e aos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias de armazenamento (M_f) (Equação 1). A pesagem foi feita a cada dia avaliativo em balança de precisão, modelo BK 8000 (Gehaka, São Paulo, Brasil). Os resultados da perda de massa fresca foram expressos em porcentagem (%).

$$\text{Perda de Massa (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} 100$$

Equação 1.

2.6.2. Sólidos solúveis totais (°Brix)

Para quantificação do teor de sólidos solúveis totais utilizou-se um refratômetro digital modelo Poket Refractometer PAL-3 (Atago, Tóquio, Japão), realizando-se quatro leituras por repetição (IAL, 2008).

2.6.3. pH

O pH foi determinado em pHmetro digital portátil modelo K39-0014PA (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil), em solução contendo 5 g de folha triturada e 50 mL de água destilada (IAL, 2008).

2.6.4. Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada pelo método da potenciometria. Utilizou-se aproximadamente 5,0 g de amostra previamente triturada e homogeneizada em 50 mL de água destilada. Na titulação, utilizou-se solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,1) até o pH da solução atingir 8,2. Os resultados finais expressos em % de ácido cítrico por 100 g de amostra.

2.6.5. Cor

As leituras de cor foram feitas aleatoriamente em quatro pontos da parte abaxial das folhas, na região contendo as nervuras. Para obtenção das coordenadas L^* , a^* e b^* do sistema Hunter, utilizou-se nas leituras o colorímetro digital modelo CR-400 (Konica Minolta, Tóquio, Japão). Conhecendo-se as coordenadas L^* , a^* e b^* , foi possível calcular a diferença de cor (ΔE^*) (Equação 2), tonalidade de cor (h^*) (Equação 3) e saturação de cor (C^*) (Equação 4), de acordo com a Commission International de L'Eclairage (CIE, 2004).

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (\text{Equação 2})$$

$$h^* = \arctang\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Equação 3})$$

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que: L^* = mensurável em termos de intensidade branco a preto; a^* = mensurável em termos de intensidade vermelho e verde; b^* = mensurável em termos de intensidade amarelo e azul; a_0 , b_0 e L_0 correspondem a coordenadas obtidas no tempo 0.

2.6.6. Clorofila

O teor de clorofila (Cl) foi determinado baseado na metodologia descrita por Araújo (2014), com adaptações. Discos de alface com 0,8 mm de diâmetro foram retirados entre as nervuras primárias e secundárias das folhas, até atingirem 0,3 g. Os discos foliares eram transferidos para tubos de vidro contendo 0,5 mL de solução de acetona e água destilada, nas proporções de 80:20 v/v. Os tubos foram incubados em ambiente escuro por 24 h em temperatura ambiente. Após o período de incubação, o material sobrenadante era utilizado nas leituras de absorvância em cubeta de quartzo, adotando-se os comprimentos de onda de 647 nm para a clorofila a e de 664 nm para a clorofila b. O teor de clorofila (Cl) foi determinado por espectrofotometria, em espectrofotômetro modelo Cirrus 80 ST (Femto, São Paulo capital, São Paulo, Brasil). Ao final, realizou-se o cálculo para obtenção dos teores de clorofila e os resultados finais foram expressos inicialmente em mg L^{-1} (Equação 5) e posteriormente em mg g^{-1} (Equação 6).

$$\text{Cl}(\text{mg L}^{-1}) = 17,9 * A_{647} + 8,08 * A_{664,5} \quad (\text{Equação 5})$$

$$\text{Cl}(\text{mg g}^{-1}) = \frac{\text{Cl}(\text{mg L}^{-1}) * 0,05}{\text{massa dos discos}} \quad (\text{Equação 6})$$

2.6.6. Extravasamento de eletrólitos

O extravasamento de eletrólitos (EL) foi determinado seguindo-se metodologia descrita por LIMA et al. (2002). Dez discos foliares de 0,8 mm de diâmetro foram cortados entre as nervuras primárias e secundárias das folhas e transferidos para béqueres contendo 20 mL de água destilada. Os béqueres foram incubados por 6 h à temperatura ambiente. A condutividade elétrica inicial (L1) do líquido de suspensão foi lida em condutivímetro digital modelo mCA150 (TECNOPON). Posteriormente, os béqueres foram vedados com filme PVC (Policloreto de Vinila) e submetidos a aquecimento em banho maria modelo SP-152, na temperatura de 90 °C por 1,0 h. Após o resfriamento em temperatura ambiente por 10 min, foi feita a leitura da condutividade elétrica final (L2). O extravasamento de eletrólitos foi calculado a partir da Equação 7, com os resultados expressos em porcentagem.

$$El = \frac{L1}{L2} * 100 \quad (\text{Equação 7})$$

Em que EL% corresponde ao percentual de extravasamento de eletrólitos, L1 corresponde a condutividade elétrica inicial e L2 a condutividade elétrica final.

2.7. Análises estatísticas

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições para o experimento 1 e três repetições para o experimento 2. O experimento 1 foi feito em esquema fatorial 4 x 3 (quatro tratamentos x três tempos de armazenamento). O experimento 2 foi realizado em esquema fatorial 6 x 3 (seis tratamentos x três tempos de armazenamento), exceto para a variável perda de massa fresca, em que foram realizadas pesagens diariamente, considerando-se seis tempos de armazenamento. Inicialmente realizou-se análise de variância, e posteriormente teste de Tukey. No teste de Tukey adotou-se o nível de significância de 5%, utilizando-se o software Sisvar 5.6.

3. RESULTADOS

3.1 Experimento 1

3.1.1 Análises microbiológicas

Obteve-se variação significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre tratamento e período de armazenamento para a contagem de mesófilos aeróbio e de bolores e leveduras. Os valores médios referentes às contagens de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras são apresentados na Tabela 1. No que tange ao mesófilos aeróbios, destaca-se a diferença verificada no início do armazenamento (dia 0), quando se comparou o tratamento controle ($6,57 \pm 0,49 \log \text{ UFC g}^{-1}$) com o tratamento com água ozonizada por 5 min ($5,23 \pm 0,51 \log \text{ UFC g}^{-1}$). Dessa forma, obteve-se redução na contagem de mesófilos aeróbios de aproximadamente 1,4 ciclos log. Por outro lado, a exposição ao clorin por 15 min não ocasionou redução significativa ($p > 0,05$) na contagem de mesófilos aeróbios imediatamente depois do tratamento, quando se comparou com o controle. Deve-se destacar, entretanto, que as contagens de mesófilos aeróbios permaneceram inferiores $5,80 \log \text{ UFC g}^{-1}$, no tratamento com clorin, durante o período de armazenamento. Por outro lado, verificou-se contagem de mesófilos aeróbios de $6,57 \pm 0,60 \log \text{ UFC g}^{-1}$, no sexto dia de armazenamento, nas amostras tratadas com água ozonizada por 5 min.

No que se refere à contagem de bolores e leveduras, o tratamento com água ozonizada ocasionou redução significativa ($p > 0,05$), no que se refere ao controle desse grupo de microrganismos (Tabela 1), com reduções inferiores a 1,0 ciclo log, em comparação com o tratamento controle.

Tabela 1. Contagem de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras totais em alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Mesófilos aeróbios totais (log UFC g ⁻¹)		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	6,57 ± 0,49 Aa	6,50 ± 0,37 ABa	6,85 ± 0,43 Aa
Ozônio/5 min	5,23 ± 0,51 Bb	5,66 ± 0,34 Bab	6,57 ± 0,60 ABa
Oxigênio/5 min	5,94 ± 0,33 ABa	6,79 ± 0,48 Aa	6,67 ± 0,28 ABa
Clorin/15 min	5,79 ± 0,24 Aab	5,72 ± 0,98 Ba	5,75 ± 0,90 Ba
Tratamentos	Bolores e leveduras totais (log UFC g ⁻¹)		
Controle	4,75 ± 0,45 Aa	4,26 ± 0,59 Aa	4,22 ± 0,60 Aa
Ozônio/5 min	3,90 ± 0,06 Aa	4,04 ± 1,14 Aa	3,52 ± 0,00 Ab
Oxigênio/5 min	4,02 ± 0,13 Aa	4,34 ± 0,79 Aa	3,62 ± 0,16 Aa
Clorin/15 min	4,02 ± 0,00 Aab	4,62 ± 0,00 Aa	3,56 ± 0,06 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.1.2 Sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável

Verificou-se variação significativa ($p < 0,05$) devido interação entre tratamento e período de armazenamento quando analisadas as variáveis teor de sólidos solúveis totais e pH. São apresentados na Tabela 2 os valores médios para de teor de sólidos solúveis totais (°Brix), pH e acidez total titulável (%) nas amostras de alface tratadas ou não com água ozonizadas. Com relação ao teor de sólidos solúveis totais, em geral, os maiores valores foram observados nas amostras dos tratamentos controle e com oxigênio por 5 min. Salienta-se que no controle foi observada redução do teor de sólidos solúveis totais ao longo do armazenamento. Quanto ao pH, em geral, houve elevação do valor médio no terceiro dia de armazenamento, com posterior redução, exceto para o tratamento com clorin. No tratamento com clorin, não foi observada variação significativa ($p > 0,05$) durante o armazenamento. No que se refere à acidez titulável, não foi verificada diferenças significativas em nenhum dos tratamentos durante o armazenamento, com os valores médios permanecendo entre 0,07% e 0,09%.

Tabela 2. Sólidos solúveis totais, potencial hidrogeniônico e acidez total titulável de alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)		
Controle	5,34 ± 0,23 Aa	4,55 ± 0,55 Ab	4,44 ± 0,42 Ab
Ozônio/5 min	3,79 ± 0,13 Ba	3,93 ± 0,19 Ba	3,50 ± 0,17 Ba
Oxigênio/5 min	3,77 ± 0,09 Ba	4,15 ± 0,26 ABa	4,01 ± 0,37 ABa
Clorin/15 min	3,86 ± 0,08 Ba	3,73 ± 0,38 Ba	3,85 ± 0,37 Ba
Tratamentos	pH		
Controle	5,90 ± 0,00 Ab	6,08 ± 0,11 Aa	5,95 ± 0,12 Ab
Ozônio/5 min	5,85 ± 0,04 Ab	6,08 ± 0,06 Aa	5,88 ± 0,02 Ab
Oxigênio/5 min	5,87 ± 0,03 Ab	6,05 ± 0,07 Aa	5,91 ± 0,06 Ab
Clorin/15 min	5,93 ± 0,02 Aa	6,02 ± 0,08 Aa	5,93 ± 0,02 Aa
Tratamentos	Acidez total titulável (%)		
Controle	0,09 ± 0,02 Aa	0,08 ± 0,02 Aa	0,09 ± 0,02 Aa
Ozônio/5 min	0,09 ± 0,00 Aa	0,08 ± 0,02 Aa	0,08 ± 0,02 Aa
Oxigênio/5 min	0,08 ± 0,01 Aa	0,07 ± 0,01 Aa	0,09 ± 0,01 Aa
Clorin/15 min	0,08 ± 0,01 Aa	0,07 ± 0,01 Aa	0,08 ± 0,01 Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.1.3 Cor

Verificou-se variação significativa da diferença de cor (Dif*), tonalidade de cor (h*) e saturação de cor (C*) das alfaces em decorrência da interação entre tratamento e período de armazenamento (Tabela 3). No que se refere a diferença de cor, destaca-se que os menores valores foram obtidos nas amostras expostas ao oxigênio 5 min e clorin por 15 min, imediatamente depois da ozonização (tempo zero) e após três dias de armazenamento. Quanto a tonalidade de cor, apesar de ter sido observada variação significativa, as diferenças, inclusive durante o armazenamento, não foram consideradas expressivas. Com relação a saturação, de cor, destaca-se o menor valor médio obtido nas amostras tratadas com água ozonizada por 5 min ($15,63 \pm 2,27$) no terceiro dia de armazenamento, sendo inferior aos valores obtidos nos demais tratamentos. É importante mencionar que foi observado visualmente alteração na cor das amostras de alface expostas ao ozônio no Experimento 1.

Verificou-se escurecimento da alface ozonizada, especialmente no terceiro e no sexto dia de armazenamento. Essa alteração de cor certamente inviabiliza a comercialização do produto.

Tabela 3. Diferença de cor, tonalidade de cor e saturação de cor de alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Diferença de cor (Dif*)		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	4,18 ± 5,05 Ab	9,58 ± 8,06 ABa	9,37 ± 8,97 Aa
Ozônio/5 min	6,07 ± 2,14 Aa	9,98 ± 3,45 Aa	7,69 ± 1,13 Aa
Oxigênio/5 min	4,20 ± 0,39 Ab	6,34 ± 1,86 ABab	9,42 ± 1,73 Aa
Clorin/15 min	4,50 ± 4,72 Aa	4,84 ± 4,97 Ba	7,97 ± 10,27 Aa
Tratamentos	Tonalidade de cor (h*)		
Controle	122,70 ± 0,19 Aab	122,94 ± 0,37 Aa	121,91 ± 0,90 Ab
Ozônio/5 min	121,78 ± 0,32 Aa	121,37 ± 0,37 Ba	121,91 ± 0,90 Aa
Oxigênio/5 min	121,98 ± 0,24 Aa	122,40 ± 0,17 ABa	122,67 ± 0,68 Aa
Clorin/15 min	122,14 ± 0,41 Aa	121,92 ± 0,81 ABa	122,02 ± 0,73 Aa
Tratamentos	Saturação de cor (C*)		
Controle	22,14 ± 0,94 Aa	19,68 ± 1,86 Aab	18,93 ± 2,55 Ab
Ozônio/5 min	20,91 ± 0,35 Aa	15,63 ± 2,27 Bb	18,93 ± 2,55 Aa
Oxigênio/5 min	22,13 ± 0,96 Aa	20,07 ± 0,60 Aa	17,02 ± 0,71 Ab
Clorin/15 min	23,51 ± 0,58 Aa	21,69 ± 1,28Aab	20,08 ± 2,96 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.1.4 Teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios do teor de clorofila foliar (mg g^{-1}) e extravasamento de eletrólitos (%). Foram verificados efeitos significativos devido a interação entre tratamento e período de armazenamento para as duas variáveis ($p < 0,05$). Observou-se redução significativa ($p < 0,05$) do teor de clorofila no terceiro dia, em comparação com o início do armazenamento (tempo 0) em todos os tratamentos exceto no controle. Posteriormente observou-se elevação do teor de clorofila. Quanto ao extravasamento de

eletrólitos, destaca-se o maior valor observado na alface ozonizada por 5 min ($30,91 \pm 7,74\%$) no início de armazenamento, com valores médios permanecendo superiores a 20% no terceiro e no sexto dia. Por outro lado, no controle, obteve-se valor médio inicial igual a $9,44 \pm 0,63\%$, com elevação ao longo do armazenamento. Tendência similar foi observada quando se utilizou clorin por 15 min.

Tabela 4. Teor de clorofila foliar e extravasamento de eletrólitos em alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Teor de clorofila foliar (mg g^{-1})		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	$5,60 \pm 0,09$ Aa	$2,64 \pm 0,50$ Ab	$5,18 \pm 0,20$ Aa
Ozônio/5 min	$5,05 \pm 0,31$ Aa	$1,65 \pm 0,41$ Bb	$5,81 \pm 1,14$ Aa
Oxigênio/5 min	$4,85 \pm 0,31$ Aa	$1,62 \pm 0,49$ Bb	$5,55 \pm 0,35$ Aa
Clorin/15 min	$4,72 \pm 0,07$ Aa	$2,09 \pm 0,49$ ABb	$5,24 \pm 0,30$ Aa
Tratamentos	Extravasamento de eletrólitos (%)		
Controle	$9,44 \pm 0,63$ Bb	$15,79 \pm 2,08$ Aa	$19,04 \pm 0,73$ Aa
Ozônio/5 min	$30,91 \pm 7,74$ Aa	$20,43 \pm 5,93$ Ab	$20,35 \pm 4,02$ Ab
Oxigênio/5 min	$15,51 \pm 0,88$ Ba	$16,88 \pm 1,06$ Aa	$16,85 \pm 1,67$ Aa
Clorin/15 min	$10,63 \pm 1,30$ Bb	$16,23 \pm 2,77$ Aab	$20,64 \pm 3,52$ Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.2 Experimento 2

3.2.1 Análises microbiológicas

Houve variação significativa ($p < 0,05$) na contagem de mesófilos aeróbios na alface em decorrência da interação entre tratamento e período de armazenamento. Tem-se na Tabela 5 os valores médios referentes a contagem de mesófilos aeróbios totais e de bolores e leveduras nas amostras de alface tratadas ou não com água ozonizada e armazenadas por até seis dias, a 5 °C e 80% de umidade relativa. Verificou-se que a água ozonizada ocasionou redução na contagem de mesófilos aeróbios em relação ao controle, sendo equivalentes a 0,71 e 1,59 ciclos log, para tempos de exposição de 5 e 10 min, respectivamente, imediatamente depois dos tratamentos. Por outro lado, o tratamento com clorin por 15 min implicou em redução de 1,41 ciclo log na contagem de mesófilos aeróbios na alface. Salienta-se que a contagem de mesófilos aeróbios na alface ozonizada por 5 min permaneceu inferior a 5,9 log UFC g⁻¹. Todavia, quando adotado tempo de exposição a água ozonizada de 10 min, a contagem de mesófilos aeróbios foi igual a $6,99 \pm 0,80$ log UFC g⁻¹.

No que se refere aos bolores e leveduras, destaca-se contagens inferiores a 2 log UFC g⁻¹ observadas imediatamente depois do tratamento da alface com água ozonizada por 10 min ou com clorin por 15 min (Tabela 5). Entretanto, houve aumento da contagem de bolores e leveduras nas amostras referentes a esses tratamentos ao longo do armazenamento, com valores superiores próximos ou superiores a 4,0 UFC g⁻¹.

Tabela 5. Contagem de mesófilos aeróbios totais e bolores e leveduras totais em alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Mesófilos aeróbios totais (log UFC g ⁻¹)		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	6,37 ± 0,03 Aa	6,29 ± 0,10 Aa	6,47 ± 0,81 ABa
Ozônio/5 min	5,66 ± 0,07 ABa	5,24 ± 0,33 Ba	5,85 ± 0,49 Ba
Ozônio/10 min	4,78 ± 0,00 Bb	5,12 ± 0,66 Bb	6,99 ± 0,80 Aa
Oxigênio/5 min	6,45 ± 0,06 Aa	6,00 ± 0,13 ABa	6,06 ± 0,15 ABa
Oxigênio/10 min	6,00 ± 0,58 Aab	5,33 ± 0,31 ABb	6,16 ± 0,54 ABa
Clorin/15 min	4,96 ± 0,38 Bb	6,26 ± 0,12 Aa	5,89 ± 0,25 Ba
Tratamentos	Bolores e leveduras totais (log UFC g ⁻¹)		
Controle	4,68 ± 0,11	3,64 ± 0,29	4,35 ± 0,33
Ozônio/5 min	3,41 ± 0,00	3,82 ± 0,39	4,12 ± 0,06
Ozônio/10 min	< 2*	4,32 ± 0,56	4,36 ± 0,59
Oxigênio/5 min	5,07 ± 0,38	3,83 ± 0,28	4,48 ± 0,22
Oxigênio/10 min	4,35 ± 0,45	4,37 ± 0,36	3,82 ± 0,53
Clorin/15 min	< 2*	3,96 ± 0,56	4,30 ± 0,00

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, ou minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. * Valores estimados.

3.2.2 Perda de massa fresca

Os percentuais médios para perda de massa fresca são apresentados na Tabela 6. A perda de massa fresca foi avaliada diariamente até seis dias de armazenamento. Os menores valores de perda de massa fresca foram observados nas amostras de alface do tratamento controle, com valor médio igual a $2,01 \pm 0,85\%$ durante seis de armazenamento. Por outro lado, a exposição ao clorin por 15 min acarretou em maior perda de massa durante o armazenamento, com valor médio superior a 7,0%, depois de seis dias de armazenamento. A exposição da alface a água ozonizada por 5 e 10 min implicou em valores médios intermediários, permanecendo inferiores a 4% até o quarto dia de armazenamento.

Tabela 6. Perda de massa fresca em alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Perda de massa fresca (%)					
	Tempo de armazenamento em dias					
	1	2	3	4	5	6
Controle	0,61 ± 0,21 Ba	1,14 ± 0,63 Ba	1,21 ± 0,60 Ba	1,44 ± 0,76 Ca	1,76 ± 0,68 Ca	2,01 ± 0,85 Ca
Ozônio/5 min	2,49 ± 0,89 ABb	3,28 ± 0,93 ABab	3,55 ± 0,89 ABab	3,99 ± 1,10 ABCab	4,23 ± 1,21 ABCab	5,79 ± 3,31 ABa
Ozônio/10 min	2,37 ± 1,07 ABb	2,51 ± 0,49 ABab	3,50 ± 0,91 ABab	3,87 ± 0,78 ABCab	4,43 ± 0,65 ABab	5,03 ± 0,81 ABa
Oxigênio/5 min	2,23 ± 0,76 ABa	2,68 ± 0,91 ABa	3,09 ± 1,07 ABa	3,42 ± 1,15 BCa	3,81 ± 1,23 BCa	4,23 ± 1,30 BCa
Oxigênio/10 min	3,65 ± 2,25 Ab	4,20 ± 2,44 Aab	4,78 ± 2,55 Aab	5,36 ± 2,36 ABab	5,84 ± 2,33 ABab	6,63 ± 2,89 ABa
Clorin/15 min	3,49 ± 0,68 Ac	4,65 ± 1,00 Abc	5,52 ± 1,06 Aabc	6,07 ± 1,39 Aabc	6,72 ± 1,23 Aab	7,37 ± 1,50 Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, ou minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.2.3 Sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável

A análise de variância indicou variação significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre tratamento e período de armazenamento. Todavia, de acordo com o teste de Tukey, não houve diferença significativa entre os tratamentos e ao longo do armazenamento (Tabela 7). Os teor de sólidos solúveis amostras de alface variou entre $3,83 \pm 0,73$ °Brix e $5,46 \pm 0,29$ °Brix. O pH permaneceu entre $5,99 \pm 0,08$ e $6,18 \pm 0,06$. Por outro lado, a acidez total titulável variou entre $0,10 \pm 0,01\%$ e $0,13 \pm 0,03\%$.

Tabela 7. Teor de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável na alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)		
Controle	$4,82 \pm 1,01$ Aa	$4,44 \pm 0,05$ Aa	$3,96 \pm 1,08$ Aa
Ozônio/5 min	$5,01 \pm 0,62$ Aa	$5,46 \pm 0,29$ Aa	$5,30 \pm 0,43$ Aa
Ozônio/10 min	$3,83 \pm 0,73$ Aa	$4,47 \pm 1,36$ Aa	$3,99 \pm 0,88$ Aa
Oxigênio/5 min	$4,79 \pm 0,34$ Aa	$4,54 \pm 0,52$ Aa	$4,88 \pm 0,31$ Aa
Oxigênio/10 min	$5,14 \pm 0,51$ Aa	$5,18 \pm 0,91$ Aa	$4,99 \pm 0,39$ Aa
Clorin/15 min	$4,50 \pm 0,26$ Aa	$4,06 \pm 0,66$ Aa	$4,82 \pm 0,39$ Aa
Tratamentos	pH		
Controle	$6,14 \pm 0,13$ Aa	$6,12 \pm 0,05$ Aa	$6,12 \pm 0,13$ Aa
Ozônio/5 min	$5,99 \pm 0,08$ Aa	$6,18 \pm 0,06$ Aa	$6,07 \pm 0,07$ Aa
Ozônio/10 min	$6,04 \pm 0,02$ Aa	$6,14 \pm 0,15$ Aa	$6,17 \pm 0,04$ Aa
Oxigênio/5 min	$6,08 \pm 0,02$ Aa	$6,04 \pm 0,03$ Aa	$6,08 \pm 0,03$ Aa
Oxigênio/10 min	$6,11 \pm 0,07$ Aa	$6,12 \pm 0,06$ Aa	$6,11 \pm 0,01$ Aa
Clorin/15 min	$6,09 \pm 0,09$ Aa	$6,07 \pm 0,05$ Aa	$6,14 \pm 0,04$ Aa
Tratamentos	Acidez total titulável (%)		
Controle	$0,13 \pm 0,03$ Aa	$0,11 \pm 0,00$ Aa	$0,11 \pm 0,02$ Aa
Ozônio/5 min	$0,12 \pm 0,01$ Aa	$0,11 \pm 0,02$ Aa	$0,11 \pm 0,02$ Aa
Ozônio/10 min	$0,10 \pm 0,01$ Aa	$0,11 \pm 0,02$ Aa	$0,11 \pm 0,02$ Aa
Oxigênio/5 min	$0,11 \pm 0,00$ Aa	$0,12 \pm 0,01$ Aa	$0,11 \pm 0,00$ Aa
Oxigênio/10 min	$0,12 \pm 0,01$ Aa	$0,12 \pm 0,01$ Aa	$0,11 \pm 0,01$ Aa
Clorin/15 min	$0,11 \pm 0,02$ Aa	$0,13 \pm 0,00$ Aa	$0,12 \pm 0,01$ Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, ou minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3.2.4 Cor

De acordo com a análise de variância, houve variação significativa ($p < 0,05$) da diferença de cor, tonalidade de cor e da saturação de cor devido interação entre tratamento e período de armazenamento. Todavia, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos e ao longo do armazenamento quando se analisou a diferença de cor nas alfaces, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Diferença de cor, tonalidade de cor e saturação de cor de alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Diferença de cor (Dif*)		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	6,41 ± 2,13 Aa	9,36 ± 1,76 Aa	6,59 ± 2,73 Aa
Ozônio/5 min	6,50 ± 1,05 Aa	4,99 ± 1,42 Aa	4,63 ± 0,78 Aa
Ozônio/10 min	6,49 ± 2,57 Aa	5,17 ± 0,53 Aa	9,67 ± 4,95 Aa
Oxigênio/5 min	8,81 ± 2,13 Aa	9,53 ± 4,65 Aa	9,71 ± 0,36 Aa
Oxigênio/10 min	6,95 ± 3,26 Aa	7,76 ± 3,78 Aa	6,00 ± 2,95 Aa
Clorin/15 min	10,81 ± 1,86 Aa	8,35 ± 4,09 Aa	6,21 ± 2,62 Aa
Tratamentos	Tonalidade de cor (h*)		
Controle	122,17 ± 0,61 Aa	122,30 ± 0,18 Aa	121,97 ± 1,05 Aa
Ozônio/5 min	123,62 ± 0,82 Aa	122,45 ± 0,45 Aa	121,97 ± 0,63 Aa
Ozônio/10 min	122,81 ± 1,06 Aa	121,40 ± 1,26 Aab	120,84 ± 0,16 Ab
Oxigênio/5 min	122,85 ± 0,62 Aa	122,60 ± 1,81 Aa	122,77 ± 0,82 Aa
Oxigênio/10 min	123,92 ± 0,29 Aa	122,08 ± 0,09 Ab	122,16 ± 0,91 Ab
Clorin/15 min	124,17 ± 1,41 Aa	122,10 ± 0,68 Ab	121,87 ± 0,60 Ab
Tratamentos	Saturação de cor (C*)		
Controle	17,82 ± 1,09 Ca	18,82 ± 1,52 Aa	18,37 ± 2,49 Aa
Ozônio/5 min	18,77 ± 0,32 BCa	20,20 ± 1,36 Aa	18,79 ± 1,68 Aa
Ozônio/10 min	17,01 ± 3,15 Cb	18,70 ± 2,97 Aab	21,64 ± 1,48 Aa
Oxigênio/5 min	23,18 ± 0,92 ABa	19,05 ± 3,61 Aab	17,75 ± 1,93 Ab
Oxigênio/10 min	20,41 ± 1,92 ABCa	18,98 ± 1,10 Aa	19,81 ± 2,74 Aa
Clorin/15 min	24,37 ± 2,18 Aa	20,11 ± 2,07 Ab	21,77 ± 1,82 Aab

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, ou minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

No que se refere à tonalidade de cor, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$), nos diferentes períodos de armazenamento (Tabela 8). Por outro lado, verificou-se tendência de redução na tonalidade de cor nos tratamentos com ozônio por 10 min, oxigênio por 10 min e clorin por 15 min. Quanto à saturação de cor, no início do armazenamento (tempo 0), verificou maior valor no tratamento com clorin por 15 min, sendo estatisticamente igual aos obtidos quando as amostras foram expostas ao oxigênio por 5 e 10 min (Tabela 8). Durante o armazenamento, observou-se tendência de elevação da saturação de cor nas amostras tratados com água ozonizada por 10 min. Todavia, observou-se tendência de redução da tonalidade de cor nas amostras tratadas com oxigênio por 5 min e com clorin por 15 min.

3.2.5 Teor de clorofila e extravasamento de eletrólitos

Houve variação significativa ($p<0,05$), de acordo com análise de variância, quando se analisaram o teor de clorofila e o extravasamento de eletrólitos na alface tratada ou não com água ozonizada, devido a interação entre tratamento e período de exposição. No que tange ao teor de clorofila na alface, destaca-se a tendência de elevação nas amostras referentes aos tratamentos com ozônio e oxigênio por 5 min e clorin por 15 min (Tabela 9). Quanto à comparação entre os tratamentos, ressalta-se o maior valor obtido no início do armazenamento ($4,55 \pm 0,97 \text{ mg g}^{-1}$), na alface tratada com ozônio (água ozonizada) por 10 min. É importante mencionar que esse valor foi estatisticamente igual ($p>0,05$) aos obtidos nos tratamentos controle ($4,29 \pm 0,56 \text{ mg g}^{-1}$) e com oxigênio por 10 min ($4,28 \pm 0,70 \text{ mg g}^{-1}$). Com relação ao extravasamento de eletrólitos na alface, destaca-se o efeito da exposição a água ozonizada por 10 min. Imediatamente depois da ozonização, obteve-se o maior valor médio dentre todos os tratamentos ($60,74 \pm 3,49\%$). Entretanto, observou-se nesse tratamento redução do extravasamento de eletrólitos, decorridos três e seis dias de armazenamento (Tabela 9).

Tabela 9. Teor de clorofila foliar e extravasamento de eletrólitos em alface exposta ou não a água ozonizada e armazenada a 5 °C e 80% de umidade relativa por até seis dias

Tratamentos	Teor de clorofila foliar (mg g ⁻¹)		
	Tempo de armazenamento em dias		
	0	3	6
Controle	4,29 ± 0,56 ABa	4,66 ± 0,52 Aa	4,26 ± 0,62 Aa
Ozônio/5 min	3,15 ± 0,95 BCb	5,06 ± 0,46 Aa	4,01 ± 0,46 Aab
Ozônio/10 min	4,55 ± 0,97 Aa	4,60 ± 0,49 Aa	4,46 ± 0,29 Aa
Oxigênio/5 min	2,53 ± 0,23 Cb	5,01 ± 0,66 Aa	3,90 ± 0,76 Aa
Oxigênio/10 min	4,28 ± 0,70 ABa	5,20 ± 0,09 Aa	4,30 ± 0,34 Aa
Clorin/15 min	3,06 ± 0,44 BCc	5,44 ± 0,10 Aa	4,29 ± 0,39 Ab
Tratamentos	Extravasamento de eletrólitos (%)		
Controle	21,32 ± 1,86 Ba	13,87 ± 1,90 Aa	19,58 ± 4,61 ABa
Ozônio/5 min	12,61 ± 3,35 Ba	12,37 ± 2,40 Aa	11,78 ± 0,58 Ba
Ozônio/10 min	60,74 ± 3,49 Aa	18,01 ± 10,76 Ab	18,38 ± 1,15 ABb
Oxigênio/5 min	14,06 ± 0,59 Ba	17,35 ± 9,35 Aa	14,51 ± 0,73 ABa
Oxigênio/10 min	20,34 ± 3,18 Ba	15,92 ± 2,85 Aa	22,04 ± 5,37 Aa
Clorin/15 min	14,70 ± 2,21 Ba	15,65 ± 5,49 Aa	17,63 ± 1,67 Aba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, ou minúscula na linha, não se diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliou-se a qualidade microbiológica e físico-química de alface tratada ou não com água ozonizada durante o armazenamento. No Experimento 1, o processo de ozonização da água no sistema de microbolhas e o tratamento das amostras de alface ocorreram simultaneamente. Nesse experimento, a concentração de entrada foi de 20 mg L⁻¹, com 4,84 mg L⁻¹ de ozônio na água. Essas condições, apesar de implicar em redução de 1,4 ciclos log, imediatamente depois do tratamento, acarretaram em alterações indesejáveis principalmente escurecimento do produto, evidente durante o armazenamento, além de extravasamento de eletrólitos. Tais alterações inviabilizam a aceitação por partes dos consumidores e, conseqüentemente, a comercialização do produto.

Vale ressaltar, que a presença de microbolhas durante o tratamento em meio aquoso potencializa os efeitos do ozônio, em função do aumento da área de contato (MILLER et al., 2013). Além disso, o tempo de meia vida e a capacidade de oxidação do ozônio é superior em

temperaturas mais baixas, como a adotada no presente estudo (5 °C) (MILLER et al., 2013; ASLAM et al., 2020). Tais conceitos também se aplicam ao oxigênio em sua forma original (O₂), que embora não apresente o mesmo potencial oxidativo do ozônio (2,07 mV), também é considerado um agente oxidante (1,23 mV). Salienta-se que o elevado potencial oxidativo do ozônio contribui para o processo de inativação dos microrganismos. O ozônio inativa os microrganismos a partir da oxidação de constituintes celulares vitais, como membrana e parede celular e elementos do conteúdo celular (KHADRE et al., 2001).

No Experimento 2, obteve-se primeiramente a água ozonizada, adotando-se concentração de entrada do gás de 3,5 mg L⁻¹, com 1,60 mg L⁻¹ de ozônio na água. Em seguida, e depois de desligar o sistema de ozonização da água, efetuou-se o tratamento das amostras de alface. Nessas condições, foi possível redução expressiva na contagem de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras, especialmente logo após o tratamento das amostras de alface com água ozonizada, por 10 min. O tratamento com clorin apresentou resultados similares aos da água ozonizada por 10 min, até 3 dias de armazenamento, no que se refere a contagem de mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras.

Além do resultado satisfatório observado no Experimento 2, no que se refere ao controle de microrganismos, não foram observadas alterações indesejáveis como aquelas verificadas no Experimento 1, considerando-se as diferentes variáveis físico-químicas, como perda de massa, teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e cor. Quando se considerou a perda de massa fresca, a utilização da água ozonizada por até 10 min apresentou resultados satisfatórios, apesar dos menores valores observados no tratamento controle, com perda máxima igual a 2,0%. A exposição à água ozonizada implicou em perda de massa fresca inferior ao do tratamento com clorin, por 15 min, durante o armazenamento.

As hortaliças folhosas são muito mais susceptíveis a perda de água, o que pode ser intensificado pela adoção de combinações inadequada de temperatura e umidade relativa do ar durante o armazenamento (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Perdas de água excessivas acarretam em diminuição da vida de prateleira do produto e elevação no preço do produto para o consumidor (ÁLVARES et al., 2007). A maioria dos produtos de origem vegetal se tornam não comercializável quando a perda de massa permanece na faixa entre 5- 10% do seu peso inicial (ROBINSON et al., 1975; CHITARRA e CHITARRA, 2005). Segundo Paull (1999), a perda de massa permissível para alface é 3,0%, enquanto que Thompson et al. (2008), indicaram valores entre 3,0 e 5,0%. Nesse sentido, o tratamento com água ozonizada implicou em perda de massa fresca na alface inferior a 3,0%, até o segundo dia de

armazenamento. Por outro lado, no tratamento com clorin (15 min), a perda de água na alface foi superior a 5,0% no terceiro dia de armazenamento.

No que se refere à alteração na cor da alface, especialmente como observada no Experimento 1, tem-se que outros autores também obtiveram resultados similares. Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas (2013) afirmaram que concentrações de ozônio gasoso superiores a 2,5 ppm ($\approx 5,4 \mu\text{g L}^{-1}$), associadas a tempo de exposição de até 15 min, implicam em redução da qualidade visual em alface. Esses autores observaram perda da cor verde na alface exposta a concentração de 5 ppm ($\approx 10,7 \mu\text{g L}^{-1}$) de ozônio gasoso e armazenada por cinco dias. De acordo com Ölmez e Akbas (2009), o ozônio, devido ao seu elevado potencial oxidativo, provoca danos no vegetal e, conseqüentemente, favorece a atividade enzimática da fenilalanina amônia liase. Essa enzima é associada ao processo de escurecimento enzimático em vegetais (ZHU et al., 2023). Isso justifica as alterações mais expressivas na cor observadas no Experimento 1.

Os resultados obtidos no presente estudo não possibilitam associar a alteração na cor da alface ao efeito da água ozonizada sobre o teor de clorofila. Salienta-se que o teor de clorofila é utilizado como indicativo do frescor das hortaliças verdes, bem como para definir a sua vida útil (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Alto teor de clorofila total é considerado uma importante variável de qualidade para a alface, pois está associada a cor verde intensa, que influencia a aceitação pelos consumidores (SANTOS et al., 2010).

No que se refere ao efeito do ozônio no extravasamento de eletrólitos, não foram encontrados relatos na literatura para hortaliças folhosas ou outros vegetais. Essa variável é um indicador na avaliação da permeabilidade e integridade da membrana (LUO et al., 2012; AGHDAM e BODBODAK, 2013). Nas condições adotadas no presente estudo, foi verificado que a exposição a água ozonizada pode implicar em aumento do extravasamento de eletrólitos. No Experimento 1, foi verificado aumento expressivo do extravasamento de eletrólitos quando a alface foi tratada com água ozonizada por 5 min. No experimento 2, maior extravasamento de eletrólitos foi observado nas amostras de alface expostas a água ozonizada por 10 min. Por outro lado, quando se adotou tempo de exposição à água ozonizada de 5 min, no Experimento 2, os resultados foram satisfatórios. Isso demonstram que o tempo de exposição é determinante para o extravasamento de eletrólitos em alface ozonizada.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições adotadas no presente estudo permitiram concluir que:

- i) Não é viável o tratamento da alface quando ocorre simultaneamente ao processo de obtenção da ozonização da água em sistema de microbolhas. Nesse tipo de procedimento, apesar de haver redução inicial da carga de microrganismos, tem-se alteração na coloração, que o torna não comercializável, sobretudo pelo escurecimento do produto;
- ii) O tratamento de alface por imersão, depois da obtenção da água ozonizada, no sistema mostrou-se viável. Verificou-se redução da carga de microrganismos, em comparação com o tratamento controle, especialmente nos primeiros dias de armazenamento. Verificou-se aumento do extravasamento de eletrólitos, especialmente quando se adotou tempo de exposição a água ozonizada de 10 min. Todavia, as alterações observadas não impossibilitam a comercialização do produto.

REFERÊNCIAS

- AGHDAM, M. S.; SEVILLANO, L.; FLORES, F. B.; BODBODAK, S. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 160, p. 54–64, 2013.
- ÁLVARES, V. S.; FINGER, F. L.; DE ASANTOS, R. C.; DA SILVA NEGREIROS, J. R.; ; CASALI, V. W. Effect of pre-cooling on the postharvest of parsley leaves. **Journal of Food Agriculture and Environment**, v. 5, n. 2, p. 31, 2007.
- ANDRADE, N. J.; MARTYN, M. Limpeza e sanitizante da indústria de alimentos. **Viçosa, Universidade Federal de Viçosa**. 39p., 1996.
- ARAÚJO, F. F. D. Alterações pós-colheita e resposta ao etileno em frutos de abobrinha Menina Brasileira. **Viçosa, Universidade Federal de Viçosa**. 36-37p., 2014.
- ASLAM, R.; ALAM, M. S.; SAEED, P. A. Sanitization potential of ozone and its role in postharvest quality management of fruits and vegetables. **Food Engineering Reviews**, v. 12, p. 48-67, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09204-0>
- BANWART, G. J. **Basic good microbiology**. Van Mostrando Reinhold, 1989.
- BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 197-201, 2001.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 82-90, 2013.
- BLATCHLEY III, E. R. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.66, n.4, p.361-368, 1994.
- BLATCHLEY III, E. R., XIE, Y. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.67, n.4, p.475-481, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal -DPOA**. Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 18 set. 2003.
- BRASIL. Ministério da saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária -Anvisa**. Resolução RDC-12/01, de 2 de janeiro de 2001. Diário Oficial [da] República Federal do Brasil, Brasília, DF, 10 Jan 2001.
- CAVALCANTE, D. A.; LEITE JUNIOR, B. R. C.; TRIBST, A. A. L.; CRISTIANINI, M. Inativação de *Escherichia coli* O157:H7 e *Bacillus subtilis* por água ozonizada. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.32, p.105-112, 2014.

CAVALCANTE, D. A.; LEITE JUNIOR, B. R. C.; TRIBST, A. A. L.; CRISTIANINI, M. **Vida de prateleira de alface americana tratada com água ozonizada**. *Ciência Rural*, v.45, n.11, 2089–2096, 2015.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. 785p., 2005.

CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Textos acadêmicos. Lavras: UFLA/FAEPE.119p., 2002.

CHU, L. B.; XING, X. H.; YU, A. F.; ZHOU, Y. N.; SUN, X. L.; JURCIK, B. Enhanced ozonation of simulated dyestuff wastewater by microbubbles. *Chemosphere*, v. 68, n. 10, p. 1854-1860, 2007.

CIE (2004). CIE, T. R. Colorimetry (3rd ed.). 552. **Colorimetry (pp. 24–)**. ISBN 3901-906-33-9.

COELHO, C. C. D. S.; FREITAS-SILVA, O.; CAMPOS, R. D. S.; BEZERRA, V. S.; CABRAL, L. Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 19, n. 4, p. 369-375, 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim Hortigranjeiro**. Brasília, v. 8, n. 2. 96 p. 2022.

DAS, R.; BHATTACHARJEE, C. Part 9. Chapter 9 - Lettuce. p. 143-157. *In: JAISWAL, A. K. (Editor). Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*.766 p. 2020.

DEMARTELAERE, A. C. F.; et al. O cultivo hidropônico de alface com água de reuso. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 11, p. 90206-90224, 2020.

DUBEY, P.; SINGH, A.; YOUSUF, O. Ozonation: an evolving disinfectant technology for the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, v. 15, p. 2102-2113, 2022.

DYCHDALA, G. R. - **Chlorine and chlorine compounds**. *In: BLOCH, S. S. (Ed.) Disinfection, sterilization and preservation, 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, p.167-195. 1977.*

FINGER, F. L.; FRANÇA, C. F. M. Fisiologia e tratamentos pós-colheita em produtos hortícolas. *In: Congresso Brasileiro de Olericultura 51, 2011, Viçosa, Anais... Viçosa: ABH, 2011. S5793-S5812.*

GIBSON, K. E.; ALMEIDA, G.; JONES, S. L.; et al. Inactivation of bacteria on fresh produce by batch wash ozone sanitation. *Food Control*, v. 106, 106747, p. 1-8, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106747>.

GRAHAM, D. M. Use of ozone in food processing. *Food Technology*. v. 51, p. 72-75, 1997.

GUERRA, A. D. M.; COSTA, A. C. M.; FERREIRA, J. B. A.; TAVARES, P. R. F.; VIEIRA, T. S.; DE MEDEIROS, A. C. Evaluation of the main causes of post-harvest losses of vegetables sold in Santarém, Pará state. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 12, n. 1, p. 34-40, 2017.

HAMEED, M. K.; UMAR, W.; RAZZAQ, A.; WEI, S.; NIU, Q.; HUANG, D.; CHANG, L. Quantification of total polyphenols, antioxidants, anthocyanins and secondary metabolites by UPLC VION IMS QTOF MS/MS analysis in green and red lettuce cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 315, n. 1, 111994, p. 1-12, 2023.

IAL (2008). 1ª Edição Digital. **Métodos Físico-químicos Para Análise de Alimentos**. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 26 mai 2023.

KAADVYA, R. et al. Emerging non-thermal technologies for decontamination of *Salmonella* in food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 112, p. 400-418, 2021.

KARACA, H.; VELIOGLU, Y. S. Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. **Postharvest Biology and Technology**, v. 88, p. 46-53, 2014.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n.9, p. 1071-1087, 1999.

KIM, J.; YOUSEF, A. E.; KHADRE, M. A. Ozone and its current and future application in the food industry. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 45, p. 167-218, 2003.

KIM, M. J.; MOON, Y.; TOU, J. C.; MOU, B.; WATERLAND, N. L. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 49, p. 19-34, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>.

KOSEKI, S.; ISOBE, S. Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of food protection**, v. 69, n. 1, p. 154-160, 2006.

LAURITA, R.; et al. Effect of plasma activated water (PAW) on rocket leaves decontamination and nutritional value. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 73, p. 102805, 2021.

LEITÃO, M. F. **Controle de sanificação na indústria de alimentos**. ITAL, 1976.

LIMA, A.L.S.; DAMATTA, F.M.; PINHEIRO, H. A.; TOTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.47, p.239-247. 2002.

LUO, Z.; WU, X.; CHEN, C. Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid. **Food Chemistry**, v. 131, p. 456–461, 2012.

MAHAJAN, P. V.; OLIVEIRA, F. A. R.; MACEDO, I. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 281-288, 2008.

MARTINEZ, D. G.; MARTINS, B.; FEIDEN, A. Valor nutricional do cultivo de alface hidropônico. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 5, n. 4, p. 481-489, 2016.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MELLO, J. C.; DIETRICH, R.; MEINERT, E. M.; TEIXEIRA, E.; AMANTE, E. R. Effect of the organic and conventional cultivate in the shelf life of iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.) minimally processed. **Food Science and Technology**, v. 23, p. 418-426, 2003.

MENDES, F. C.; TAVARES, A. T.; ROSA, P. H. L.; REYES, I. D. P.; DA SILVA LOPES, D. A. P.; NASCIMENTO, I. R. Desenvolvimento de cultivares de alface sob casa de vegetação em condição climática tropical semiúmido. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 2, p. 86-95, 2020.

MERCIER, S. et al. **Optimized cold chain to save food. In Saving Food: Production, Supply Chain, Food Waste and Food Consumption**. 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815357-4.00007-9>.

MILLER, F. A.; SILVA, C. L. M.; BRANDAO, T. R. A Review on Ozone-Based Treatments for Fruit and Vegetables Preservation. **Food Engineering Reviews**, v. 5, p. 77-106, 2013.

MITANI, M. M.; KELLER, A. A.; SANDALL, O. C.; RINKER, R. G. Mass transfer of ozone using a microporous diffuser reactor system. **Ozone: science & Engineering**, 27(1), 45-51, 2005.

NATHA, A.; MUKHIMB, K.; SWERB, T.; DUTTAA, D.; VERMAA, N.; DEKAB, B. C.; GANGWARA, B. A review on application of ozone in the food processing and packaging. **Journal of Food Product Development and Packaging**, v. 1, p. 07-21, 2014.

ODLAUG, T. E., PFLUG., I. J. Sporicidal properties of chlorine compounds: applicability to cooling water for canned foods. **Journal Milk Food Technol.** v.39, n.7, p.493-498, 1976.

OLIVEIRA, J. M. et al. Ozonation of Brazil nuts: Decomposition kinetics, control of *Aspergillus flavus* and the effect on color and on raw oil quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 123, 109106, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109106>.

ÖLMEZ, H; AKBAS, M. Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 487-494, 2009.

PALTRINIERI, G. Handling of fresh fruits, vegetables and root crops: A training manual for grenada. Rome, Italy: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. v.89 p. 2014. Disponível em: <https://www.fao.org/3/au186e/au186e.pdf>. Acesso em: 05 jul 2023.

PANDISELVAM, R. et al. Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods—a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 38-54, 2020.

PANDISELVAM, R. et al. A comprehensive review of impacts of ozone treatment on textural properties in different food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 127, p. 74-86, 2022.

- PASCUAL, A.; LLORCA, I.; CANUT, A. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. **Trends Food Science & Technology**, v.18, p. S29–S35, 2007.
- PATANGE, A.; LU, P.; BOEHM, D.; CULLEN, P. J.; BOURKE, P. Efficacy of cold plasma functionalized water for improving microbiological safety of fresh produce and wash water recycling. **Food Microbiology**. v. 84, 2019.
- PATHAR, P. B.; OPARA, U.; AL-SAID, F. A. J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and bioprocess technology**, v. 6, p. 36-60, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>.
- PAULL, R. Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. **Postharvest biology and technology**, v.15, n.3, p.263-277, 1999.
- RAKNESS, K. et al. Guideline for measurement of ozone concentration in the process gas from an ozone generator. **Ozone: Science & Engineering**, 18 :3, 209-229, 1996.
- REZENDE, A. J.; ALENCAR, E. R.; FERREIRA, M. D. A.; FERREIRA, W. F. D. S. Control of *Listeria monocytogenes* in refrigerated ozonated water. **Ozone: Science & Engineering**, v. 44, n. 3, p. 1-10, 2022.
- RICE, R. G; DEBRUM, M.; HOOK, J.; CARDIS, D.; TAPP, C. Microbiological Benefits of Ozone in Laundering Systems. **Ozone: Science & Engineering**, v. 31, n. 5, p. 357-368, 2009
- ROBINSON, J. E.; BROWNE, K. M.; et al. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. **Annals of Applied Biology**, v. 81, n. 3, p. 399-408, 1975. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1975.tb01656.x>.
- RUIZ-GARCIA, L.; LUNADEI, L. The role of RFID in agriculture: applications, limitations and challenges. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 79, n. 1, p. 42-50, 2011.
- SANTOS, C. M. G; BRAGA, C. L.; et al. Qualidade de alface comercializada no município de Botucatu-SP. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, p. 67-74, 2010.
- SCHULZ, C. R.; BELLAMY, W. D. The role of mixing in ozone dissolution systems. **Ozone: science & engineering**, v. 22, n. 4, p. 329-350, 2000.
- SHARMA, R. R.; DEMIRCI, A.; et al. Application of ozone for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa sprouts 1. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 27, n. 1, p. 51-64, 2003. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2003.tb00500.x>.
- SILVA, E. M. N. P. C.; FERREIRA, R. L. F.; et al. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, 2011.
- SILVA, S. B.; LUVIELMO, M. M.; et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v.32, p.659-682, 2011. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p659>.
- SINGH, N.; SINGH, R. K.; et al. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and baby carrots. **Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie - LWT**, v.35, p.720-729, 2002.

SOARES, E. F. **Eficácia microbiana e parasitária de sanitizantes à base de cloro e ácido acético em alface (*Lactuca Sativa* L.)**. 2019.

SPAGNOL, W. A.; SILVEIRA JUNIOR, V.; et al. Redução de perdas nas cadeias de frutas e hortaliças pela análise da vida útil dinâmica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1-10, 2018.

THOMPSON, J. F.; MITCHELL, F. G.; RUMSAY, T. R. **Commercial cooling of fruits, vegetables, and flowers**. UCANR Publications, 2008.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Design manual: municipal wastewater disinfection. **Cincinnati, OH**. EPA-625/1-86/021. 1986.

YANG, X.; GIL, M. I.; et al. Bioactive compounds in lettuce: highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 4-45, 2022. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12877>.

ZHU, B. F., LIU, Y., et al. Characterization of Phenylalanine Ammonia Lyases from Lettuce (*Lactuca sativa* L.) as Robust Biocatalysts for the Production of d-and l-Amino Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.71, n.6, p.2935-2942, 2023.