

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

REVESTIMENTO ATIVO ANTIESCURECIMENTO À BASE DE
PROTEÍNA DO SORO DE LEITE APLICADO EM MAÇÃS
MINIMAMENTE PROCESSADAS

Daniele Pereira do Amaral

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

REVESTIMENTO ATIVO ANTIESCURECIMENTO Á BASE DE
PROTEÍNA DO SORO DE LEITE APLICADO EM MAÇÃS
MINIMAMENTE PROCESSADAS

DANIELE PEREIRA DO AMARAL

Sob a Orientação da Professora
Nathália Ramos de Melo

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de alimentos.

Seropédica, RJ
Março de 2014

664.092

A485r

T

Amaral, Daniele Pereira do, 1984-

Revestimento ativo antiescurecimento à base de proteína do soro de leite aplicado em maçãs minimamente processadas / Daniele Pereira do Amaral. - 2014.

73 f.: il.

Orientador: Nathália Ramos de Melo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Bibliografia: f. 49-59.

1. Frutas - Embalagens - Teses. 2. Frutas - conservação - Teses. 3. Frutas - Processamento - Teses. 4. Produtos do soro de leite - Teses. 5. Antioxidantes - Teses. I. Melo, Nathália Ramos de, 1975-II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DANIELE PEREIRA DO AMARAL

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 12 / 03 / 2014

Nathália Ramos de Melo. Dra. / UFF
(Orientador)

Edwin Elard Garcia Rojas. Dr. / UFF

Eder Dutra Resende. Dr. / UENF

MENSAGEM

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todos os dias, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.

(Paulo Beleki)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente à Deus por ter me permitido alcançar todos os meus sonhos, a minha querida Mãe por lutar junto a mim para alcança-los, a minha Vozinha, pai, orientadora, e familiares, pelo incentivo, carinho e força por toda esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por me carregar em seus braços em toda esta jornada e por me fazer acreditar que era possível, seja nos momentos difíceis ou nos momentos de felicidade, sendo sempre minha fortaleza e meu refúgio.

A Capes pelo apoio financeiro, sem o qual o desenvolvimento do meu trabalho não seria possível.

A UFRRJ por meio do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento pela oportunidade de trabalho.

A Universidade Federal Fluminense (UFF) pela liberação do espaço de trabalho por meio do Laboratório de Análises Agroindustriais (LETA), para o desenvolvimento da minha dissertação.

A minha querida orientadora Nathália Ramos de Melo, que sempre foi muito mais do que minha orientadora, mais sim minha amiga me dando conselhos, puxões de orelha, e me incentivando, sempre com muito carinho e dedicação. Seu carinho e amizade em toda esta jornada me fizeram crescer como profissional e como pessoa, passe o tempo que passar, esteja onde eu estiver você sempre será minha Querida mestre e orientadora, muito obrigado por tudo.

Ao meu querido professor e amigo Bernardo Costa Sá, por toda paciência e dedicação ao me ensinar a desvendar os mistérios da estatística, tornando meu trabalho melhor, além de todos os conselhos profissionais e pessoais, o meu muito obrigada.

Ao professor Edwin Elard Rojas pelos conselhos e ensinamentos e por sempre se colocar à disposição e pela colaboração para realização deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório Jordana Reis Pacheco, Matheus Silva e Alexandre Lemos, pela disponibilidade em me ajudar.

A minha querida e amada mãe Sandra Regina Pereira por toda paciência, compreensão, incentivo, força, dedicação e amor incondicional, estando presente todos os dias da minha vida.

Nunca conseguirei retribuir todo amor que você dedicou e dedica a mim, espero poder ser metade do que você é para mim e meus futuros filhos. Te amo muito.

A minha família, minha vizinha querida Sueli Costa Pereira, ao meu querido Tio Luiz Henrique Pereira, meu irmão Alberto Ferreira do Amaral Junior, cunhada querida Crisley Guimarães Amaral e a minha sobrinha Júlia Amaral, que apesar da distância sempre estiveram ao meu lado nesta caminhada, através de orações, pensamentos, preocupações, e incentivo, vocês são minha fortaleza.

A família que eu escolhi, não imaginaria mais minha vida sem vocês, Maria Socorro Freitas Durigon, Valdemir Lúcio Durigon, Ângelo Lúcio Durigon e Ana Beatriz Durigon, muito obrigado por estarem tão presentes em minha vida, me incentivando e me apoiando nesta jornada, vocês moram em meu coração.

Aos meu amigos e companheiros de laboratório, Elder Campos Simões, Regiane Santos, Clitor Fernandes, Priscila Moura, Joyce Motta, e a todos os estagiários e bolsistas do LETA, por toda ajuda, carinho e paciência, o meu muito obrigada.

Agradeço em especial a Rafaela Mendes, por todo o companheirismo, carinho, dedicação, por sempre estar ao meu lado durante o experimento, mesmo nas madrugadas de trabalho e pela sua amizade, sempre me ajudando incentivando, essa vitória também é sua Rafinha. Muito obrigada.

A minha querida amiga e companheira de mestrado e companheira de casa e trabalho Eliana Gulão, obrigada pela paciência nos momentos difíceis, pelos conselhos, por compartilhar comigo tantos momentos e por me deixar participar da sua vida, não esquecendo das cervejas depois de um dia cansativo de trabalho.

As minhas queridas amigas, Jessica Melo, Joice Lemos e Natalia Ferreira, e aos meus amigos Wilk Sampaio Almeida, Jhonny, Paulo Ricardo Campos e Wilson Junior Lemos, pelo ombro amigo, pelos conselhos ditos, puxões de orelha, brincadeiras, risadas, pelas mensagens de apoio, seja nos momentos bons ou nos ruins, apesar da distância, vocês sempre se fizeram presentes em minha vida. Como diz o cantor: “... amigo é coisa pra se guardar do lado esquerdo do peito...” e é onde os levo, amo muito vocês.

Aos meus amigos do mestrado, em especial a Turma 2012/I por me proporcionar momentos inesquecíveis e por sermos tão unidos, sempre um apoiando ao outro, muito obrigada.

RESUMO

AMARAL, Daniele Pereira. **Revestimento ativo antiescurecimento à base de proteína do soro de leite aplicado em maçãs minimamente processados**. 2014. 73p Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

A busca por materiais que possam ser usados em contato com alimentos com o objetivo de manter a qualidade, estendendo sua validade comercial, além de serem produzidos de forma sustentável e biodegradável é crescente, isso se deve a um mercado consumidor cada vez mais exigente por alimentos de qualidade, seguros e sustentáveis. Sabe-se que as maçãs, ao serem minimamente processadas (MP) apresentam perda de qualidade, diminuição do seu valor nutricional, e sofrem alterações no sabor na cor e perdas econômicas. Isso se deve a uma série de reações metabólicas desencadeadas pelos danos físicos ocasionados no processamento, principalmente no que se refere ao rápido escurecimento fato este causado pela ação das enzimas polifenoloxidasas (PPO), que pode ser inibido ou retardado através da utilização de agentes químicos específicos. O uso de revestimentos ativos que visem manter a qualidade desses produtos, principalmente no que se refere ao manutenção da cor apresenta grande potencial. Materiais como a proteína de soro de leite apresentam grande potencial de uso como revestimento, devido as suas características de formação de gel, além de sua qualidade nutricional. A incorporação de agentes antioxidantes nos revestimento é uma técnica que vem sendo estudada, devido ao seu grande potencial de utilização em diversos alimentos e a melhoria das características destes. O presente trabalho objetivou o desenvolvimento de revestimento ativo a base de proteínas concentradas do soro de leite (WPC) incorporado com agentes antioxidantes (ácido cítrico-AC e ácido ascórbico-AA), sua aplicação em maçãs minimamente processadas e a avaliação do produto durante 7 dias de armazenamento. Foi constatado através da análise de superfície resposta, que as amostras mais eficientes aos parâmetros de umidade, atividade água, perda de massa, textura, cor, e microbiologia foram as que apresentavam 3,0% AC+ 2,0% AA (T4) e 1,5% AC+ 1,0% AA (T6), sendo estes tratamentos e o T3 (revestimento sem incorporação de ácidos) comparados com amostras controle e zero (maçãs processadas no momento da análise). Os resultados mostraram que para os parâmetros índice de escurecimento, Chroma, umidade os tratamentos T4 e T6 não possuem diferença significativa quanto a amostra zero, sendo está o ideal de maçã. No entanto para análise de textura essas amostras diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, o que se pode sugerir que a presença destes ácidos interferiu na textura destas. Na análise microbiológica, foi constatada que a amostra T4 apresentou eficiência no controle de fungos filamentosos e leveduras, e também no controle de mesófilos. Para coliformes 45° e 35° as contagens microbianas observadas nos tratamentos foi abaixo do permitido pela legislação, o que sugere eficiência no processamento das maçãs e ótima qualidade higiênico sanitária das mesmas. É perceptível que o revestimento ativo a base de WPC incorporado com AC e AA, possuem grande potencial de utilização na indústria, para satisfazer o mercado consumidor, no que se refere a sua aplicação em produtos MP, facilitando assim a vida do consumidor. Pode-se concluir que os tratamentos que apresentam melhor eficiência no manutenção da cor e das características avaliadas são os tratamentos T4 e T6.

Palavras-chave: Embalagem ativa, frutas, escurecimento, filmes, polifenoloxidase, antioxidante.

ABSTRACT

AMARAL, Daniele Pereira. Antibrowning active coating based on whey protein used in minimally processed apples. 2014. 70p Dissertation (MSc in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014

The search for materials that can be used in contact with food in order to maintain quality, extending its commercial validity, and are sustainably produced and biodegradable form is growing, it is due to a consumer market increasingly demanding for food quality, safe and sustainable. It is known that the apples to be minimally processed (MP) showed loss of quality, decrease of nutritional value and undergo changes in color and flavor economic losses. This is due to a number of metabolic reactions triggered by injury caused in processing, especially with regard to rapid browning caused by the fact that the action of the enzyme polyphenol oxidase (PPO), which can be inhibited or retarded by use of specific chemicals. The use of active coatings that aim to maintain the quality of these products, especially with regard to maintenance of color has great potential. Materials such as whey protein have great potential for use as a coating, due to its characteristics of gel formation, in addition to its nutritional quality. The incorporation of antioxidants in the coating is a technique that has been studied, due to its great potential for use in various foods and improvement of these characteristics. This study aimed to develop active coating base concentrated whey protein (WPC) incorporated with antioxidants (citric acid and ascorbic acid -AC - AA), its application in minimally processed apples and product evaluation for 7 days storage. It has been found through analysis of surface response, the most effective samples to the parameters of moisture, water activity, loss of weight, texture, color, and microbiology ones had 3.0% + 2.0% AC AA (T4) and AC 1.5% + 1.0% AA (T6), and these treatments and T3 (coating without addition of acids) compared with control samples and zero (apples processed at the time of analysis). The results showed that for the parameters browning index, Chroma, humidity T4 and T6 treatments have no significant difference in the zero sample, and is the ideal apple. However for texture analysis these samples differed significantly from the other treatments, which may suggest that the presence of these acids interfered with the texture of these. The microbiological analysis, we found that the T4 sample showed efficient control of filamentous fungi and yeasts, and also in control of mesophilic. Coliforms to 45 ° and 35 ° microbial counts observed in the treatments was below those permitted by law, suggesting efficiency in the processing of apples and great quality sanitary toilet thereof. It is noticeable that the active coating base WPC incorporated with AC and AA have great potential for use in industry to satisfy the consumer market as regards their application in products MP, thus facilitating the consumer. Can conclude that treatments that have better efficiency in maintenance of color and characteristics examined are the T4 and T6.

Key-words: minimally processed fruits, active packaging, whey (WPC), and active agents.

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

AA	cido ascórbico
Aa	atividade de gua
AC	cido cítrico
a*	variação de cor de verde a vermelho
b*	variação de cor de azul a amarelo
PPO	polifenoloxidase
MAP	embalagem de atmosfera modificada
WPC	proteína concentrada de soro de leite
WPI	proteína isolada de soro de leite
MP	minimamente processado
IE	ndice de escurecimento
H ou <i>hu</i>	tonalidade
TCD	diferença total de cor
SS	sólidos solúveis
UFC	unidade formadora de colnia
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
NMP	número mais provável
Text	Textura

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
FIGURA 1: Fruta Maçã variedade Fuji	3
FIGURA 2: Gráfico de comercialização de maçã Fuji na CEAGESP	5
FIGURA 3: Ação dos agentes redutores sobre os precursores dos pigmentos (quinonas), que dão início ao escurecimento enzimático	10
FIGURA 4: Homogeneização da solução filmogênica (revestimento) de WPC.	16
FIGURA 5: Imagem da amostra de maçã minimamente processada utilizada no experimento.	18
FIGURA 6: Fluxograma de preparo das amostras – Processamento mínimo e aplicação de Revestimento.	18
FIGURA 7: Corresponde ao sistema de coordenadas CIE L* a* e b*	20
FIGURA 8: Representação de um texturograma obtido pelo teste de compressão.	21
FIGURA 9: Fotos dos tratamentos selecionados, onde A: tratamento controle (sem revestimento) ao longo do tempo de armazenamento; B: tratamento T3 (0,0% AC + 0,0% AA); C: tratamento T4 (3,0% AC + 2,0% AA); D: tratamento T6 (1,5% AC + 1,0% AA).	29

LISTA DE TABELAS

	PÁGINA
TABELA 1: Classificação Botânica da macieira	2
TABELA 2: Quadro de suprimentos de maçã no Brasil nos últimos 7 anos.	4
TABELA 3: Níveis das variáveis do Planejamento experimento do tipo fatorial 2^k	25
TABELA 4: Valores médios de *L, *a, *b, diferença total de cor (TCD), °H, Chroma, IE de maçãs MP armazenadas a 8°C após 7 dias, com relação aos tratamentos submetidos.	30
TABELA 5: Valores médios de umidade, perda de massa e atividade de água (Aa) de maçãs MP em função dos tratamentos submetidos com revestimentos ativos.	36
TABELA 6: Valores médios textura e °Brix das maçãs MP em relação ao tratamento submetido com revestimentos ativos.	40
TABELA 7: Contaminação microbiana por Fungos filamentosos, Leveduras e Mesófilos em maçãs MP tratadas com revestimentos ativos ao longo de 7 dias de armazenamento.	45
TABELA 8: Avaliação de coliformes termotolerantes (45°C) e Coliformes Totais (35°C) em maçãs MP tratadas com revestimentos ativos ao longo de 7 dias de armazenamento.	47

LISTA DE GRÁFICOS

	PÁGINAS	
GRÁFICO 1:	A B e C de superfície resposta para croma *a (A), L* (B) e *b (C), em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	27
GRÁFICO 2:	Gráfico de superfície resposta do Índice de Escurecimento em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	32
GRÁFICO 3	Gráfico de superfície resposta da Diferença Total de cor (TDC), Chroma e H° de maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	34
GRÁFICO 4	Gráfico de superfície resposta da Umidade (%) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) pelo tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	35
GRÁFICO 5	Gráfico de superfície resposta da Perda de massa em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	37
GRÁFICO 6	Gráfico de superfície resposta de Textura (Text) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias	39
GRÁFICO 7	Gráfico de superfície resposta de Sólidos Solúveis (°Brix) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias	42
GRÁFICO 8	Gráfico de superfície resposta de Densidade (g/cm ³) das soluções filmogênicas em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Maçã	2
2.1.1	Caracterização Botânica.....	2
2.1.2	Composição Química.....	3
2.1.3	Produção mundial e Brasileira.....	3
2.2	Alimentos Minimamente Processados.....	6
2.3	Alterações Fisiológicas em Frutas e Vegetais.....	7
2.4	Proteína de Soro de Leite (WPC).....	8
2.5	Uso de Agentes Antiescurecimento.....	9
2.6	Embalagens Ativas	11
2.6.1	Revestimentos Comestíveis Ativos	12
2.7	Parâmetros de Qualidade de Vegetais Minimamente Processados	13
3	OBJETIVOS.....	15
3.1	Objetivo geral.....	15
3.2	Objetivos específicos.....	15
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1	Desenvolvimento do revestimento a base de soro de leite	16
4.1.1	Desenvolvimento do revestimento ativo a base de soro de leite incorporado com agentes antiescurecimento.....	17
4.2	Preparo das maçãs minimamente processadas.....	17
4.3	Avaliação das maçãs minimamente processadas	19
4.3.1	Análise de cor	19
4.3.2	Análise de textura	21
4.3.3	Análise de perda de massa.....	22
4.3.4	Análise de umidade	22
4.3.5	Análise microbiológica dos produtos minimamente processados	22
4.3.5.1	Contagem padrão de fungos filamentosos e leveduras.....	22
4.3.5.2	Contagem total de mesófilos.....	23

4.3.5.3 Determinação de coliformes termotolerantes e <i>Escherichia Coli</i>	23
4.3.6 Determinação de Sólidos solúveis (°Brix).....	24
4.4 Avaliação da densidade do revestimento.....	24
4.5 Planejamento Experimental.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1 Análise de Cor.....	26
5.2 Análise de Umidade	34
5.3 Perda de Massa	36
5.4 Textura	38
5.5 Sólidos Solúveis (°Brix).....	41
5.6 Densidade dos Revestimentos.....	42
5.7 Análise Microbiológica	43
5.7.1 Contagem de mesófilos e fungos filamentosos e leveduras.....	43
5.7.2 Contagem de coliformes termotolerantes (45°C) e coliformes totais (35°).....	46
5.7.3 <i>Escherichia coli</i>	46
6 CONCLUSÃO.....	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

A busca por novas técnicas e tecnologias que mantêm ou altere de forma desejável as características sensoriais dos alimentos e aumentem sua validade comercial, cresce a cada dia, principalmente no que se refere aos alimentos que são consumidos *in natura*, como os produtos da cadeia de frutas e hortaliças.

A demanda por frutas e hortaliças minimamente processadas vem aumentando a cada dia no mercado alimentício, este aumento se deve ao desejo crescente do consumidor por alimentos que mantenham seu frescor e características próximas a *in natura*, além da praticidade em se adquirir o alimento pronto para o consumo.

O desenvolvimento de embalagens ativas é uma tecnologia que vem crescendo nas últimas décadas e sua utilização como revestimento em produtos vegetais tais como os Minimamente Processados (MP) tem merecido destaque.

Os revestimentos ativos podem desempenhar papel importante na conservação, distribuição e comercialização de alimentos, principalmente aqueles consumidos *in natura*. Eles atuam de forma a aumentar a validade comercial, mantendo as características físicas, químicas e microbiológicas dos alimentos, tais como o manutenção da cor, as propriedades mecânicas e restringindo as trocas gasosas.

Os produtos MP não devem ser submetidos ao branqueamento podendo ocorrer alterações na textura, sabor e aroma. A validade comercial destes produtos é quase sempre limitada por deterioração fisiológica antes da microbiológica, sendo a cor o atributo de maior importância. Esta descoloração é oriunda de reações catalisadas por enzimas genericamente conhecidas como polifenoloxidasas (PPOs).

Filmes obtidos a partir de proteínas de soro de leite caracterizam-se pela transparência, flexibilidade, ausência de odor e sabor, favorecendo sua aceitabilidade para consumo. O soro de leite é um subproduto da indústria do queijo e da caseína, possui alto valor funcional e nutritivo.

O efeito deletério do oxigênio em alimentos é comumente atrasado com a aplicação de antioxidantes e agentes antiescurecimento, tal como ácido ascórbico e ácido cítrico. Além disso, a oxidação pode ser efetivamente reduzida através da seleção de revestimentos com permeabilidade reduzida ao oxigênio (BONILLA *et al*, 2012).

Desta forma o presente trabalho buscou desenvolver um revestimento ativo a base de proteína de soro de leite, incorporado com agentes antiescurecimento, como ácido cítrico, ascórbico e a combinação destes, visando aplicabilidade em produtos Minimamente Processados, de forma a possibilitar o aumento do período de validade comercial destes produtos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Maçã

2.1.1 Caracterização Botânica

A macieira é uma pomoideia da família Rosaceae (Tabela 1) que se adapta a todos os tipos de solos desde os solos argilosos e pesados aos francos e arenosos, de origem granítica, calcária, xistosa ou aluvionar. Quanto ao clima, suporta as mais diversas condições climáticas, desde que sejam satisfeitas as condições mínimas de frio (BARRANCOS, 2002).

Pode alcançar 10 metros de altura. Possui tronco curto com o desenvolvimento de uma copa arredondada. As folhas são verdes escuras, ovais, dentadas nas margens, com pecíolo curto e grosso. Suas flores são geralmente róseas, podendo apresentar cor branca, e muito perfumada. O fruto, denominado maçã, é do tipo globoso ou deprimido, com uma profunda depressão no ponto de inserção do pedúnculo, mais largo na base do que no ápice (Figura 1).

Tabela 1. Classificação Botânica da macieira

Classificação Botânica	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Rosales
Família	Rosaceae
Gênero	Malus
Espécie	Malus domestica
Nome popular	Maçã (macieira)

Fonte: Gonçalves, 2007



Figura 1. Maçã variedade Fuji

2.1.2 Composição Química

A maçã é constituída principalmente por água e açúcares e apresenta um baixo teor de proteína e gordura. Rica em fibra, minerais e vitaminas, sendo estes três elementos os principais responsáveis pelas vantagens nutricionais deste fruto.

Seus compostos podem variar de acordo com o tipo de solo, clima e condições de manejo (BARRANCOS 2002; FOURIER 1996). Como é o caso dos compostos fenólicos que podem variar com a época de colheita e com a *cultivar* de maçã (NATURAL-FOOD-FRUIT, 2007).

A maçã contém diversos minerais e vitaminas do complexo B, sendo uma boa fonte de potássio, o alto teor de potássio contido na polpa de maçã promove a eliminação do sódio excedente, ajudando a eliminar o excesso de água retido no corpo.

A polpa da maçã contém grandes quantidades de vitamina C, sendo esta em maior quantidade na fruta, entre tanto esta vitamina é responsável apenas por uma pequena parte da sua atividade antioxidante. A maior parte provém da combinação de compostos químicos vegetais, como os flavonoides e polifenóis, conhecidos comumente como fitoquímicos ou fitonutrientes, que podem ser encontrados na polpa e na casca da maçã, apresentando atividade antioxidante, inibindo a ação dos radicais livres no organismo humano (BARRANCOS, 2002)

2.1.3 Produção mundial e Brasileira

A produção mundial de maçãs, em 2012/13, segundo dados do United States Department of Agriculture (USDA), foi de 67,8 milhões de toneladas. Em termos mundiais, a produção de maçãs é crescente (28% em 6 anos). O Brasil produziu, em 2011, último dado

consolidado pelo IBGE, 1,3 milhão de toneladas de maçãs, o que o classifica como 9º (nono) maior produtor mundial. O valor da produção de maçãs foi calculado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em R\$ 851,7 milhões (MAPA, 2013).

Pela própria natureza da atividade, a pomicultura é uma atividade de mão-de-obra intensa, gerando assim aproximadamente 58.500 empregos diretos e 136.500 empregos indiretos no Brasil (BRDE, 2011).

As principais variedades comerciais no Brasil são a Gala e a Fuji, que juntas representam mais de 95 % de toda a produção brasileira (CZELUSNIAK, 2003) (Tabela 2). A primeira tem sua colheita entre fevereiro e março e a segunda são colhidos entre março e abril. Além do período de colheita, as duas principais cultivares se diferenciam pelo aspecto da armazenagem, sendo a Fuji a que apresenta maior durabilidade. (KREUZ; ARGENTA, 2003).

A estocagem de maçãs em câmaras frias é de extrema importância para garantir o abastecimento ao longo de todo o ano. Aproximadamente, 40% das maçãs são da variedade Fuji. As tecnologias disponíveis de pós-colheita permitem que as maçãs Fuji sejam armazenadas até o mês de fevereiro (MAPA, 2013).

De acordo com o IBGE a produção brasileira de maçã ocupa 38 mil hectares, sendo 96% desses pomares estão em Santa Catarina (18 mil ha) e Rio Grande do Sul (17 mil ha). O aumento da produtividade dos pomares de maçã é o principal responsável pelo incremento da produção desde 2001. Enquanto a área plantada aumentou 29%, a produtividade cresceu 50% (MAPA, 2013).

Tabela 2. Quadro de suprimentos de maçã no Brasil nos últimos 7 anos.

Ano	Produção (ton)	Importações de maçã fresca e sucos (ton)	Exportações de maçãs frescas e sucos (ton)	Suprimento doméstico (ton)	Suprimento por habitante (Kg/hab/ano)
2006	863.019	77.741	215.638	782.344	4,22
2007	1115.319	68.574	323.016	973.240	5,19
2008	1124.155	55.042	326.883	965.104	5,09
2009	1222.885	61.343	252.706	1130.220	5,90
2010	1279.026	76.879	359.679	1087.811	5,63
2011	1338.995	96.565	282.941	1202.837	6,17
2012	1335.478	57.920	331.734	1135.813	5,78

Fonte: elaborado por CGPCP/DEAGRO/SPA/MAPA com base em dados do IBGE e SECEX/MDIC.

Notas: Maçãs *in natura* 9NCM 08008.10.00); sucos de maçãs (NCM 2009.70.00 a 200979.00); os valores das importações/exportações de sucos forma convertidos para maçãs *in natura* na proporção de 1kg de suco para 7Kg de maçãs.

O Brasil passou de importador para exportador de maçãs desde 1986, estando está entre as principais frutas brasileiras comercializadas (CARVALHO, 2011). Com relação à produção no ano de 2010, esta gerou para o Brasil em termo de divisas, 28 milhões de dólares (MDIC, 2011), e parte desse desempenho está associada ao mercado internacional, onde o Brasil passou de importador líquido para exportador líquido (CARVALHO, 2011).

Os dados da EMATER/RS de abril de 2013 indica o ápice de produção da maçã Fuji, apresentando frutos de bom tamanho, coloração bem marcante, polpa firmes, boa resistência na frigoconservação e vida de prateleira maior (Figura 2). O período de menor valorização da maçã é no primeiro semestre do ano, isso se deve a coincidência com o período de safra da fruta, o que pode ser observado na Figura 2. Nesse período são comercializadas as frutas de menor qualidade e menos adequadas ao armazenamento a longos prazos.



Figura 2. Gráfico de comercialização de maçã Fuji na CEAGESP

Pesquisas voltadas ao desenvolvimento de novas tecnologias para a redução das perdas pós-colheita são fundamentais para a economia nacional. Além de minimizar as perdas, elevam a competitividade e procuram atender à qualidade de um mercado cada vez mais exigente. A grande maioria das frutas e hortaliças, especialmente no ambiente tropical, após serem colhidas tem seu processo de maturação e deterioração aceleradas em consequência das mudanças bioquímicas e fisiológicas bem como de procedimentos de acondicionamento e práticas de manuseio adotadas (ASSIS, 2009).

O Brasil está entre os 10 maiores produtores do setor agrícola mundial, tendo os maiores índices de perdas pós-colheita de frutas e hortaliças, sendo em torno de 35-40% (BARROS et al., 1994; SOARES, 2009), comparado com a Europa, cujas perdas são, em média, inferiores a 25% (ARTÉS, 2008) e aos EUA onde, em algumas regiões, a perda é de aproximadamente 16% (BURG, 2004). Segundo estimativas da FAO (Food Agriculture Organization) as perdas de frutas e hortaliças no Brasil representam valores superiores a 10 milhões de toneladas/ano de produtos colhidos e não consumidos (SOARES, 2009).

O uso de técnicas que reduzam as perdas pós-colheita vem crescendo, isso devido a um mercado consumidor cada vez mais exigente por produtos de qualidade. Técnicas como o uso de embalagens ativas, tais, como os revestimentos, veem sendo uma alternativa na melhoria da qualidade desses produtos, prolongando sua validade comercial e mantendo as características desejáveis do alimento (PARK, 1999).

2.2 Alimentos Minimamente Processados

Os produtos minimamente processados (MP) podem ser definidos como produtos submetidos a uma ou mais alterações físicas, e em alguns casos a tratamentos químicos, mas que ainda possuem características de produto fresco (CANTWELL, 2000). Seu processamento afeta o metabolismo normal dos vegetais, e naturalmente a sua qualidade e sua validade comercial. As injúrias provocadas nos tecidos elevam a taxa respiratória e a produção de etileno, contribuindo para a síntese de enzimas envolvidas em mudanças fisiológicas e bioquímicas indesejáveis. Tais alterações resultam na diminuição da validade comercial, com efeitos no valor nutritivo, textura, aroma e sabor (MARTINS, 2010).

O processamento mínimo tem o propósito de oferecer produtos de forma conveniente, sem perda de qualidade e validade comercial suficiente de forma a facilitar a distribuição (ARAÚJO, 2006). Frutas e hortaliças minimamente processadas, as quais são aparadas, descascadas e/ou cortadas sendo um produto fresco pronto para consumo, tem sido uma parte importante e crescente da indústria de alimentos de origem vegetal. São exemplos, misturas para salada, alfaces picados, palitos de aipo, salada de frutas, melancia em fatia. (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010).

Os consumidores de hoje buscam alimentos frescos, minimamente processados e que sejam isentos de substâncias sintetizadas quimicamente, e de preferência, enriquecidos com substâncias naturais que tragam benefícios para a saúde e que mantenham as características nutricionais e sensoriais do produto. Por isso, nos últimos tempos, os esforços dos pesquisadores se concentraram em buscar novas tecnologias de conservação e substâncias naturais que atuem como alternativas a exemplo de agentes antioxidantes e antimicrobianos (FALGUERA et al., 2011).

Os chamados “fresh-cut” (cortados fresco) e “ready-to-eat” (prontos para comer) são os seguimentos que mais requerem cuidados e tecnologias específicas para a guarda e manutenção apropriada de suas qualidades nutricionais (WILEY, 1997). Mesmo quando acondicionados em “bandejas” e embalados, as condições de armazenagem são fundamentais (ASSIS, 2006).

O processo de descascamento e corte são etapas necessárias no processamento mínimo, que induzem o aparecimento de alterações fisiológicas indesejáveis a aparência. A perda da integridade celular destrói a compartimentalização das enzimas e de substratos, levando a reações de escurecimento e à formação de metabolitos secundários indesejáveis (Burns, 1995)

De acordo com Luengo e Lana (1997) o processamento mínimo provoca estresses mecânicos no vegetal, ou seja, agressões físicas como cortes e ralamentos, por exemplo, que aceleram o metabolismo do vegetal, levando à sua rápida deterioração.

Segundo Durigan et al (1999), os produtos minimamente processados deve ter Consistência adequada, aparência “fresca”, cor aceitável e estar isentos de defeitos. Contudo,

alcançar essas características é difícil, as operações realizadas no preparo das frutas e dos vegetais comumente reduzem sua validade comercial.

A validade comercial de frutos minimamente processados pode ser estendida usando embalagem de atmosfera modificada (MAP) com reduzida concentração O₂ e/ou CO₂ elevada, além do uso de agentes antiescurecimento (tais como ácido ascórbico e NatureSeal[®]), soluções antibacterianas, revestimentos comestíveis, e refrigeração (AHVENAINEN, 1996 e SOLIVA-FORTUNY et al. de 2001).

2.3 Alterações Fisiológicas em Frutas e Vegetais

O metabolismo dos vegetais minimamente processados (MP) continua ativo ocorrendo o aumento da perecibilidade em decorrência da ruptura celular, do aumento da taxa respiratória, provocando então aumento na produção de etileno, mudança na cor, textura, aroma e permitindo até mesmo o desenvolvimento microbiano. Algumas características como coloração e textura podem ser fortemente influenciadas pelas etapas do processamento mínimo e da embalagem utilizada no acondicionamento dos produtos (JUNQUEIRA, 2009).

A deterioração destes produtos ocorre em razão de alterações fisiológicas, bioquímicas (como por exemplo, as PPO) e microbiológicas (ARAÚJO, 2006). A deterioração patológica de produtos MP é de menor importância prática, pois a validade comercial destes é quase sempre limitada por deterioração fisiológica antes mesmo da microbiológica (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010), sendo a cor o atributo de maior importância segundo Falguera et al. (2010).

Quando a maioria dos vegetais é amassada, cortada ou triturada, rapidamente se tornam escuros. Esta alteração na cor é oriunda de reações catalisadas por enzimas genericamente conhecidas como polifenoloxidasas (PPO). O escurecimento é iniciado pela oxidação de compostos fenólicos pelas PPOs tendo como produto inicial a quinona, que rapidamente se condensa, formando pigmentos escuros insolúveis, denominados melanina, ou reage não-enzimaticamente com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando também melanina. A ação das PPOs acarreta perdas econômicas consideráveis, além de diminuição da qualidade nutritiva e alterações do sabor desses alimentos (ARAÚJO, 2006).

As PPOs são encontradas praticamente em todos os tecidos vegetais, em concentrações especialmente altas em cogumelos, batata, pêssigo, maçã, banana, manga, folhas de chá, abacate e café. Devido à especificidade de vários substratos, as enzimas PPOs são, às vezes, denominadas tirosinase, polifenolase, fenolase, catecol oxidase, catecolase e cresolase (ARAÚJO, 2006). Ou seja, procedimentos de limpeza, corte, polimento, remoção de pele e mesmo de práticas não cuidadosas de empacotamento e transporte, introduzem alterações nas condições naturais, gerando superfícies danificadas e desprotegidas que aceleram a maturação.

Algumas frutas como banana, pêssigo, maçã e uva não devem ser submetidas ao branqueamento para a inativação da PPO, pois devido à delicadeza de seus tecidos ocorrem alterações na textura, sabor e aroma sendo indicado nestes casos o uso de tratamentos alternativos como com agentes redutores e removedores de oxigênio (ácido ascórbico) e

complexantes (ácido cítrico). O sulfito é um agente de grande eficiência na prevenção do escurecimento enzimático, mas, tem sua utilização proibida em produtos *in natura* como nos vegetais minimamente processados, uma vez que pode causar perda da atividade da vitamina B1 (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010).

O controle do processo fisiológico em frutas e hortaliças minimamente processadas é fundamental para sua conservação, uma vez que a superfície exposta é aumentada após o corte, o que facilita a entrada de oxigênio nos produtos (SOARES, 2004).

Apesar dos benefícios derivados de uma alimentação rica em frutas e vegetais, a segurança desses produtos frescos e MP tem sido discutida, em razão da incidência de microrganismos patogênicos sendo veículos de algumas doenças.

De acordo com Luengo e Lana (1997), as principais alterações fisiológicas que resultam do processamento mínimo são:

- Aceleração da perda de água resultando em murchamento, perda de qualidade visual e alterações da textura;
- Aumento da taxa respiratória do vegetal, o que acelera sua oxidação e conseqüente deterioração;
- Aumento da produção do hormônio de amadurecimento chamado etileno, com conseqüente aceleração do amadurecimento e senescência ou envelhecimento.
- Escurecimento devido a ativação de processos de oxidação;
- Modificação do sabor, do aroma, da aparência e do valor nutritivo da hortaliça processada devido a formação de metabólitos secundários;
- Contaminação por microrganismos que podem representar risco para saúde pública e/ou promover a deterioração rápida do produto.

2.4 Proteína de Soro de Leite (WPC)

O soro de leite é um subproduto da indústria do queijo e da caseína, possui alto valor funcional e nutritivo e, devidamente processado, seja como concentrado ou isolado proteico, constitui um excelente ingrediente para a fabricação de vários alimentos industrializados (YOSHIDA, 2009). Uma quantidade substancial de soro de leite é descartada anualmente no Brasil, na forma de resíduo industrial, causando um grave problema ambiental. As proteínas do soro de leite têm sido utilizadas em diversas aplicações alimentícias, devido às suas propriedades funcionais, tais como, a gelatinização, emulsificação, solubilidade, formação de espuma, viscosidade, além do valor nutricional, sendo uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (MORR E HA, 1993).

Os concentrados (WPC - whey protein concentrate, ou os isolados WPI - whey protein isolate) das proteínas do soro de leite são muito desejáveis como ingredientes nutricionais devido a sua alta concentração de aminoácidos sulfurados em comparação às proteínas vegetais, como as da soja. A produção mundial por ano de produtos de proteínas do soro é cerca de 600.000 toneladas métricas (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010).

Segundo Zuvanov (2012), o soro do leite é um subproduto de relevância importante dentro da cadeia produtiva do leite, tendo em vista seu alto volume produzido e sua composição nutricional. E além do mais, pode ser considerado um passivo ambiental e uma perda econômica ao setor de laticínios, caso não seja aproveitado de maneira correta, ou seja, descartado de maneira inadequada.

Derivados das proteínas do soro de leite têm apresentado efeito antimicrobiano. A exemplo, derivados das proteínas β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e a mais conhecida, o peptídeo antimicrobiano da Lactoferrina, a lactoferricina B. Esta última exibe atividade bactericida contra patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, propriedades antivirais, imunorregulatórias e anti-inflamatórias também tem sido atribuídas a esse peptídeo (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Galiotta et. al. (2004) relataram que tomates recobertos por uma película de soro de leite acrescida de monoésterato de glicerol, mantidos em condições de umidade e temperatura controlados (15 °C, 90% U.R.), apresentaram uma menor perda de peso, menor desenvolvimento da cor vermelha e conteúdo de licopeno e menor perda de firmeza que os frutos não submetidos ao tratamento com o revestimento, durante quatro semanas de observações. Com isso, concluíram que a vida útil dos tomates recobertos pela película poderia se estender em 10 dias em iguais condições de armazenamento.

2.5 Uso de Agentes Antiescurecimento

Para minimizar os efeitos negativos do processamento mínimo faz-se necessário a adoção de tecnologias adequadas que possam assegurar a qualidade dos produtos (CENCI, 2002). Segundo Wiley (1994), estes métodos devem aumentar a validade comercial das frutas e hortaliças minimamente processadas, por diminuir a intensidade da respiração, minimizar os efeitos mecânicos, inibir ou retardar a ação das enzimas e atrasar o amadurecimento e a senescência. Algumas das técnicas empregadas são: o uso de temperaturas adequadas, atmosferas controladas ou modificadas, agentes antiescurecimento, uso de revestimentos e aditivos (BEAULIEU e GORNY, 2004).

De um modo geral o escurecimento enzimático pode ser evitado através da inativação térmica das Polifenoloxidasas (PPOs), devido ao calor empregado nesse processo pode ocorrer o amolecimento dos tecidos do vegetal, o que é indesejável. Uma alternativa ao branqueamento para o controle do escurecimento enzimático é o uso de aditivos químicos (TORTOE, POMAR e BEEZER, 2006).

Agentes redutores, antioxidantes e inibidores enzimáticos são aditivos que vem sendo usados para evitar o escurecimento, esses compostos agem quimicamente, reduzindo as *o*-quinonas de difenóis a compostos incolores (Figura 3). Assim como os agentes redutores, os acidulantes, tais como ácido cítrico, oxálico, málico ou ácido fosfórico, também podem inibir a atividade da PPO, pela redução do pH (IBRAHIM et al, e ABDUL-RAHMAN, 2004).

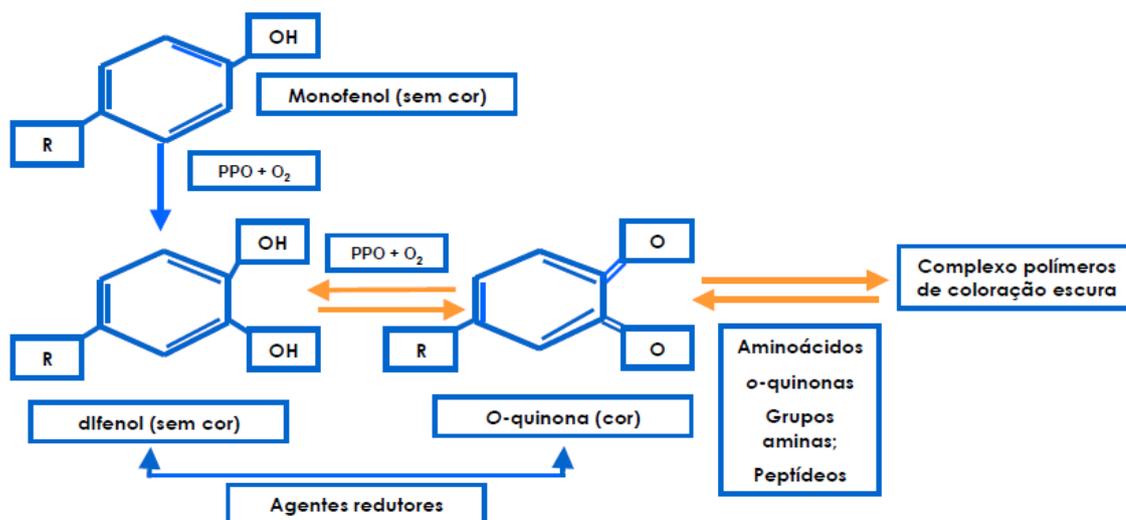


Figura 3. Ação dos agentes redutores sobre os precursores dos pigmentos (quinonas), que dão início ao escurecimento enzimático.

Fonte: Marshall *et al.*, (2000) adaptado de Walker, (1977).

Segundo Nicolas *et al.* (1994) e Martínez e Whitaker (1995), componentes antioxidantes de fruta, tais como os compostos fenólicos e ácido ascórbico são relacionados ao escurecimento enzimático. Os compostos fenólicos são oxidados a quinonas altamente instáveis que são posteriormente polimerizadas a pigmentos escuros, as melaninas e malanoidinas.

O uso de agentes como o cálcio seguido por choque térmico vem sendo relatado por diversos autores como eficiente em manter ou melhorar a textura de uma ampla variedade de frutas e vegetais, tais como em cenoura fatiada (RICO *et al.*, 2007), alface minimamente processado (MARTIN- DIANA *et al.*, 2006) e melão minimamente processado (LUNA-GUZMÁN E BARRET, 2000; SAFTNER *et al.*, 2003; OMS-OLIU *et al.*, 2007; AGUAYO *et al.*, 2008 e SILVEIRA *et al.*, 2011).

O dióxido de enxofre é o mais efetivo inibidor das PPOs, mas a utilização de sulfitos tem sido desaconselhada devido a questões relacionada à saúde humana, em particular a sensibilidade de indivíduos asmáticos (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010).

De acordo com Beaulieu e Gorny (2004), o uso de antioxidantes, como ácido ascórbico, e a acidificação do meio com ácido cítrico, podem ser uma alternativa interessante à manutenção da qualidade dos produtos MP. Segundo McEvily *et al.* (1992) e Sapers (1993), a aplicação de inibidores de escurecimento em alimentos MP deve ser restrito aos compostos não tóxicos e que não alterem o gosto e o sabor do produto.

Segundo Cagri *et al.* (2004) a incorporação de compostos antimicrobianos em filmes e revestimentos comestíveis são uma nova forma de melhorar a segurança e estender a validade comercial de alimentos MP.

O ácido ascórbico é reconhecido por sua ação redutora e contribuição nutricional (vitamina C), seus sais são os principais antioxidantes para uso em frutas e hortaliças e seus sucos, visando prevenir escurecimento e outras reações oxidativas (WILEY, 1994). Ele atua sequestrando o cobre, grupo prostético das polifenoloxidasas, e reduzindo quinonas de volta a fenóis, antes de formarem pigmentos escuros (SAPERS et al. 1998). O uso deste aditivo como agente antioxidante em produtos MP é amplamente relatado, por ser um produto eficiente em reduzir o escurecimento e seguro quanto ao seu consumo nas concentrações adequadas (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981; SAPERS, 1993).

O ácido cítrico em conjunto com ácido ascórbico apresenta eficiência na inibição do escurecimento enzimático. O ácido ascórbico é preferencialmente oxidado em relação aos outros substratos, e, tão logo é consumido, ocorre o escurecimento. O ácido cítrico por si só não é muito efetivo como inibidor das PPOs, porém este tem sido usado em sucos e enlatados de frutas como estabilizador do ácido ascórbico (ARAÚJO, 2006).

A aplicação do ácido ascórbico combinado com ácido cítrico, cloreto de cálcio, fosfatos, cisteína, e outros agentes inibidores do escurecimento de produtos minimamente processados, têm sido relatados por vários autores (MC EVILY et al., 1992; SAPERS, 1993). Teixeira (2004) constatou que ácido ascórbico a 1% associado com ácido cítrico 2%, foi eficiente na contenção do escurecimento de carambolas minimamente processadas. Souza et al. (2004) verificaram que ácido ascórbico associado ao cloreto de cálcio conferiu uma melhor conservação de mangas da cv. Palmer.

2.6 Embalagens Ativas

As embalagens para alimentos têm por objetivo preservar as características físicas, organolépticas, nutricionais e sanitárias dos alimentos durante o período de estocagem, transporte e comercialização. Atualmente, o conceito tradicional de que essas funções devam ser exercidas com um mínimo de interação entre o revestimento e o produto está superado pelo desenvolvimento de revestimentos ativos, uma tecnologia inovadora que permite uma maior interação da embalagem e do produto visando maior qualidade, validade comercial e segurança alimentar ao consumidor (OLIVEIRA, 2008).

Além das funções relatadas, as embalagens devem ainda atuar minimizando as alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas responsáveis pelas alterações e degradações, e com isso em perda de qualidade (SARANTÓPOULOS et al, 2009). Outra função das embalagens ativas é corrigir deficiências da embalagem passiva, seja com o uso de compostos ativos no material da embalagem ou utilizando materiais no espaço livre da embalagem (ROBERTSON, 2006).

Dentre o desenvolvimento de novos materiais e funções conferidas às embalagens (embalagens ativas), o desenvolvimento de embalagens ativas comestíveis e biodegradáveis tem merecido atenção intensa dos pesquisadores durante as últimas décadas, que vêm estudando novos materiais provenientes de fontes renováveis como alternativa às embalagens plásticas sintéticas (KOKOSZKA et al., 2010).

Os revestimentos comestíveis podem ser usados de diversas formas, eles podem atuar como barreira semipermeável, também são usados para melhorar e aumentar a validade

comercial de frutas MP, atuam reduzindo a perda de umidade e a migração de solutos, as trocas gasosas, a respiração e a velocidade de reações oxidativas, bem como na supressão de distúrbios fisiológicos (WONG et al., 1994, BALDWIN et al., 1996, PARK, 1999 e ROJAS-GRAU et al., 2008). Estes revestimentos também atuam como carreadores de antimicrobianos e agentes de firmeza, ou até mesmo de compostos químicos que melhorem a estabilidade química e inibam as reações oxidativas (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

As coberturas comestíveis, são definidas como uma fina camada de material comestível, depositada em um alimento como revestimento, que tem a finalidade de inibir ou reduzir a migração de umidade, de oxigênio, de dióxido de carbono e de aromas, pois promovem barreiras semipermeáveis (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

Filmes e revestimentos biopoliméricos tendo como base, proteínas, lipídeos, polissacarídeos e compósitos; e habilidades associadas a componentes com propriedades nutraceuticas e com aditivos que possam contribuir com as propriedades sensoriais dos produtos embalados, tem sido estudado (FALGUERA et al, 2011). Filmes e revestimentos proteicos podem atuar como barreira semipermeável à umidade, gases e compostos aromáticos, controlando a transferência de massa (umidade, oxigênio, dióxido de carbono, lipídio) em sistemas alimentícios, mantendo a integridade estrutural e características de manuseio, retendo compostos aromáticos voláteis e servindo de veículos para aditivos (HERSHKO E NUSSINOVITCH, 1998).

2.6.1 Revestimentos Comestíveis Ativos

O uso de revestimento comestíveis tem avançado em estudos no que se refere a aplicação em produtos perecíveis da cadeia hortícola principalmente dos minimamente processados (MP) (FALGUERA et al., 2011).

Algumas pesquisas têm mostrado a efetividade de revestimentos comestíveis (exemplos de matrizes de base carragena, carboximetilcelulose, alginato de sódio, quitosana) no controle do processo de escurecimento e na atividade das polifenoloxidasas em vegetais (HUI-MIN, TO, LI-PING e HAI-YING, 2009).

Os revestimentos comestíveis podem criar um ambiente de atmosfera modificada passivamente, o que pode influenciar em diversas mudanças nos alimentos *in natura* e MP, como suas propriedades antioxidantes, cor, textura, inibição do crescimento bacteriano, produção de etileno e compostos voláteis, como resultado de processos anaeróbios, além disso podem atuar como carreadores de aditivos que possam promover essas atividades (FALGUERA et al., 2011).

Além das características já citadas os revestimentos comestíveis apresentam elevado potencial para o transporte de compostos ativos, como os agentes antiescurecimento, corantes, aromas, nutrientes, especiarias e compostos antimicrobianos, que podem atuar melhorando as características e estendendo a validade comercial dos produtos, além de poder reduzir o risco de crescimento de patógenos na superfície do alimento. (PRANOTO, SALOKHE e RAKSHIT, 2005).

Vieira et al. (2000) aplicaram cobertura de fécula de mandioca a 1, 2 e 3% em abacaxis cortados em pedaços. Eles observaram variações inexpressivas nos índices de sólidos solúveis, acidez, pH, perda de massa fresca e textura dos abacaxis minimamente processados durante 7 dias.

Kim e Ustunol (2001) obtiveram bons resultados com filmes à base de isolado protéico de soro de leite, ressaltando a formação de filmes transparentes, o que favoreceu sua aplicação. Filmes obtidos a partir de proteínas de soro de leite caracterizam-se pela transparência, flexibilidade, ausência de odor e sabor, favorecendo sua aceitabilidade para consumo (ALLEONI, JACOMINO e ROSA, 2006).

Em trabalho realizado por Lee et al., (2003), observaram que fatias de maçã revestidas com solução filmogênica contendo carragena, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido oxálico aumentaram a validade comercial em até 2 semanas, quando embalados em bandejas e armazenados a 3°C.

O uso de agentes antimicrobianos associados a revestimentos é uma alternativa ao controle de patógenos em alimentos. Segundo Raybaudi-Massilia, Rojas-Grau, Mosqueda-Melgar, e Martín-Belloso (2008), a adição de canela, cravo ou óleo de erva-cidreira ou seus compostos ativos a um revestimento a base de alginato se apresentou eficiente no controle microbiano, reduzindo a população de *E. coli* O157: H7 em mais de 4 log UFC/g, e estendeu a validade microbiológica de maçãs Fuji por até 30 dias.

O transporte e a liberação de vários compostos ativos (antioxidantes, aromatizantes, antiescurecimento e compostos antimicrobianos, vitaminas e enzimas) é um dos mais importantes aspectos dentro das características de filmes e revestimentos comestíveis ativos (ROJAS-GRAU, SOLIVA-FORTUNY e MARTÍN-BELLOSO, 2009).

É importante que diferentes revestimentos sejam testados para diferentes produtos uma vez que alimentos processados têm atributos diferenciados de qualidade a serem mantidos e reforçados durante o período de armazenamento (OMS-OLIU, SOLIVA-FORTUNY e MARTIN-BELLOSO, 2008).

2.7 Parâmetros de Qualidade de Vegetais Minimamente Processados

Os principais parâmetros avaliados em alimentos minimamente processados (MP) são os que se referem às características de qualidade como os visuais e o de textura do alimento. Isso se deve ao fato destes alimentos serem comercializados e consumidos *in natura*. Sendo os três parâmetros de maior relevância por serem decisivos na garantia da qualidade, sanidade e a aceitação do alimento MP no mercado consumidor, a cor, textura e condições microbiológicas (SANTOS et al, 2005).

A cor é um parâmetro de qualidade fundamental. O rápido escurecimento que ocorre em diversos produtos como maçãs, bananas, abacates, batatas devido à alta atividade das PPOs, desde as operações de corte, mesmo conduzida sob condições controladas, muitas vezes resultam em escurecimento enzimático; sendo um grave problema durante as operações de processamento mínimo. O escurecimento prejudica a aparência, propriedades organolépticas, qualidade nutricional e, ocasionalmente, segurança destes produtos

(MOLNAR-PERL e FRIEDMAN, 1990; SAPERS E MILLER, 1998, DONG et al., 2000 e GORNY et al., 2002).

Estudos realizados por Rojas-Grau et al. (2008), mostraram que a incorporação de agentes antiescurecimento em revestimentos comestíveis a base de alginato de cálcio, foi eficiente quanto a inibição do escurecimento em maçãs minimamente processadas no período de 21 dias de armazenamento.

Segundo estudos realizados por Olivas et al. (2007) o uso de revestimentos a base de alginato em maçãs MP foi eficiente quanto ao retardo no escurecimento destas, observou-se que após 6 dias de armazenamento as maçãs MP revestidas apresentavam uma menor taxa de escurecimento quando comparados com o tratamento controle (sem revestimento).

Outro parâmetro de importância é a textura dos vegetais MP, uma vez que a perda da firmeza e da consistência destes frutos é um problema frequente e de grande importância em sua validade comercial (GARCÍA, MARTINO, e ZARITZKY, 2000).

A textura sofre modificações consideráveis durante o amadurecimento e conservação das frutas, sendo o amaciamento ou amolecimento dos tecidos a alteração mais marcante (KLUGE et al., 2002). A firmeza é um fator crítico que pode influenciar o período de conservação e a resistência ao manuseio, ao transporte e ao ataque de microrganismos (CARVALHO, 1994).

Rojas-Grau et al. (2008), observaram que maçãs não revestidas com filme a base de alginato, apresentaram uma perda significativa quanto a textura, comparado às revestidas com o filme, durante o período de armazenamento. Segundo Varoquaux et al., (1990) fatias de Kiwi MP armazenados a 2°C perderam 50% da firmeza inicial em um período menor que 2 dias.

Além dos parâmetros de cor e textura, a avaliação microbiológica dos vegetais MP é um fator importância para qualidade desses alimentos, uma vez que à presença de microrganismos deteriorantes irá influenciar nas alterações sensoriais do produto durante sua validade comercial. Contudo, a maior preocupação está relacionada à sua segurança devido a possibilidade de ocorrência de patógenos (VANETTI, 2004).

Os vegetais minimamente processados (MP) constituem um ótimo meio de desenvolvimento para os microrganismos, devido à lesão dos tecidos e ao alto teor de umidade dos vegetais acondicionados, o que aumenta seu potencial de deterioração. Por serem muito manipulados, esses produtos podem ter sua microbiota aumentada, alterada e eventualmente, veicular microrganismos patogênicos (NEGUYEN e CARLIN, 1994).

Dentre os microrganismos encontrados em MP, podem ser destacadas as leveduras, a *Salmonella*, coliformes totais, coliformes fecais, fungos filamentosos e mesófilos (NEGUYEN e CARLIN, 1994).

Na legislação brasileira não há informações quanto aos limites de contagens tolerados para microrganismos em frutas e hortaliças MP. Na resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) prevê padrões microbiológicos para hortaliças e frutas frescas, *in natura* MP, sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para o consumo direto, de ausência em 25g para *Salmonella sp.*, e 10²NMP/g para coliformes a 45°C.

Revestimentos comestíveis, contendo antimicrobianos, estão ganhando importância como potenciais tratamentos para reduzir os efeitos deletérios impostos pelo processamento mínimo sobre vegetais (CONTE et al., 2009, DEL NOBILE, CONTE, SCROCCO, BRESCIA, et al., 2009 e MASTROMATTEO, MASTROMATTEO, CONTE e DEL NOBILE, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um revestimento ativo comestível a base de proteínas do soro de leite incorporando com agentes que evitem o escurecimento de vegetais minimamente processados.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Desenvolver um revestimento ativo a base de proteínas do soro de leite incorporado com agentes (ácido cítrico, ácido ascórbico e combinações destes) visando evitar o escurecimento de maçãs minimamente processados (MP).
- ✓ Avaliar a aplicabilidade e efetividade dos revestimentos ativos desenvolvidos sobre Maçãs minimamente processados (Maçã Fuji- *Malus Communis*) quanto ao manutenção da coloração da polpa do fruto.
- ✓ Avaliar as Maçãs minimamente processados revestidos com o material desenvolvido quanto suas condições microbiológicas: contagem total de mesofilos, contagem de fungos filamentosos e leveduras, coliformes a 35°C e 45°C e *E. Coli.*.
- ✓ Avaliar as Maçãs minimamente processadas (MP) revestidas com material ativo quanto as suas características físicas: textura, perda de massa, umidade, atividade de água e conteúdo de sólidos solúveis (°Brix).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Engenharia e Tecnologia Agroindustrial (LETA) da Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda – RJ.

4.1 Desenvolvimento do revestimento a base de soro de leite

Em etapas preliminares, foram realizados testes com variados percentuais de proteína de soro de leite (WPC) e plastificante (glicerol), onde se pretendia obter a melhor concentração destes compostos para formação de filmes e revestimentos e sua aplicabilidade sobre as frutas e hortaliças minimamente processados. A variação na concentração de proteína de soro testada foi de 3%, 6% e 9%, e a de glicerol foi de 0%, 1%, 2% e 3%. As amostras foram avaliadas quanto a densidade, viscosidade, condutividade elétrica, índice de refração e sólidos solúveis, em variadas temperaturas. Os melhores resultados quanto a aplicabilidade e recobrimento sobre os vegetais além dos parâmetros avaliados, foram obtidos nas amostras que continham 6% de WPC e 2% de glicerol a temperatura ambiente (25°C), sendo então está a solução selecionada (solução base).

A partir destes resultados, a proteína concentrada do soro de leite (WPC) (Simplese® tipo D-100, CPKelco, Limeira - SP) (6,0%, em massa) foi dispersa em água destilada, seguido de uma homogeneização até a solubilidade completa (agitador de tubos, Phoenix, modelo AP56). Após a total solubilização adicionou-se o agente plastificante glicerol (2% em massa) (Glicerina P.A. ACS, Vetec Química Fina, Duque de Caxias – RJ), sendo novamente homogeneizada em Ultra-Turrax® (IKA® T25 basic) por 5 minutos, a 8.600 rpm (Figura 4). A solução filmogênica foi aquecida à temperatura de 80 °C por 20 minutos em banho-maria, com o objetivo de desnaturação proteica. Após o banho-maria a solução foi resfriada em banho de gelo, sob agitação branda até atingir temperatura ambiente. Com o estado de repouso as bolhas de gás foram removidas e então a solução foi utilizada para revestir as maçãs minimamente processadas ou/e estocada a 7°C por 24 horas para posterior utilização.

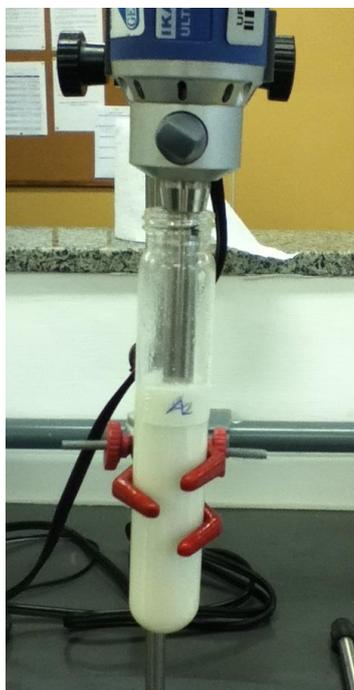


Figura 4. Homogeneização da solução filmogênica (revestimento) de WPC em Ultra Turrax.

4.1.1 Desenvolvimento do revestimento ativo a base de soro de leite incorporado com agentes antiescurecimento

Similarmente ao descrito no item 4.1, utilizando-se a proteína de soro de leite concentrada a 6,0% m/m e 2% m/m de glicerol, e passada a etapa de aquecimento e resfriamento da solução filmogênica, foi adicionado os agentes antiescurecimento: ácido cítrico (0,0%, 1,5% e 3,0%) e ácido ascórbico (0,0%, 1,0 e 2,0%), sob agitação lenta. A solução filmogênica (revestimento) foi usada para revestir as maçãs MP, ou armazenada sob refrigeração (7°C) por 24 horas para posterior utilização.

4.2 Preparo das maçãs minimamente processadas

As maçãs (Maçã Fuji- *Malus Communis*) foram adquiridas no mercado local (Frutas e hortaliças- Volta Redonda, RJ), procedeu-se uma pré-seleção das maçãs, avaliando visualmente quanto a sanidade, cor, tamanho, sadias e de forma a ter frutas uniformes. As maçãs foram lavadas, sanitizadas e resfriados a 10°C para então serem processados minimamente.

O processamento mínimo foi conforme descrito por Junqueira et al. (2009) com modificações:

As maçãs foram processadas em ambiente a $18 \pm 2^\circ\text{C}$. As maçãs passaram pelo processo de higienização, sendo imersas em solução desinfetante de hipoclorito de sódio (Hidrosteril[®], composição: hipoclorito de sódio 2,5%, cloreto de sódio 1,0% e água deionizada q.s.p. 100%) sendo 1mL de solução por litro de água, à 20°C permanecendo por 15 minutos, seguido por enxágue em água destilada para remoção do cloro residual absorvido na etapa anterior, o excesso de água incorporado na etapa anterior foi removido com o auxílio de peneiras plásticas.

Com o auxílio de uma faca, as maçãs foram descascadas e cortadas em 4 partes iguais (transversalmente), sendo que cada ¼ de fatia de maçã correspondente a uma amostra (Figura 5).

As maçãs MP foram imersas nos revestimentos ativos produzidos e colocados para secagem sobre telas por 5 minutos. Após secas a amostra (1/4 de maçã) foi disposta em potes de polipropileno recoberto com filme de poli (cloreto de vinila) (PVC) esticável e armazenados em BOD a uma temperatura de $8^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, por um período de até 7 dias (Figura 6).

As análises procederam nos tempos 0, 3,5 e 7 dias de armazenamento.

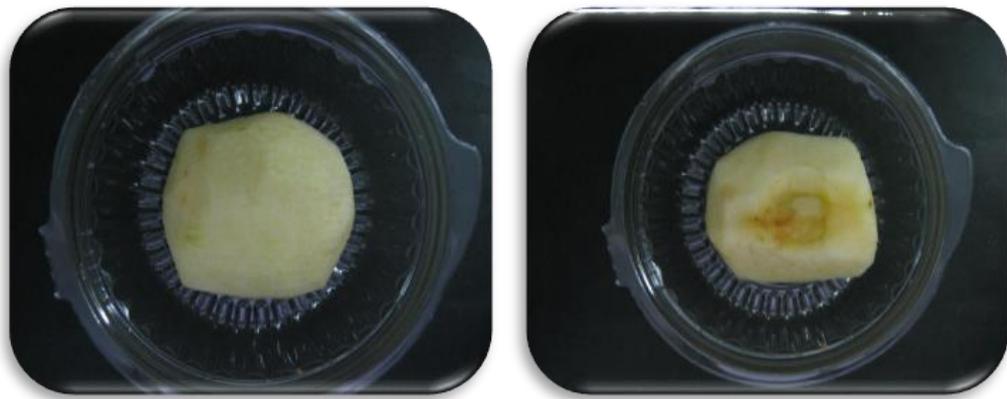


Figura 5. Imagem da amostra de maçã minimamente processada utilizada no experimento.

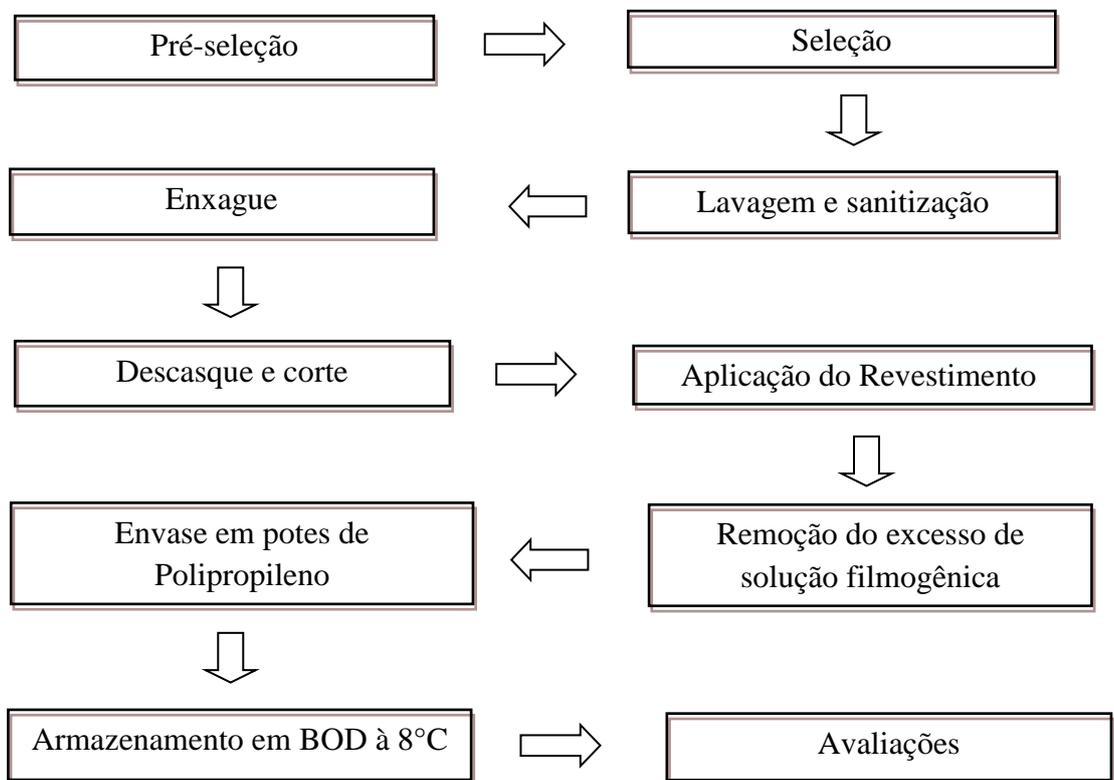


Figura 6. Fluxograma de preparo das amostras – Processamento mínimo e aplicação de Revestimento.

O Delineamento experimental foi realizado inteiramente casualizado com 5 pontos centrais, sendo a interpretação dos resultados realizado através do programa SAS por superfície resposta, com $p > 5\%$, sendo os tratamentos (Tabela 3):

- Tratamento : vegetais MP recobertos com revestimentos a base de proteína de soro de leite incorporados com ácido ascórbico ;
- Tratamento : vegetais MP recobertos com revestimentos a base de proteína de soro de leite incorporados com ácido cítrico ;
- Tratamento : vegetais MP recobertos com revestimento a base de proteína de soro de leite incorporados com ácido ascórbico e ácido cítrico;
- Tratamento controle filme: vegetais MP recobertos com revestimento a base de proteína de soro de leite sem incorporação de agentes;
- Tratamento controle fruto: maçãs sem revestimento.

4.3 Avaliação das maçãs minimamente processadas

4.3.1 Análise de cor

A avaliação da alteração de cor foi realizada com auxílio de um Colorímetro (Minouta CM-5-ID), com o software ChromaMagic, usando o sistema de coordenadas $L^* a^* b^*$ definido pela “International Commission on Illumination” (CIE $L^*a^*b^*$).

Para cálculo das coordenadas de cor, foi estabelecido o iluminante D65 (luz do dia 6500K) e o ângulo de 10° para o observador e a escala do sistema de cor CIE Lab. As coordenadas determinadas foram: L^* que representa a luminosidade numa escala de 0% (preto) a 100% (branco); a^* que representa uma escala de tonalidades de vermelho (0+a) a verde (0-a) e b^* que representa uma escala de tonalidades de amarelo (0+b) a azul (0-b) (Figura 7). As amostras de maçã (1/4 de maçã revestidas) foram avaliadas individualmente sobre a placa de análise, sendo realizadas 3 leituras de pontos diferentes da maçã para cada amostra. Todos os tratamentos foram analisados em triplicata.

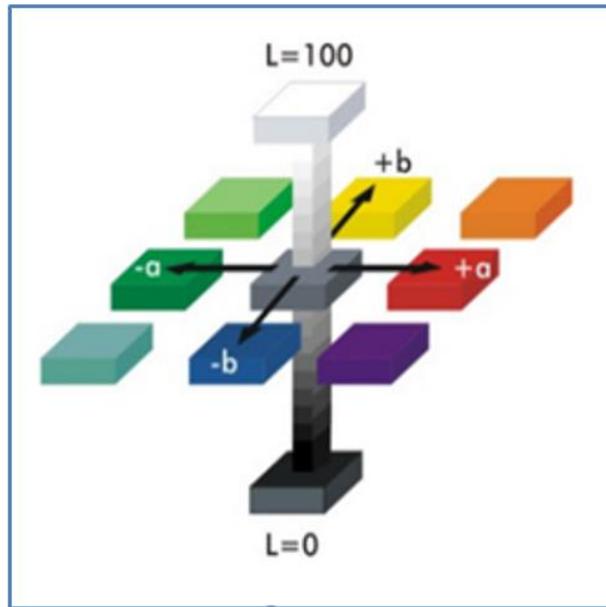


Figura 7. Representação do sistema de coordenadas CIE L* a* e b*.

Com os valores de L*, *a e *b, fez-se o cálculo de:

1) Diferença Total de cor (ΔE^* ou TCD) de acordo com a equação (1):

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad \text{Eq.1}$$

Em que ΔE é a diferença entre cada parâmetro de cor da amostra entre um tempo t (t3,5 e t7 dias) e o tempo inicial (Zero).

2) H (h_u^*) que representa a tonalidade da cor, dada pela equação (2):

$$H = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad \text{Eq.2}$$

3) Chroma, que representa a intensidade e a pureza da tonalidade (3)

$$\text{Chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \text{Eq.3}$$

4) IE que representa o índice de escurecimento pela equação (4)

$$IE = [100(X-0,31)] / 0,172, \quad \text{Eq.4}$$

Em que X é dado pela equação (5)

$$X = (a^* + 1,75L) / (5,645L + a^* - 3,02b^*) \quad \text{Eq.5}$$

Todas as medições foram realizadas nas mesmas condições de luminosidade (luz artificial). Antes de se efetuarem as determinações, o colorímetro foi calibrado com um padrão branco (L^* 97,46, a^* 0,002, e b^* 1,72).

A análise estatística foi realizada de acordo com o delineamento experimental, superfície resposta, onde se comparou os tratamentos. Fez-se também a análise de variância e dos efeitos de interação dos fatores.

4.3.2 Análise de textura

A avaliação da textura foi realizada através do teste de compressão, utilizando-se um texturômetro (TA.XTplus modelo, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra), com uma célula de 5Kg. A sonda utilizada na análise foi a do tipo prato, em inox, com 45 mm de diâmetro (área de contato de $286,5\text{mm}^2$), deslocando-se com velocidade de $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ sobre o corpo de prova da maçã (cubo de maçã com 10 mm de altura por 20 mm largura. Sendo a compressão de 5 mm após contato com a amostra. O tratamento dos resultados foi realizado em software Texture Expert, onde foi calculada a força máxima de compressão (expressa em Newtons) e o trabalho de compressão (expresso em N.s) (Figura 8).

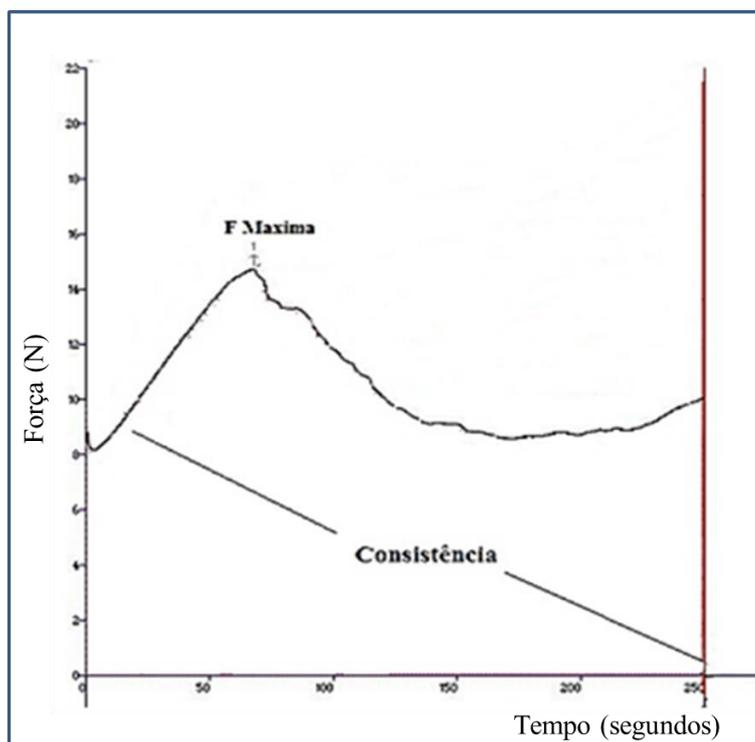


Figura 8. Representação de um texturograma obtido pelo teste de compressão.

4.3.3 Análise de perda de massa

A perda de massa foi avaliada através de pesagens periódicas das amostras de maçã em balança analítica. A perda foi calculada através da diferença em relação da massa inicial dos frutos MP (tempo zero de armazenamento) e aquele obtido em cada intervalo de armazenamento (3,5 e 7 dias), sendo os resultados expressos em percentagem. Os sistemas para o controle de perda de massa foram fixos.

4.3.4 Análise de umidade

O teor de umidade foi determinado pela diferença do valor de massa das maçãs antes de serem colocados em estufa para perda de água e após tal procedimento, sugerido por Yoshida e Antunes (2010) com adaptações. Os corpos de prova da maçã MP apresentavam aproximadamente 5 mm de espessura. As fatias de maçã MP foram levadas a estufa para remoção da água sobre folhas de papel alumínio, decorrido o período de 2:30 (duas horas e meia) a 105°C, as amostras foram retiradas da estufa e acondicionadas em dessecadores contendo sílica gel, para resfriamento por cerca de 40 minutos. Fez-se então a pesagem das amostras em balança contendo 3 casas decimais (Modelo AG 200, Gehaka Ltda - Nessil). Através da diferença entre o peso inicial das amostras e o peso nos tempos de 3,5 e 7 dias, fez-se a determinação da umidade das amostras, sendo estes valores expressos em percentual.

4.3.5 Análise microbiológica dos produtos minimamente processados

As amostras de maçã MP recobertas com o revestimento que apresentaram as melhores características quanto ao manutenção da cor e os controles (0,0% AC e AA e sem revestimento), foram avaliados quanto a presença de mesófilos, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 35 e 45°C. Os tratamentos que foram avaliados microbiologicamente foram os tratamentos T4 (3,0% AC e 2,0% de AA), T3 (0,0% AC e 0,0% de AA) e amostra controle (sem revestimento). Esses tratamentos foram assim selecionados devido ao tratamento T4 ser o que melhor apresentou a característica de manutenção da cor das maçãs aplicadas com solução filmogênica, além disso, selecionou-se a amostra T3 devido a esta amostra apresentar somente a solução filmogênica de proteína de soro de leite, sem a presença dos ácidos.

Para análise de microbiológica 10g de amostra foram transferidas para bolsas estéreis contendo 90 mL de solução de água peptonada 0,1% estéril e homogeneizada em estomacher. A solução foi diluída serialmente em água peptonada 0,1% e as diluições utilizadas para realização das análises microbiológicas pelo método *Spread-Plate*.

4.3.5.1 Contagem padrão de fungos filamentosos e leveduras

A contagem total de fungos filamentosos procedeu pela técnica de espalhamento em superfície, inoculando-se uma alíquota de 0,1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} em triplicata de placas contendo Batata Dextrose Agar – BDA (Potato Dextrose Agar- Acumedia, Michigan-USA), acidificado com ácido tartárico a 10% esterilizado. As placas foram

incubadas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5 dias (APHA, 2001). O resultado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mililitro (mL). A análise microbiológica foi realizada nos tempos de 0 dias e 7 dias de armazenamento.

4.3.5.2 Contagem total de mesófilos.

Procedeu a contagem total de mesófilos procedeu pela técnica de espalhamento em superfície, inoculando-se uma alíquota de 0,1ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} em triplicata de placas contendo Ágar contagem total – PCA (Plate Count Agar-HIMEDIA, Índia), sendo as placas incubadas em câmara de germinação a 45°C por 48 horas. O resultado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mililitro (mL). A análise microbiológica foi realizada nos tempos de 0 dias e 7 dias de armazenamento.

4.3.5.3 Determinação de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia. Coli*.

Para determinação de coliformes 35°C , 45°C e *E. coli* foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). Utilizou-se uma amostra de 10g de maçãs MP, o qual foi diluída em 90 mL de água peptonada a 0,1% estéril (conforme item 4.3.6), 1mL desta solução foi transferido para tubos contendo 9 mL de água peptonada (0,1%), e sequenciou em diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}).

Etapas de análise:

1°) Teste presuntivo: foram inoculadas três alíquotas das três diluições da amostra em uma série de três tubos, contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST – Acumedia, Michigan-USA) e tubos de Durhan por diluição, sendo incubados a 35°C por 24 a 48 horas. Foram considerados tubos positivos para coliformes a 35°C aqueles que apresentarem turvação e formação de gás.

2°) Para confirmação dos coliformes totais e termotolerantes, uma alçada de cada tubo com presença de turvação e/ou gás foi transferido para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB- Acumedia, Michigan-USA) e em tubos contendo Caldo *E. coli* (EC- Acumedia, Michigan-USA), meios seletivos. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24-48h de incubação a 35°C , é considerada confirmativa da presença de coliformes totais. Nos tubos contendo Caldo EC, a confirmação se dá pela formação de gás após 24h de incubação a $45,5^{\circ}\text{C}$ (em banho-maria), e é considerada confirmativa da presença de coliformes termotolerantes.

3°) Os tubos de EC positivos para coliformes termotolerantes são suspeitos da presença de *E. coli*. Para confirmação, uma alçada de cada tubo suspeito é estriada em Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB – Acumedia), meio seletivo diferencial para distinguir *E.coli* dos demais coliformes termotolerantes. O desenvolvimento de colônias indica a presença de *E.coli*. Os resultados são expressos em NMP. g^{-1} de fruto (APHA, 2001).

4.3.6 Determinação de Sólidos solúveis (°Brix)

As medidas do índice de refração e sólidos solúveis foram determinadas utilizando o refratômetro (ABBE - Bio brix). O aparelho foi previamente calibrado com água destilada. As amostras forma maceradas em cadinho, onde com o auxílio de uma pipeta pauster se coletou 1mL do líquido. Para realização da leitura foi inserido no equipamento de 2 a 3 gotas do líquido das amostras maceradas, e procedeu-se a leitura. Este procedimento foi realizado para cada amostra em triplicata.

4.4 Avaliação da Densidade do revestimento

A medida de densidade (ρ) foi determinada, utilizando um Picnômetro de 10 mL. Foram pesadas 10 mL de solução filmogênica usando uma balança analítica com incerteza de $\pm 0,0001$ g. Os resultados foram expressos em gramas por centímetros cúbicos.

4.5 Planejamento Experimental

O modelo experimental utilizado no estudo foi o Small Composite: Draper/Lin Method com uniformidade e precisão. Foram avaliados três fatores neste estudo, Tempo (dias), concentração do ácido cítrico (% m/m) e ácido ascórbico (% m/m) (Tabela 4),

As variáveis respostas (dependentes) avaliadas foram: cor, textura, umidade, atividade de água, sólidos solúveis, perda de massa, índice de escurecimento e microbiologia. Pelo delineamento gerado têm-se três diferentes fatores em três níveis diferentes (-1, 0, +1) para o planejamento experimental SAML COMPOSITE DRAPER/LIN METHOD (Tabela 4). Foram realizados 15 ensaios experimentais (número total de combinações experimentais de acordo com o delineamento), foram gerados quatro pontos fatoriais, seis axiais e cinco pontos centrais. Os níveis das variáveis independentes utilizadas em ordem crescente foram 0,0%, 1,5% e 3,0% para ácido cítrico (AC), 0%, 1,0% e 2,0% para ácido ascórbico e 0; 3,5 e 7 dias de armazenamento.

Tabela 3. Níveis das variáveis do Planejamento experimento do tipo fatorial 2^K.

Trat	Ác Cítrico (AC)%	Ác Ascórbico (AA) %	Tempo (Dias)
T1	-1 (0.0)	+1 (2.0)	-1 (0)
T2	+1 (3.0)	-1 (0.0)	-1 (0)
T3	-1 (0.0)	-1 (0.0)	+1 (7)
T4	+1 (3.0)	+1 (2.0)	+1 (7)
T5	0 (1.5)	0 (1.0)	-1 (0)
T6	0 (1.5)	0 (1.0)	+1 (7)
T7	-1 (0.0)	0 (1.0)	0 (3.5)
T8	+1 (3.0)	0(1.0)	0 (3.5)
T9	0 (1.5)	-1(0.0)	0 (3.5)
T10	0 (1.5)	1(2.0)	0 (3.5)
T11	0 (1.5)	0(1.0)	0 (3.5)
T12	0 (1.5)	0(1.0)	0 (3.5)
T13	0 (1.5)	0(1.0)	0 (3.5)
T14	0 (1.5)	0(1.0)	0 (3.5)
T15	0 (1.5)	0(1.0)	0 (3.5)

Software Statistical Analysis System versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) foi utilizado para a construção do desenho experimental e para a análise dos dados recoletados. As combinações experimentais, além dos cinco pontos centrais, foram replicadas três vezes. Assim, o total de 15 combinações experimentais e 45 medidas experiências foram realizadas. Os valores médios das respostas para cada variável dependente foram calculados para os quatro pontos fatoriais e seis pontos axiais. Os valores de resposta das varáveis aos cinco pontos centrais foram combinados com os valores médios das respostas a outros pontos experimentais mencionadas anteriormente para analisar o resultado utilizando a metodologia de superfície resposta (MRS) (Equação 6). Os modelos de regressão foram desenvolvidos para as respostas e a validação desses modelos foi realizada por ANOVA:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k B_i X_i + \sum_{i=1}^k B_{ii} X_i^2 + \sum_{i>j}^k B_{ij} X_i X_j$$

Eq (6)

Em que: β_0 representa o modelo de interceptação;

B_i , B_{ii} e B_{ij} denotam os coeficientes de regressão da linear, quadrática, e os efeitos bilineares, respectivamente;

k é o número de variáveis ou fatores independentes;

X_i e X_j são as variáveis independentes codificadas.

Foram preparadas tabelas de estimativas de parâmetros de diferentes fatores significativos com seus coeficientes de regressão (estimativas de parâmetros), utilizando a análise de variância, onde os níveis de significância foram avaliados com base no valor F de probabilidade (p) de 0,05.

Os gráficos de superfície resposta, figuras tridimensionais, foram gerados em função das equações de resposta. Os eixos X e Z do gráfico representam quaisquer dois fatores significativos e o eixo Y representa qualquer resposta.

Foi realizada análise de variância (ANOVA) para os modelos e o modelo significantes foram examinados por meio do teste estatístico de média Duncan e Dunnett para determinação de diferenças significativas entre as fontes de variação em resultados experimentais, ou seja, o significado da regressão (SOR), a falta de ajuste (Lack Of Fit), e o coeficiente de determinação múltipla (R^2). Parâmetros com menos de 95% de significância ($p > 0,05$) foram excluídos e adicionou-se o termo de erro.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS-R v.9.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao proceder a análise estatística dos parâmetros, foi observada variação com relação a concentração de ácido cítrico (AC), e que a variação na concentração do ácido ascórbico (AA) não apresentou influência significativa ao nível de 95% para a maioria das análises realizadas, sendo então os valores de ácido ascórbico fixos em 1,0% (m/m), uma vez que este percentual o menor utilizado.

5.1 Análise de Cor

As maiores mudanças que ocorrem na coloração de frutos e vegetais nos primeiros dias de armazenamento se devem ao escurecimento enzimático (COSETENG e LEE, 1987; KIM et al, 1993b.; BRECHT, 1995). O escurecimento que ocorre na superfície dos vegetais minimamente processados (MP), já vem sendo relatado na literatura, sendo este um fator limitante na validade comercial destes produtos (ROLLE e CHISM, 1987; MONSALVE-GONZALEZ et al, 1993; WILEY, 1994).

Foram avaliados os valores encontrados para os parâmetros L^* , a^* , b^* , TCD (ΔE), Chroma, H° e Índice de escurecimento (IE), nas amostras de maçã minimamente processada aplicada com os revestimentos desenvolvidos. O parâmetro L^* está diretamente relacionado com a luminosidade da amostra, uma vez que varia de branco ($L= 100$) à preto ($L= 0$). O maior valor encontrado para L^* foi quando se aplicou o revestimento incorporado

com 3,0% AC e 2,0% AA (T4) ($L^* = 75,30$) o que pode ser evidenciado no gráfico 1, no tempo zero de armazenamento, sendo então observada uma queda em seu valor no decorrer do período de armazenamento, sendo este o principal fator a influenciar na análise.

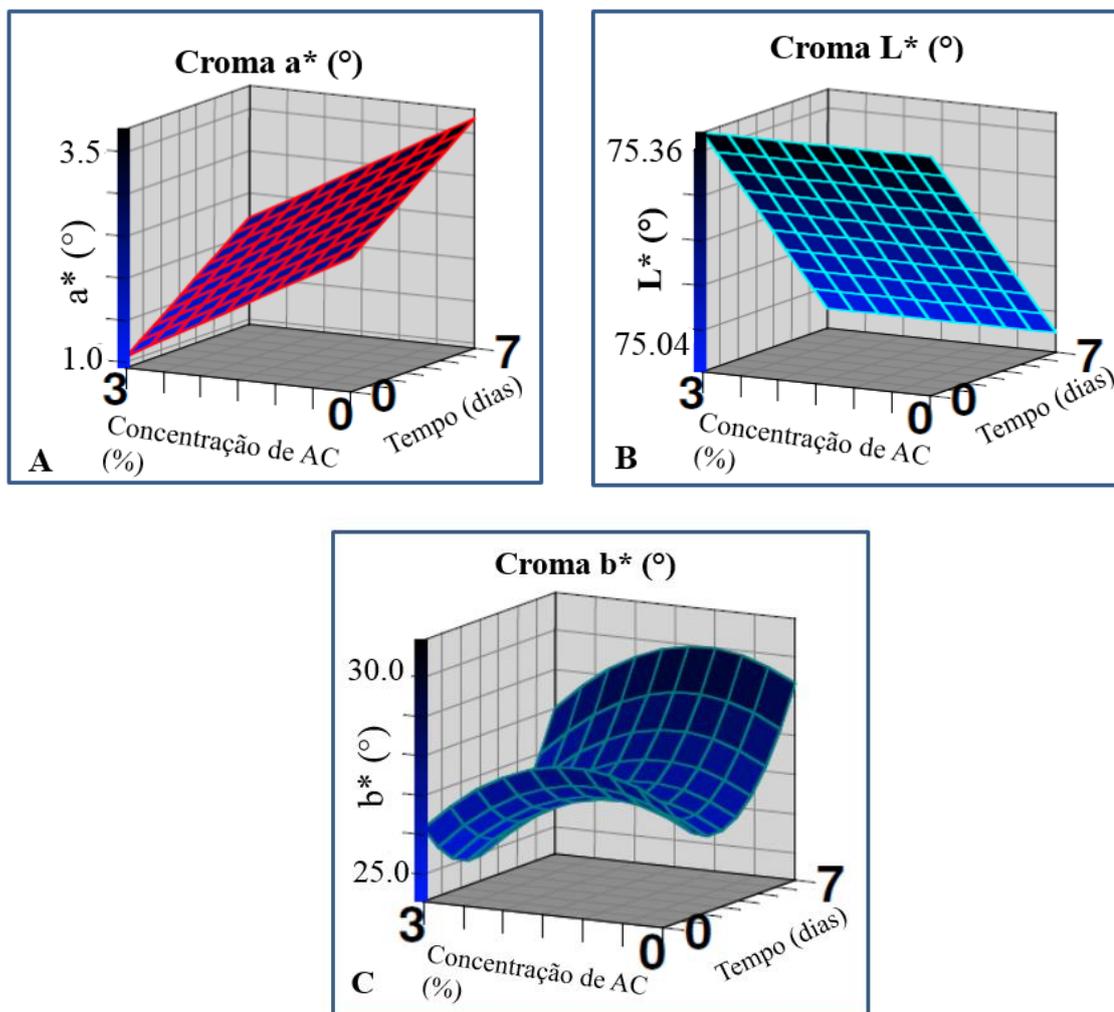


Gráfico 1. Gráficos A B e C de superfície resposta para cor a^* (A), L^* (B) e b^* (C), em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

Assim como para o L^* , a amostra que apresentou melhor eficiência quanto ao valor de a^* (+ a^* = vermelho, e - a^* = verde) foi também a que teve a aplicação do revestimento T4, (Gráfico 1). A concentração de ácido cítrico influenciou no cor a^* , que em concentrações próximas de 3,0% apresentaram o menor valor (em torno de 1,5). O inverso ocorreu para o tempo de armazenamento das maçãs MP, que ao final do período de armazenamento apresentou os maiores valores.

A concentração de AA não apresentou variações significativas no valor de L^* e de a^* .

O parâmetro de cor b^* é representado pelas cores amarela ($+ b^*$) e azul ($- b^*$), sendo o ideal para maçãs que estes valores sejam positivos. Os fatores que influenciaram nos valores de b^* nos tratamentos avaliados foram o tempo de armazenamento e a concentração de AC do revestimento, sendo os maiores valores nas amostras com revestimento contendo concentração de ácido cítrico de 1,5%, e o tempo de armazenamento de 7 dias, ($b^* = 30,0$). Foi observado um aumento do valor de b^* ao longo do período de armazenamento das maçãs MP (Gráfico 1), sendo que em trabalho realizado por Rojas-Graü et al., (2007), avaliando maçãs MP revestidas com solução filmogênica contendo óleo essencial de capim-limão, observaram o inverso, em que o valor de b^* diminuiu no decorrer do período de armazenamento.

A partir dos resultados obtidos na análise quantitativa de superfície resposta, foram selecionadas três tratamentos dos 15 avaliados, que apresentaram as melhores respostas quanto ao parâmetro cor (L^* , a^* e b^*), sendo considerados como melhores os tratamentos T4 e T6 (3% AC + 2% AA; 1,5% AC + 1%AA, respectivamente). O tratamento T3 também foi selecionado, pois sua composição não possui a presença de ácidos, somente a proteína de soro de leite (WPC) e glicerol. Além dos três tratamentos, foi avaliado o tratamento controle (sem revestimento) e o tratamento Zero (maçã MP sem revestimento, processado no ato da análise) (Figura 9).

A partir desses tratamentos, foi realizado o teste de ANOVA para os parâmetros qualitativos, onde foi possível constatar que para o parâmetro L^* há diferença estatística entre os tratamentos ($p < 0,05$), sendo que para o parâmetro a^* não houve diferença ($p < 0,05$). Fazendo a comparação das médias, não houve diferença pelo teste de Duncan a 5% para o parâmetro a^* , entretanto para L^* foi observada diferença entre os tratamentos, sendo que a amostra controle e a amostra T4 foram iguais entre si, e apenas a amostra controle diferiu dos demais tratamentos (T3, T6 e Zero) (Tabela 4). Este fato foi confirmado quando se fez a aplicação do teste (Dunnnett -Alpha de 0,05) nas amostras que diferiram entre si, onde se constatou que as amostras controle e zero, quando comparadas, diferiram entre si.

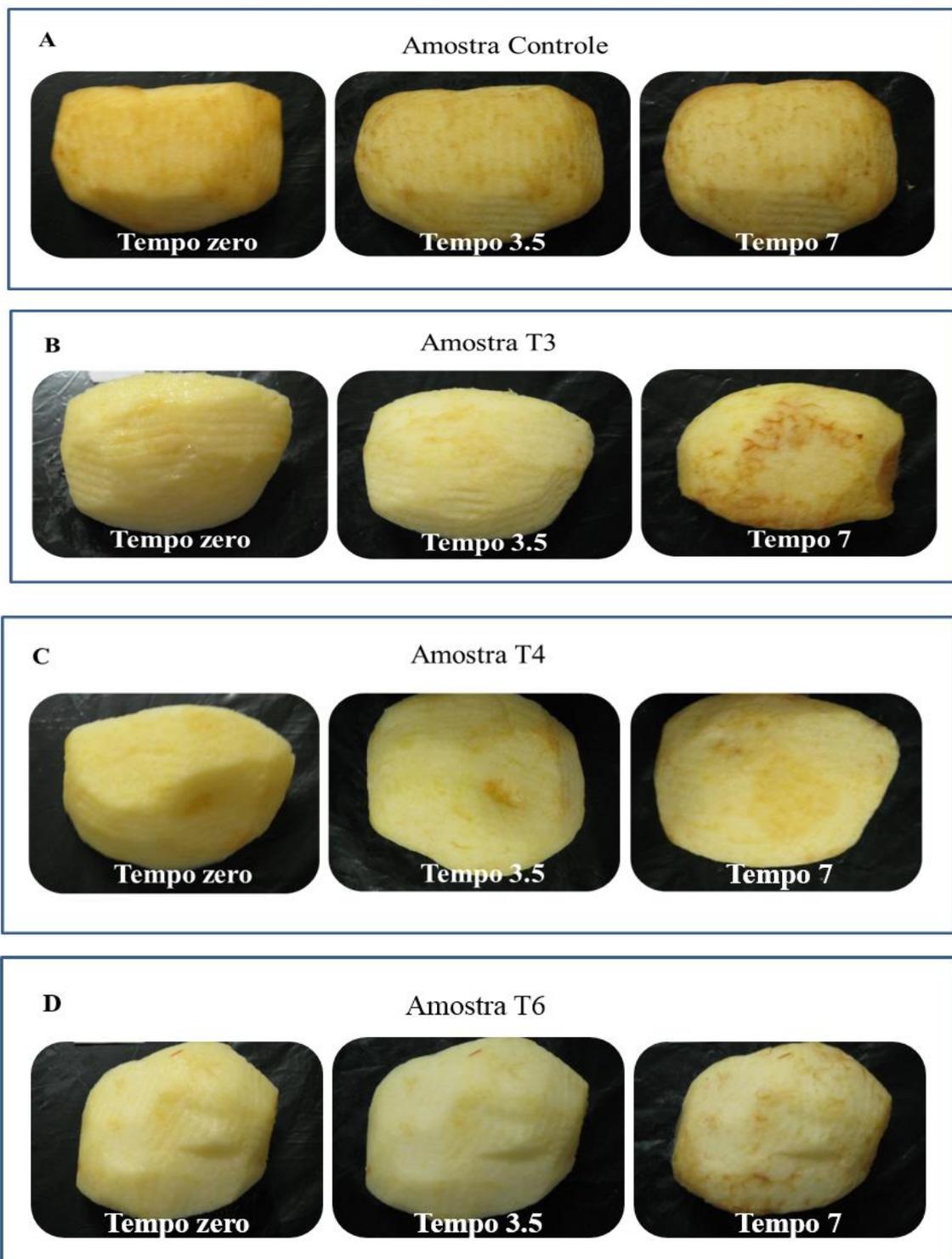


Figura 9. Fotos dos tratamentos selecionados, onde **A:** tratamento controle (sem revestimento) ao longo do tempo de armazenamento; **B:** tratamento T3 (0,0% AC + 0,0% AA); **C:** tratamento T4 (3,0% AC + 2,0% AA); **D:** tratamento T6 (1,5% AC + 1,0% AA).

Tabela 4. Valores médios de *L, *a, *b, diferença total de cor (TCD), °H, Chroma, IE de maçãs MP armazenadas a 8°C após 7 dias, com relação aos tratamentos submetidos.

Tratamento	*L	*a	*b	TCD	°H	Chroma	IE
*Zero	69.98± 1.85 ^A	0.4±0,2 ^A	23,87± 2,42 ^B	81,74± 0,83 ^A	88,84± 0,62 ^A	23,88± 2,42 ^B	35,71± 4,14 ^B
*Controle	78.16± 0.57 ^B	4,0± 0,9 ^A	31,36± 3,74 ^A	76,88± 0,52 ^B	82,96± 2,84 ^B	31,64± 3,93 ^A	61,90± 0,09 ^A
*T3	76.78±4.17 ^A	3.2± 1.4 ^A	31,33± 3,47 ^A	83,09± 2,58 ^A	84,25± 1,93 ^{AB}	31,51± 3,59 ^A	54,38± 0,34 ^{AB}
*T4	75.13±1.05 ^{AB}	2.6± 0.5 ^A	29,18± 0,55 ^{AB}	80,64± 0,86 ^A	84,90± 0,86 ^{AB}	29,29± 0,55 ^{AB}	50,0± 1,77 ^{AB}
*T6	75.98±4.41 ^A	3,6± 3,7 ^A	28,98± 1,43 ^{AB}	81,64± 2,09 ^A	83,58±0,76 ^{AB}	29,30± 1,45 ^{AB}	51,31± 2,21 ^{AB}

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade. *Zero maçã MP no momento da análise sem revestimento; Controle- maçã MP armazenada à 8°C sem revestimento; T3- com revestimento 0% AC+ 0% AA; T4 – com revestimento ativo, 3,0% AC+ 2,0% AA; T6- com revestimento ativo, 1,5% AC+ 1,0% AA.

Considerando o parâmetro *b, não houve diferença significativa entre os tratamentos T4, T6 E Zero, sendo um resultado favorável uma vez que a amostra Zero representa a coloração ideal, sendo esta amostra minimamente processada no ato da análise (Tabela 5).

Resultado similar foi encontrado em trabalhos realizados por Rocha et al. (2003), no qual observaram que após três dias de armazenamento a superfície de batatas MP estavam mais escuras (menor valor de L*) e menos verde (aumento no valor de a* e seu ângulo de tonalidade mais baixo), quando comparado as amostras do tempo de zero dia de armazenamento. Kim et al. (1993b) observaram que devido a danos causados no tecidos de cultivares de maçã houve uma rápida diminuição nos valores de L*, a qual eles assumiram como sendo consequência do escurecimento enzimático.

Segundo Sapers (1987); e Lozano-de-González, Drudis-Biscarri, e Ibarz-Ribas (1993), a taxa de diminuição da luminosidade durante o período de armazenamento, e consequente elevado escurecimento, se deve a diminuição do valor de L* e ao aumento do valor de a*, que pode ser atribuído ao consumo de substratos pelas Polifenoloxidasas (PPOs). Fontes et al. (2008) relataram um aumento nos valores do croma *b de maçãs MP tratadas com diferentes revestimentos, durante o período de armazenamento de 5 dias, o que pode estar associado ao escurecimento, uma vez que apresentaram valores de croma *b mais elevados.

O índice de Chroma observado ao longo dos 7 dias de armazenamento nas maçãs MP aplicadas com revestimento contendo agentes antioxidantes apresentou uma queda entre o período de zero a 3,5 dias, sendo o inverso observado entre o período de 3,5 à 7 dias. Foi constatado que em menores concentrações de ácido cítrico o valor de Chroma era mais elevado, sendo observada uma diminuição deste valor em concentrações mais altas do ácido. Já o inverso foi relatado para a concentração de ácido ascórbico, que em maiores concentrações deste ácido as maçãs MP apresentaram maior valor de Chroma. O aumento no valor de Chroma indica um aumento da intensidade de cor da fruta, que pode ser associado ao escurecimento enzimático (KWOK et al., 1999). Foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) para o chroma (Tabela 4)

Assim como o observado para o parâmetro *b, os valores médios de Chroma nos tratamentos controle, T3, T4 e T6 não apresentaram diferença significativa entre eles, no entanto, os tratamentos T4 e T6 foram semelhantes ao tratamento Zero, o qual apresentou o menor valor de Chroma. Foi observado também que os valores médios dos tratamentos T4 e T6 eram muito próximos, permitindo inferir a proximidade dos tratamentos a cor ideal do produto.

O Índice de Escurecimento (IE) obtido a partir da equação 4, é de extrema importância para maçãs MP, estando ele diretamente relacionado com a aceitabilidade do consumidor por este alimento, uma vez que o que se deseja é consumir alimentos com características mais próximas ao *in natura*. No presente estudo o menor IE observado foi no tempo de 3,5 dias de armazenamento. A concentração de ácido cítrico influenciou diretamente no IE, uma vez que menores valores de IE foram observados quando se aumentava a concentração de ácido cítrico, ao longo do tempo de armazenamento (Gráfico 2), sendo que em concentrações de AC de 3,0%, pode-se observar uma diminuição no IE, o que é desejado, uma vez que quanto menor o IE mais claras são as amostras.

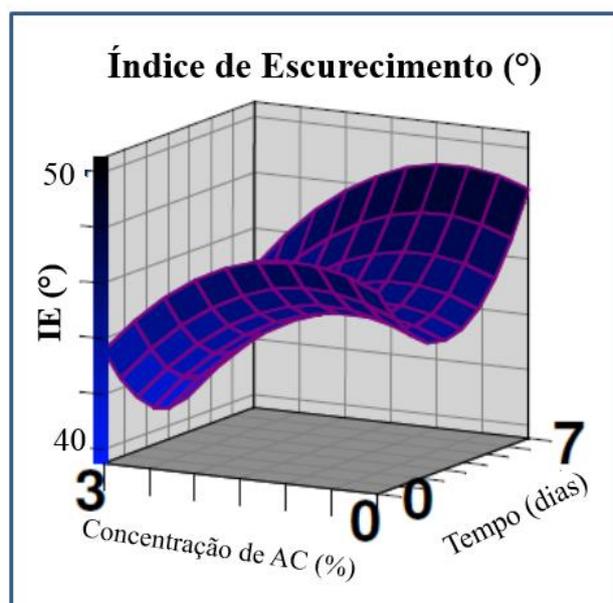


Gráfico 2. Gráfico de superfície resposta do Índice de Escurecimento em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

A partir dos resultados obtidos na análise de superfície resposta, foi realizada a análise de ANOVA nas amostras: controle, Zero, T3, T4 e T6 com o intuito de verificar se havia diferença entre os tratamentos, se aplicou o teste de Duncan, foi constatado que há diferença ($p < 0,05$). A amostra controle apresentou o maior IE (61,907) e a amostra Zero o menor (35,717) (Tabela 4), fato este já esperado uma vez que a amostra controle possuía um tempo de 7 dias de armazenamento, e a amostra zero, foi processada no ato da análise. Foi realizado também o teste de Dunnett, o qual fez a comparação de todas as amostras com a amostra Zero, que seria o meu ideal, no qual não foi constatada diferença estatística entre os tratamentos para o IE, fato este que é muito importante, uma vez que o índice de escurecimento é na maioria das vezes associado a qualidade das maçãs MP e muito utilizado pelo consumidor como parâmetro de compra para estes produtos.

Em trabalho realizado por Cardoso et al. (2007) aplicando sulfito (50 mg/kg) em maçãs desidratadas concluíram o efeito positivo contra o escurecimento, sendo que maiores concentrações de sulfito apresentaram maior grau de brancura. Fontes et al. (2009) constataram que a aplicação de AC a 1% e 2% em batata-doce MP não foi eficiente em retardar o IE em 1 dia de armazenamento. Entretanto, quando Fontes et al. (2009) avaliaram a eficiência do AA (1% e 2%) em inhame MP, obtiveram resultados positivos, sendo o menor valor de IE para o tratamento com 2% AA aos 3 dias de armazenamento.

O parâmetro H° obtido a partir da equação 2, representa a tonalidade da cor, que está diretamente associada ao valor de croma a^* , uma vez que segundo Rocha et al. (2003), quanto menor o valor do ângulo de $^\circ H$ e maior o valor de a^* , mais escura é a amostra. Além disso, de acordo com o sistema CIELAB, se o ângulo estiver entre 0° e 90° , quanto maior este for mais vermelho é o fruto. No presente trabalho, em que houve um aumento nos valores de $^\circ H$ com o

aumento da concentração de ácidos, sendo que o aumento da concentração de ácido cítrico foi o parâmetro que apresentou maior influência, tendo o maior valor do ângulo nas amostras que continham 3% de AC (84,9). Não houve diferença estatística para a variação da concentração de ácido ascórbico (AA), assim como para o tempo de armazenamento sobre os valores de °H. Como foi relatado anteriormente o valor de *a está diretamente associado ao valor do ângulo °H, e foi possível observar uma diminuição nos valores de *a, e um aumento do valor de °H, com o aumento da concentração de AC, podendo então sugerir que o escurecimento enzimático foi menor nas amostras que continham 3,0% AC.

Após a avaliação dos parâmetros quantitativos, foi realizada análises estatísticas qualitativas, sendo elas ANOVA, Duncan e Dunnett, onde pela análise de ANOVA não foi observada diferença estatística entre os tratamentos, no entanto, já pelo teste de Duncan foi possível constatar a diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos do °H entre os tratamentos Controle e Zero, sendo que as demais amostras não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 4).

Cardoso et al. (2007) avaliaram a qualidade de maçãs com adição de diferentes concentrações de sulfito para a manutenção da cor, os resultados mostraram que todas as leituras ficaram próximas de 90°, evidenciando uma tonalidade amarela. Em trabalho realizado por Cortez-Vega et al. (2013) com diferentes revestimentos em mamão MP, observaram que nos tratamentos com goma Tara apresentou o maior valor de °H (103,18°) quando comparado a amostra controle (95,49°).

Segundo Filho et al. (2001), a combinação de agentes antiescurecimento tem se mostrado eficiente no manutenção da cor de vegetais minimamente processados.

A Diferença Total de Cor (TCD) obtido pela equação 1, é um parâmetro que está relacionado a diferença de cor ocorrida em um determinado alimento no decorrer do tempo de armazenamento deste. Ela faz uma associação dos valores de *L, *a e *b, e fornece a variação de cor ocorrida na amostra.

Para avaliação dos parâmetros quantitativos, foi aplicada a análise de superfície resposta, no qual foi possível avaliar se as concentrações dos ácidos cítrico e ascórbico influenciaram na TCD, bem como o tempo de armazenamento. Os resultados mostraram que o aumento na concentração de ácidos não influenciou no valor de TCD, sendo o tempo de armazenamento o fator que apresentou influencia. Pelo Gráfico 3 é possível observar o aumento no valor do TCD está diretamente relacionado com o tempo de armazenamento, sendo o maior valor (83,2) no tempo de 7 dias não diferenciando com as concentrações de ácido cítrico.

Na análise de ANOVA constatou-se diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos para valores médios de TCD, procedeu ao teste de Duncan, onde foi observada diferença significativa entre os tratamentos Zero, T3, T4 e T6 para o tratamento controle. A amostra zero é referência como a ideal, uma vez que as maçãs desta amostra foram processadas no ato da análise, sendo assim as amostras T3, T4 e T6 são semelhantes a amostra zero (ideal) o que pode ser observado na Tabela 5. Para fins de comprovação realizou-se também o teste de Dunnett, em que se fez a comparação da média das quatro amostras com o controle e também com o zero, os resultados confirmaram o teste anterior, onde foi observada diferença estatística das médias das amostras T3, T6 e Zero comparada a controle. Já quando estas mesmas amostras foram comparadas a amostra do tempo Zero (ideal), a única amostra que

apresentou diferença estatística foi a controle, sendo este resultado de extrema relevância uma vez que as amostras T4 e T6 apresentaram diferença para a amostra controle e não diferiram da amostra Zero.

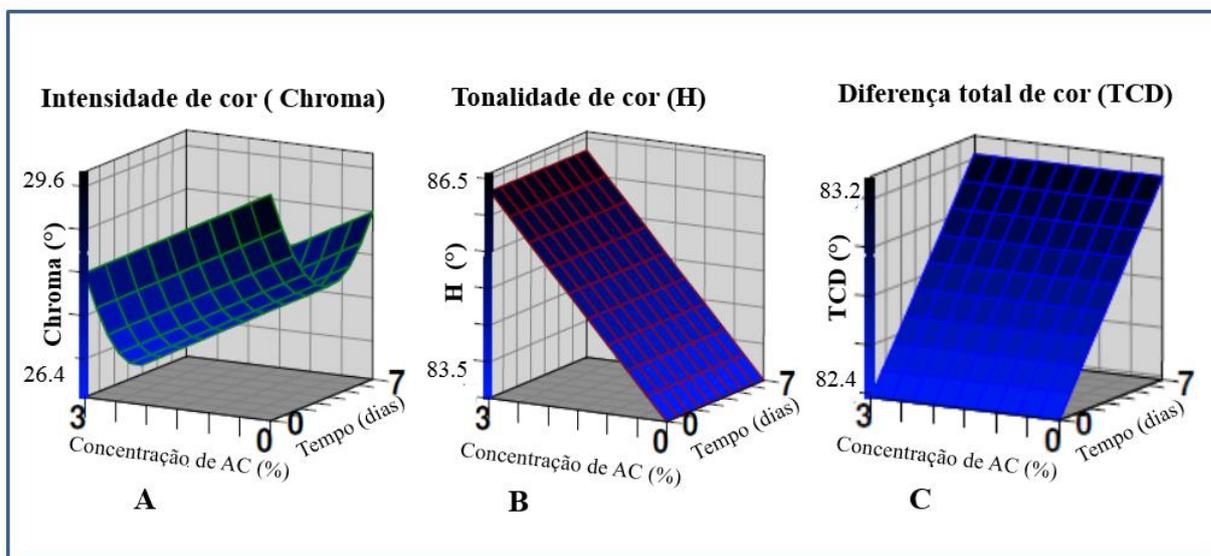


Gráfico 3. Gráfico de superfície resposta da Diferença Total de cor (TDC), Chroma e H° de maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

5.2 Análise de Umidade

Foi observado que quanto menor o tempo de armazenamento das maçãs MP, maior foi a umidade, tendo um decréscimo nos percentuais com o aumento do tempo. Este decréscimo ocorreu entre os tempos zero e 3,5 dias de armazenamento, entretanto o mesmo não foi observado entre os tempos de 3,5 e 7 dias, quando ocorreu uma elevação nos percentuais de umidade (Gráfico 4). Quanto a concentração dos ácidos, não foi observada diferença significativa na variação da concentração de ácido ascórbico, no entanto para o ácido cítrico o mesmo não ocorreu, uma vez que conforme se aumentava a sua concentração, havia um decréscimo na umidade, sendo a maior influência observada nas amostras com concentração de ácido cítrico acima de 1,5%. Acredita-se que a perda de umidade observada ao longo do armazenamento se deve a perda por transpiração e respiração por parte do vegetal, além disso, o acondicionado em potes de polipropileno recoberto com filme de PVC esticável, pode ter gerado um microclima no seu interior, influenciando assim na perda de umidade pelas amostras. O que pode ter ocasionado o aumento da umidade entre os tempos de 3,5 e 7 dias de armazenamento é o fato de que as embalagens em que as maçãs foram acondicionadas recobertas com filme de PVC, impediam a água perdida pelas maçãs por transpiração, de serem completamente removidas, uma vez que elas ficavam retidas no PVC por condensação e retornavam ao alimento.

A partir dos resultados obtidos, fez o teste de ANOVA, apresentando diferença significativa entre as amostras ($F_{cal} = 0,0303$), aplicou-se então o teste de Duncan, para comparação das referidas, sendo observada diferença entre os tratamentos. Os tratamentos zero e controle diferiram, o que também foi confirmado pelo teste de Dunnett onde se fez a comparação entre os dois tratamentos (Zero e Controle), algo que já se era esperado, uma vez que o tratamento controle apresentava um tempo de armazenamento de 7 dias, quando comparado ao tratamento Zero o qual havia sido processado no dia da análise, assim como para os outros tratamentos. É importante relatar que as amostras T4 e T6 não apresentaram diferença estatística para a amostra zero, que representa a umidade inicial da maçã MP (Tabela 5), sendo este resultado de grande importância, uma vez que o que se busca é que as amostras revestidas estejam o mais próximas da amostra Zero a qual representa a amostra *in natura*. Podemos afirmar então que o tratamento com revestimento que manteve as características da maçã MP o mais próxima ao da *in natura* foi a do tratamento T6 (1,5%AC + 1,0%AA).

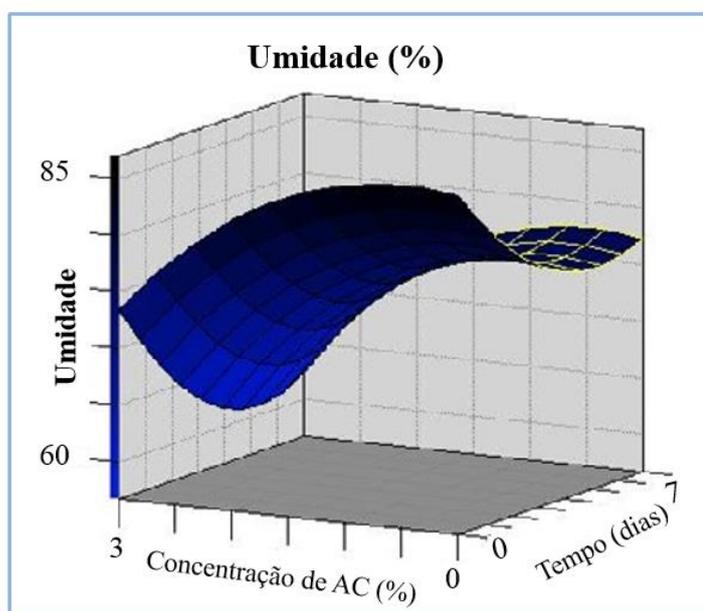


Gráfico 4. Gráfico de superfície resposta da Umidade (%) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) pelo tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

Santana et al. (2012) constatou ao se aplicar revestimento comestível a base de quitina em maçãs MP, que a variação na concentração de quitina influenciou na umidade, tendo um aumento dessa perda nas amostras com maiores concentrações de quitina. Já Fontes et al. (2008) obteve resultados diferentes ao encontrado, ao se utilizar variados revestimentos ativos em maçãs MP, em que observou que no início do armazenamento, o teor de umidade dos tratamentos com coberturas foi geralmente mais elevado, sendo resultado semelhante observado por Olivas et al. (2007) ao se aplicar revestimento a base de alginato em maçãs MP.

Yoshida e Antunes (2009) observaram que filmes proteicos a base de soro de leite eram eficientes quanto a perda de umidade e perda moderada de gases, mantendo sua integridade até o final do armazenamento, sendo resultado parecidos também obtidos por Kim e Ustunol (2001), ao se utilizar proteína isolada de soro de leite.

Tabela 5. Valores médios de umidade, perda de massa de maçãs MP em função dos tratamentos submetidos com revestimentos ativos após 7 dias à 8°C.

Tratamento	Umidade (%)	Perda massa (%)
*Zero	78.871 ± 0,87 ^{AB}	0,0 ± 0,0 ^C
*Controle	64.998 ± 2,65 ^{AB}	17,0 ± 0,007 ^B
*T3	72.796 ± 3,41 ^{AB}	19,8 ± 0,02 ^A
*T4	71.142 ± 4,47 ^B	17,6 ± 0,015 ^{AB}
*T6	71.402 ± 1,30 ^A	16,2 ± 0,016 ^B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade. *Zero maçã MP no momento da análise sem revestimento; Controle- maçã MP armazenada à 8°C sem revestimento; T3- com revestimento 0% AC+ 0% AA; T4 – com revestimento ativo, 3,0% AC+ 2,0% AA; T6- com revestimento ativo, 1,5% AC+ 1,0% AA.

De acordo com estudo realizado por Fontes et al. (2008), no início do armazenamento, o teor de umidade dos tratamento com revestimento, geralmente apresentam-se mais elevados, o que pode indicar que a película estaria evitando a perda de umidade mais acentuada do momento do processamento. Outra hipótese seria o fato de que as películas podem reter em si parte da umidade existente no interior das embalagens de produtos MP, pois são hidrofílicas.

5.3 Perda de Massa

Ao longo do período de armazenamento das maçãs MP foi observada uma perda de massa, podendo estar relacionada com a perda de água por transpiração.

A variação na concentração dos ácidos (AC e AA) não apresentou influencia na perda de massa nas maçãs MP, sendo então o fator limitante para perda de massa nas amostras o tempo de armazenamento, fato que é possível ser observado no Gráfico 5.

Com o aumento do período de armazenamento das maçãs MP tem-se um aumento na perda de massa do produto, passando de 0% no tempo zero para um valor médio de 18% no tempo de 7 dias. Esse aumento na perda de massa pode estar associado a reações metabólicas que ocorrem nas maçãs ao longo do armazenamento, além disso, parte dessa perda pode estar associada a perda de umidade por parte das amostras, o que foi verificado na análise de umidade, em que assim como para perda de massa, verificou-se perda da umidade com o aumento do período de armazenamento dos frutos.

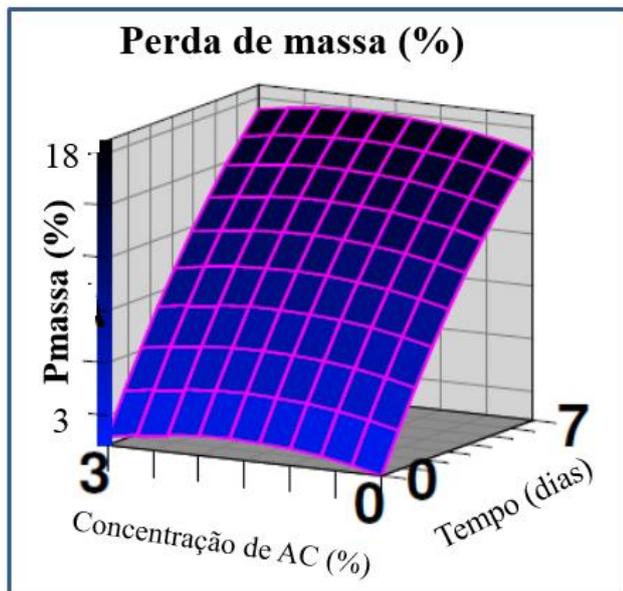


Gráfico 5. Gráfico de superfície resposta da Perda de massa em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

Verificou-se ainda ao aplicar o teste de ANOVA, diferença significativa, com isso procedeu ao teste de Duncan a fim de avaliar diferença entre as amostras, onde se constatou que a perda de massa foi igual entre as amostras T4, T6 e controle, no entanto, a amostra T3 diferiu tanto da amostra controle quanto da amostra T6, sendo a maior perda de massa observado na amostra T3 (19,8%), comparado ao T6 (16,2%) que apresentou a menor perda, dentre as amostras revestidas (Tabela 5). Ao se aplica o teste de Dunnet no qual se comparou as amostras com o tratamento Zero (ideal), foi observada diferença dele com todos os tratamentos. Acredita-se que esta diferença esteja associada à diminuição da umidade das amostras, (Tabela 5), além do aumento na taxa de transpiração que ocorre nos frutos ao passarem pelo processamento mínimo.

Em trabalho realizado por Pagani et al. (2012), foi observada uma maior perda de massa nas amostras controle quando comparado com as amostras de maçã MP recobertas com películas de alginato de sódio no período de armazenamento. Fato também relatado por Hershko e Nussinovitch (1998) com a adição de cobertura à base de alginato em alho *in natura*, o qual apresentou uma redução na perda de umidade durante o período de estocagem.

Senesi e Bignardi (2000) registraram que a adição de película à base de purê de maçã, em pedaços de maçã desidratados reduziu a perda de massa durante a estocagem e melhorou a aparência do produto.

Resultados inferiores de perda de massa foram obtidos por Pizato et al (2013) em que ao se aplicar diferentes revestimentos em maçãs MP, constatou que o menor percentual de perda de massa observado foi ao se aplicar revestimento a base de alginato de sódio, tendo perdas de 5,8% apenas. Entretanto valores mais elevados e próximos ao que encontramos no presente trabalho foram observados também por Olivas, Mattinson e Barbosa-Cánovas (2007) em maçãs MP revestidas com alginato e cloreto de cálcio, onde os melhores resultados obtidos apresentavam 17,8% de perda de massa. Altos valores também foram obtidos no estudo de Qi et al. (2011) em que maçãs minimamente processadas revestidas com quitosana e armazenadas por 8 dias, perderam em média 15% de massa.

De acordo com Fontes *et al.* (2008) a película pode evitar perda de umidade mais acentuada do momento do processamento, e elas também podem reter em si parte da umidade existente no interior das embalagens de produtos MP.

5.4 Textura

Na análise de textura foi observada que o tempo de armazenamento foi o que mais influenciou nas maçãs, no entanto uma pequena influência foi observada quanto a concentração de ácido cítrico (AC).

Foi observado que com o aumento do tempo de armazenamento das maçãs MP houve uma diminuição da textura (firmeza), sendo que no tempo de zero dias, a maioria das amostras apresentaram valores próximos de 24 N (Gráfico 6). As amostras recobertas com revestimento contendo com concentrações de 1,5% AC foram as que apresentaram os menores valores de firmeza no tempo zero de armazenamento, sendo o mesmo observado no tempo de 7 dias, com valores de firmeza abaixo de 16 N (Gráfico 6), acredita-se que isto se deva a variabilidade biológica das maçãs. Os maiores valores de firmeza foram os encontrados nas amostras tanto com 0% AC quanto com 3,0% AC no tempo de zero dias de armazenamento. A concentração do ácido ascórbico (AA) não teve muita influência na firmeza das maçãs MP.

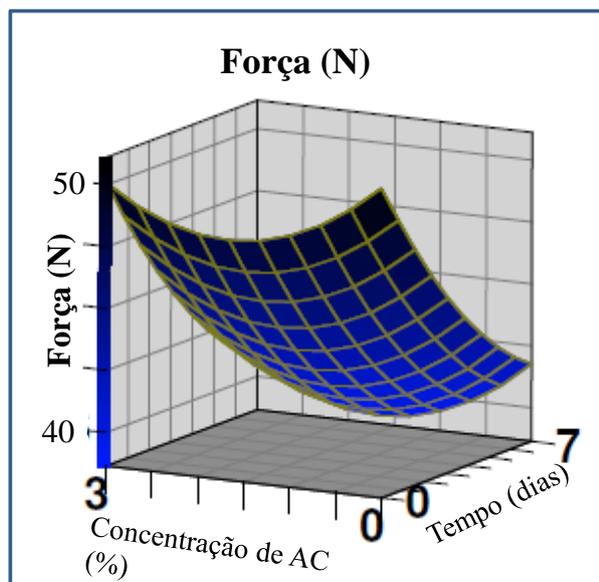


Gráfico 6. Gráfico de superfície resposta de Textura (Text) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

Ao se comparar as amostras T3, T4 e T6 (0% AC + 0%AA; 3% AC + 2% AA, e 1,5% AC + 1%AA, respectivamente) com as amostras controle (sem solução filmogênica) e a amostra Zero (maçã MP sem revestimento processado no ato da análise), pelo método estatístico da ANOVA foi observada diferença estatística ao nível de 95%. Aplicou-se o teste de Duncan, para comparação das referidas amostras, sendo encontrada diferença ($p < 0,05$) entre elas.

As amostras T4 e T6 diferiram das amostras Controle, Zero e T3, o que sugere que a presença de ácidos nas soluções interferiu de forma negativa na textura das maçãs MP revestidas podendo ter havido uma interação dos ácidos com componentes químicos da maçã, fazendo com que estas apresentassem uma menor firmeza e perda na qualidade das maçãs. O resultado foi confirmado ao se aplicar o teste de Dunnett, que comparou cada amostra individualmente com a amostra controle e com a amostra Zero, podendo então se constatar que tanto a amostra T4 como a amostra T6 diferiram da amostra Zero (ideal) como da amostra controle, resultado este que pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6. Valores médios textura e sólidos solúveis das maçãs MP em relação ao tratamento submetido com revestimentos ativos.

Tratamento	Textura (N)	Sólidos solúveis
*Zero	19,150 ± 0,73 ^A	12.33 ± 1,60 ^A
*Controle	19,682 ± 0,24 ^A	14.50 ± 0,00 ^A
*T3	20,096 ± 1,91 ^A	13.16 ± 0,28 ^A
*T4	15,665 ± 1,86 ^B	14.33 ± 1,52 ^A
*T6	13,478 ± 0,38 ^B	15.00 ± 2,64 ^A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade. *Zero maçã MP no momento da análise sem revestimento; Controle- maçã MP armazenada à 8°C sem revestimento; T3- com revestimento 0% AC+ 0% AA; T4 – com revestimento ativo, 3,0% AC+ 2,0% AA; T6- com revestimento ativo, 1,5% AC+ 1,0% AA.

Assim como o constatado por Cortez-Veja et al (2013) e por Pizato et al. (2013) e no presente trabalho, foi observada uma diminuição significativa na firmeza das amostras, com o aumento do período de armazenamento. Este comportamento pode ser explicado pela hidrólise dos ácidos pécticos da parede celular ocasionada pela ação das enzimas pectinases, celulase, β-galactosidase e glicosidases (CHITARRA, 1999; SOUZA; DURIGAN, 2007), e também pela ação da poligalacturonase (FONTES, 2005).

Resultado contrário foi observado por Fontes et al (2008) ao se aplicar revestimentos a base de dextrina e amido de mandioca, em que essas amostras apresentaram um aumento na firmeza ao longo do tempo de armazenamento, fato que pode ser explicado pela características de retrogradação destes compostos.

Acredita-se que a firmeza também foi influenciada pela perda de massa, pois com o aumento da perda de massa houve uma diminuição da firmeza das maçãs MP, este resultado difere do encontrado por Souza et al. (2005) e Cortez-Veja (2013), que constataram que o aumento da perda de massa proporcionou um aumento da firmeza de mamão MP, assim como a perda de umidade promove a formação de um tecido superficial mais resistente. Além dos ácidos, outro fator que pode ter influenciado na diminuição das firmeza nestes tratamentos é o percentual de umidade observado nestas amostras (T4 e T6) que foram baixos (Tabela 6), quando comparado aos demais tratamentos

5.5 Sólidos Solúveis (°Brix)

O conteúdo de sólidos solúveis é um parâmetro que mede o percentual de sólidos solúveis (SS) presentes em um alimento, este parâmetro também está diretamente associado a doçura do produto. Espera-se que quanto maior o valor de sólidos solúveis totais (SST) a tendência é que o alimento seja mais doce devido a presença de açúcares. Na análise dos sólidos solúveis foi constatado que não houve influência da concentração dos ácidos, uma vez que em diferentes concentrações de ácido cítrico quanto de ácido ascórbico o valor de SST permaneceu constante. No entanto o mesmo não ocorreu para o tempo, em que foi observado um aumento gradual de SST entre os tempos de zero e 3,5 dias de armazenamento, sendo no tempo de 3,5 dias o que apresentou maiores valores, acima de 16,0 °Brix. É possível que este aumento no teor de sólidos solúveis tenha ocorrido devido a reações metabólicas que ocorrem ao longo do período de armazenamento das maçãs. Entretanto o mesmo não ocorreu entre os tempos de 3,5 e 7 dias de armazenamento, em que foi observada uma diminuição percentual do teor de sólidos solúveis totais (SST) (Gráfico 7).

O aumento observado nos sólidos solúveis totais até o 3,5 dia em maçãs pode estar relacionado ao acúmulo de açúcares pela perda da umidade (COSTA; BALBINO, 2002), já a partir do 3,5 dia houve redução, este comportamento pode estar associado ao consumo de açúcares, devido ao aumento no metabolismo respiratório da maçã levando a hidrólise do amido e consumo de açúcares, e ao crescimento de micro-organismos. Entretanto tais fenômenos ocorrem, simultaneamente, com diferenças de intensidade dependendo do período (PIZATO et al, 2013).

Comparando as amostras T3, T4 e T6 (0% AC + 0%AA; 3% AC + 2% AA, e 1,5% AC + 1%AA, respectivamente) com as amostras controle (sem revestimento) e a amostra Zero (maçã MP sem revestimento processado no ato da análise), pelo método estatístico da ANOVA, foi observado que não houve diferença estatística ao nível de 95% de probabilidade entre as amostras.

No presente trabalho, foi observada uma variação no teor de sólidos solúveis ao longo do tempo de armazenamento, entretanto, resultados diferentes foram obtidos por Botrel et al. (2010) ao se aplicar revestimento ativo de amido em pêra MP, onde não foi observada diferença significativa entre as amostras ao longo do tempo de armazenamento. Em trabalho realizado por Fontes et al. (2008) utilizando diversos revestimentos observou uma diminuição no teor de SS nas amostras de maçã, entretanto o mesmo não foi observado nas amostras tratadas com solução conservadora contendo AC e AA.

Contudo, no presente trabalho não foi observada diferença ($p < 0,05$) entre as amostras, como já relatado, sendo o mesmo observado por Olivas et al (2007) e Bett et al (2001) ao revestir maçãs com alginato de sódio, não sendo observada diferença entre os tratamentos, e tendo valores médios de 13,7° Brix, sendo estes valores bem próximos ao valor médio encontrado no presente trabalho (13,86° Brix). Outros autores também citaram valores próximos ao encontrado, como por exemplo Silva et al. (2002), que encontraram valores variando entre (11,7 e 15,1° Brix) em pera (*Pyrus communis* L.).

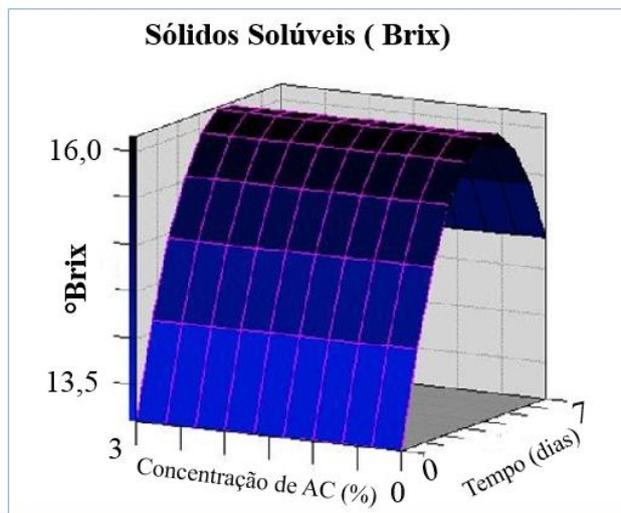


Gráfico 7. Gráfico de superfície resposta de Sólidos Solúveis (°Brix) em maçãs MP em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

5.6 Densidade dos revestimentos

Foi possível observar que tanto o tempo de armazenamento quanto a concentração de ácidos influenciaram no aumento da densidade da solução filmogênica (revestimento). Para a concentração de ácido ascórbico, foi constatado que o aumento de 0% a 1% na concentração teve influência no aumento da densidade, bem como para o ácido cítrico onde também com o aumento de sua concentração (1,5% para 3,0%) aumentou da densidade do revestimento. Pode-se sugerir desta forma que os revestimentos que apresentam maior densidade, são os que possuem a concentração de AC de 3,0% e de AA de 1,0%, no tempo de 7 dias. É possível que com o aumento da densidade da solução, ela apresente uma melhor aplicabilidade sobre o produto, que é uma característica muito favorável dos revestimentos (Gráfico 8).

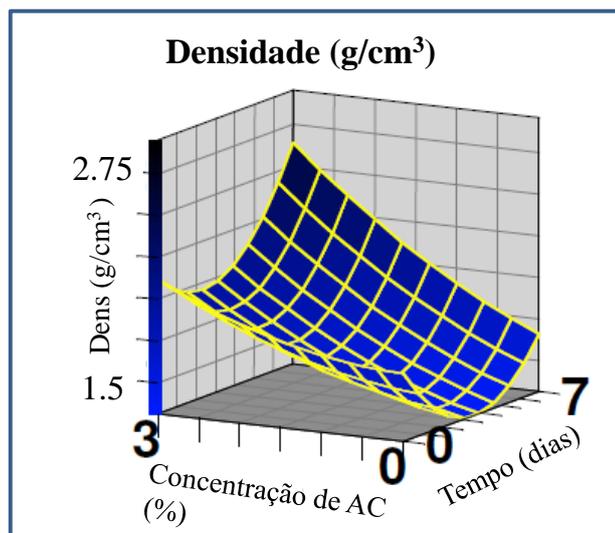


Gráfico 8. Gráfico de superfície resposta de Densidade (g/cm^3) das soluções filmogênicas em variadas concentrações de ácido cítrico (AC) e fixo o ácido ascórbico (AA) em 1%, no tempo de armazenamento de 0 a 7 dias.

5.7 Análise Microbiológica

A segurança microbiológica de alimentos é assegurada pela implementação de estratégias de prevenção, tais como práticas de higiene e Análise de Perigos e Pontos Crítico de Controle (AHPPCC) de forma que o alimento atenda aos critérios microbiológicos estabelecidos pela legislação (COCOLIN e UYTENDAELE, 2011). Um dos parâmetros que influenciam na qualidade dos vegetais MP é a temperatura de armazenamento. Dados da literatura recomendam diferentes valores de temperatura, tais como $2-5^\circ\text{C}$ (FRANCIS, THOMAS e O'BEIRNE, 1999), ou inferior a 5°C (CHITARRA, 2000) e 4°C (ROSA, 2002), entre outros. No Brasil a temperatura máxima de armazenamento recomendada para vegetais minimamente processados é de $7^\circ\pm 1^\circ\text{C}$, o que é suficiente para manter a qualidade e a segurança microbiológica desses produtos, sob rigorosas condições de higiene, até o prazo de 6 dias de armazenamento, ou seja, o prazo de validade comercial comum destes no Brasil.

5.7.1 Contagem de mesófilos e fungos filamentosos e leveduras;

Na análise de contagem microbiana tanto para mesófilos como para fungos filamentosos, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos avaliados (T3, T4 e controle). No entanto, assim como para fungos filamentosos, para mesófilos ainda não estão estabelecidos na legislação brasileira os limites máximos de presença em frutas e produtos minimamente processados, com isso tomou-se como referência o conceito geral de contagem, no qual alimentos com contagem microbiana acima de 10^5 ou 10^6 UFC/mL são

considerados impróprios ao consumo humano (VERZELETTI, FONTANA e SANDRI, 2010). Os valores médios encontrados podem ser observados na Tabela 7.

Desta forma, tendo como referência o valor máximo de contagem de 10^5 UFC/mL, foi realizada a comparação deste valor com os valores de contagem obtidos para os tratamentos, onde se constatou que o tratamento T4 foi eficiente no controle de mesófilos, assim como para fungos filamentosos e levedura, e tendo a presença dos microrganismos dentro do permitido, até o período final de armazenamento avaliado (7 dias) (Tabela 8).

As contagens microbianas mais elevadas, foram observadas para o tratamento T3, sendo para mesófilos e fungos filamentosos, $1,5 \times 10^8$ e $2,08 \times 10^7$ UFC/mL, respectivamente, no tempo de 7 dias de armazenamento. O desenvolvimento microbiano no T3 foi estatisticamente maior, até mesmo quando comparado ao tratamento controle. Este fato pode ser explicado pela ausência de ácidos neste revestimento, uma vez que o tratamento T3 apresentava em sua composição somente proteína de soro de leite (WPC), glicerol e água, não havendo agentes antimicrobianos. Já o tratamento T4 apresentou menor contaminação tanto para fungos filamentosos como para mesófilos, estando estes valores abaixo do valor tomado como referência (Tabela 8). Outro fato que pode estar associado à elevada contagem microbiana no tratamento T3 é a presença do WPC, que pode estar servindo de substrato para os microrganismos se desenvolverem, o que nos leva a afirmar que o revestimento sem os ácidos atuam de forma negativa na manutenção da qualidade de maçãs MP.

Pode-se afirmar então que o uso de revestimentos a base de proteína de soro de leite incorporado com ácido cítrico e ácido ascórbico possuem ação antimicrobiana quando aplicados sobre maçãs MP, sendo que a ausência desses ácidos no revestimento indicaram uma ineficiência neste controle. Fato este que já foi relato por diversos autores como Rojas-Grau (2007) que ao se aplicar revestimento ativo comestível a base de alginato e purê de maçã incorporado com óleos essenciais (orégano, erva-doce e vanilla) aplicados em maçãs, foram eficientes tanto no controle de bactérias psicrófilas como para fungos filamentosos e leveduras, durante um período de 21 dias de armazenamento. Entretanto, o mesmo não foi observado quando se aplicou este mesmo revestimento sem os óleos essenciais, não apresentando o revestimento por si só ação antimicrobiana.

Em trabalho realizado por Von et al. (2006), com pêssego minimamente processado armazenados a 4°C foi observado que a contagem total de mesófilos foi menor que 25 log de UFC/mL até o período de 7 dias de armazenamento. No entanto Benítez (2013), em trabalho com Kiwis MP revestidos com solução filmogênica contendo Aloe vera, encontrou uma diminuição da contagem total de mesófilos com o aumento da concentração de Aloe vera, sendo observados valores de $1,83 \log \text{ UFC.mL}^{-1}$.

Segundo Lee et al. (2003) o uso de revestimentos ativos acrescidos de agentes anti-escurecimento como o ácido cítrico, ácido oxálico e ácido ascórbico em maçãs MP, foram eficientes no controle de mesófilos e psicrófilo, apresentando contagem não superior a 10^4 UFC/mL enquanto que nas amostras sem revestimento a contagem foi superior a 10^6 , sendo que em contagens microbianas a partir de 10^6 há a possibilidade de produção de substâncias tóxicas, sendo impróprias ao consumo. Revestimentos a base de Carboximetilcelulose acrescidos de conservantes e acidulante apresentaram efeito sinérgico no controle do crescimento microbiano de fatias de maçã (BALDWIN, NISPEROS-CARRIEDO, CHEN, e HAGENMAIER, 1996).

Tabela 7. Contaminação microbiana por Fungos filamentosos, Leveduras e Mesófilos em maçãs MP tratadas com revestimentos ativos ao longo de 7 dias de armazenamento.

Tratamento	Armazenamento (dias)		
	Zero	3,5	7.0
Fungos filamentosos e Leveduras (UFC/mL)			
Referência	10^5 e 10^6		
Controle	$11,3 \times 10^1$	$24,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^6$
T3	$3,33 \times 10^2$	$3,33 \times 10^4$	$20,8 \times 10^6$
T4	$1,6 \times 10^1$	$3,6 \times 10^3$	$1,70 \times 10^6$
Mesófilos (UFC/mL)			
Referência	10^5 e 10^6		
Controle	$2,66 \times 10^2$	$2,73 \times 10^4$	$2,96 \times 10^6$
T3	$2,16 \times 10^4$	$10,7 \times 10^4$	$1,5 \times 10^8$
T4	$6,2 \times 10^4$	$6,6 \times 10^4$	$8,0 \times 10^5$

Controle- sem revestimento; T3- revestimento sem ácidos; T4- revestimento com 3,0% AC e 2% AA. *Referência de Verzeletti, Fontana e Sandri, 2010.

Howard e Dewi (1995) utilizaram um revestimento à base de celulose comestível, em cenouras minimamente processadas e investigaram a qualidade microbiana durante o armazenamento a 2°C, não sendo usados agentes antiescurecimento. Constatou-se neste estudo que revestimentos comestíveis a base somente de celulose, não possuem qualquer efeito sobre a melhora na qualidade microbiológica de cenouras MP revestidas quando comparadas as não revestidas.

Em trabalho realizado por Rojas-Grau et al (2008) utilizando revestimentos comestíveis a base de polissacarídeos e óleo de girassol em maçãs MP puderam constatar que o uso destes revestimentos foi eficiente no controle microbiológico, tendo uma redução na contagem inicial de mesófilos no período de 7 dias de armazenamento, sendo esta redução maior nas amostras revestidas com alginato.

5.7.2 Contagem de Coliformes Termotolerantes (45°C) e Coliformes Totais (35°)

De acordo com a RDC 12/2012 (ANVISA) a contagem de coliformes termotolerantes (45°) e coliformes totais (35°) para frutas minimamente processadas tem como valor máximo de 5×10^2 UFC/mL de amostra. Os resultados obtidos nesta análise mostraram que os valores máximos de contagem de coliformes (45°) foi de 9,5UFC/ml para todas as amostras nos tempos de análise (zero e 7 dias), já para coliformes 35° o valor máximo de contagem foi de 9,6UFC/ml de amostra no tempo de zero dias e, para 7 dias o valor máximo foi de 9,5UFC/ml (Tabela 9).

Tanto para a análise de coliformes 45° como para coliformes 35° os valores de contagem microbiana máxima obtida nas maçãs MP foi muito abaixo que o permitido pela legislação, sendo um fato de extrema importância, uma vez que indica que o processamento das maçãs foi realizado em condições higiênicas sanitárias ótimas, seguindo as normas estabelecidas pela ANVISA (BRASIL, 2001), e que ao final do período de armazenamento não houve proliferação dos microrganismos.

Assim como o encontrado no presente trabalho, o mesmo foi observado por Cortez-Veja et al. (2013) e por Trigo et al (2012), que ao aplicar um revestimento a base de goma xantana em mamão MP, onde constataram que a contagem tanto para coliformes totais como para termotolerantes para todos os tratamentos avaliados foi menor que 10^2 UFC/mL, valor máximo estabelecido pela legislação.

Em trabalho realizado por Pizato (2013), avaliando diferentes tipos de revestimentos comestíveis aplicados em maçã MP da variedade Gala constataram também a sua eficiência no controle de coliformes totais, não sendo detectada sua presença nas amostras de maçã revestidas.

Resultados similares foram encontrados por Rocha et al. (2003) com batatas MP revestidas com solução filmogênica de quitosana contendo ácido cítrico e ácido ascórbico, observaram valores de contagem de coliformes 45° abaixo do estabelecido pela legislação, durante um período de 6 dias de armazenamento, o que sugere a eficiência dos ácidos cítrico e ascórbico no controle microbiano, assim como o observado no presente trabalho. O mesmo não foi observado quando se utilizou revestimentos a base de alginato de sódio também por Rocha et al (2003), acrescido de lactato de cálcio, em que este apresentou contagem de $2,1 \times 10^2$ UFC/mL, mesmo este valor estando dentro da faixa permitida pela legislação, o valor encontrado estava muito próximo o que indica uma possível má qualidade higiênica sanitária no processamento.

5.7.3 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma bactéria considerada como um indicador higiênico sanitário em alimentos processados, em que de acordo com a RDC 12/2012 (ANVISA, 2012), sua presença em alimentos indica contaminação do tipo fecal, o qual é inaceitável mesmo em pequenas quantidades, uma vez que pode acarretar problemas ao consumidor.

Foi constatado tanto para a amostra T3, T4 quanto para controle, ausência total de *E. coli* nos tempos de armazenamento (zero e 7 dias) (Tabela 9), sendo que para fins de confirmação fez-se a inoculação do micro-organismo ativo em placas de Eosina Azul de Metileno, obtendo assim a prova positiva.

Resultados semelhantes forma encontrados por Pizato et al (2013) em maçãs com diferentes revestimentos comestíveis, assim como Durango et al (2006) em cenouras minimamente processadas, sendo nos dois constatada a ausência de *E. coli* ao longo do período de armazenamento.

Tabela 8. Avaliação de coliformes termotolerantes (45°C) e Coliformes Totais (35°C) em maçãs MP tratadas com revestimentos ativos ao longo de 7 dias de armazenamento.

Tratamento	Armazenamento (dias)	
	Zero	7
Coliformes a 35°C (UFC/mL)		
Legislação	5x10 ²	
Controle	9,5	9,5
T3	9,6	9,5
T4	9,5	9,5
Coliformes 45°C (UFC/mL)		
Legislação	5x10 ²	
Controle	9,5	9,5
T3	9,5	9,5
T4	9,5	9,5
<i>Escherichia coli</i>		
*Legislação	Ausência	
Controle	Ausência	Ausência
T3	Ausência	Ausência
T4	Ausência	Ausência

*Legislação: Resolução RDC 12 de 02/01/2001- ANVISA. Controle- sem revestimento; T3- revestimento sem ácidos; T4- revestimento com 3,0% AC e 2% AA.

6 CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível verificar a influência dos revestimentos ativos, adicionados de ácido cítrico (AC) e ácido ascórbico (AA) no que se refere ao manutenção da coloração das maçãs minimamente processadas (MP), possibilitando assim o aumento na validade comercial deste produto.

Os percentuais das combinações de AC e AA que apresentaram a maior eficiência para os parâmetros avaliados, tendo como o principal parâmetro a cor das amostras, são os tratamentos T4 (3,0% AC + 2,0% AA) e T6 (1,5% AC + 1,0% AA).

Para as avaliações microbianas nas amostras de maçã MP, verificou-se a ausência de *Escherichia coli*, e para as contagens de mesófilos, fungos filamentosos e leveduras, coliformes termotolerantes e coliformes totais, as contagens encontradas encontravam-se dentro do permitido, ao longo do período de 7 dias de armazenamento sob refrigeração. Desta forma pode-se concluir que as maçãs MP revestidas com as soluções filmogênicas ativas formadas por proteínas do soro de leite (WPC) contendo AC e AA são eficientes no controle microbiano nestas frutas, indicando que as maçãs estão aptas a comercialização.

Quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados, a variação na concentração dos ácidos (AC e AA) influenciou no resultado da maioria deles, em que para as análises de umidade, perda de massa e Brix a amostra que apresentou os melhores resultados foi a amostra T6, a qual continha. No entanto para a análise de textura esta amostra não apresentou resultados tão positivos. Para a análise atividade de água (Aa), não foi observada influência da concentração dos ácidos, embora tenha sido observada influência do tempo de armazenamento.

Pode-se então afirmar que o uso da combinação dos agentes antiescurecimento, ácido cítrico e ácido ascórbico, na concentração de 1,5% de AC e 1,0% de AA (T6), incorporados em revestimento a base de WPC, foi o mais eficientes no manutenção da coloração das maçãs MP revestidas, além de manter a maior parte das características físico-químicas estudadas próximas ao estado natural, sendo o ideal, como se houvesse acabado de ser processadas, por um período de até 7 dias de armazenamento, desta forma, aumentando a validade comercial deste produto.

Sugere-se que em experimentos futuros se realize o estudo das características de qualidade nas maçãs MP tratadas com o revestimento ativo T6 (6,0% de WPC + 1,5% AC e 1,0% AA), por um período de armazenamento maior e também que este seja avaliado para outros produtos. Além disso, sugere-se que sejam realizadas as análises microbiológicas de presença de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*, uma vez que estas análises são também exigidas segundo as normas da ANVISA.

De acordo com os resultados encontrados, podemos concluir que os revestimentos ativos a base de WPC incorporado com AC e AA possuem grande potencial de utilização na indústria de alimentos MP, no que se refere a satisfazer as necessidades do consumidor por produtos de qualidade, aumentando sua validade comercial, uma vez que estes produtos apresentam curto tempo de comercialização. Além disso, a uso deste revestimento diminuirá as perdas geradas pela rápida diminuição da qualidade destes produtos, gerando um aumento no período comercial e melhora na qualidade de vida do consumidor.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRE. ASSOCIAÇÃO Brasileira de Embalagens. **Dados de mercado 2011**. Disponível em : http://www.abre.org.br/centro_dados.php. Acessado em 06 out. 2013.
- AGUAYO, E.; Escalona, V.H.; Artés, F.; **Efeito do tratamento com água quente e vários sais de cálcio na qualidade de melão minimamente (*Amarillo*)**. *Biologia e Tecnologia Pós-Colheita*, v.47, pp 397-40, 2008.
- ALLEONI, A.C.C.; JACOMINO, A.P.; ROSA, A.S. **Recobrimento de laranja 'Pêra' com filme de concentrado proteico de soro de leite associado a plastificantes**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, 41(8): 1221-1226, ago. 2006.
- APHA (American Public Helth Association), **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. (4 ed). Washington. 2001. 676p.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. (3 ed) Editora UFV, Brasil. 2006. 478p.
- ARTÉS, F. **Panorâmica actual de la Postcosecha Hortofrutícola y de los Productos Vegetales Mínimamente Procesados**. In: Curso Internacional De Tecnologia Postcosecha Y Procesado Mínimo Hortofruticola, 2., 2008, Cartagena, Espanha. [Cartagena: UPCT, 2008.
- ASSIS, O. B. G. **Filmes Comestíveis: uma tecnologia emergente**. *Food Ingredients*, São Paulo, p. 24-26, 2006.
- ARGENTA, L., MATTHEIS, J. **Impacts of ionizing radiation of volatile production by ripening gala apple fruit**. *J. Agric. Food Chem.* 49, 254–262, 2001.
- ASSIS, O. B. G. **O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas**. Odílio Benedito Garrido Assis, Douglas de Britto, Lucimara Aparecida Forato. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 23 p. 2009.
- AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. **Embalagens ativas para alimentos**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 20. n. 3, p. 337-341, 2000.
- BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. **Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 35, n. 6, p. 509-524, 1995a.
- BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; CHEN, X.; HAGENMAIER, R. D. **Improving storage life of cut apple and potato with edible coating**. *Postharvest Biology and Technology*, New York, v. 9, n. 2, p. 151-163, 1996.
- BARROS, S. M.; GOES, Á. de; MINAM, K. Condições de conservação pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annum L.*). *Scientia agrícola*, Piracicaba, v. 51, n. 2, p. 363-368, 1994.

BEAULIEU, J. C.; GORNY, J. R. **Fresh-cut fruits**. Agriculture Handbook, New Orleans, n.66, 2004. Disponível em: www.ba.ars.usda.gov/hb66/146freshcutfruits.pdf. Acesso em 09 Julho, 2012.

BENITEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; SEPULCRE, F.; PUJOLÁ, M. **Aloe vera based edible coatings improve the quality of minimally processed 'Hayward' kiwifruit**. Postharvest Biology and Technology, V. 81, P. 29-36, 2013.

BETT, K.L., INGRAM, D.A., GRIMM, C.C., LLOYD, S.W., SPANIER, A.M., MILLER, J.M., GROSS, K.C., BALDWIN, E.A., VINYARD, B.T., 2001. **Flavor of fresh-cut Gala apples in barrier film packaging as affected by storage time**. J. Food Quality 24, 141–156.

BONILLA, J.; ATARÉS, L. ; VARGAS, M.; CHIRALT, A. **Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations**. International Conference on Food Innovation. v. 110, n 2, p 208–213, 2012.

BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R.M.; PEREIRA, R. M.; FONTES, E, A. F. **Qualidade de alho (*Allium sativum*) minimamente processado envolvido com revestimento comestível antimicrobiano**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 1, p. 32-38, 2007.

BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, R. V. B. F. **Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada**. Ciência Rural, Santa Maria, v.40, n.8, p.1814-1820, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Resolução – RDC n. 21, de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. Disponível em : http://anvisa.gov.br/legisresol/21_01rde.htm. Acessado em 12 de fev. de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001: **Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 10 jan 2001.

BURG, S. P. **Postharvest Physiology and Hypobaric Storage of Fresh Produce**. Cambridge: Cabi Publishing, 2004. 670 p.

BURNS, J.K.; Lightly processed fruits and vegetables: introduction. HortScienci, v.30, p.14. 1995.

CAGRI, A., USTUNOL, Z. E RYSER, E. T. **Antimicrobial, Mechanical, and Moisture Barrier Properties of Low pH Whey Protein-based Edible Films Containing p-Aminobenzoic or Sorbic Acids**. Journal of Food Science, 66: 865-870, 2001.

CAGRI, A., USPUNOL, Z., RYSER, E. **Antimicrobial edible films and coating**. J. Food Prot. 67, 833–848, 2004.

CANTWELL, M. **Preparation and quality of fresh cut produce**. In: Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. Viçosa, 2000. **Palestras**. Viçosa: UFV. p.156-182. 2000.

CARDOSO, W. S.; PINHEIRO, F. A.; PATELLI, T.; PEREZ, R.; RAMOS, A. M. **Determinação da concentração de sulfito para a manutenção da qualidade da cor em maçã desidratada.** Revista Analytica, São Paulo, n. 29, p. 127-132, 2007.

CARVALHO, V.D. Qualidade e conservação de goiabas. **Informe Agropecuário**, v.17, n.179, p.48-54, 1994.

CENCI, S. A. **Pesquisa em processamento mínimo de hortaliças no Brasil.** In: Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2. **Palestras.** Viçosa: UFV, p. 10-116, 2002.

CHITARRA, M. I. F. **Alterações bioquímicas do tecido vegetal com o processamento mínimo.** In: Seminário Sobre Hortaliças Minimamente Processadas, 1999, Piracicaba. Palestra. Piracicaba: ESALQ-USP, p. 1-9, 1999.

CHITARRA, M. I. F. (2000). **Processamento mínimo de frutos e hortaliças.** Lavras: UFLA/ FAEPE.

CONTE, A; SCROCCO, C; Brescia, I; Del Nobile M.A. **Packaging strategies to prolong the shelf life of minimally processed lampascioni (*Muscari comosum*)** Journal of Food Engineering, 90, pp. 199–206, 2009.

CORTEZ-VEGA, W. **Revestimento comestível à base de goma xantana em mamão minimamente processado.** Trabalho de conclusão de curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (Especialização). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, p. 20f, 2010.

CORTEZ-VEGA, W.; PIOTROWICZ, I.B.B.; PRENTICE, C.; BORGES, C.D. **Conservation of papaya minimally processed with the use of edible coating based on xanthan gum.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1753-1764, 2013.

COSETENG, M.Y.; LEE, C.Y.; **Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning.** Journal of Food Science, V.52, pp. 985–989, 1987.

CZELUSNIAK, C.; OLIVEIRA, M. C. S.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C.; WOSIACKI, G. **Qualidade de maçãs comerciais produzidas no Brasil: aspectos físico-químicos.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 6, n. 1, p. 25-31, 2003.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema.** (4 ed) Porto Alegre-Br, Editora Artmed. 2010. 900p.

DEL NOBILE, M. A., BAIANO, A., BENEDETTO, A., e WEIGHTIGNAN, L. (). **Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging.** Journal of Food Engineering, 74, 60–69, 2006.

DONG, X.; WROLSTAD, R.E.; SUGAR, D. **Extending shelf life of fresh-cut pears.** J. Food Sci., V. 65, p. 181–185, 2000

DURANGO, A. **Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots.** Food Control, 17: 336–341, 2006.

DURIGAN, J. F. **O processamento mínimo de frutas.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. Palestra...Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 12p, 2000.

DURIGAN, J. F.; SARGENT, S. A. **Uso de melão Cantaloupe na produção de produtos minimamente processados.** Alim. Nutr., São Paulo, 10: 69-77, 1999.

EISSA, H. A.; FADEL, H. H. M.; IBRAHIM, G. E.; HASSAN, I. M.; ELRASHID, A. A. THIOL. **Containing compounds as controlling agents of enzymatic browning in some apple products.** Food Research International, Ottawa, v.39, n.8, p.855-863, 2006.

FALGUERA, V.; GATIUS, F.; PAGAN, J.; IBARZ, A. **Kinetic analysis of melanogenesis by means of Agaricus bisporus tyrosinase.** Food Research International. 43(4):1174-1179. 2010.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMÉNEZC, A.; MUÑOZ, A.; IBARZA, A. **Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use.** Trends in Food Science and Technology (2011).

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUUR A, F. C. A. U. **Mamão: pós-colheita da fruta para exportação e normas de qualidade.** Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, p.12-18. (Série Frutas do Brasil, 21), 2002.

FONTES, L.C.B.; SARMENTO, S.B.S.; SPOTO, M.H.F.; DIAS, C.T.S. **Preservation of minimally processed apple using edible coatings.** Ciência e Tecnologia de Alimentos., Campinas, V. 28, n.28, p.872-880, 2008.

FONTES, L. C. B. **Uso de solução conservadora e de películas comestíveis em maçãs da cultivar Royal Gala minimamente processadas: efeito na fisiologia e na conservação.** 2005. (Dissertação em Ciência dos Alimentos), Universidade de São Paulo, São Paulo.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION. **Faostat.** Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em: 05 dez de 2013.

FRANCIS, G. A., THOMAS, C., & O'BEIRNE, D. **The microbiological safety of minimally processed vegetables.** International Journal of Food Science and Technology, 34, 1e22, 1999.

FRANSSEN, L.R; KROCHTA, J.M. **Edible coatings containing natural antimicrobials for processed foods.** S. Roller (Ed.), Natural antimicrobials for minimal processing of foods, CRC Press, Boca Raton (2003), pp. 250–262

FREITAS, I. R. **Goma xantana como carreadora de solução conservadora e cloreto de cálcio aplicado a maçã minimamente processada.** 2010. Monografia (Especialização em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

GALIETTA, G.; HARTE, F.; MOLINARI, D.; CAPDEVIELLE,R.; DIANO, W. **Aumento de la vida útil pós-colheita de tomate usando una película de proteína de suero de leche.** Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha S.C., Hermosillo, México: v.6, n.002, p.117-123. 2005.

GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. **Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings.** Journal of Food Science, v. 65, n. 6, p. 941-947, 2000.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. **Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties.** International Journal of Food Science and Technology, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GORNY, J.R.; HESS-PIERCE, B.; CIFUENTE, R.A.; KADER, A.A. **Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives.** Postharvest Biol. Technol., V.24, p. 271–278, 2002.

GUZMÁN, L.; BARRET, D.M. **Comparação de cloreto de Ca e Ca efícaia lactato na manutenção da estabilidade de prateleira e qualidade de melões minimamente processados.** Postharvest Biology and Technology, 19 (2000), pp 61-72

GUZMÁN L.; BARRET, D. M. **Comparação de cloreto de Ca e Ca efícaia lactato na manutenção da estabilidade de prateleira e qualidade de melões minimamente processados.** Postharvest Biology and Technology, 19 (2000), pp 61-72.

HERSHKO, V.; NUSSINOVITCH, A. **Physical properties of alginate-coated onion (*Allium cepa*) skin.** Food Hydrocolloids. 12(2):195-202, 1998.

HOWARD, L. R.; DEWI, T. **Sensory, microbiological and chemical quality of mini-peeled carrots as affected by edible coating treatment.** Journal of Food Science, Chicago, v. 60, n. 1, p. 142-144, 1995.

HUI-MIN, J.; TO, H.; LI-PING, L. e HAI-YING, Z. **Effects of edible coatings on browning of fresh-cut peach fruits.** Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 25(3): 282e286, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Banco de dados agregados:** orçamentos familiares. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/orcfam/default.asp>>. Acessado em 16 de nov de 2013.

JUNQUEIRA, M.S.; SOARES, N.F.F.S.; REIS, R.C.; CARNEIRO, J.D.S.; BENÍCIO R.T.; YOKOTA, S.R.C. **Efeito de embalagens ativas no escurecimento enzimático de batatas (*solanum tuberosum*) fatiadas e minimamente processadas.** Seminario: Ciências Agrárias. Londrina. 30(3): 613-618. jul./set. 2009.

KIM, D.M.; SMITH, N.L.; LEE, C.Y.; **Apple cultivar variations in response to heat treatment and minimal processing.** Journal of Food Science, v.58, p. 1111–1114, 1993.

KIM, D.M.; SMITH, N.L.; LEE, C.Y.; **Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars.** Journal of Food Science, v.58, p. 1115–1117, 1993b.

KIM, S.J.; USTUNOL, Z. **Sensory attributes of whey protein isolate and candellila wax emulsion edible films.** Journal of Food Science. 66(6): 909-911, 2001.

KING, A.D.; BOLIN, H.R. **Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables.** Food Technology. 43(2):132-139, 1989.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado.** Campinas: Livraria e Editora Rural, 2002, 214p.

KONG, M., CHEN, XG, XING, K., PARK, HJ. **Propriedades antimicrobianas da quitosana e modo de ação: um estado da arte crítica.** International Journal of Food Microbiology ., 144 (1), pp 51-63, 2010.

KOKOSZKA, S.; DEBEAUFORT F.; LENART, A.; VOILLEY A. **Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films.** International Dairy Journal. 20: 53–60, 2010.

KROCHTA, J. M; DAMODARAN, S.; PARAF, A.. **Edible protein films and coatings.** Food Proteins and Their Applications. New York, Marcel Dekker, cap. 18, p.529-549, 1997.

LEE, E. J.; Ahn, D. U. **Effect of antioxidants on the production of off-odor volatiles and lipid oxidation in irradiated turkey breast meat and meat homogenates.** J. Food Sci. 2003, 68, 1631-1638.

LEE, J.Y.; PARK H.J., LEE C.Y., CHOI, W.Y. **Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents** Lebensm.-Wiss. Technol., 36 (2003), pp. 323–329

LUENGO, R. F. A.; LANA, M. M. **Processamento mínimo de hortaliças.** In: **Embrapa Hortaliças.** Comunicado Técnico n.2, Brasília, 1997. MAÇÃ, 2011. Disponível em: <http://www.agrocarnes.com.br/comodities.htm> Acesso em 15 de nov de 2013.

MARTINS, R.N. **Processamento mínimo de pêssegos ‘Aurora-1’: estágio de maturação, embalagens, temperaturas de conservação e aditivos naturais,** (Tese). Jaboticabal, 2010.

MARTÍNEZ, V.M.; Whitaker, J.R.; **The biochemistry and control of enzymatic browning.** Trends Food Sci. Technol., v.6, p. 195–200, 1995.

MARSHALL, M.R.; KIM, J.; WEI, C.I. **Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and Seafoods.** Disponível em: <
<http://www.fao.org/ag/Ags/agsi/ENZYMFINAL/Enzymatic%20Browning.html#C> ONT>.
Acessado em 14/03/2013. ©FAO, 2000

MASTROMATTEO, M.; CONTE A.; DEL NOBILE, M. A. **Packaging strategies to prolong the shelf life of fresh carrots (*Daucus carota* L.).** Innovative Food Science & Emerging Technologies. 13:215–220, 2012.

MASTROMATTEO, M; CONTE, A; DEL NOBILE, M.A. **Combined effect of active coating and MAP to prolong the shelf life of minimally processed kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward).** Food Research International (2010).

Mc EVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, T. **Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages.** Food Science. v.32, p. 253-273, 1992.

- MOLNAR-PERL, F. W. **Inhibition of browning by sulfur amino acids, apples and potatoes.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.38, pp 1652-1656, 1990.
- MONSALVE-GONZÁLEZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; MCEVILY, A.J.; IYENGAR, R. **Inhibition of browning apple products by 4-hexylresorcinol.** Food Technology, v.4, p. 110–118, 1995.
- MORR, C.V.; HA, Y.W. **Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 33(6): 431-476, 1993.
- NEGUYEN-the, C.; CARLIN, F. **The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.34, n.4, p.371-401, 1994.
- NICOLAS, J.J.; RICHARD-FORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; Amiot, M.J., Aubert, S. **Enzymatic browning reactions in apple and apple products.** Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 34, pp. 109–157, 1994.
- NUSSINOVITCH, A.; HERSHKO, V. **Gellan and alginate vegetable coatings.** Carbohydrate Polymers, v. 30, n. 2-3, p. 185-192, 1996.
- OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSACÁNOVAS, G. V. **Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples.** Postharvest Biology and Technology, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 89-96, 2007.
- OLIVEIRA, A. C.; Figueiredo, R.W.; MAIAS, G.A.; ALVES, R.E.; SOUZA FILHO, M.S.M.; SOUSA, P.H.M. **Effect of type of cutting on the physical chemical and microbiological characteristics of Cantaloupe melon (*Cucumis melo* L. Hybrid hy-Mark) minimally processed.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 4, p. 1095-1101, 2007.
- OLIVEIRA, T.M.; SOARES, N.F.F.; PAULA, C.D.; VIANA, G.A. **Uso de embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs.** Seminário: Ciências Agrárias, Londrina. 29(1): 117-128. jan./mar. 2008.
- OMS-OLIU G.; SOLIVA-FORTUNY R., MARTÍN-BELLOSO, O. **Efeito da maturação sobre a vida de prateleira de melão minimamente preservada pela embalagem em atmosfera modificada.** Investigação Alimentar Europeia e Tecnologia, 225 (2007), pp 301-311.
- OMS-OLIU, G.; ODRIEZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R. e MARTÍN-BELLOSO, O. **Antioxidant content of fresh-cut pears stored in high-O₂ active package compared with conventional low-O₂ active and passive modified atmosphere packaging.** J. Agric. Food Chem., 56, pp. 932–940, 2008.
- OMS-OLIU, G., SOLIVA-FORTUNY, R. e MARTÍN-BELLOSO, O. **Using polysaccharide-based coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon.** LWT- Food Science and Technology. 41: 1862-1870, 2008.

PAGANI, A.A.C.; ARAGÃO, C.T.; MORAIS, A.B.L.; MACHADO, T.; SILVA, G.F. **Effect of Sodium Alginate Biofilm Apple in Minimally Processed**. Revista GEINTEC – ISSN: 2237-0722. São Cristóvão/SE – 2012. Vol. 2/n.5/ p.436-444.

PARK, H.J. **Development of advanced edible coatings for fruits**. Trends. Food Sci. Technol. v.10, 254–260, 1999.

PIZATO, S.; Cortez-Vega, W.R.; Prentice-Hernández, C.; Borges, C.D. **Effect of applying different edible coatings on conservation of minimally processed ‘Royal Gala’ apples**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 1, p. 253-264, 2013.

PIZATO, S. **Revestimento comestível em pêsego (*Prunus pérsica* [L.] Batsch) minimamente processado**. 2011. 42f. Trabalho de conclusão de curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (Especialização). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2011.

PÈREZ-GAGO, M.B.; SERRA, M.; DEL RÍO, M.A. **Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings**. Postharvest Biology and Technology. 39: 84–92, 2006.

QI, H.; HU, W.; JIANG, A.; TIAN, M. **Extending shelflife of fresh-cut ‘Fuji’ apples with chitosan-coatings**. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Berlin, v. 12, n. 1, p. 62-66, 2011.

RICKE, S.C. **Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials**. Poultry Science, 82 (2003), pp. 632–639, 2003.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA A.B.; FRÍAS, J.M. BARAT, J.M, HENEHAN, G.T.M.; BARRY-RYAN, C. **Melhoria da textura usando lactato de cálcio e tratamentos de choque de calor para as cenouras prontas-a-comer armazenados** Journal of Food Engineering, 79 (2007), pp 1196-1206.

ROBERTSON, G. **Food Packaging: principles and practice**. CRC Press. Cap.1. pag.3, 2006.

ROCHA, A. M. C. N.; COULON, E. C.; MORAIS, A. M. M. B. **Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes**. Food Service Technonology. v. 3, p.81-88, 2003.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; TAPIA, M.S.; RODRÍGUEZ, F.J.; CARMONA, A.J.; MARTÍN-BELLOSO, O. **Alginate and gellan based edible coatings as support of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apple**. Food Hydrocoll., V.21, p. 118–127, 2007.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; GRASA-GUILLEM, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. **Quality changes in fresh-cut Fuji apple as affected by ripeness stage, antibrowning agents, and storage atmosphere**. J. Food Sci., V.72, p. 36–43, 2007.

ROJAS-GRAU, M.A., SOLIVA-FORTUNY, R. e MARTÍN-BELLOSO, O. **Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review**. Trends in Food Science and Technology. 20: 438-447, 2009.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; Tapia, M.S.; Martín-Belloso, O. **Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples.** Lebensm.-Wiss. Technol., 41, pp. 139–147, 2008.

ROSA, O. O. **Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados.** PhD thesis. Lavras: Federal University of Lavras, UFAL, 2002.

SAFTNER, R.A.; BAI, J.; ABBOTT, J.A.; LEE, Y.S. **Depressões sanitários com propionato de cálcio, cloreto de cálcio, ou um quelato aminoácido cálcio manter a qualidade e estabilidade de prateleira de pedaços honeydew minimamente.** Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, v. 29 (2003), p. 257-269.

SANTANA, A.I.E. **Aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitina desacetilada extraída de subprodutos da indústria de pescado em maçã Fuji de IV gama (Dissertação).** Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche e Instituto Politécnico de Leiria – Portugal, 2012.

SANTOS, J. C. B.; VILAS BOAS, E. V. de B.; PRADO M. E. T.; PINHEIRO A. C. M.; **Avaliação da Qualidade do Abacaxi “Pérola” Minimamente Processado Armazenado Sob Atmosfera Modificada.** Ciência Agrotécnica, Lavras, v. 29, n. 2, p. 353-361, mar./abr., 2005.

SAPERS, G.M.; DOUGLAS F.W. Jr.; **Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits.** Journal of Food Science, v.52, p. 1258–1285, 1987.

SAPERS, G. M.; Miller, R.L. **Browning inhibition in fresh-cut pears.** Journal Food Sci., 63, pp. 342–346, 1998.

SAPERS, G. M. **Browning of food: Control by sulfites, antioxidants and other means.** Food Technology, v.47, p. 75-84, 1993.

SENESI, E.; BIGNARDI, B. **Film eduli a base di purea di mela per migliorare la qualita e ampliare le funzioni d’uso di spicchi di mela parzialmente essiccati.** Revista de Frutticoltura e de Ortofloricoltura, v. 62, n. 11, p. 61-66, 2000.

SILVEIRA, A.C.; AGUAYO, E.; CHISARI, M.; ARTÉS F. **Os sais de cálcio e de tratamento térmico para a retenção de minimamente melão 'Galia' qualidade.** Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, 62 (2011), pp 77-84

SOARES, N. F. F. de. **Efeito da embalagem na conservação de produtos minimamente processados.** Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 3. Viçosa, 2004, **Palestras.** Viçosa: UFV, p. 53-56, 2004.

SOARES, N.F.F.; PIRES, A.C.S.; CAMILLOTO, G.P.; SANTIAGO-SILVA, P.; ESPITIA, P.J.P.; SILVA, W.A. **Recent patents on active packaging for food application.** Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture (*in press*). v.1, p.171-178, 2009.

- SOUZA, B. S. de; DURIGAN, J. F.; DONADON, J. R.; MIGUEL, A. C. A. **Qualidade dos produtos minimamente processados da manga, Palmer” em dois estádios de maturação.** III Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Resumos.** Viçosa: UFV, p. 140, 2004.
- SOUZA, B. S.; DURIGAN, J. F.; DONADON, J. R.; LIMA, M. A. **Qualidade e comportamento do mamão ‘formosa’ minimamente processado.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 8, n. 3, p. 243-247, 2005.
- TEIXEIRA. G. H. A. **Carambola (Averrhoa carambola L.): Um estudo de caso para o processamento mínimo.** Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 3, Viçosa. Palestras. Viçosa: UFV, p. 101-110, 2004.
- TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S.; SPOTO. M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. **Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 15, n. 2, p. 125-133, 2012.
- VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. **Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables.** Critical Reviews in Food Science Nutrition, v. 12, p.49-127, 1981.
- VANETTI, M.C.D. **Segurança microbiológica em produtos minimamente processados.** In: Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, Viçosa- MG. p.30-32, 2004
- VAROQUAUX, P.; LECENDRE, I.; VAROQUAUX, F. **Change in firmness of kiwi after slicing.** Sciences des Aliments, v.10, n.1, p. 127-139, 1990.
- VERZELETTI, A.; FONTANA, R. C.; SANDRI, I. G. **"Avaliação Da Vida De Prateleira De Cenouras Minimamente Processadas."** Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição 21.1 (2010).
- VIEIRA, A.P. VIEITES, R.L., EVANGELISTA, R.M. **Película de fécula de mandioca no abacaxi minimamente procesado.** In: Congresso Brasileiro De Ciência E Tecnologia De Alimentos, 17. Fortaleza, 2000. Anais. Fortaleza: SBCTA, 2000. P.3.61.
- WILEY, R. C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables.** New York: Champ & Hall. p. 368, 1994.
- WILEY, R. C. **Métodos de conservación de las frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas.** In: WILEY, R. C. (Ed.). Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Zaragoza: Ed. Acribia,. p. 65- 129, 1997.
- WONG, D.W.S.; CAMIRAND, M.W.; PAVLATH, A.E. **Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables.** J.M. Krochta, E.A. Baldwin, M.O. Nisperos-Carriedo (Eds.), Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, Technomic Publishing Co., Switzerland, p. 65–88, 1994a.
- WONG, D.; TILLIN, S.J.; HUDSON, J.S.; PAVLATH, A.E. **Gas exchange in cut apples with bilayer coatings.** J. Agric. Food Chem., V. 42, p. 2278–2285, 1994b.

YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.J. **Aplicação de filmes proteicos à base de soro de leite.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 29(2): 420-430, abr.-jun. 2009.

ZUVANOV, V. C. – Tese de Dissertação de Mestrado: **Complexos poliméricos obtidos a partir das proteínas do soro de queijo e polissacarídeos.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2012.