



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José do Rio Preto

Elke Shigematsu

Coberturas comestíveis à base de alginato de sódio, quitosana e
água de coco em cenouras (*Daucus carota* L.) minimamente
processadas: Avaliação de potencial probiótico e efeitos sobre
parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais

São José do Rio Preto
2017

Elke Shigematsu

Coberturas comestíveis à base de alginato de sódio, quitosana e água de coco em cenouras (*Daucus carota* L.) minimamente processadas: Avaliação de potencial probiótico e efeitos sobre parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Dorta

São José do Rio Preto
2017

Shigematsu, Elke.

Coberturas comestíveis à base de alginato de sódio, quitosana e água de coco em cenouras (*Daucus Carota L.*) minimamente processadas: avaliação de potencial probiótico e efeitos sobre parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais / Elke Shigematsu. -- São José do Rio Preto, 2017

199 f. : il., tabs.

Orientador: Maria Aparecida Mauro

Coorientador: Cláudia Dorta

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Cenoura - Indústria. 3. Probióticos. 4. Alimentos - Indústria. 5. Revestimento comestível. 6. Alimentos – Aditivos. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 664.06

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Elke Shigematsu

Coberturas comestíveis à base de alginato de sódio, quitosana e água de coco em cenouras (*Daucus carota* L.) minimamente processadas: Avaliação de potencial probiótico e efeitos sobre parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro
UNESP - São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Fábio Yamashita
UEL - Londrina

Prof^a. Dr^a. Alice Yoshiko Tanaka
FATEC - Marília

Prof^a. Dr^a. Crislene Barbosa de Almeida
UNESP - São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
25 de abril de 2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho àqueles que sempre me apoiaram e incentivaram nesta importante jornada: meu marido, meus pais e irmão, aos meus alunos e a Deus.

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos por Deus, já que Ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta!

Aos meus pais, meu marido, minha avó Úrsula e meu irmão, pelo amor incondicional e por serem minha base e fortaleza em todas as dificuldades que passei durante o percurso deste projeto e da minha vida.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro pela orientação, total apoio, disponibilidade, pelo saber que transmitiu, pelas opiniões, críticas e incentivo, e pelo exemplo de uma profissional de digno caráter.

À Prof^a. Dr^a. Claudia Dorta, docente da Fatec/Marília, a qual me co-orientou com sabedoria e carinho, desde a idealização do assunto da tese até a realização dos últimos experimentos.

Ao Departamento de Engenharia e Ciência de Alimentos do IBILCE, principalmente aos professores, que com suas aulas promoveram notáveis conhecimentos para realização deste trabalho.

À banca examinadora: Prof^a. Dr^a. Crislene Barbosa de Almeida, Prof. Dr. Fábio Yamashita, Prof^a. Dr^a. Raquel Guttierrez Gomes e Prof^a. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis, por enriquecer este trabalho com suas sugestões.

À Prof^a. Dr^a. Marie Oshiiwa (Fatec/Marília), a Doutoranda Letícia Yuri Nagai e a recente Doutora Cleidiane Samara Murari pela ajuda valiosa nas análises de estatísticas, físico-químicas, entregas de diversos documentos e por terem sido tão pacientes comigo.

A todos da Fatec/Marília, principalmente à Diretora e Coordenador, pelo aporte para realização do meu Doutorado.

Aos meus alunos e ex-alunos, Marina, Fábio, Aline, Kaique e Eric que colaboraram de uma forma tão intensa neste projeto, com as análises físico-químicas e microbiológicas, e com o amor e dedicação que empregaram dia a dia trabalhando e pesquisando comigo.

Aos auxiliares de docentes, Heberty e Márcia, pela cooperação e paciência nos laboratórios, durante a realização dos ensaios e análises.

Aos profs. Drs. Paulo Marinelli e Alice Tanaka pela imensa contribuição nas análises microbiológicas e físico-químicas, e por permitir sempre a utilização dos Laboratórios de Prestação de Serviços da Fatec/Marília.

Aos meus amigos da pós-graduação e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho de alguma forma.

À FAPESP pela ajuda financeira para realização do projeto (processo nº 2014/11514-8).

Muito obrigada!

"Não sou obrigado a vencer, mas tenho o dever de ser verdadeiro. Não sou obrigado a ter sucesso, mas tenho o dever de corresponder à luz que tenho."

(Abraham Lincoln)

RESUMO

O presente trabalho aborda alimentos minimamente processados, coberturas comestíveis e alimentos com alegação funcional pela incorporação de micro-organismos probióticos. Associar o bem estar que os probióticos proporcionam ao ser humano à tecnologia dos revestimentos comestíveis constitui uma alternativa interessante para promover a conservação de vegetais minimamente processados. Na primeira etapa do trabalho foram avaliados revestimentos à base de alginato (alginato de sódio 1,75 g/100 g de água, glicerol 0,5 g/100 g de água, óleo de girassol 0,075 g/100 g de água, tween 80 0,025 g/100 g de água), adicionados ou não da cepa probiótica liofilizada *Lactobacillus acidophilus* LA-14 ($2,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹). Numa segunda etapa foram realizados experimentos com coberturas compostas por alginato (alginato de sódio 1,5 g/100 g de água, glicerol 0,75 g/100 g de água, óleo de girassol 0,04 g/100 g de água e tween 80 0,05 g/100 g de água) e por alginato (mesma composição) com quitosana (quitosana 0,75 g/100 g de água), cujos revestimentos tiveram adição ou não da cepa *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ativados, na ordem de $3,9 \times 10^8$ UFC.g⁻¹. Cenouras minimamente processadas foram mergulhadas nas soluções de coberturas, que foram reticuladas em solução de cloreto de cálcio, e armazenadas à temperatura de $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, juntamente com as amostras controle (cenoura minimamente processada), para condução das análises físicas, químicas e microbiológicas por período de aproximadamente 20 dias. Na terceira etapa foram realizadas análises sensoriais de cenouras revestidas com alginato e com alginato e quitosana, nos dias 1, 7 e 14 de armazenamento. Na última etapa foram feitas análises microbiológicas e sensoriais das amostras com cobertura à base de alginato de sódio adicionada de água de coco, com e sem a adição de *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ativados, até 22 dias de armazenamento. Os resultados obtidos na primeira etapa mostraram que as coberturas de alginato, com e sem *Lactobacillus acidophilus* liofilizados LA-14, quando comparadas ao controle, reduziram a perda de massa durante o armazenamento e minimizaram a formação de ácidos. Ao final de 20 dias, a contagem de células viáveis nas amostras com probióticos manteve-se na ordem de $1,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, demonstrando ser eficiente como carreador do probiótico. Todas as amostras, incluindo o controle, ainda estavam aptas ao consumo no vigésimo dia de armazenamento. Como resultado da segunda etapa, verificou-se que coberturas de alginato e de alginato + quitosana, com e sem *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ativados, contribuíram para diminuição de perda de massa, em relação ao controle e, minimizaram o esbranquiçamento das cenouras em fatias, sendo este um fator relevante para a aparência da cenoura minimamente processada. Entretanto, o probiótico da cepa *L. acidophilus* LA-3

apresentou redução considerável de células viáveis em apenas 7 dias, o que foi atribuído ao fraco desempenho da cultura em meios não lácteos. Todas as amostras, incluindo o controle, ainda estavam aptas ao consumo no décimo nono dia de armazenamento. Na última etapa, quando foi utilizada água de coco na elaboração das coberturas, a viabilidade dos *Lactobacillus acidophilus* LA3 ativados, que iniciou com $1,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ de células viáveis, foi bem superior em relação ao meio elaborado apenas com água (segunda etapa). Em vinte e um dias de armazenamento houve redução de aproximadamente 1,8 ciclos logarítmicos, além do que as colônias apresentavam-se bem visíveis. Com relação à avaliação sensorial, as amostras com cobertura tiveram suas notas médias superiores a 6,0 e, de uma forma geral, elas foram mais bem avaliadas que a amostra controle. As coberturas de alginato, com ou sem quitosana, melhoraram a aceitação e a intenção de compra de cenouras em fatias, por lhes conferirem boa aparência, minimizarem o esbranquiçamento e manterem a textura crocante durante 14 dias, permitindo sua comercialização durante o período, se armazenadas em temperatura de $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Em geral, as propriedades sensoriais atribuídas às fatias com cobertura de alginato resultaram ligeiramente superiores às atribuídas àquelas com alginato+quitosana. Também foi realizada uma avaliação quando a água de coco foi utilizada na elaboração de coberturas de alginato, durante 14 dias, sendo que as amostras com cobertura comestível, independente da adição do probiótico, tiveram melhores notas para atributos e intenção de compra que a amostra sem cobertura, principalmente ao final do período de armazenamento.

Palavras-chave: Revestimento Comestível, *Daucus carota* L, probióticos.

ABSTRACT

The present work deals with minimally processed products, edible coatings and foods with functional claim for the incorporation of probiotic microorganisms. Associating the well-being that probiotics provide to humans with edible coatings technology is an interesting alternative to promote the conservation of minimally processed vegetables. In the first stage of the work, alginate based coatings (sodium alginate 1.75 g / 100 g water, glycerol 0.5 g / 100 g water, sunflower oil 0.075 g / 100 g water, tween 80 0.025 g / 100 g water), added or not of the lyophilized probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* LA-14 (2.3×10^7 CFU.g⁻¹). In a second step, experiments were performed with alginate coatings (sodium alginate 1.5 g / 100 g water, glycerol 0.75 g / 100 g water, sunflower oil 0.04 g / 100 g water and tween 80 0.05 g / 100 g water) and alginate (same composition) with chitosan (chitosan 0.75 g / 100 g water), whose coatings had lyophilized and activated *Lactobacillus acidophilus* LA-3 addition, on the order of 3.9×10^8 CFU.g⁻¹. Minimally processed carrots were immersed in the coating solutions, which were cross-linked in calcium chloride solution, and stored at $8^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, together with the control (minimally processed carrot) samples, to conduct the physical, chemical and for approximately 20 days. In the third stage, sensorial analyzes of carrots coated with alginate and alginate and chitosan were carried out on days 1, 7 and 14 of storage. In the last stage, the physical, chemical, microbiological and sensorial analyzes of the samples were performed with sodium alginate based on coconut water, with and without the addition of activated *Lactobacillus acidophilus* LA-3, to 22 days of storage. The results obtained in the first step showed that the alginate coatings, with and without LA-14 lyophilized *Lactobacillus acidophilus*, when compared to the control, reduced the loss of mass during storage and minimized acid formation. At the end of 20 days, the count of viable cells in the probiotic samples remained on the order of 1.3×10^7 CFU.g⁻¹, demonstrating to be efficient as a carrier of the probiotic. All samples, including control, were still suitable for consumption on the 20th day of storage. As a result of the second step, alginate and alginate + chitosan coatings, with and without activated *Lactobacillus acidophilus* LA-3, were obtained, reducing the loss of mass in relation to the control and minimizing the whiteness of the sliced carrots. This is a relevant factor for the appearance of the minimally processed carrot. However, the probiotic of the *L. acidophilus* LA-3 strain showed a considerable reduction of viable cells in only 7 days, which was attributed to poor culture performance in non-dairy products. All samples, including control, were still suitable for consumption on the nineteenth day of storage. In the last step, when coconut water was used in the preparation of coatings, the viability of the activated

Lactobacillus acidophilus LA3, which started with 1.3×10^7 CFU.g⁻¹ of viable cells, was much higher in relation to the device made only with water (second stage). In twenty-one days of storage there was a reduction of approximately 1.8 logarithmic cycles, in addition to which the colonies were very visible. Regarding the sensorial evaluation, the samples with coating had their mean scores higher than 6.0 and, in general, they were better evaluated than the control sample. Alginate coatings, with or without chitosan, improved the acceptance and the intention to purchase sliced carrots, to give them good appearance, to minimize whiteness and to maintain the crunchy texture for 14 days, allowing their commercialization during the period, if stored at a temperature of $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. In general, the sensory properties attributed to alginate-coated slices resulted slightly higher than those attributed to alginate + chitosan slices. An evaluation was also made when coconut water was used in the elaboration of alginate coatings for 14 days, and the edible coating samples, independent of probiotic addition, had better marks for attributes and purchase intention than the uncovered sample, mainly at the end of the storage period.

Keywords: Edible coating, *Daucus carota* L., probiotics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Unidade estrutural do alginato de sódio, as moléculas de ácido α -L-gulurônico são representadas pela letra G e as do ácido β -D-manurônico, pela letra M... 39
Figura 2	Estrutura química (a) quitina e (b) quitosana 42
Figura 3	Mean values for weight loss (%) of the minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1 \blacklozenge), with edible coatings without added probiotic (T2 \blacktriangle) and without edible coatings (C \blacksquare) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 69
Figura 4	Minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings without added probiotic (T2) and without edible coatings (C) after 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 71
Figura 5	Log CFU of <i>L. acidophilus</i> .g ⁻¹ in the alginate coating of minimally processed carrot slices as a function of storage time. Means followed by the same letter are not significantly different according to Tukey's test ($p < 0,05$) 73
Figura 6	Fluxograma geral do processamento mínimo das cenouras antes da aplicação das coberturas e para o tratamento Controle (C) 92
Figura 7	Fluxograma do desenvolvimento e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas, obtenção dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 93
Figura 8	Modelo cinético da perda da massa fresca (%) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e respectivos ajustes lineares.....100
Figura 9	Modelo cinético da espessura (mm) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e respectivos ajustes lineares. 104
Figura 10	Valores de L*, a*, b*, H* e saturação da cor (c*) da cenoura minimamente processada (C) com cobertura de alginato de sódio (T1) adicionada de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T3) e com cobertura de alginato de sódio e quitosana (T2) adicionada de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T4). Os valores são médias de três réplicas. As barras verticais representam o desvio padrão 107
Figura 11	Cenouras minimamente processadas com (T1, T2, T3 e T4) e sem (C) cobertura comestível após 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 108
Figura 12	Log UFC de <i>L. acidophilus</i> .g ⁻¹ de cobertura, formulada segundo tratamentos T3 e T4 durante o tempo de armazenamento da cenoura minimamente processada. 109
Figura 13	Fluxograma do processamento mínimo das cenouras, e obtenção do tratamento

	controle (C).....	127
Figura 14	Fluxograma do desenvolvimento e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas, obtenção dos tratamentos T1 e T2.....	128
Figura 15	Ficha para seleção dos julgadores	132
Figura 16	Ficha da Análise sensorial para avaliação das amostras com (T1 e T2) e sem coberturas (C)	133
Figura 17	Perda da massa fresca (%) observada (pontos) e calculada (linhas) de acordo com a Eq. (16) para cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e respectivos ajustes lineares.....	135
Figura 18	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 1º dia de armazenamento.....	144
Figura 19	Aspecto molhado e brilhante das amostras indicado pelos provadores (a) e cenoura com a cobertura comestível inchada, devido a retenção de umidade (b), as duas amostras são revestidas com solução à base de alginato.....	146
Figura 20	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 7º dia de armazenamento.....	147
Figura 21	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 14º dia de armazenamento.....	150
Figura 22	Intenção de compras pelos provadores da cenoura minimamente processada do grupo C, T1 e T2 durante os três momentos de avaliação.....	153
Figura 23	Fluxograma geral do processamento mínimo das cenouras antes da aplicação das coberturas e para o Tratamento Controle (C).....	167
Figura 24	Fluxograma da elaboração e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas pelos tratamentos T1 e T2	168
Figura 25	Ficha para seleção dos julgadores	171
Figura 26	Ficha da Análise sensorial para avaliação das amostras com cobertura (T1) e probiótico (T2) e sem cobertura (C).	171
Figura 27	Log UFC de <i>L. acidophilus</i> .g ⁻¹ de cobertura à base de alginato e água de coco em cenoura minimamente processada pelo tempo de armazenamento.....	172
Figura 28	Distribuição de frequência (%) das respostas positivas dos julgadores, para aparência artificial das amostras no 1º, 7º e 14º dias de armazenamento.....	178
Figura 29	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 1º dia de armazenamento.....	179

Figura 30	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 7º dia de armazenamento	180
Figura 31	Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 14º dia de armazenamento	181
Figura 32	Comparação da frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global durante os três momentos de avaliação	185
Figura 33	Intenção de compras pelos provadores da cenoura minimamente processada das amostras C, T1 e T2 durante os três momentos de avaliação.	186
Figura 34	Cenouras em rodela com cobertura comestível à base de alginato de sódio dispostas em tela de aço inoxidável, antes da secagem por 6 horas, em estufa ou refrigeração..	196

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição nutricional de 100 gramas de raízes de cenoura crua	33
Tabela 2	Mean values for the moisture content (%) of the minimally processed carrot slices with edible coatings and added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	70
Tabela 3	Mean values for the pH of minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	71
Tabela 4	Mean values for titratable acidity (% citric acid) in minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	72
Tabela 5	Microbiological quality of minimally processed carrot slices with alginate coatings with added <i>L. acidophilus</i> (T1), with alginate coatings (T2) and without alginate coatings (C) at different storage times at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	74
Tabela 6	Formulação da cobertura comestível aplicada nos tratamentos T1 e T3	90
Tabela 7	Formulação da cobertura comestível aplicada nos tratamentos T2 e T4	90
Tabela 8	Valores médios de umidade (%) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	98
Tabela 9	Valores médios da perda de massa fresca (%) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	100
Tabela 10	Valores médios de pH dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	101
Tabela 11	Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	102
Tabela 12	Valores médios de espessura (mm) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	103
Tabela 13	Médias do Índice de Esbranquiçamento (IE) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	105
Tabela 14	Qualidade microbiológica em Log.UFC.g^{-1} da cenoura minimamente processada segundo o tratamento e tempo de armazenamento.	112
Tabela 15	Formulação da cobertura comestível aplicada no tratamento T1.	125
Tabela 16	Formulação da cobertura comestível aplicada no tratamento T2.	126
Tabela 17	Valores médios de umidade (%) de cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C)	

	durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	134
Tabela 18	Valores médios da perda de massa fresca (%) calculadas de acordo com a Eq. (12) para cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	134
Tabela 19	Valores médios da Firmeza (N) de cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	136
Tabela 20	Taxa de respiração representada pelo consumo de O_2 (TR_{O_2}) e pela produção de CO_2 (TR_{CO_2}) das cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, sem considerar a permeabilidade da embalagem (PVC esticável $20\text{ }\mu\text{m}$).	138
Tabela 21	Taxa de respiração representada pelo consumo de O_2 (TR_{O_2}) e pela produção de CO_2 (TR_{CO_2}) das cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, considerando a permeabilidade da embalagem (PVC esticável $20\text{ }\mu\text{m}$)	139
Tabela 22	Notas (média e desvio padrão) de aceitação dos provadores quanto à aparência, cor, sabor, aroma, textura e avaliação global dos dois tratamentos e da amostra controle.	142
Tabela 23	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 1º dia de avaliação..	145
Tabela 24	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 7º dia de avaliação	148
Tabela 25	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 14º dia de avaliação	151
Tabela 26	Formulação da cobertura comestível à base de alginato de sódio dissolvida em	

	água de coco + água destilada.	166
Tabela 27	Qualidade microbiológica em Log.UFC.g ⁻¹ da cenoura minimamente processada segundo o tratamento e tempo de armazenamento	174
Tabela 28	Notas (média e desvio padrão) de aceitação dos provadores quanto à aparência, cor, sabor, aroma, textura e avaliação global dos dois tratamentos e da amostra controle	177
Tabela 29	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 1º dia de avaliação	183
Tabela 30	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 7º dia de avaliação	183
Tabela 31	Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 14º dia de avaliação	184

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Distribuição dos quatro tratamentos com coberturas comestíveis e do controle das cenouras minimamente processadas	92
----------	---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL E JUSTIFICATIVA.....	23
OBJETIVOS (GERAL E ESPECÍFICOS).....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
Capítulo 1	32
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	32
1.1 Cenoura (<i>Daucus Carota</i> L.).....	32
1.2 Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas	34
1.3 Cenoura Minimamente Processada	35
1.4 Coberturas Comestíveis.....	36
1.4.1 Coberturas Comestíveis à base de Alginato de sódio	39
1.4.2 Coberturas Comestíveis à base de Quitosana	41
1.4.3 Coberturas Comestíveis Compostas e Aditivos	44
1.5 Probióticos e Coberturas Comestíveis como veículos	48
Referências Bibliográficas.....	52
Capítulo 2	62
EDIBLE COATING WITH PROBIOTIC AS A QUALITY FACTOR FOR MINIMALLY PROCESSED CARROTS	62
Abstract.....	63
Practical Applications.....	63
2.1 Introduction	64
2.2 Material and Methods.....	65
2.2.1 Materials	65
2.2.2 Edible coating and addition of probiotic culture	65
2.2.3 Application of the coating and storage of the minimally processed carrot	66
2.2.4 Physicochemical analyses	66
2.2.4.1 Loss of weight	66
2.2.4.2 Moisture content	67
2.2.4.3 Titratable acidity and pH	67
2.2.5 Microbiological analyses	67
2.2.5.1 Cell viability of <i>Lactobacillus acidophilus</i>	67
2.2.5.2 Analysis of contaminants	68
2.2.6 Statistical analysis	68
2.3 Results	68

2.3.1	Loss of weight and moisture content	68
2.3.2	Titrateable acidity and pH	71
2.3.3	Viability of the <i>Lactobacillus acidophilus</i>	72
2.3.4	Microbial contaminants	73
2.4	Discussion.....	74
2.4.1	Weight and moisture loss	74
2.4.2	Titrateable acidity and pH	76
2.4.3	Viability of the <i>Lactobacillus acidophilus</i>	77
2.4.4	Analysis of the contaminants	78
2.5	Conclusions	79
	References	80
	Capítulo 3	85
	CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA: COBERTURAS COMESTÍVEIS À BASE DE ALGINATO E QUITOSANA COM E SEM ADIÇÃO DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	85
	Resumo	85
3.1	Introdução.....	86
3.2	Material e Métodos.....	88
3.2.1	Cenoura minimamente processada	88
3.2.2	Probiótico	89
3.2.3	Coberturas comestíveis e adição dos probióticos	90
3.2.4	Aplicação dos revestimentos e armazenamento da cenoura minimamente processada	91
3.2.5	Análises físico-químicas	94
3.2.5.1	Umidade	94
3.2.5.2	Perda de massa	94
3.2.5.3	Acidez Titulável e pH	95
3.2.5.4	Espessura	95
3.2.5.5	Cor	95
3.2.6	Análises microbiológicas	95
3.2.6.1	Viabilidade celular dos <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	95
3.2.6.2	Análises de contaminantes	96
3.2.7	Parâmetros cinéticos e Análise estatística	96
3.3	Resultados e Discussão.....	97
3.3.1	Análises Físico-químicas	97
3.3.1.1	Umidade	97

3.3.1.2	Perda de massa	98
3.3.1.3	Acidez Titulável e pH	101
3.3.1.4	Espessura	103
3.3.1.5	Cor	105
3.3.2	Análises microbiológicas	109
3.3.2.1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	109
3.3.2.2	Análise dos contaminantes	111
3.4	Conclusão	113
	Referências Bibliográficas.....	114
Capítulo 4	121
	CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DE CENOURAS MINIMAMENTE PROCESSADAS COM COBERTURA COMESTÍVEL À BASE DE ALGINATO DE SÓDIO E DE ALGINATO DE SÓDIO COM QUITOSANA	121
	Resumo	121
4.1	Introdução.....	123
4.2	Material e Métodos	124
4.2.1	Cenoura minimamente processada	124
4.2.2	Cobertura comestível	125
4.2.3	Aplicação do revestimento e armazenamento da cenoura minimamente processada	126
4.2.4	Análises físico-químicas	129
4.2.4.1	Umidade	129
4.2.4.2	Perda de massa	129
4.2.4.3	Firmeza	130
4.2.4.4	Taxa respiratória.....	130
4.2.5	Análise sensorial	131
4.2.6	Parâmetros cinéticos e Análise estatística	133
4.3	Resultados e Discussão.....	134
4.3.1	Análises Físico-químicas	134
4.3.1.1	Umidade, Perda de Massa e Firmeza	134
4.3.1.2	Taxa respiratória	137
4.3.2	Seleção dos provadores	141
4.3.3	Atributos, Avaliação global e Intenção de compra	141
4.4	Conclusão	155
	Referências Bibliográficas.....	156

Capítulo 5	161
COBERTURA COMESTÍVEL À BASE DE ALGINATO E ÁGUA DE COCO COMO VEÍCULO DE <i>Lactobacillus Acidophilus</i> LA-3 APLICADA A CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA	161
Resumo	161
5.1 Introdução	162
5.2 Material e Métodos	164
5.2.1 Cenoura minimamente processada	164
5.2.2 Probiótico	165
5.2.3 Coberturas comestíveis e adição dos probióticos	166
5.2.4 Aplicação dos revestimentos e armazenamento da cenoura minimamente processada	166
5.2.5 Análises microbiológicas	169
5.2.5.1 Viabilidade celular dos <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	169
5.2.5.2 Análises de micro-organismos contaminantes	169
5.2.6 Análise sensorial	170
5.2.7 Análise estatística	172
5.3 Resultados e Discussão	172
5.3.1 Análises microbiológicas	172
5.3.3.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	172
5.3.3.2 Análise dos contaminantes	174
5.3.2 Seleção dos provadores	176
5.3.3 Atributos, Avaliação global e Intenção de compra	176
5.4 Conclusão	187
Referências Bibliográficas	188
CONCLUSÕES GERAIS	193
CONSIDERAÇÕES FUTURAS	195
Apêndice A	196
Apêndice B	198
Referências Bibliográficas	199

INTRODUÇÃO GERAL E JUSTIFICATIVA

O interesse da população em inserir mais porções de frutas e hortaliças no cardápio do cotidiano está relacionado ao *marketing* sobre a saudabilidade que os alimentos funcionais proporcionam à saúde. Entretanto, após a colheita das hortaliças é necessária rápida comercialização, preparo e consumo, devido à vida de prateleira curta desses produtos frescos, quando comparados a biscoitos, barras de cereal, chocolates e outros produtos alimentícios práticos para consumir. Estes disputam comercialmente com produtos hortícolas, mas apresentam alto valor calórico.

A cenoura é uma raiz tuberosa, fonte de fibras e minerais, rica em compostos bioativos benéficos à saúde, tais como compostos fenólicos e carotenoides, principalmente o β -caroteno (TEIXEIRA; RAMOS; MARTÍN-BELLOSO, 2008). Este é um carotenóide muito potente como precursor da vitamina A, cujas funções no organismo estão relacionadas à visão, ao crescimento ósseo e à diferenciação dos tecidos (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008; NETO et al., 2010; VERZELETTI; FONTANA; SANDRI, 2010). Atribui-se também ao β -caroteno outras funções, independentes da vitamina A, como prevenção de certos tipos de câncer, de doenças cardiovasculares e de degeneração macular, as quais são relacionadas às suas propriedades antioxidantes (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Essa hortaliça produz uma raiz aromática e comestível, caracterizando-se como uma importante olericultura pelo seu grande consumo em todo mundo. No Brasil, sua maior produção é no período de julho a novembro (LIMA et al., 2003). Com o crescimento do setor hortifrutícola surge a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias de processamento e conservação de produtos vegetais. Produtos minimamente processados que mantêm características sensoriais e frescor do produto *in natura* estão em crescimento no mercado, sendo que dentre os mais comercializados encontra-se a cenoura, que, em geral passa por processos como seleção, higienização, descascamento e cortes ou ralamento (ALEGRIA et al., 2010). Contudo, as operações de processamento causam uma série de estresses e alterações metabólicas indesejáveis que reduzem a vida útil da hortaliça processada em relação à matéria-prima integral. Dentre as principais estão o aumento da taxa respiratória, a deterioração microbiana e a desidratação (HENRIQUE; EVANGELISTA, 2006). O esbranquiçamento é o resultado da desidratação parcial da superfície, uma resposta de ordem física, inicialmente reversível, mas também resultante da ativação do metabolismo, cuja resposta é de ordem fisiológica e irreversível, causando a descoloração de laranja intenso para laranja pálido (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995; PEREIRA; MINIM; CHAVES,

2007). Este processo ocorre na superfície abrasada das cenouras minimamente processadas, limitando a vida de prateleira e sua aceitabilidade, pois o produto apresenta um aspecto envelhecido ou mofado.

Para amenizar ou corrigir essas falhas do processamento mínimo há tecnologias passíveis de aplicação, entre elas os revestimentos comestíveis, que são dispostos ou formados diretamente sobre o alimento. Essas coberturas comestíveis, nas melhores de suas características, agem como uma barreira, reduzindo a transferência de água, gases, óleos, gorduras e nutrientes, atuando como uma membrana de isolamento a contaminantes e infestações externas (KROCTHA; DE MULDER-JOHNSTON, 1997; OZDEMIR; FLOROS, 2008), além de estender a vida de prateleira do alimento minimamente processado.

Uma gama de substâncias pode ser utilizada na formulação de revestimentos comestíveis, sendo elas, em geral, polissacarídeos, proteínas e lipídeos, podendo ser empregadas sozinhas ou em combinações (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014). Coberturas à base de polissacarídeos são muito empregadas para aumentar a vida útil dos produtos minimamente processados. Aditivos, como os polióis, lipídeos e surfactantes também podem ser necessários à formação da cobertura, numa proporção equilibrada para melhorar as propriedades requeridas, que dependerão de aplicação específica, como molhabilidade, coesão, elasticidade, diminuição da permeabilidade ao vapor de água e a gases, dentre outras.

Na literatura, a combinação do alginato de sódio e quitosana apresenta ótimos resultados (LEE; CHA; PARK, 2004; SOUZA et al., 2015; ETCHEPARE et al., 2016), devido à interação eletrostática formada entre os grupos carboxílicos do alginato e os grupos aminos da quitosana (ARZATE-VAZQUEZ et al., 2012). Além disso, atribui-se à quitosana uma boa eficácia na preservação da qualidade microbiológica do alimento, apesar da ação antimicrobiana da quitosana variar muito em função do seu grau de desacetilação e massa molar, pH do meio, temperatura e presença de componentes antimicrobianos (DUTTA et al., 2009). Além disso, sua atividade antimicrobiana é fortemente dependente do tipo de micro-organismo (ELSABEE; ABDON, 2013). Atribui-se à natureza policatiônica da quitosana a propriedade de interagir com membranas celulares, alterando sua permeabilidade e causando danos às células de micro-organismos (MUZZARELLI et al., 1990; YADAV; BISHE, 2004).

Os revestimentos comestíveis, além de permitirem agregar partículas de dimensões nano ou micrométricas, também servem como transportadores de agentes antioxidantes e anti-escurecimento; de componentes antimicrobianos e micro-organismos benéficos tais como probióticos, corantes, aromatizantes, nutrientes e especiarias (TAPIA et al., 2008).

Probióticos são micro-organismos vivos que, mediante a ingestão de certo número, exercem um efeito benéfico na saúde do ser humano (FAO/WHO, 2002). De acordo com Oliveira et al. (2002), ainda que não haja prova definitiva da eficácia desses micro-organismos sobre a saúde, foram observados efeitos significativos sobre sintomas clínicos de determinadas doenças como a alergia alimentar infantil, bem como a melhoria da qualidade de vida de portadores de doenças crônicas mediadas pelo sistema imune, como doenças inflamatórias intestinais.

Um dos principais gêneros bacterianos representantes dos probióticos é o *Lactobacillus*, o qual é composto por espécies que são amplamente empregadas como ingredientes funcionais (RODGERS, 2008; SAAD; CRUZ; FARIA, 2011), podendo auxiliar no problema de infecções alimentares (SOCCOL et al., 2010; SINGH et al., 2011), uma vez que esses micro-organismos competem com bactérias patogênicas por sítios de adesão, evitando a colonização por estirpes de *E.coli* e *Salmonella* sp, além de *Shigella* (SINGH et al., 2011).

As bactérias lácticas não só melhoram a saúde quando consumidas, como também desempenham um papel protetor contra os patógenos no próprio produto alimentício, durante o armazenamento, através da competição por nutrientes (vitaminas, minerais, peptídeos, etc), além de produzirem ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas (RYDLO; MILTZ; MOR, 2006). A presença de culturas com propriedades inibidoras poderia melhorar a vida de prateleira e a segurança dos produtos de origem vegetal, enquanto reduz a necessidade de utilizar níveis crescentes de aditivos químicos (ALEGRE et al., 2011).

Quando se visa introduzir micro-organismos probióticos em alimentos, a manutenção fisiológica e estrutural de suas células influencia na saúde de quem os consome e na vida de prateleira do produto.

Os produtos lácteos fermentados são os veiculadores mais tradicionais de probióticos no mercado (MARTINS et al., 2013). Entretanto, a procura de novas matrizes alimentares como veiculadores de probióticos, em alternativa aos produtos lácteos, está crescendo devido a problemas de intolerância e alergia aos derivados do leite, aumento de pessoas veganas, dietas com restrição de colesterol, entre outros (GRANATO et al., 2010).

Apesar das frutas e hortaliças terem potencial como matriz alimentar transportadora de micro-organismos probióticos com alta viabilidade celular, seria necessário que os micro-organismos estivessem impregnados no tecido celular para que a estrutura celulósica pudesse proteger os probióticos da passagem no trato gastrointestinal, permitindo alcançar o colon (MARTINS et al., 2013). Entretanto, os probióticos em matrizes poliméricas adicionadas sobre

vegetais podem não ter nutrientes suficientes e adequados para sua manutenção. Daí surge a possibilidade de se utilizar um meio mais rico na composição da solução filmogênica.

A composição da água de coco, rica em aminoácidos e outros nutrientes, vem se mostrando adequada para o crescimento e a manutenção de bactérias ácido lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus* (OLIVEIRA et al., 2002; YULIANA; RANGGA; RAKHMIATI, 2010; LEE; BOO; LIU, 2013).

Estrutura do texto da Tese

Este trabalho está dividido em 5 capítulos. No primeiro capítulo, apresenta-se uma revisão bibliográfica sobre os principais temas abordados: cenoura, vegetais minimamente processados, cenoura minimamente processada, coberturas comestíveis, coberturas à base de polissacarídeos como alginato de sódio e quitosana, coberturas compostas, aditivos e probióticos nas coberturas comestíveis.

O segundo capítulo se refere aos testes da cenoura minimamente processada, com ou sem cobertura à base de alginato de sódio, adicionados ou não de *L. acidophilus* liofilizados LA-14 (Prolive-Aché veiculados em cápsulas). Foram feitas análises físico-químicas e microbiológicas (viabilidade dos probióticos e de contaminantes) para acompanhar os 20 dias de armazenamento das cenouras submetidas a três tratamentos: cenoura minimamente processada, cenoura minimamente processada com cobertura à base de alginato de sódio e cenoura minimamente processada com cobertura à base de alginato de sódio adicionada de probióticos liofilizados.

No terceiro capítulo estudou-se a adição da quitosana ao revestimento comestível de alginato. Também foi testada outra linhagem de micro-organismos probióticos, muito empregada em alimentos, especialmente em produtos lácteos, que foi a *L. acidophilus* LA-3 (Sacco). O microrganismo foi ativado, multiplicado e adicionado à cobertura comestível no capítulo 3, mostrando sua inadequação em produtos não lácteos e conseqüente necessidade de substrato mais nutritivo.

O quarto capítulo, que não incluiu a utilização de probióticos, apresenta resultados de análises físico-químicas, taxa de respiração e firmeza, bem como de avaliação sensorial de cenoura minimamente processada com cobertura comestível à base de alginato de sódio e à base de alginato de sódio com quitosana, além do controle (cenoura minimamente processada sem cobertura). O objetivo foi verificar como os ingredientes que compuseram as coberturas

influenciaram de um modo objetivo e/ou subjetivo, a qualidade dos atributos sensoriais, a avaliação global e intenção de compra.

No capítulo cinco, água de coco foi incorporada em cobertura comestível à base de alginato de sódio, que também teve adição de *Lactobacillus acidophilus* LA-3 (Sacco) ativados, para aumentar a contagem de células viáveis dos probióticos ao longo do armazenamento do minimamente processado e inibir a contaminação por outros micro-organismos deteriorantes e/ou patógenos. A avaliação sensorial também foi empregada para as cenouras minimamente processadas com cobertura à base de água de coco e alginato de sódio, com ou sem a adição de probióticos, para verificar se os ingredientes que compuseram as coberturas influenciaram, de um modo objetivo e/ou subjetivo, a qualidade dos atributos sensoriais, a avaliação global e intenção de compra.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Em busca de tecnologias aplicáveis na área alimentícia, foram investigadas coberturas comestíveis à base de alginato de sódio, alginato de sódio com quitosana e alginato de sódio com água de coco, com o objetivo de prolongar a vida de prateleira de cenouras minimamente processadas, evitando a perda de cor e textura, produção de *off-flavors* e crescimento de microorganismos deteriorantes e/ou patógenos. Adicionalmente, *Lactobacillus acidophilus* foram incorporados em coberturas comestíveis, que foram aplicadas em cenoura minimamente processada, com o intuito de melhorar a qualidade e tornar o produto potencialmente probiótico.

Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da aplicação de cobertura comestível à base de alginato de sódio, com e sem adição dos *Lactobacillus acidophilus* LA-14 liofilizados, em cenoura minimamente processada, sobre perda de massa fresca, umidade, acidez titulável, pH, sólidos solúveis, atividade de água, manutenção da viabilidade celular do probiótico e qualidade microbiológica, durante o armazenamento;
- Avaliar o efeito da adição de quitosana e de *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ativados em coberturas à base de alginato de sódio aplicadas em cenoura minimamente processada, sobre perda de massa fresca, umidade, acidez titulável, pH, sólidos solúveis, espessura, cor, textura, manutenção da viabilidade celular do probiótico e qualidade microbiológica;
- Avaliar sensorialmente as cenouras minimamente processadas, com e sem coberturas comestíveis à base de alginato de sódio ou alginato de sódio com quitosana, através do método afetivo de aceitação;
- Avaliar o efeito da utilização de água de coco na elaboração de coberturas comestíveis à base de alginato de sódio e com adição dos *Lactobacillus acidophilus* ativado, aplicadas à cenoura minimamente processada, sobre a manutenção da viabilidade celular do probiótico, a qualidade microbiológica e a aceitação sensorial.

Referências Bibliográficas

- ALEGRE, I; VIÑAS, I; USALL, J.; ANGUERA, M; ABADIAS, M. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Food Microbiology**, Catalonia, v. 28, p. 59-66, 2011.
- ALEGRIA, A.; PINHEIRO, J.; GONÇALVEZ, E. M.; FERNANDES, I.; MOLDÃO, M.; ABREU, M. Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v.11, p. 155–161, 2010.
- ARZATE-VÁZQUEZ, I.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; CALDERÓN-DOMÍNQUEZ, G.; TERRES-ROJAS, E.; GARIBAY-FEBLES, V.; MARTINEZ-RIVAS, A.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 289-299, 2012.
- CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 38, p. 20-27, 2014.
- CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of surface White discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, n. 2, p. 320-324, 1995.
- DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1173 – 1182, 2009.
- ELSABEE, M.; ABDU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, Lausanne, v. 33, p. 1819–1841, 2013.
- ETCHEPARE, M. A.; RADDATZ, G. C.; FLORES, E. M. M.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; BARIN, J. S.; GROSSO, C. R. F.; MENEZES, C. R. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. **Food Science and Technology**, London, v. 65, p. 511-517, 2016.
- FAO/WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**, London, April 30 and May 1, 2002.
- GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and Nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, 2010.
- HENRIQUE, C. M.; EVANGELISTA, R. M. Processamento mínimo de cenouras orgânicas com uso de películas biodegradáveis, **Publicatio UEPG**, Ponta Grossa, v. 12, n. 3, p. 7-14, dez. 2006.

- KROCHTA, J. M.; DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 60-74. 1997.
- LEE, J. S.; CHA, D. S.; PARK, H. J. Survival of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* KFTI 673 in chitosan-coated calcium alginate microparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 7300-7305, 2004.
- LEE, P. R.; BOO, C. X.; LIU, S. Q. Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 63, p. 1441-1450, 2013.
- LIMA, K. S. C. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 n. 2, p. 240-250, maio/ago., 2003.
- MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, Barking, v. 51, p. 764–770, 2013.
- MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILLIPPINI, O.; GIOVANETTI, E.; BIAGINI, G.; VARALDO, P.R. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Washington, p. 2019-2023, 1990.
- NETO, A. F.; OLIVEIRA, S. B.; LIMA, M. S.; AMORIM, M. R.; FIGUEIREDO, R. M. C. Efeito do composto orgânico nas características físico-químicas de cenoura “Brasília”. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 12, n.1, p.61-66, 2010.
- OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 38, n. 1, jan./mar., 2002.
- OZDEMIR, M.; FLOROS, J.D.; Optimization of edible whey protein film containing preservation for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. **Journal of food Engineering**, Essex, v. 86, p.215-224, 2008.
- PEREIRA J. M. A. T. K.; MINIM, V. P. R.; CHAVES, J. B. P. Avaliação sensorial e instrumental do esbranquiçamento superficial de mini-cenoura durante armazenamento. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 261-266. jul./set. 2007.
- RODGERS, S. Novel Applications of live bacteria in food services: probiotics and protective cultures. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 19, p. 188-197, 2008.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Human Nutrition Institute, 64p. 2001.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 21, n. 6, p. 445-463, 2008.
- RYDLO, T.; MILTZ, J.; MOR, A. Eukaryotic antimicrobial peptides promises and premises in food safety. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 71, n. 9, 2006.

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**, São Paulo: Varela, 2011.

SINGH, K.; KALLALI, B.; KUMAR, A.; THAKER, V. Probiotics: A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, China, p. S287-S290, 2011.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SPIER, M. R.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGUISHI, C. T.; LINDNER, J. D.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T. The potencial of probiotics: a review. **Food technology and biotechnology**, Croatia, v. 48, n. 4, p. 413–434, 2010.

SOUZA, M. P.; VAZ, A. F. M.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Effect of an edible nanomultilayer coating by electrostatic self-assembly on the shelf life of fresh-cut mangoes. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 8, p. 647-654, 2015.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; CAMONA, A.; RODRIGUEZ, F. J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Use of alginate and gellan based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, p. 1493–1503. 2008.

TEIXEIRA, L. J. Q.; RAMOS, A. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Avaliação durante a estocagem do suco de cenoura processado por campos elétricos pulsados de alta intensidade (CEPAI) e por tratamento térmico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 10, n. 2, p. 149-162, 2008.

VERZELETTI, A.; FONTANA, R. C.; SANDRI, I. G. Avaliação da vida de prateleira de cenouras minimamente processadas. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n.1, jan./mar., p. 87-92, 2010.

YADAV, A. V.; BHISE, S. B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, Columbus, v. 87, n. 9, p. 1176-1178, 2004.

YULIANA, N.; RANGGA, A.; RAKHMIATI. Manufacture of fermented coco milk-drink containing lactic acid bacteria cultures. **African Journal of Food Science**, Nigeria, v. 4, n.9, p. 558 - 562, set. 2010.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Cenoura (*Daucus Carota* L.)

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma hortaliça da família *Apiaceae*, do grupo das raízes tuberosas (OLIVEIRA et al., 2003), oriunda dos continentes Europeu e Asiático, que abrange cerca de 300 gêneros e mais de 3000 espécies. A raiz não possui ramificações, sendo que o caule é pouco perceptível e situa-se no ponto de inserção das folhas, as quais apresentam um limbo bastante recortado (CHAVES, 2009).

Sobre a exportação de frutas e hortaliças no Brasil, no ano de 2015, a cenoura apresentava-se em 15º lugar (851.100 kg), e o melão em 1º lugar (233.746.193 kg), sendo que o estado de Minas Gerais tem se destacado com mais de 50% das cenouras colhidas no país (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2016).

Embora produza melhor em áreas de clima ameno, nos últimos anos, face ao desenvolvimento de cultivares tolerantes ao calor e com resistência as principais doenças de folhagem, o plantio de cenoura vem se expandindo também nos Estados da Bahia e de Goiás. Esta olerícola é rica em compostos bioativos benéficos à saúde, tais como compostos fenólicos, e apresenta alto conteúdo de vitamina A (Tabela 1) que se origina dos carotenoides, especificamente do β -caroteno, além de ser uma boa fonte de fibras e minerais (TEIXEIRA; RAMOS; MARTÍN-BELLOSO, 2008).

A cenoura é amplamente utilizada, seja pelas indústrias, como matéria-prima, em alimentos processados como seleta de legumes, alimentos infantis, sopas instantâneas e sucos, ou em casa, para fazer saladas ou refeições caseiras (LAI; CHEN; LAI, 2013).

Tabela 1. Composição nutricional de 100 gramas de raízes de cenoura crua.

Componente	Unidade	Quantidade
<i>Energia</i>	Kcal	143
<i>Umidade</i>	%	90,1
<i>Lipídeos</i>	g	0,2
<i>Carboidratos</i>	g	7,7
<i>Fibra Alimentar</i>	g	3,2
<i>Proteína</i>	g	1,3
<i>Cinzas</i>	g	0,6
<i>Sódio</i>	mg	3,0
<i>Potássio</i>	mg	315
<i>Cálcio</i>	mg	23
<i>Magnésio</i>	mg	14
<i>Ferro</i>	mg	0,2
<i>Zinco</i>	mg	0,2
<i>Fósforo</i>	mg	28
<i>Cobre</i>	mg	0,05
<i>Vitamina A</i>	UI	12.036
<i>Vitamina C</i>	mg	5,1

Fonte: Adaptado da TACO, 2011a

A cenoura é uma das hortaliças mais populares, devido a sua versatilidade de uso e formas de apresentação ao consumidor, podendo ser ralada em diversos tamanhos ou cortada na forma de fatias, cubos e palitos, além de ser apresentada na forma de mini-cenouras (“baby-carrot”), podendo variar entre a forma esférica, conhecida como catetinho®, ou a forma cenourete® (MORETTI, 2007). Entretanto, sua comercialização é limitada pela rápida deterioração durante o armazenamento devido a mudanças físico-químicas que reduzem sua vida de prateleira (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006), pois o produto perde a firmeza e a cor, desenvolve odores desagradáveis e sofre deterioração microbológica (SIMÕES et al., 2011).

Pinto e Moraes (2000) relatam que o tempo de conservação das cenouras *in natura*, após sua colheita, é determinado por diversos fatores, entre os quais a variedade, local de produção, época de colheita, estado do produto no momento da colheita, tratamentos suplementares pós-colheita e sistemas de conservação. Os autores recomendam um armazenamento à temperatura de 0 °C e umidade relativa entre 90-100%, para manter as cenouras *in natura* conservadas por 2 a 3 semanas. Para cenoura minimamente processada, recomendam-se temperaturas entre 0-5 °C durante sua distribuição e comercialização, além de uma seleção adequada da embalagem (LANA, 2000).

1.2 Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas.

O desperdício de produtos hortícolas no Brasil alcança níveis inaceitáveis, gerados pelas técnicas inadequadas que ocorrem desde a colheita até o armazenamento (ALVES et al., 2010). Assim, o processamento mínimo de frutas e hortaliças pode contribuir com a redução de desperdícios pós-colheita, tornar possível a agregação de valor aos produtos, estendendo a vida de prateleira e oferecendo produtos seguros (MATTIUZ et al., 2004), que facilitem a praticidade e economia de tempo no preparo diário de alimentos.

Esses produtos estão comercialmente disponíveis nos Estados Unidos desde a década de 70, sendo um segmento da indústria de alimentos bem desenvolvido e que gera muito lucro. Na Itália, em dez anos o crescimento no consumo dos produtos minimamente processados chegou em 380%, até final de 2012, demonstrando que o consumidor atual, cada vez considera menos o preço do produto como item definitivo para compra, atribuindo mais ênfase a sua praticidade (SILLANI; NASSIVERA, 2015).

Produtos minimamente processados (*fresh cut* ou *ready-to-eat*), de acordo com Moretti (2007) e Rico et al. (2007), são produtos levemente processados ou parcialmente processados, sendo fruta ou hortaliça, ou ainda qualquer combinação delas, que foi alterada fisicamente a partir de sua forma original, embora mantenha seu estado fresco. Elas são selecionadas, lavadas, sanificadas, descascadas, cortadas e centrifugadas, resultando num produto 100% aproveitável que, posteriormente, é embalado no intuito de oferecer aos consumidores frescor, conveniência e qualidade nutricional (MORAIS; JESUS; TOMÉ, 2012).

Porém, no processamento mínimo de frutas e hortaliças, as etapas de corte, descascamento e outras ações físicas causam injúrias e danos aos tecidos. Embora necessárias essas etapas resultam na perda da integridade celular e consequente dano à compartimentalização de enzimas e substratos, contribuindo para reações de escurecimento e formação de metabólitos secundários envolvidos na produção de odores desagradáveis. Essas reações ocorrem tipicamente em tecidos de plantas que foram danificados ou expostos a condições de estresse, implicando aumento na respiração e produção de etileno e, em alguns casos, induzindo processos de cicatrização. Também o exsudado presente na superfície do corte torna-se um meio ótimo para crescimento de fungos e bactérias, cuja disseminação é ainda mais facilitada com a remoção da casca destes produtos (CHITARRA, 2000; VITTI et al., 2003; PINTO, 2007).

Outras consequências das injúrias são reações de oxidação lipídica, indução na síntese de etileno, degradação da membrana lipídica e aumento elevado na perda de água (VITTI et al.,

2003). Há ainda outro ponto bastante relevante, a perda na qualidade nutricional (vitaminas), resultante das reações bioquímicas desencadeadas com o dano mecânico, e alterações no sabor, aroma (MORETTI; SARGENT, 2000) e textura do produto, reduzindo de maneira potencial a sua aceitação (PINTO, 2007). Diversas abordagens estão sendo investigadas para aumentar a vida útil dos produtos minimamente processados, sendo o uso de coberturas e filmes comestíveis, sozinhas ou em conjunto com a atmosfera modificada (GUIDELLI et al., 2015), tratamento hidrotérmico, aplicação de compostos de cálcio, associados ao armazenamento refrigerado, radiação gama, dentre outros. Os revestimentos comestíveis em frutas e hortaliças têm como principal finalidade reduzir a atividade respiratória, mantendo suas características fisiológicas preservadas por um período maior de tempo, mas também possuem importantes funções como de reduzir perdas excessivas de umidade e evitar o escurecimento nas partes que sofreram os cortes superficiais (ASSIS; FORATO; BRITO, 2008).

1.3 Cenoura Minimamente Processada

Das hortaliças minimamente processadas, a cenoura é uma das mais populares, devido à sua versatilidade de uso e formas de apresentação ao consumidor (LANA, 2000). Quando minimamente processada, pode ser disponibilizada em saladas ou em lanches, porém, há um fator fortemente limitante que é a vida de prateleira, que, mesmo sob refrigeração de 5 °C, possui tempo estimado de 7 a 8 dias (PUSHKALA; PARVATHY; SRIVIDYA, 2012).

A perda da massa fresca e de umidade causam murchamento na cenoura minimamente processada, pois ambas estão diretamente ligadas à pressão de turgescência, que é um dos mecanismos que mantém a firmeza das hortaliças e frutas, a qual também, quando diminuída, torna a raiz mais susceptível às podridões e à perda de brilho (CARON; JACOMINO; KLUGE, 2003).

Um dos principais problemas tecnológicos enfrentados pela abrasão e corte na superfície dos tecidos das cenouras é a mudança na cor superficial, causando o esbranquiçamento (PEREIRA et al., 2008a). A perda da cor laranja brilhante da cenoura minimamente processada durante o armazenamento, substituída por uma aparência esbranquiçada, reduz a aceitabilidade do consumidor (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006). Por estar associada a atributos de qualidade sensorial e causar impacto sobre a escolha do consumidor, a cor torna-se muito importante, pois cenouras mais próximas do natural e com aparência de produto fresco ou novo são preferidas. O esbranquiçamento superficial das cenouras minimamente processadas, seja na forma de rodela, palitos ou mini-cenouras, leva os consumidores à imediata associação com

um produto de qualidade inferior e velho, diminuindo assim sua aceitação (PEREIRA et al., 2008b)

Diante dos fatos mencionados, sublinha-se que investigações sobre o problema do esbranquiçamento já vêm sendo conduzidas desde Avena-Bustillos et al. (1994), que concluíram que o esbranquiçamento ocorre devido à desidratação superficial. Todavia, se a umidade relativa de armazenamento for mantida entre 98-100%, ocorre redução do esbranquiçamento. De acordo com Cisneros-Zevallo, Saltveit e Krochta (1995), a desidratação e as alterações estruturais das camadas de células mais superficiais são as principais causadoras do esbranquiçamento em cenouras descascadas e não estão relacionadas ao acúmulo de lignina ou suberina. Além disso, os autores apontam que sucessivas reidratações podem ou não reverter o esbranquiçamento na superfície de cenouras minimamente processadas, dependendo do grau de desidratação sofrido e, conseqüentemente, da perda da massa fresca.

A contaminação microbiana nas cenouras minimamente processadas também altera as características sensoriais do produto durante o armazenamento. Um dos indícios é o decréscimo do pH, consequência do aumento de íons H^+ , tendo como origem a produção de ácidos orgânicos provenientes da ação de micro-organismos contaminantes (LIMA et al., 2003).

Lavelli et al. (2006) averiguaram a qualidade de cenouras minimamente processadas, armazenadas em refrigeração durante 10 dias, através de análises físico-químicas, sensoriais e microbiológicas e concluíram que, entre os fatores avaliados, o esbranquiçamento foi o indicador mais sensível da qualidade do produto.

Com a finalidade de controlar as desordens fisiológicas causadas pelo processamento mínimo, como o esbranquiçamento, assim como a deterioração provinda da proliferação microbiana, muitos pesquisadores, têm aplicado coberturas comestíveis na superfície das cenouras minimamente processadas (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995; LI; BARTH 1998; DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006; SPAGNOL; PARK; SIGRIST, 2006; LECETA et al., 2015).

1.4 Coberturas Comestíveis

Os revestimentos comestíveis são finas camadas de materiais comestíveis aplicados sobre produtos alimentícios que desempenham um papel importante na sua conservação, distribuição e comercialização (FALGUERA et al., 2011). A sua aplicação em frutas pode ser feita por imersão rápida do fruto em uma solução filmogênica, seguindo-se um período no qual o alimento é deixado em repouso para que parte da água evapore e a película se forme sobre a

fruta, ou ainda por meio de aspersão da solução sobre o alimento (LUVIELMO; LAMAS, 2013).

As coberturas comestíveis são consideradas alternativas para prolongar a vida útil e manter a qualidade de vegetais minimamente processados, pois atuam como barreiras à perda de água e trocas gasosas. A cobertura comestível deve estabelecer uma boa diferença de pressão de vapor entre o fruto e sua vizinhança, independente das características hidrofóbicas ou hidrofílicas do material, e criar condições para que os atributos de qualidade encontrados no momento do revestimento sejam preservados por um maior período de tempo (WORREL; CARRINGTON; HUBER, 2002). As coberturas podem atuar como veículos para uma ampla quantidade de aditivos alimentares, incluindo agentes anti-escurecimento, corantes, aromatizantes, nutrientes, especiarias e diversos compostos antimicrobianos que estenderiam a vida de prateleira desses produtos e reduziriam o risco de crescimento de patógenos na superfície dos alimentos (KROCHTA; de MULDER-JOHNSTON, 1997; ROJAS-GRAU et al., 2007). A regulamentação sobre alimentos e medicamentos, de acordo com a agência federal dos EUA, *Food and Drug Administration* (FDA), indica que todo composto a ser incluído na formulação das coberturas comestíveis deve ser reconhecido como seguro (GRAS) ou regulamentado como aditivo alimentar, e usado dentro das limitações especificadas. Na Europa, os ingredientes que podem ser incorporados em formulações de revestimento comestível são majoritariamente considerados como aditivos alimentares e devem estar na lista de aditivos para fins gerais, embora pectinas, goma acácia e karaya, cera de abelha, polisorbatos, ácidos graxos e lecitina sejam mencionados à parte, para aplicações de revestimento. Em qualquer caso, o uso destas substâncias formadoras de revestimento é permitido desde que o princípio de “quantum satis” seja observado. Esta diretriz foi complementada com a introdução de critérios de pureza específicos para aditivos alimentares (ROJAS-GRAU; SOLIVA-FORTUNY; MARTIN-BELLOSO, 2009).

As substâncias mais utilizadas na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares) e os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena) e os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo) ou a combinação dos mesmos (WONG; CAMIRAND; PAVLATH, 1994; LUVIELMO, LAMAS, 2013). As propriedades de permeabilidade de filmes e coberturas comestíveis a gases são de grande interesse para a definição da aplicação mais adequada. Por exemplo, barreiras ao oxigênio podem proteger alimentos que são sujeitos à oxidação. Ao mesmo tempo, frutas e vegetais frescos necessitam de coberturas permeáveis ao dióxido de carbono. Assim, a

permeabilidade seletiva pode ser muito útil para aplicações específicas (CUQ; GINTARD; GUILBERT, 1995). Além disso, os revestimentos comestíveis devem apresentar certas peculiaridades, como serem invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no gosto ou odores originais do produto revestido (ASSIS; BRITTO, 2014).

Filmes biodegradáveis e coberturas comestíveis à base de polissacarídeos ou proteínas apresentam excelentes propriedades mecânicas e ópticas, baixa barreira ao vapor de água e geralmente têm boas propriedades como barreira ao oxigênio, particularmente sob condições de baixa umidade, sendo que, em altas condições de umidade, causam aumento na permeabilidade do gás em filmes hidrofílicos (CUQ; GINTARD; GUILBERT, 1995; LIMPAN et al., 2010).

Os revestimentos à base de polissacarídeos são considerados um dos materiais mais promissores para serem aplicados na produção de filmes e coberturas comestíveis. Prolongam a vida de prateleira de frutas e hortaliças, devido à seletiva permeabilidade destes polímeros para O₂ e CO₂, modificando o ambiente interno de frutas, atrasando a senescência (ROJAS-GRAU; SOLIVA-FORTUNY; MARTIN-BELLOSO, 2009)

Segundo Azarakhsh et al. (2012), as coberturas comestíveis à base de alginato de sódio (0-2%) e goma gelana (0-1%) em abacaxis minimamente processados apontaram menor perda de peso e respiração ($p < 0,05$) durante armazenamento a 10 °C, umidade relativa de 65%, em 10 dias, em objeção à amostra controle (sem cobertura). Houve a extensão da vida-útil dos morangos sem cobertura (controle) de 7 dias, para 10 dias quando os morangos foram revestidos com acetato de amido de mandioca (0,05% g sorbato/g de acetato), com ou sem adição de sorbato de potássio, armazenados a 10 °C (SILVA; SCHMIDT, 2015). Troller, Macedo e Ferreira (2012) obtiveram resultados positivos para perda de massa (5,62%) de morangos minimamente processados com filme comestível de amido de mandioca (concentração de 3%), sendo que para os morangos sem revestimento foi determinado 7,38% de perda de massa. Por outro lado, Silva et al. (2011) demonstraram, ao estudar revestimentos de amido de mandioca gelatinizado em diversas concentrações, aplicados sobre a casca da banana prata (*Musa AAB*), que os resultados não foram positivos em relação à perda de umidade e à diminuição do amadurecimento e que houve aumento do escurecimento da casca da banana. Lai, Chen e Lai (2013) produziram e aplicaram em cenoura minimamente processada um revestimento derivado do amido de mandioca e relataram que este processo reduziu o nível de esbranquiçamento na superfície das cenouras e preservou a cor das mesmas durante o armazenamento em refrigeração. Fai et al. (2015) testaram um revestimento com substâncias solúveis extraídas de

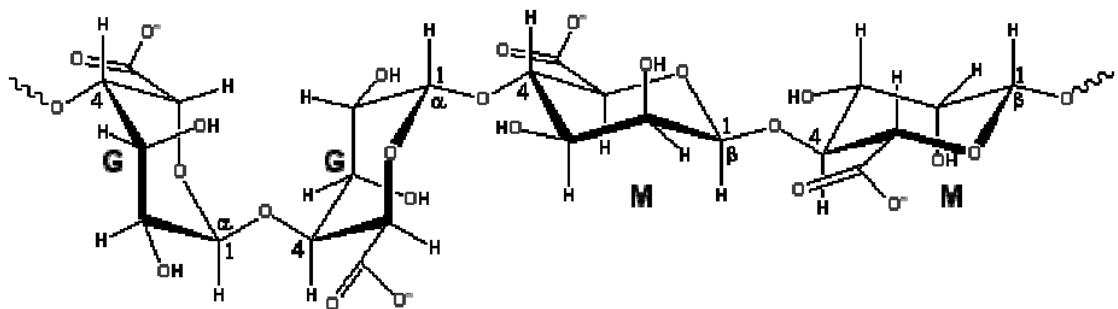
farinha de resíduos de frutas e hortaliças sobre cenouras minimamente processadas, o qual não impactou significativamente a perda de massa, pH, acidez titulável e sólidos solúveis, porém, melhorou o grau de esbranquiçamento.

Em função de cada hortaliça apresentar suas características próprias de amadurecimento e fisiologia, a aplicação de diferentes tipos de revestimentos, bem como a concentração ideal, vem sendo muito pesquisada (LUVIELMO; LAMAS, 2013), pois uma mesma cobertura comestível pode proporcionar resultados variáveis em função dos vegetais tratados, evidenciando a necessidade de estudos minuciosos sobre o assunto.

1.4.1 Coberturas Comestíveis à base de Alginato de sódio

O alginato disponível comercialmente é extraído de algas marrons do tipo *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*, por tratamento em soluções alcalinas com hidróxido de sódio (LEE; MOONEY, 2012). É composto por resíduos dos ácidos β -D-manurônico e α -L-gulurônico na forma de sal de sódio, unidos por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4) e distribuídos em diferentes proporções ao longo da cadeia (LIMA; ANDREANI; SOLDI, 2007). A unidade estrutural do alginato é apresentada na Figura 1.

Figura 1 - Unidade estrutural do alginato de sódio, as moléculas de ácido α -L-gulurônico são representadas pela letra G e as do ácido β -D-manurônico, pela letra M.



Apresenta biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxidez. É adicionado em diversos produtos alimentícios, devido a sua ação gelificante e espessante. Portanto, é necessário o conhecimento das propriedades estruturais e sensoriais do gel para melhor adequar aos alimentos, pois são pontos decisivos na aceitabilidade e escolha do consumidor (ROOPA; BHATTACHARYA, 2008).

As características do alginato de sódio, em particular, dependem da sua massa molecular e da proporção e disposição dos monômeros de ácido manurônico e gulurônico presentes, sendo esses aspectos dependentes da variedade da alga marinha da qual o alginato é extraído, ou seja, diferentes algas produzem alginatos que diferem na composição e estrutura, e também das condições sazonais e de crescimento da própria alga. Por exemplo, foi demonstrado que algas marrons que crescem em águas geladas produzem geralmente alginatos de massas moleculares mais elevadas que as que crescem em águas temperadas (SANTOS, 2012).

Os pesos moleculares da maioria dos alginatos de sódio variam entre 32.000 e 400.000 g/mol. A viscosidade das soluções de alginato de sódio aumenta à medida que aumenta a massa molecular e diminui o pH, alcançando máxima viscosidade no pH 3,0-3,5 (LEE; MOONEY, 2012).

Filmes e coberturas de alginato de sódio são barreiras deficientes à umidade, devido ao seu caráter hidrofílico. Entretanto, a incorporação de cálcio reduz sua permeabilidade ao vapor de água, através da reticulação, tornando os filmes de alginato insolúveis (LIMA; ANDREANI; SOLDI, 2007). Do mesmo modo, a incorporação de lipídeos, como emulsão ou camada de revestimento na formação dos filmes, melhora significativamente suas propriedades de barreira ao vapor d'água (ROJAS-GRAU et al., 2007).

Oms-Oliu, Soliva-Fortuny e Martín-Belloso (2008) verificaram em melões minimamente processados, pré-tratados com cloreto de cálcio (2%), que as coberturas à base de alginato de sódio (2%), gelana (0,5%) e pectina (2%), exerceram barreira ao vapor de água e a produção de etileno. Obtendo resultado semelhante, Olivas, Mattinson e Barbosa-Cánovas (2007) estudaram cobertura de alginato de sódio (1%) e cloreto de cálcio (10%) em fatias de maçãs, que, além de funcionar como barreira ao vapor de água, também preservou o frescor, textura e aparência do produto final.

Quanto maior a permeabilidade da casca ou da cobertura comestível ao vapor de água, maior a perda de massa do produto. Resultados negativos quanto à eficácia da cobertura comestível foram encontrados por Meneghel, Benassi e Yamashita (2008) quando revestiram amoras-pretas do cultivar Comanche, com cobertura de alginato de sódio 2% (p/p), sorbato de potássio 0,1% (p/p) e cloreto de cálcio 2% (p/v). Os autores observaram perda de massa de 14% \pm 3%, enquanto que amostras apenas com alginato de sódio e cloreto de cálcio, nas mesmas concentrações, apresentaram 11% \pm 2%, e amostras sem cobertura apresentaram a menor perda de massa, 9% \pm 1%.

O cloreto de cálcio é, frequentemente, um dos agentes mais utilizados para formação da reticulação (*cross-linking*) iônica com o alginato (LEE; MOONEY, 2012).

Este processo acontece por intermédio dos íons metálicos, como cálcio, cobre e bário, interagindo com o alginato, através dos grupos funcionais carboxílicos e hidroxilas, compostos nos resíduos do ácido L-gulurônico (G) e do ácido D-manurônico (M) (Figura 1) (GACESA, 1988), formando um gel. Como mencionado anteriormente, o alginato é composto de resíduos de ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M), e estes são divididos em blocos de repetição M, blocos de repetição G, intercalados pela união dos blocos M e G. Segundo Tavassoli-Kafrani, Shekarchizadeh e Masoudpour-Behabadi (2016) o comprimento da cadeia e quantidade dos blocos G é que determinam a habilidade e seletividade do alginato para formar ligações com os íons cálcio, sendo que os blocos M e MG não possuem esta seletividade. Portanto, a gelificação ocorre devido às ligações iônicas entre as cadeias poliméricas, denominando esse modelo de “caixa de ovo” (SMRDEL et al., 2008 *apud* ETCHEPARE et al., 2016).

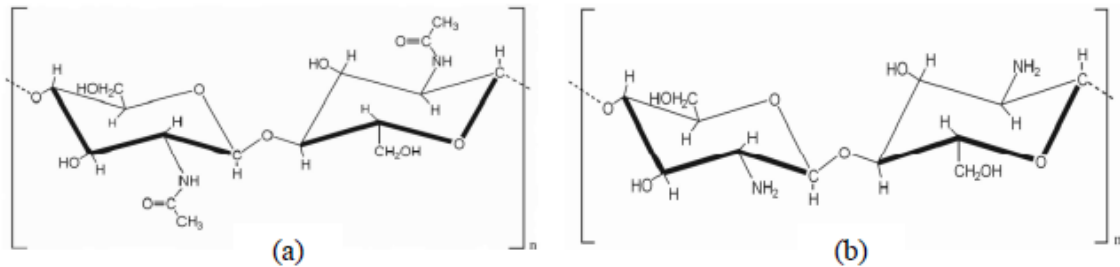
O processo de reticulação pode ser acelerado, aumentando a concentração de cálcio na solução ou utilizando um alginato extremamente reativo ao cálcio, ou seja, um alginato com uma elevada proporção de blocos G. É importante salientar que o aumento da concentração de cloreto de cálcio tem limites, uma vez que este em excesso confere um sabor desagradável e amargo aos produtos alimentares (SANTOS, 2012).

1.4.2 Coberturas Comestíveis à base de Quitosana

Segundo Santos, Cirilo e Nunes (2011) o processo de desacetilação consiste na retirada do grupo funcional acetil da molécula da quitina que será substituída pelo grupo funcional amina, dando origem a molécula de quitosana.

A quitosana é um polissacarídeo composto por unidades de 2-acetamida-2-deoxi-D-glicopiranosose e de 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose obtida pela desacetilação parcial da quitina (ELSABEE; ABDON, 2013) (Figura 2). Sendo um dos mais abundantes polímeros naturais, é encontrado em animais invertebrados e na parede celular de fungos (ALBUQUERQUE et al., 2009).

Figura 2: Estrutura química (a) quitina e (b) quitosana (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008)



A quitosana foi isolada em 1859 pelo aquecimento da quitina em solução concentrada de hidróxido de potássio, resultando na sua desacetilação (DAMIAN et al., 2005). A quitosana apresenta características essenciais para a formação de filmes não tóxicos, flexíveis, biodegradáveis, de longa duração e com boas propriedades para sua formação, o que torna desnecessário o uso de plastificantes (NADARAJAH et al., 2006). Esse polímero mostrou ser uma alternativa eficaz no controle das perdas pós-colheita, por apresentar atividade antifúngica contra muitos fungos, como verificado por Cia et al. (2010) em relação ao *Rhizopus stolonifer* em caquis “Rama forte”, no qual houve redução no desenvolvimento desses fungos quando os frutos foram imersos em solução de quitosana 1,5%, por 1 minuto.

Entretanto, os mecanismos de ação da quitosana, por variarem com os diferentes micro-organismos, dependem do peso molecular da quitosana, da concentração, do pH, dentre outros, dificultam sua elucidação, porém, várias propostas têm sido reportadas (ELSABEE; ABDU, 2013), algumas relacionadas à natureza policatiónica da quitosana, que interagiria com a superfície negativamente carregada dos micro-organismos, interferindo nas funções da membrana e comprometendo a atividade celular (MUZZARELLI et al., 1990; YADAV; BISHE, 2004).

Essa interação é também associada à ação da quitosana sobre fungos, que causaria danos à parede celular dos mesmos, promovendo desequilíbrio osmótico interno. Observações microscópicas indicam que os oligômeros de quitosana difundem dentro das hifas interferindo na atividade enzimática responsável pelo crescimento dos fungos, exercendo, portanto, um efeito fungistático, e não fungicida. A intensidade da ação da quitosana de danificar as paredes celulares dos fungos, também depende da concentração, do grau de desacetilação e do pH (ASSIS; BRITTO, 2011).

Dutta, Tripathi e Dutta (2011) enfatizam uma outra linha de pesquisa, a qual demonstra que quanto menor o peso molecular (inferior a 10 kDa) da quitosana, maior é a atividade antimicrobiana. Além disso, quitosanas altamente desacetiladas teriam ação antimicrobiana

maior do que aquelas com elevada proporção de grupos amino acetiladas, devido à maior solubilidade. A maioria dos estudos demonstraram que o aumento do grau de desacetilação e a diminuição do pH melhoraram as propriedades bioativas da quitosana (Dutta et al., 2009). Para Zheng e Zhu (2003) o mecanismo de ação contra as bactérias gram-positivas é diretamente proporcional ao aumento da massa molecular da quitosana, enquanto que, para bactérias gram-negativas, quanto menor a massa molecular da quitosana, maior a atividade antimicrobiana. Os autores sugeriram distintas explicações para os efeitos determinados nos dois tipos de bactérias: no caso das gram-positivas, a hipótese é que quitosana de alta massa molecular formaria películas ao redor da célula, que acabam por inibir a absorção de nutrientes, enquanto que quitosana de baixa massa molecular penetraria mais facilmente em bactérias gram-negativas, causando distúrbios no metabolismo desses micro-organismos.

Em contrapartida, quando esse polímero é caracterizado por baixa massa molecular, pode exercer efeito seletivo benéfico sobre o crescimento e manutenção da viabilidade de bactérias probióticas, como as do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (BARRETEAU; DELATTRE; MICHUD, 2006). Tsai e Hwang (2004) observaram a atividade antibacteriana da quitosana *in vitro* analisando algumas bactérias patogênicas de alimentos e bactérias probióticas, verificando que a resistência das espécies probióticas foi superior. Porém, os próprios autores não apresentam uma explicação conclusiva da maior resistência dos probióticos à quitosana, sugerindo que a superfície celular dos probióticos pode ser bem diferente dos micro-organismos patogênicos, o que exigiria mais estudos sobre este assunto.

Portanto, coberturas e filmes à base de quitosana podem apresentar propriedades antimicrobianas importantes para a extensão da vida de prateleira dos produtos minimamente processados (PRANOTO; RAKSHIT; SALOKHE, 2005; CAMPANIELLO et al., 2008; DUTTA et al., 2009; PITAK; RAKSHIT, 2011), as quais, combinadas a outras propriedades físicas e químicas do revestimento, contribuiriam para a manutenção das características de frescor dos produtos minimamente processados.

Segundo Elsabee e Abdou (2013), filmes de quitosana apresentam permeabilidade seletiva a gases (CO_2 e O_2) e boas propriedades mecânicas, porém, são altamente permeáveis ao vapor de água, o que causa variações no peso do produto minimamente processado. Portanto, várias estratégias têm sido pesquisadas para melhorar as propriedades físicas desses filmes à base de polissacarídeos, dentre elas, o aumento da hidrofobicidade, adicionando doses equilibradas de lipídeos no revestimento para não prejudicar a estabilidade mecânica, química e até sensorial do produto com o revestimento à base de quitosana.

Lopes, Castilho e Clemente (2011) estudaram a perda de massa da mandioca-salsa cobertas com quitosana (1,5%) ou óleo de capim limão (0,05%) e sem cobertura, e obtiveram menor perda de massa, ao longo dos 15 dias de armazenamento à temperatura de $0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, da amostra com cobertura. Chien, Sheu e Yang (2007) estudaram o efeito das soluções de quitosana, nas concentrações de 0,0, 0,5%, 1% e 2%, em mangas minimamente processadas, armazenadas à temperatura de $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ e verificaram que houve decréscimo da perda de massa dos produtos revestidos, em sete dias, comparados com a amostra sem revestimento (19,86%), sendo que a amostra com 2% de quitosana teve a menor perda de massa (10,27%). Dong et al. (2004) quando recobriram lichia descascada com quitosana e armazenaram a $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$, também obtiveram menor perda de massa do fruto e diminuição da atividade da polifenoloxidase e peroxidase. Leceta et al. (2015) compararam de modo objetivo e subjetivo os métodos de spray e imersão, para adicionar a solução de quitosana e glicerol na superfície de cenouras minimamente processadas. Dessa forma, as cenouras cobertas não tiveram diferença significativa com relação ao controle (sem cobertura) na aceitação geral, porém, no índice de esbranquiçamento analisado em colorímetro, após 15 dias de armazenamento, as três amostras tiveram diferenças significativas entre si, sendo que o método de imersão na solução à base de quitosana apresentou o menor valor de esbranquiçamento ($37,52 \pm 1,23$) e o controle, o maior valor ($46,50 \pm 2,39$).

1.4.3 Coberturas Comestíveis Compostas e Aditivos

Coberturas compostas ou bicamadas são constituídas de duas ou mais substâncias, que podem ser polissacarídeos, lipídeos e proteínas, o que pode melhorar as características das mesmas. Baseado no fato de que as propriedades de coberturas com um único ingrediente geralmente são limitadas a algumas funções específicas, a adição de um ou mais componentes pode ampliar sua funcionalidade (LIN; ZHAO, 2007).

Os polissacarídeos e a maioria das proteínas são polímeros hidrofílicos por natureza e, deste modo, formam excelentes barreiras ao oxigênio, aroma e lipídeos em baixa umidade relativa. Entretanto, eles apresentam baixo desempenho como barreira à umidade, comparados às outras coberturas à base de polietileno (LIN; ZHAO, 2007). Já as coberturas com características hidrofóbicas são caracterizadas por apresentarem predominância de estruturas cujas ligações tendem a ser eletricamente neutras, ou seja, não configuram regiões polares definidas. Incluem-se aqui grupos alquilas e aromáticos. Na presença de água, esses materiais tendem a se aglomerar e excluir as moléculas polares de sua redondeza (ASSIS; BRITO, 2014).

Os lipídeos são hidrofóbicos, sendo assim melhores barreiras à umidade do que polissacarídeos e proteínas. Contudo, sua natureza não polimérica limita sua capacidade de formação de película coesa. Filmes e coberturas compostas de proteína ou polissacarídeo fornecem a integridade do filme e aprisionam o componente lipídico que desempenha a função de barreira à perda de umidade (LIN; ZHAO, 2007).

As coberturas hidrofílicas são mais indicadas para superfícies fatiadas, frutas com aspectos brilhantes que apresentem alta molhabilidade ou presença de cargas superficiais. Por terem afinidade por água, as coberturas hidrofílicas preservam o aspecto hidratado, mantendo por mais tempo a superfície brilhante (ASSIS; BRITO, 2014).

Em função de cada vegetal apresentar suas características próprias de amadurecimento, a aplicação e combinação de diferentes tipos de revestimentos, bem como a concentração ideal devem ser específicas, a fim de desenvolver o revestimento comestível mais favorável ao aumento da vida de prateleira do fruto (LUVIELMO; LAMAS, 2013).

Sabe-se que a combinação do alginato de sódio e quitosana é bem conhecida, uma vez que são moléculas compatíveis, devido à interação eletrostática formada entre os grupos carboxilato do alginato e os grupos amino protonados da quitosana (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009; ARZATE-VÁZQUEZ et al. 2012). Como já mencionado no item 4.1, o alginato de sódio é geleificado quando entra em contato com os íons cálcio na solução, processo denominado de reticulação, porém pesquisas como as de Lee, Cha e Park (2004) aplicam a quitosana sobre as micropartículas constituídas de alginato de sódio e íons cálcio, a qual poderia comparar com a cobertura comestível, para fortalecer a estrutura do gel e minimizar a perda do material contido na esfera ou revestimento.

Olivas, Mattinson e Barbosa-Cánovas (2007) empregaram solução de cloreto de cálcio (10%) e cobertura de alginato de sódio (1%) em fatias de maçãs, observando aumento do brilho e aparência de fresco ao produto, além da cobertura ter preservado a textura e reduzido o escurecimento das maçãs cortadas, atuou como barreira ao vapor de água, diminuindo sua perda nas fatias da fruta. Mangas minimamente processadas cobertas com 0,2% de alginato de sódio e 0,2% de quitosana, armazenadas a 8 °C, tiveram menor perda de massa ($7,2 \pm 2,2\%$) do que a manga sem cobertura ($17,3 \pm 1,1\%$), durante 14 dias de armazenamento (SOUZA et al, 2015). Porém, resultados divergentes foram encontrados por Junior et al. (2010) devido às altas perdas de massa de mamões minimamente processados com três revestimentos comestíveis (alginato de sódio, carboximetilcelulose e quitosana), sendo todos preparados com a mesma concentração de solução (0,5%). Não houve diferença significativa entre as amostras com coberturas e a

controle, após 8 dias de armazenamento à temperatura de $12\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, sendo que a perda de massa de todas as amostras variou entre 64 a 68% ao longo do armazenamento.

As propriedades e características finais das coberturas compostas comestíveis dependem de muitos fatores, principalmente dos aditivos utilizados em sua formulação, os quais podem melhorar seu desempenho, aumentando a vida de prateleira das frutas e hortaliças minimamente processadas, sendo eles os plastificantes, antioxidantes, surfactantes, agentes antimicrobianos ou outras substâncias (CHITARRA; CHITARRA, 2005)

Os plastificantes são utilizados para aumentar a flexibilidade de filmes e coberturas, sendo que as proteínas e polissacarídeos, na maioria das vezes, necessitam do seu uso. Segundo Krochta (2002) plastificantes são agentes de baixo peso molecular incorporados à formulação de películas que modificam as interações entre as macromoléculas, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e reduzindo a temperatura de transição vítrea do sistema. Apesar da sua importância, devem ser usados com parcimônia, pois afetam a permeabilidade ao vapor de água e aos gases, pois são substâncias muito hidrofílicas e higroscópicas em sua maioria (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014). Os plastificantes mais utilizados em filmes e coberturas comestíveis são o glicerol, o sorbitol e a sacarose (KROCHTA, 2002).

O glicerol ou propano-1,2,3-triol é um composto orgânico pertencente ao grupo álcool, cuja fórmula química é $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$. É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso, de sabor adocicado e completamente solúvel em água e álcool. O termo glicerina refere-se ao produto na forma comercial, com pureza acima de 95%, sendo reconhecido como seguro para consumo humano (GRAS) desde 1959 (MORRISON, 2007 *apud* CHIUMARELLI, 2008).

O benefício que o glicerol proporciona na união com os polissacarídeos é a diminuição das trocas gasosas, pois esta interação reduz os poros e fissuras, formando uma cobertura coesa e com baixa permeabilidade aos gases. Porém, o aumento da concentração deste plastificante pode ser diretamente proporcional ao aumento da permeabilidade ao vapor de água, por ser hidrofílico (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014). Cerqueira et al. (2011) estudaram o efeito do glicerol em três tipos de coberturas de concentrado proteico de soro de leite, glúten e quitosana (sendo que neste último foi feita uma quarta amostra sem o glicerol), em goiabas. Constataram após 8 dias de armazenamento a $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ que apenas a goiaba com quitosana a 6% (maior concentração) sem glicerol, retardou o amadurecimento da fruta e obteve menor perda de massa que as outras amostras.

Villalobos, Munoz e Chiralt (2006) relataram que a adição de misturas de surfactantes (Span 60 e sucrose ester P-1560) em soluções formadoras de filmes aumentou a permeabilidade

ao vapor de água em filmes de hidroxipropil metilcelulose quando alta concentração de surfactante foi adicionada. Os surfactantes são substâncias anfífilas, ou seja, são simultaneamente hidrofílicas e hidrofóbicas. Quando incluídas nos revestimentos comestíveis, podem melhorar as propriedades de barreira à perda de umidade de filmes hidrofílicos. O surfactante tween 80 aumentou a capacidade molhante do revestimento à base de quitosana, como descrito por Ribeiro et al. (2007), quando aplicada a morangos, reduzindo a tensão superficial do líquido e aumentando o coeficiente de espalhamento.

Empregando tween 80 e plastificante na cobertura de quitosana para pesquisar a capacidade molhante em cenoura e tomate, Casariego et al. (2008) perceberam que o aumento da concentração de quitosana e glicerol ou sorbitol (plastificante) diminui os valores dos coeficientes de espalhamento, sendo que os melhores valores foram obtidos com a composição de 1,5% (m/v) de quitosana e 0,1% (m/m) de tween 80.

A água de coco é a porção aquosa do endosperma do coco e pode ser empregada para diluição dos componentes das coberturas comestíveis, pois é composta predominantemente por água (cerca de 94,3%) (TACO, 2011b). Apesar de sua alta concentração de água, é considerado um produto rico em nutrientes, tais como os carboidratos, cálcio, fósforo, ferro, glicose, potássio, fibra, magnésio, zinco, lipídios totais (destacando os ácidos capríco, caprílico, cáprico, láurico, oleico e linolêico), aminoácidos, vitamina C, vitaminas do complexo B, sais minerais e proteínas (UNAGUL et al., 2007; CARVALHO, 2012). Porém, a interação da variedade e os estádios de maturação tem um efeito significativo na composição da água de coco, isto é demonstrado em seu perfil bioquímico que varia durante a maturação do fruto, ocorrendo redução da concentração de potássio, cálcio, magnésio e aumento da concentração de frutose e glicose, bem como a redução da concentração de sacarose (CARVALHO, 2012).

O coco é capaz de sintetizar diferentes peptídeos antimicrobianos na água, com diversas propriedades e mecanismos de ação (PRADO et al., 2015), do qual Mandal et al. (2009) constataram que esses peptídeos atuavam contra bactérias patogênicas no ser humano.

Para as bactérias ácido lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, a composição da água de coco é favorável ao seu crescimento e manutenção (YULIANA; RANGGA; RAKHMIATI, 2010; LEE; BOO; LIU, 2013). Charernjiratrakul, Kantachote e Vuddhakul (2007) investigaram as propriedades probióticas de 225 cepas de bactérias ácido lácticas, com base na estabilidade em sais biliares (0,30%) e em meio ácido (pH 3,0), crescimento sob condições aeróbias e anaeróbias e capacidade de crescer sem vitamina B12, sendo que cinco cepas de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* demonstraram melhor

crescimento em meio de água de coco do que em meio *Man Rogosa Sharpe* (MRS) sob condições estática e de agitação.

A água-de-coco pode ser utilizada como uma fonte alternativa de veículo para probióticos, principalmente para pessoas que não podem fazer o consumo do leite. De acordo com Carvalho et al. (2006), a água-de-coco apresenta uma composição de aminoácidos que se assemelha com a do leite, mas que possui uma quantidade maior de arginina, alanina, cistina e serina.

1.5 Probióticos e Coberturas Comestíveis como veículos

Os probióticos são definidos como organismos vivos, que administrados em quantidades adequadas (> 6 a $7 \log$ UFC/g), conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (SAAD, 2006).

A adição de probióticos em frutas e hortaliças frescas é considerada ainda inovação e está em progressivo estudo, pois esses micro-organismos têm a função de beneficiar o organismo hospedeiro por meio do balanço da microbiota intestinal e, dentre eles, aqueles pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são os mais comumente utilizados como probióticos na alimentação humana (MARTINS et al., 2013).

Os *Lactobacillus* são geralmente caracterizados como gram-positivos, não formadores de esporos, apresentam formato de bastões não móveis ou cocobacilos, são aerotolerantes ou anaeróbios estritamente fermentativos e foram identificadas aproximadamente 56 espécies do gênero (CHARTERIS et al. 1997). Porém, para a sobrevivência dos probióticos durante a estocagem, há diversos fatores que influenciam, dentre eles, a cepa ou estirpe e o meio de cultura utilizados na produção de células; o valor do pH no qual as células são propagadas e a fase na qual os lactobacilos são colhidos. A espécie *Lactobacillus acidophilus*, por exemplo, em baixos valores de pH, sofre inibição do metabolismo e, conseqüentemente, de seu crescimento de sua viabilidade. De acordo com Soccol et al (2010), o potencial probiótico de diferentes cepas bacterianas pode diferir, apesar delas pertencerem à mesma espécie. Assim, diferentes cepas da mesma espécie são sempre únicas e podem ter diferentes áreas de aderência,

com sítios específicos, promovendo efeitos imunológicos diferenciados e, conseqüentemente, ações sobre a saúde.

Os alimentos probióticos produzidos e comercializados são basicamente derivados do leite (iogurte e outros produtos lácteos fermentados), porém esses produtos não são consumidos por indivíduos veganos, intolerantes à lactose, alérgicos as proteínas do leite e por aqueles que necessitam de uma dieta de baixo teor de colesterol, como os hipercolesterolêmicos (ALEGRE et al., 2011).

Alimentos probióticos à base de frutas e hortaliças têm sido considerados cada vez mais aceitos pelos consumidores, sendo os minimamente processados os mais populares, saudáveis e práticos para o consumo.

Martins et al. (2013) consideram os minimamente processados, veículos ideais para as culturas probióticas, porém é necessário fazer seleção da matriz, oferecendo condições ótimas para a manutenção dos micro-organismos, resistindo às operações de processamento e armazenamento do produto. Probióticos devem estar presentes no produto em concentração significativa e, para que ocorra ação benéfica no intestino, devem ser capazes de sobreviver à acidez estomacal e aos sais biliares (SIMEONI et al., 2014). No Brasil, a quantidade mínima de probióticos viáveis no alimento deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo (BRASIL, 2016).

A manutenção da viabilidade dos probióticos nos alimentos não é fácil, pois eles devem chegar e permanecer vivos no sítio de ação para que possam desempenhar o seu papel na saúde dos consumidores (CHAMPAGNE et al., 2011). Muitos trabalhos relatam que a sobrevivência de células probióticas livres nos alimentos é baixa (DE VOS et al., 2010), principalmente devido ao pH e à atividade de água desfavorável, à quantidade de nutrientes e a temperaturas inadequadas à sobrevivência dos probióticos, sendo necessária a existência de uma barreira física resistente às condições adversas do meio (KAILASAPATHY, 2009), ou ainda ingredientes que favoreçam a viabilidade dos probióticos.

Portanto, é necessário entender os efeitos e interações dos componentes que constituem a cobertura comestível. Lee, Cha e Park (2004) analisaram os efeitos de distintos pesos moleculares de quitosana misturada com alginato de sódio, em solução, verificando a sobrevivência dos *Lactobacillus bulgaricus* KFRI763, na simulação gástrica e no suco intestinal durante o armazenamento a 4 °C e 22 °C. A combinação do alginato de sódio com a quitosana de alto peso molecular, à temperatura de 22 °C, durante a simulação gástrica, apresentou a maior contagem de probióticos. Martinez-Castellanos et al. (2007) *apud* Fai, Stamford e Stamford (2008) reportaram que o *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus*

plantarum e *Lactobacillus sp* podem ser impregnados em películas de quitosana conservando sua viabilidade mesmo em concentrações elevadas deste polissacarídeo 20 g/L. Dentro do conceito de tecnologia de barreiras de proteção, o uso de coberturas de quitosana associado a bactérias lácticas é de grande potencialidade, visto que os *Lactobacillus* promovem resistência e diminuição da população dos patógenos, direta e indiretamente, através da produção de peróxido de hidrogênio, ácidos, como exemplo o ácido láctico, gases que modificam a composição da atmosfera e outros compostos antimicrobianos, como as bacteriocinas, além de competirem por nutrientes (SAAD, 2006).

Tsai e Hwang (2004) examinando a atividade antibacteriana *in vitro*, frente a algumas bactérias patogênicas e probióticas, relataram que para quitosana com grau de desacetilação entre 70 a 95%, a concentração mínima letal para alguns patógenos como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi de 200 a 500 ppm, enquanto que para *Clostridium perfringens* e bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foi de 250 e 500 a 1000 ppm, respectivamente. Fica evidente que a resistência destas espécies probióticas testadas é mais elevada, quando comparada às patogênicas alimentares e intestinais, o que leva a crer que a superfície celular destes micro-organismos é específica, exigindo maiores estudos sobre os componentes envolvidos.

Pode-se supor que a junção da quitosana e do probiótico no mesmo revestimento comestível melhore a ação antimicrobiana, aumentando a vida útil do produto minimamente processado. Gialamas et al. (2010) conseguiram diminuir o crescimento da *Listeria monocytogenes* inoculadas em pedaços de carne *in natura*, que receberam filme contendo *Lactobacillus sakei* (10^6 UFC/cm²), caseinato de sódio e sorbitol, à temperatura de 4 e 25°C, sendo que a inibição do patógeno foi maior no filme que continha o probiótico e o sorbitol, independente da temperatura e do método de aplicação, e demonstrou que a adição do *L. sakei* não alterou as características do filme.

Para que um alimento possa carrear as células probióticas com segurança e viabilidade, assegurando a eficácia como produto funcional, vários fatores devem ser levados em consideração, tais como seleção apropriada da cultura probiótica, que seja resistente às condições apresentadas pelo produto alimentício, adaptação ao estresse, concentração do inóculo, estágio do processamento em que a cultura é adicionada e a incorporação de micronutrientes no alimento, tais como peptideos e aminoácidos que beneficiem a inoculação e manutibilidade dos micro-organismos probióticos (SOCCOL et al., 2010).

Além disso, é importante destacar que, além de manter a viabilidade dos probióticos nas coberturas ou filmes comestíveis, estes devem ser imperceptíveis durante o tempo de vida do

produto e garantir a qualidade do minimamente processado, mantendo o produto fresco e sem alterações em suas características físicas, químicas e sensoriais pelo maior tempo possível.

Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, R. B.; SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; STAMFORD, T. C. M. Perspectiva e potencial aplicação de quitosana como inibidor de *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Espanha, v. 10, n. 5, p. 260-274, 2009.
- ALEGRE, I; VIÑAS, I; USALL, J.; ANGUERA, M; ABADIAS, M. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Food Microbiology**, Catalonia, v. 28, p. 59-66, 2011.
- ALVES, J. A.; VILAS BOAS, E. V. B.; VILAS BOAS, B. M.; SOUZA, E. C. Qualidade de produto minimamente processado à base de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 625-634, jul./set. 2010.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS (BRAZILIAN VEGETABLE YEARBOOK). Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 2016, 64p.
- ARZATE-VÁZQUEZ, I.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; CALDERÓN-DOMÍNQUEZ, G.; TERRES-ROJAS, E.; GARIBAY-FEBLES, V.; MARTINEZ-RIVAS, A.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 289-299, 2012.
- ASSIS, O.B.G.; BRITTO, B. G. D. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique. **Polymer international**, England, v. 60, p. 932–936, 2011.
- ASSIS, O.B.G.; BRITTO, B. G. D. Review: edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, jun. 2014.
- ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 160, 2008.
- AUGUSTO, A. L. S. **Desenvolvimento de revestimentos comestíveis para produtos de IV gama**. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia dos Recursos Marinhos), Instituto Politécnica de Leiria, Peniche, 2013.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. **Postharvest Biology and Technnology**, Amsterdam, v. 4, p. 319-329, 1994.
- AZARAKHSH, N.; OSMAN, A.; GHAZALI, H. M.; TAN, C. P.; MOHD-ADZAHAN, N. Optimization of alginate and gellan-based edible coating formulations for fresh-cut pineapples, **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 19, n. 1, p. 279-285, 2012.

BARRETEAU, H.; DELATTRE, C.; MICHUD, P. Production of oligosaccharides as promising new food additive generation. **Food Technology and Biotechnology**, Croácia, v. 44, n. 3, 2006, 323 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. (2016). Acesso em 20 dezembro de 2016.

CAMPANIELLO, D.; BEVILACQUA, A.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R.; Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 8, p. 992 – 1000, 2008.

CARON, V. C.; JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A. Conservação de cenouras ‘Brasília’ tratadas com cera. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 597- 600, 2003.

CARVALHO, G. D. **Efeito da ingestão de água-de-coco e água magnetizada na reparação de feridas experimentais em coelhos**. 2012. 79f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal Viçosa, Viçosa, 2012.

CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, JR G. A. Água-de-coco: propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 437-452, jul./set. 2006.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, L.; DIAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, p. 1452-1459, 2008.

CERQUEIRA, T. S.; JACOMINO, A. P.; SASAKI, F. F.; ALLEONI, A. C. C. Recobrimento de goiabas com filmes proteicos e de quitosana. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 216-221, 2011.

CHAMPAGNE, C. P.; ROSS, R. P.; SAARELA, M.; HANSEN, K. F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 149, p. 185-193, 2011.

CHARERNJIRATRAKUL, W.; KANTACHOTE, D.; VUDDHAKUL, V. Probiotic lactic acid bacteria for applications in vegetarian food products. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, Thailand, v. 29, n. 4, p. 981-991, 2007.

CHARTERIS, W. P.; KELLY, P. M.; MORELLI, L.; COLLINS, K. Selective detection enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 35, p. 1-27, 1997.

CHAVES, D. V. **Metabolismo de carboidratos e de fenóis no armazenamento refrigerado de cenoura**. 2009. 88f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; YANG, F. H. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 78, p. 225–229, 2007.

CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**, 2. ed. Lavras: UFLA, 2005, 785 p.

CHIUMARELLI, M. **Avaliação da vida útil de manga (*Mangifera indica* cv ‘tommy atkins’) minimamente processada pré-tratada com ácido cítrico e coberturas comestíveis**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 38, p. 20-27, 2014.

CIA, P.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; GARCIA, E. O. Quitosana no controle pós-colheita da podridão mole em caqui ‘Rama forte’. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 745-752, 2010.

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of Surface White Discoloration of Peeled (Minimally Processed) carrots during Storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, n. 2, p. 320-324. 1995.

CUQ, B; GINTARD, N; GUILBERT, S. **Edible films and coatings as active layers**. Chapter of **Edible Active Packaging**, ed. M. Rooney/Blackie Academic & Professional, n. 29, p.111-142, London, 1995.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 195-205, 2005.

DE VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, England, v. 20, n. 4, p. 292–302, 2010.

DONG, H.; CHENG, L.; TAN, J.; ZHENG, K.; JIANG, Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 64, n. 3, p. 355-358, 2004.

DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildford, v.17, p. 336-341, 2006.

DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P. K. Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. **Food Science and Technology International**, London, v. 18, n. 1, p. 3–34, 2011.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, jun. 2009.

ELSABEE, M.; ABDU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, Lausanne, v. 33, p. 1819-1841, 2013.

ETCHEPARE, M. A.; RADDATZ, G. C.; FLORES, E. M. M.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; BARIN, J. S.; GROSSO, C. R. F.; MENEZES, C. R. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. **Food Science and Technology**, London, v. 65, p. 511-517, 2016.

FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Produção de revestimento comestível à base de resíduo de frutas e hortaliças: aplicação em cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v. 6, n. 1, p. 59-68, 2015.

FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Espanha, v. 9, n. 5, jul. 2008.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMENEZ, J.; MUNOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures active functions and trends in their use: Review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 22, p. 292-303, 2011.

FAO/WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002.

GACESA, P. Alginates. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 8, p.161-182, 1988.

GHIDELLI, C.; MATEOS, M.; ROJAS-ARGUDO, C.; PÉREZ-GAGO, M. B. Novel approaches to control browning of fresh-cut artichoke: Effect of a soy protein-based coating and modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 99, p. 105-113, 2015.

GIALAMAS, H.; ZINOVIADOU, K. G.; BILIADERIS, C. G.; KOUSTSOUMANIS, K. P. Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of *Lactobacillus sakei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Research International**, Barking, v. 43, p. 2402-2408, 2010.

JUNIOR, E. B.; MONARIM, M. M. S.; CAMARGO, M.; MAHL, C. R. A.; SIMÕES, M. R.; SILVA, C. F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (*Carica papaya* L) minimamente processado. **Revista Varia Scientia Agrárias**, Cascavel, v. 0, n. 1, p.131-142, jan. 2010.

KAILASAPATHY, K. Encapsulation Technologies for functional foods and nutraceutical product development. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 6, 2009.

KROCHTA, J. M.; DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 60-74. 1997.

- KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: **Protein-based Films and Coatings**, Boca Raton: CRC Press, p.1-41, 2002.
- LAI, T. Y.; CHEN, C. H.; LAI, L. S. Effects of tapioca starch/decolorizes hsian-tsau leaf gum-based active coatings on the quality of minimally processed carrots. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 6, p. 249-258, 2013.
- LANA, M. M. Aspectos da fisiologia de cenoura minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 154-158, nov. 2000.
- LAVELLI, V.; PAGLIARINI, E.; AMBROSOLI, R.; MINATI, J. L.; ZANONI, B. Physicochemical, microbial, and sensory parameter as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 34-40, 2006.
- LECETA, I.; MOLINARO, S.; GUERRERO, P.; KERRY, J. P.; CABA, K. Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 100, p. 142–150, 2015.
- LEE, J. S.; CHA, D. S.; PARK, H. J. Survival of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* KFTI 673 in chitosan-coated calcium alginate microparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 7300-7305, 2004.
- LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 37, p. 106–126, 2012.
- LEE, P. R.; BOO, C. X.; LIU, S. Q. Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 63, p. 1441-1450, 2013.
- LI, P.; BARTH, M. M. Impact of edible coatings on nutritional and physiological changes in lightly-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 51–60, 1998.
- LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.
- LIMA, K. S. C.; LIMA, L. S.; LUCHESE, R. H.; GODOY, R. L. O.; SABAA-SRUR, A. U. O. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 n. 2, p. 240-250, maio/ago. 2003.
- LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, Londres, v. 100, p. 85–92, 2010.

LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 6, p. 60-75, 2007.

LOPES, E. S.; CASTILHO, L.; CLEMENTE, E. Influência do revestimento e da temperatura na qualidade de mandioquinha-salsa minimamente processada. **Revista Tecnológica**, ed. Especial V Simpósio de Engenharia, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Maringá, p. 49-56, 2011.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, Pelotas, v. 8, n.1, p. 8-15, 2013.

MANDAL, S. M.; DEY, S.; MANDAL, M.; SARKAR, S.; MARIA-NETO, S.; FRANCO, O. L. Identification and structural insights of three novel antimicrobial peptides isolated from green coconut water. **Peptides**, New York, v. 30, p. 633–637, 2009.

MARTINEZ-CASTELLANOS, G.; DIAZ-SOBAC, R.; PEREZ-FLORES, L.; SHIRAI, K. “Viabilidad de bacterias lacticas en pelculas de quitosano para su aplicación em alimentos”. In: Simposio Íbero-americano de Quitina, 4., 2007, Natal. **Resumos...Natal**: Sociedade Iberoamericana de Quitina, 2007, II-11-C.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, Barking, v. 51, p. 764–770, 2013.

MATTIUZ, B. H.; MIGUEL, A. C. A.; NACHTIGAL, J. C.; DURIGAN, J. F.; CAMARGO, U. A. Processamento mínimo de uvas de mesa sem semente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 226-229, 2004.

MENEGHEL, R. F. A.; BENASSI, M. T.; YAMASHITA, F. Revestimento comestível de alginato de sódio para frutos de amora-preta (*Rubus ulmifolius*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 609-618, jul./set. 2008.

MORAIS, E. B.; JESUS, E. J.; TOMÉ, P. H. F. Avaliação Higienicossanitária de Empresas de Processamento Mínimo da Cidade de Uberlândia, MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 26, n. 206/207, p. 27-30, mar./abr. 2012.

MORETTI, C. L.; SARGENT, S. A. Alteração de Sabor e Aroma em tomates causada por impacto. **Sciencia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 385-388, jul./set. 2000.

MORRISON, L. R. Glycerol. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of chemical technology**. ed. 5, New York: John Wiley, 2007.

MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILLIPPINI, O., GIOVANETTI, E., BIAGINI, G., VARALDO, P. R. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Washington, p. 2019-2023, 1990.

NADARAJAH, K.; PRINYAWIWATKUL, W.; NO, H. K.; SATHVEL, S.; XU, Z. Sorption behavior of crawfish chitosan films as affected by chitosan extraction processes and solvent types. **Journal of food science**, Champaign, v. 71, n. 2, p. E33-E39, mar. 2006.

OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSA-CÁNOVAS, 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, R. A.; ROCHA, I. B.; SEDIYAMA, G. C.; PUIATTI, M.; CECON, P. R.; SILVEIRA, S. F. R. Coeficientes de cultura das cenouras nas condições edafoclimáticas do Alto Paranaíba, no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 280-284, 2003.

OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. **Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 10, p. 1862-1870, 2008.

OSTROWSKA-CZUBENKO, J.; GIERSZEWSKA-DRUZYNKA, M. Effect of ionic crosslinking on the water state in hydrogel chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 77, p. 590-598, 2009.

PEREIRA, J. M. A. T. K.; MINIM, V. P. R.; CHAVES, J. B. P.; YAMASHITA, F. Efeito do revestimento na aceitabilidade de mini-cenouras. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 591-596, 2008b.

PEREIRA, J. M. A. T. K.; MINIM, V. P. R.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D.; SOARES, N. F. F.; MORETTI, C. L.; VIEIRA, J. V. Qualidade físico-química de mini-cenouras revestidas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 6, p. 537-542, 2008a.

PINTO, A. R. C. **Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas: Uma Revisão**. 2007. 36 f. Monografia (Grau de Especialista em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

PINTO, P. M. Z.; MORAIS, A. M. M. B. **Boas práticas para a conservação de produtos hortofrutícolas**. Ed. da ESB/UCP, Porto/Portugal, 2000.

PITAK, N.; RAKSHI, S. K.; Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self sealing films used for preserving fresh-cut vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 44, p. 2310-2315, 2011.

PRADO, F. C.; LINDNER, J. D. D.; INABA, J.; THOMAZ-SOCCOL, V.; BRAR, S. K.; SOCCOL, C. R. Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. **Journal of Functional Foods**, London, v. 12, p. 489–497, 2015.

PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RASKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 267-272, 2005.

PUSHKALA, R.; PARVATHY, K. R.; SRIVIDYA, N. Chitosan powder coating, a novel simple technique for enhancement of shelf life quality of carrot shreds stored in macro perforated LDPE packs. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 16, p. 11 – 20, 2012.

RIBEIRO, C.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; MIRANDA, C. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, p. 63-70, 2007.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 18, p. 373-386, 2007.

ROJAS-GRAU, M. A.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; SOLIVA-FORTUNY, R. C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H.; MARTIN-BELLOSO, O. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 254–264, 2007.

ROJAS-GRAU, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 438-447, 2009.

ROOPA, B. S.; BHATTACHARYA, S. Alginate gels: I. Characterization of textural attributes. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 85, p. 123–131, 2008.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42. n.1, jan./mar. 2006.

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L. Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “Saburica” (*Macrobrachium jelskiti*, Miers, 1877), **Scientia Plena**, Sergipe, v. 7, n. 9, 2011.

SANTOS, R. S. B. **Estudo dos fatores que influenciam os atributos de esferas de alginate**. 2012. 111f. Dissertação (em Biotecnologia alimentar), Universidade de Aveiro, Portugal, 2012.

SILLANI, S.; NASSIVERA, F. Consumer behavior in choice of minimally processed vegetables and implications for marketing strategies. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 339-345, 2015.

SILVA, A. A. L.; BONOMO, R. C. F.; CHAVES, M. A.; REBOUÇAS, K. H.; SANTOS, T. D. R.; OLIVEIRA, A. A. C. L. Efeitos de revestimentos de amido gelatinizado no armazenamento refrigerado de banana prata (*Musa AAB*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 3, p. 235-240, 2011.

SILVA, M. C. R.; SCHMIDT, V.C.R. Avaliação da vida-de-prateleira de morangos recobertos com biofilme de acetato de amido e acetato de amido com adição de sorbato de potássio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica (COBEQ), 11., 2015, Campinas. **Anais...**São Paulo: Blucher, p. 1698-1703, 2015.

SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. M.; MENEZES, M. F. C.; STEFANELLO, F. S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v.18, p. 66-75, maio, 2014.

SIMÕES, A. D. N.; ALLENDE, A.; TUDELA, J. A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M. I. Optimum controlled atmospheres minimise respiration rate and quality losses while increase phenolic compounds of baby carrots. **Food Science and Technology**, London, v. 44, p. 277-283, 2011.

SMRDEL, P.; BOGATAJ, M.; ZEGA, A.; PLANINSEK, O.; MRHAR, A. Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 25, n. 2, p. 90-105, 2008.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SPIER, M. R.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGUISHI, C. T.; LINDNER, J. D.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T. The potencial of probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, Croatia, v. 48, n. 4, p. 413-434, 2010.

SOUZA, M. P.; VAZ, A. F. M.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Effect of an edible nanomultilayer coating by electrostatic self-assembly on the shelf life of fresh-cut mangoes. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 8, p. 647-654, 2015.

SPAGNOL, W. A.; PARK, K. J.; SIGRIST, J. M. M. Taxa de respiração de cenouras minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 550-554, jul./set. 2006.

TACO. TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS/ NEPA – **Água de coco (478)**, UNICAMP - 4ª edição revisada e ampliada, Campinas, 2011b, 161 p.

TACO. TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS/ NEPA – **Cenoura crua (110)**, UNICAMP - 4ª edição revisada e ampliada, Campinas, 2011a, 161 p.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.137, p. 360-374, 2016.

TEIXEIRA, L. J. Q.; RAMOS, A. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Avaliação durante a estocagem do suco de cenoura processado por campos elétricos pulsados de alta intensidade (CEPAI) e por tratamento térmico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 10, n. 2, p. 149-162, 2008.

TROLLER, M. G. A.; MACEDO, A. A.; FERREIRA, F. A. B. Aplicação de Biofilme à base de amido na Conservação Pós-colheita do Morango. **Higiene Alimentar**, São Paulo, n. 212-213, p. 173-179, set./out. 2012.

TSAI, G. J.; HWANG, S. P. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of shrimp chitosan against some intestinal bacteria. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 70, p. 675-681, 2004.

UNAGUL, P.; ASSANTACHAI, C.; PHADUNGRUENGLUIJ, S.; SUPHANTHARIKA, M.; TANTICHAROEN, M.; VERDUYN, C. Coconut water as a médium additive for the production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, p. 281- 287, 2007.

VILLALOBOS, R.; MUNOZ, P. H.; CHIRALT, A. Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, p. 502–509, 2006.

VITTI, M. C. D.; KLUGE, R. A.; YAMAMOTTO, L. K.; JACOMINO, A. P. Comportamento de beterrabas minimamente processadas em diferentes espessuras de corte. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 623 – 626, out./dez. 2003.

WONG, D. W. S.; CAMIRAND, W. M.; PAVLATH, A. E. **Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables**. In: J. M. Krochta (Ed). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Co., Inc., p. 65-88. 1994.

WORREL, D. B.; CARRINGTON, C. M. S.; HUBER, D. J. The use of low temperature and coatings to maintain storage quality of breadfruit, *Artocarpus altilis* (Parks.) Fosb. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 25, p.33–40, 2002.

YADAV, A. V.; BHISE, S. B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, Columbus, v. 87, n. 9, p. 1176-1178, 2004.

YULIANA, N.; RANGGA, A.; RAKHMIATI. Manufacture of fermented coco milk-drink containing lactic acid bacteria cultures. **African Journal of Food Science**, Nigeria, v. 4, n.9, p. 558 - 562, set. 2010.

ZHENG, L. Y.; ZHU, J. F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 54, p. 527–530, 2003.

CAPÍTULO 2

EDIBLE COATING WITH PROBIOTIC AS A QUALITY FACTOR FOR MINIMALLY PROCESSED CARROTS

**ELKE SHIGEMATSU¹, CLAUDIA DORTA², FÁBIO J. RODRIGUES², MARINA F.
CEDRAN², JULIANA A. GIANNONI², MARIE OSHIWA² and MARIA A. MAURO¹**

¹ São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP - São José do Rio Preto Campus, Rua Cristovão Colombo, 2265, Bairro Jardim Nazareth, 15054-000 São José do Rio Preto, SP, Brazil.

² Technology Faculty "Estudante Rafael Almeida Camarinha" - FATEC Marília –SP, Av. Castro Alves, 62, 2º andar, Bairro Somenzari, 17500-000 Marília, SP, Brazil

elke_ds@hotmail.com, tel: 00 55 14 99668-8345

ABSTRACT

The objective of this work was to elaborate an edible coating based on sodium alginate with probiotic potential and evaluate its performance with respect to microbial viability and the characteristics of safety and freshness of minimally processed carrot. Two treatments were tested plus the control (with no coating), adding the probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA-14 ($7.36 \log \text{CFU.g}^{-1}$) to one of the treatments. Physical, chemical and microbiological analyses were carried out during a period of 20 days. At the end of this period the viable cell count of the probiotic remained at $7.11 \log \text{CFU.g}^{-1}$. Thus the coating was shown to be efficient as a support for *L. acidophilus* and contributed to the quality of the minimally processed carrots, decreasing formation of acids about 23% during the 20 days of storage.

Keywords: *Daucus carota* L, edible coating, *Lactobacillus acidophilus*, minimally processed products, probiotics.

PRACTICAL APPLICATIONS

Minimally processed vegetables represent an important form of commercialization for this food segment, allying practicality with the promotion of health. However, the shelf life of such products is usually short and so conservation technologies can be applied. Edible coatings aid in the metabolic and physiological stability of the vegetable after minimal processing, increasing its shelf life. Probiotic bacteria, in addition to promoting health, can show antimicrobial action in the foods, contributing even more to product stability. In the present study, a sodium alginate based coating was employed as a vehicle for the probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA-14 and incorporated into minimally processed carrot. This technology has improved the product conservation and probiotic bacteria remained viable.

Introduction

A variety of studies have proved that healthier living and eating habits promote good health. Due to globalization, consumers receive such information daily and thus they are becoming increasingly conscious and demanding, leading the food industry to increase the gamma of foods claiming functional properties. Functional foods are those that can provide health benefits in addition to basic nutrition (IFIC, 1995), but it should be emphasized that, with respect to diseases, in most cases they act in their prevention and not in their cure (SAARELA, 2011).

Amongst the gamma of foods claiming functionality, one of the emerging classes is that of foods containing probiotic bacteria, which are live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer benefit on the health (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003).

Bacteria belonging to the genera *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* are the probiotic microorganisms most employed in the food sector (RIGOBELLO, 2012; LANDETE; MEDINA; ARQUE, 2016). The species *L. acidophilus* has been widely studied and attributed with characteristics such as promoting a beneficial modulation of the metabolic activity of intestinal bacteria, preventing the diarrhea associated with antibiotics (OUWEHAND et al., 2014), preserving intestinal integrity during radiotherapy, stimulating the immune system to respond and stimulating the production of lactase, which aids in the digestion of lactose and improves the intestinal microflora (DEMERS; DAGNAULT; DESJARDIN, 2014).

Historically foods with probiotic claims are linked to dairy products (ROSS et al., 2005; PRADO; ROMALDE; BRAJA, 2010), making their consumption inaccessible to that part of the population who are lactose intolerant or allergic to milk proteins (α -lactalbumin and β -lactoglobulin). Thus other vehicles obtained from non-dairy raw materials have been studied as supports for probiotic organisms (JAWORSKA et al., 2011), with the intention of overcoming this consumption limitation. With this in view, edible coatings applied to minimally processed vegetables have appeared as an interesting and healthy option.

In parallel, new everyday life habits and customs are demanding greater practicality in feeding, a fact which has contributed to the growth of the minimally processed fruit and vegetable market, such products having been submitted to some physical alteration without losing their freshly cut plants characteristics (ALEGRIA et al., 2010).

In the field of fruit and vegetable preservation technology, edible coatings have appeared as an option to extend the shelf life in addition to the possibility of acting as probiotic

culture carriers (TAPIA et al., 2007; LACEY et al., 2012). Sodium alginate is a polysaccharide widely employed in the elaboration of such coatings, showing important characteristics in its formulations such as good resistance to gas exchanges and mechanical damage, and the capacity to retard lipid oxidation in foods and improve the flavor, texture and adhesion, protecting the cell structure of the coated vegetable (MIGUEL et al., 2009; LEE and MOONEY, 2012).

Carrot stands out amongst the minimally processed vegetables, although mechanical stress and undesirable metabolic changes caused by peeling and cutting, cause a reduction in the shelf life of this vegetable as compared to the *in natura* product, limiting the acceptability and buying intention of the consumers (FAI et al., 2016).

Considering the above, the objective of the present work was to elaborate an edible coating with probiotic potential based on sodium alginate, apply it to minimally processed carrot and evaluate the shelf life of the product based on the cell viability of the *Lactobacillus acidophilus* added to the coating, and the characteristics of safety and freshness of the carrot throughout its refrigerated storage.

Material and Methods

Materials

The freeze dried probiotic culture *Lactobacillus acidophilus* LA 14 (Prolive-Aché, Aché, Guarulhos, Brazil) was used. The coatings were constituted of sodium alginate (Dinâmica®, Diadema, Brazil), glycerol (Rioquímica, São José do Rio Preto, Brazil), sunflower oil (Cargill Agrícola S.A, Brazil) and tween 80 (Cooperativa Agroindustrial Alegrete, Brazil), and calcium chloride was used as gel forming to cross-linking the alginate (Synth, Diadema, Brazil).

Carrots (*Daucus carota* L., cv. Planalto) were purchased at a local market (Marília, S.P., Brazil) and were stored at of $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ until processing.

Edible coating and addition of probiotic culture

After preliminary tests, the filmogenic solution selected for the experiments was formulated as from sodium alginate (1.75 g), glycerol (0.5 g), sunflower oil (0.075 g), tween 80 (0.025 g) and water (100 g). For the coating containing probiotics, 0.67 g of a powdered

freeze dried culture was added. The cell viability of the alginate based solution inoculated with probiotics was $7.36 \log \text{CFU.g}^{-1}$.

Application of the coating and storage of the minimally processed carrot

The coating was applied to the carrots using the dipping technique (COSTA et al., 2012). The 4 mm thick carrot slices were immersed in the sodium alginate based filmogenic solution for 2 minutes and then immersed in the calcium chloride solution (1.0 g/100 g water) for 1 minute to promote the ionic gelation of the alginate by its reticulation with the bivalent Ca^{2+} ion (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2004).

In sequence, fifteen slices were placed on expanded polystyrene trays (0 mm \times 110 mm \times 30 mm) lined with acetate sheets, and maintained at a temperature of $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ without air circulation for the partial dehydration of the coatings for 12 hours. After this period, the trays were covered and sealed with vinyl polychloride film (WYDA, Sorocaba/SP, Brazil), with a grammage of 8.71 g/m^2 , calculated by weighing a delimited area of the film (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008).

In addition to samples of the treatments with edible coating plus probiotic (T1) and without the addition of the microorganism (T2), some carrot slices were processed in parallel with no coating and stored at $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ for 20 days to be used as the control (C).

Physicochemical analyses

The moisture content, titratable acidity and pH value were measured on days 1, 4, 8, 12, 16 and 20, whereas the loss of weight was determined on days 5, 10, 15 and 20. The samples used to determine the moisture content, titratable acidity and pH value were ground in a domestic blender. All the analyses were done in triplicate, using 3 different trays per day. The evaluation of the parameters was started on day 1, after the partial dehydration of the samples, carried out for 12 hours at a temperature of $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Loss of weight

The percent loss of weight due to respiration and transpiration was calculated using the following equation (1):

$$\Delta W = \left(\frac{W_f}{W_i} - 1 \right) \times 100 \quad (1)$$

where ΔW represented the variation in weight in relation to the initial weight, given in percentage, W_f was the weight after the storage time and W_i was the weight at the initial time when the package was closed.

The samples were weighed on a semi-analytical balance with a precision of 0.01 (Marte AS 510, Santa Rita do Sapucaí/MG, Brazil).

Moisture content

The moisture content was determined according to the gravimetric method of the AOAC norms (2005) n° 920.151, weighing 2 grams of sample in a weighting bottles with stopper on an analytical balance with a precision of 0.0001 (Gehaka AG 200, São Paulo/SP, Brazil) and drying in a vacuum oven (Marconi 033, Piracicaba/SP, Brazil) at 70 °C to constant weight.

Titrateable acidity and pH

The pH value was determined using a digital pH-meter model PG1800 (Gehaka, São Paulo, Brazil) according to AOAC methodology n° 981.12 (2005). The titrateable acidity was determined according to the AOAC method n° 942.15 (2005) and the results expressed in g of citric acid/ 100 g of sample.

Microbiological analyses

*Cell viability of *Lactobacillus acidophilus**

The viability was determined after 1, 7, 14 and 20 days of storage, using 1 gram of edible coating diluted in 99 mL of 0.1% peptone water, homogenized in a previously sterilized mechanical shaker and submitted to orbital shaking at 180 rpm for 1 hour at a temperature of approximately 37 °C. Serial dilutions were then prepared and deep plated in MRS agar overlaid (sealed) with agar. The plates were incubated in an incubator (BOD NI 1704, NOVA Instruments, Piracicaba/SP, Brazil) for 72 hours at 37 °C.

Analysis of contaminants

The presence of contaminating microorganisms was evaluated throughout storage on days 1, 10 and 20, analyzing for mesophylls, yeasts and molds, total and thermotolerant coliforms, coagulase positive staphylococci and *Bacillus cereus*, according to the methods of the American Public Health Association (TANIWAKI; IAMANAKA; BANHE, 1999; BENNETT and BELAY, 2001; DOWNES and ITO, 2001; LANCETTE and BENNETT, 2001; MORTON, 2001). The presence or absence of *Salmonella spp* was also determined using the traditional identification method described by the International Organization for Standardization 6579:2007 (ISO, 2002).

Statistical analysis

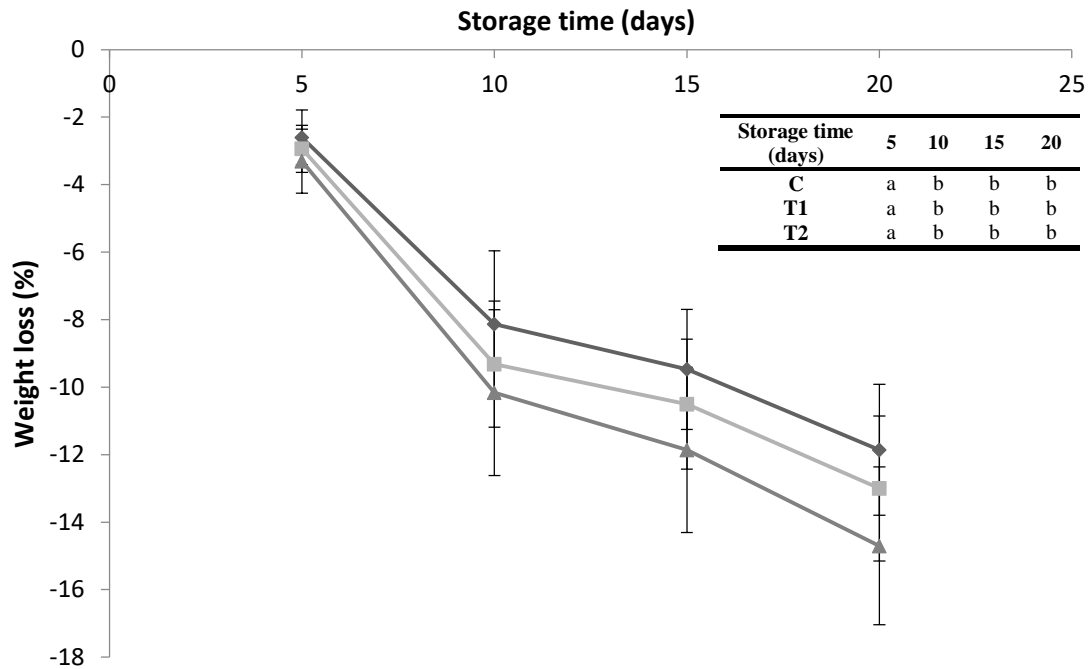
The samples were taken in triplicate and the results obtained submitted to an analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test, using the BIOESTAT program (AYRES et al., 2007). The results were considered significant with a p-value of <0.05 .

Results

Loss of weight and moisture content

Although no significant difference ($p>0.05$) between the treatments during the periods could be affirmed, the control sample showed the largest means for weight loss during the periods analyzed. Figure 3 shows the results for weight loss by the three samples according to equation (1).

Figure 3 – Mean values for weight loss (%) of the minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1 \blacklozenge), with edible coatings without added probiotic (T2 \blacksquare) and without edible coatings (C \blacktriangle) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$



After 20 days, samples T1 and T2 showed total weight losses of $11.9\% \pm 1.9\%$ and $13.0\% \pm 2.2\%$, respectively, whereas the control sample showed a reduction of $14.7\% \pm 2.3\%$.

Immediately after preparation of the minimally processed samples the mean moisture content of the *in natura* carrot slices was approximately 90.5%, lower than the mean values for the moisture contents of the carrot slices with coatings, since the coatings showed an initial moisture content of approximately 97.5%. Table 2 shows the moisture contents of the packaged samples throughout the storage period for the three treatments, as from the first day.

Table 2 – Mean values for the moisture content (%) of the minimally processed carrot slices with edible coatings and added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at 8 °C ± 2 °C

Treats.	Storage (days)					
	1 (M ± SD)*	4 (M ± SD)	8 (M ± SD)	12 (M ± SD)	16 (M ± SD)	20 (M ± SD)
T1	91.81±0.05 ^{dB}	92.21±0.15 ^{eB}	91.71±0.06 ^{cdC}	91.4±0.03 ^{cB}	91.03±0.01 ^{bB}	90.5±0.01 ^{aB}
T2	93.07±0.19 ^{bC}	92.94±0.09 ^{bC}	91.24±0.10 ^{aB}	91.33±0.03 ^{aB}	91.35±0.01 ^{aC}	91.39±0.04 ^{aC}
C	89.84±0.08 ^{bA}	89.44±0.13 ^{aA}	89.91±0.06 ^{bA}	89.42±0.01 ^{aA}	89.48±0.01 ^{aA}	89.57±0.08 ^{aA}

*M = Mean of triplicate values; SD = standard deviation.

Means followed by the same small letter in the same line are not significantly different according to Tukey's test. Means followed by the same capital letter in the same column are not significantly different according to Tukey's test.

The results obtained in terms of weight loss (Figure 3) and moisture content suggested that the control sample (C), without the protection of a coating, showed more intense dehydration. Its appearance was also compromised by white discoloration after 20 days of storage, as can be seen in Figure 4.

It can be concluded that treatments T1 and T2 protected the minimally processed carrot slices from whitening throughout the storage period.

Figure 4 – Minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings without added probiotic (T2) and without edible coatings (C) after 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Titrateable acidity and pH

Tables 2 and 3 present the mean values obtained for the three treatments for pH and titrateable acidity during 20 days of storage.

Table 3 – Mean values for the pH of minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

Treats.	Storage (Days)					
	1 (M ± SD)*	4 (M ± SD)	8 (M ± SD)	12 (M ± SD)	16 (M ± SD)	20 (M ± SD)
T1	6.60±0.04 ^{cB}	6.69±0.03 ^{cB}	6.27±0.05 ^{aA}	6.48±0.03 ^{bA}	6.43±0.03 ^{bA}	6.39±0.03 ^{bB}
T2	6.45±0.02 ^{bcA}	6.39±0.05 ^{abA}	6.40±0.03 ^{bb}	6.52±0.02 ^{cA}	6.42±0.02 ^{bA}	6.32±0.02 ^{aA}
C	6.72±0.03 ^{cC}	6.39±0.03 ^{aA}	6.50±0.06 ^{bb}	6.65±0.04 ^{cB}	6.57±0.02 ^{bb}	6.50±0.01 ^{bc}

*M = Mean of triplicate values; SD = standard deviation.

Means followed by the same small letter in the same line are not significantly different according to Tukey's test. Means followed by the same capital letter in the same column are not significantly different according to Tukey's test.

The results shown in Table 3 show a slight reduction in pH for all the treatments. At the end of 20 days, the decreases were 0.21, 0.13 and 0.22 for T1, T2 and C, respectively.

Table 4 shows the results obtained for titratable acidity, samples T1 and T2 showing lower values than the control on the first day due to interference from the pH value of the sodium alginate solution ($\text{pH} \cong 7.0$) (FONTES et al., 2008). Sample T1, with edible coating and added probiotic, showed numerically lower values for acidity throughout the whole storage period.

Table 4 – Mean values for titratable acidity (% citric acid) in minimally processed carrot slices with edible coatings with added probiotic (T1), with edible coatings (T2) and without edible coatings (C) during 20 days of storage at $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

Treats.	Storage (Days)					
	1 (M ± SD)*	4 (M ± SD)	8 (M ± SD)	12 (M ± SD)	16 (M ± SD)	20 (M ± SD)
T1	0.58±0.00 ^{aA}	0.78±0.00 ^{bA}	0.84±0.10 ^{bA}	0.96±0.01 ^{cA}	0.87±0.00 ^{bcA}	0.77±0.00 ^{bA}
T2	0.58±0.00 ^{aA}	0.77±0.02 ^{bA}	0.95±0.14 ^{cA}	1.03±0.11 ^{cAB}	1.00±0.06 ^{cB}	0.97±0.00 ^{cB}
C	0.77±0.01 ^{aB}	0.84±0.12 ^{aA}	1.17±0.01 ^{bB}	1.17±0.00 ^{bB}	1.15±0.01 ^{bC}	1.13±0.02 ^{bC}

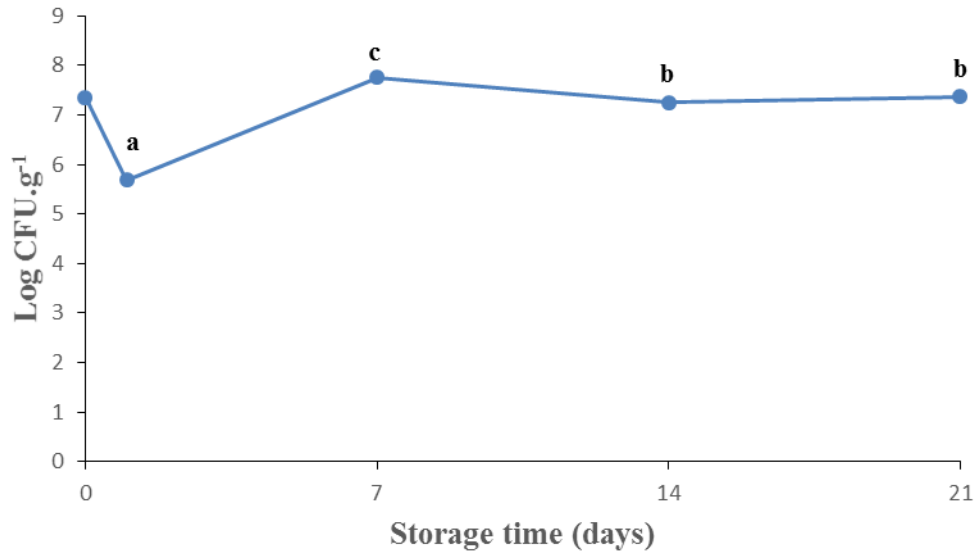
*M = Mean of triplicate values; SD = standard deviation.

Means followed by the same small letter in the same line are not significantly different according to Tukey's test. Means followed by the same capital letter in the same column are not significantly different according to Tukey's test.

Viability of the Lactobacillus acidophilus

Figure 5 shows the results obtained for the cell viability of the *Lactobacillus acidophilus*, determined in the coating of the minimally processed carrot slices throughout storage.

Figure 5 – Log CFU of *L. acidophilus*.g⁻¹ in the alginate coating of minimally processed carrot slices as a function of storage time. Means followed by the same letter are not significantly different according to Tukey's test ($p < 0,05$).



The *Lactobacillus acidophilus* was initially inoculated at a concentration of 7.36 log CFU.g⁻¹ of coating. The viability of the microorganism showed a decrease at time 1, but recovered during the rest of the storage period.

Microbial contaminants

Table 5 shows the results of the aerobic mesophylls and yeasts & molds analyses carried out to evaluate the microbiological quality of the products during storage.

The samples analyzed showed coliforms at 45 °C and salmonella below the limits determined by Resolution RDC n° 12 of January, 2001 (ANVISA). They also showed the absence of total coliforms, coagulase positive staphylococci and *Bacillus cereus*, indicating they were safe for consumption.

In the present study, the maximum number of aerobic mesophylls was 4.5 x 10⁵ CFU g⁻¹, and the maximum yeast and mold count was 2 x 10² CFU g⁻¹, showing that the 3 varieties of carrot sample analyzed were not at critical levels which could lead to sensory changes of the product during the 20 days of storage.

Table 5 – Microbiological quality of minimally processed carrot slices with alginate coatings with added *L. acidophilus* (T1), with alginate coatings (T2) and without alginate coatings (C) at different storage times at 8 °C ± 2 °C

	Microorganism	Time (days)		
		1	10	20
T1	Aerobic mesophylls	abs*	3.0×10 ⁵ CFU.g ⁻¹	4.5×10 ⁵ CFUg ⁻¹
	Yeasts & molds	abs	abs	abs
T2	Microorganism	Time (days)		
		1	10	20
T2	Aerobic mesophylls	abs	3.0×10 ⁵ CFUg ⁻¹	3.0×10 ⁵ CFUg ⁻¹
	Yeasts & molds	abs	1.0×10 ² CFUg ⁻¹	2.0×10 ² CFUg ⁻¹
C	Microorganism	Time (days)		
		1	10	20
C	Aerobic mesophylls	abs	3.0×10 ⁵ CFUg ⁻¹	3.0×10 ⁵ CFUg ⁻¹
	Yeasts & molds	abs	abs	abs

abs* = Absent

It is important to observe that between 10 and 20 days of storage, T2 showed the presence of yeasts and molds, probably due to the high moisture content of the coating and excessive handling during its elaboration, since sample C (control) showed no such growth. On the other hand, sample T1, which contained the lactic bacteria and the same coating, although with slightly less water due to the addition of the freeze dried microorganism, also showed no yeast and mold growth. However one should not discard the hypothesis that the probiotic microorganisms could compete with the contaminants and contribute to a greater preservation of the samples, although the lower moisture content of the coating with probiotics as compared to the coating without probiotics could also have exerted an influence on fungal development.

Discussion

Weight and moisture loss

One of the principal factors causing fresh weight loss in fruits and vegetables during storage is the loss of water by transpiration, and also the loss of carbon by respiration (GAO;

ZHU; ZHANG, 2013). In transpiration, water evaporates from the product due to a difference in water vapor pressure between the surrounding atmosphere and the product surface. During respiration, the vegetable product produces energy, CO₂ and water as from organic substrates. However, the water produced remains on the inside of the tissue whereas the CO₂ is liberated into the atmosphere. In addition, the generation of heat inside the vegetable tissue can also lead to an additional weight loss, if part of its dissipation occurs from the evaporation of water (BEN-YEHOSHUA and RODOV, 2003).

Souza et al. (2015), working with fresh mangoes cut into 3 x 3 x 1 cm pieces, stored in zippered bags for 14 days at 8 °C with a relative humidity of 93%, inserted five alternate nano-layers of a 0.2% sodium alginate solution and a 0.2% chitosan solution, and showed a weight loss that was 58% less than that of the control. On the other hand, Leceta et al. (2015) showed a negligible weight loss during 15 days storage at 4 °C in baby carrots submitted to immersion in a chitosan based filmogenic solution, baby carrots sprayed with the same solution and non-treated baby carrots. However the samples immersed in the chitosan solution showed a slightly greater weight loss than those sprayed with the solution, possibly related to the thicker coating layer when applied by dipping.

Azarakshsh et al. (2014), working with pineapple cubes coated and not coated with a sodium alginate solution and lemongrass essential oil, showed a significant ($p < 0.05$) and increasing weight loss during 16 days storage at 10 °C. The difference between the coated samples was associated with the concentration of lemongrass essential oil (0%, 0.1%, 0.3% and 0.5%) in the base solution (1.29% sodium alginate, 1.16% glycerol and 0.025% sunflower oil). The authors showed that the four coated samples, independent of the lemongrass essential oil concentration, showed a smaller weight loss in all periods as compared to the non-coated sample. According to Bourtoom (2008), edible coatings based on polysaccharides can retard the loss of water from fruits and vegetables into the atmosphere, where the coat formed by the gel loses water before dehydration of the product.

According to Figure 3, as from the tenth day the rate of weight loss decreased, probably due to decreased transpiration and respiration rates of the vegetable, and differences between samples of the same treatment became non-significant ($p > 0.05$) as from this point. One fact that could justify the decrease in transpiration rate is the increase in moisture on the inside of the sealed package, reducing evaporation from the vegetable. In addition the closed package would affect the respiration rate, since the production of CO₂ and consumption of O₂ on the inside of the package would form a modified atmosphere, which would provide the reduction (YAM and LEE, 1995). This is known as passive modification, which is also influenced by the

permeability of the plastic film to the gases. Spagnol, Park and Sigrist (2006) measured the respiration rate of whole carrots and those cut into 2 mm thick slices every two days, at different storage temperature (1.5 °C and 11 °C), and showed that, as from the eighth day of storage, the respiration rate reached equilibrium, independent of the storage temperature.

With respect to Table 2, the highest moisture values were always found for the coated samples (T1 and T2), since the coating aggregated more water to the samples as compared to the non-coated carrots. At the same time, the presence of the coating contributed to less variation in weight during storage. This protective role of the coatings was also observed by Fakhouri and Grosso (2003), who applied edible coatings based on gelatin and triacetin to whole guavas before storage at 12 °C and 42 – 80% of relative humidity. The authors showed a reduction in weight variation in the coated guavas, as well as maintenance of the color and appearance.

With respect to the appearance of the minimally processed carrot slices, dehydration and structural alterations to the surface cell layers are the main causes of whitening and the loss of orange color.

Whitening of minimally processed carrots has been under investigation for some time. The work of Avena-Bustillos et al. (1994) stands out, in which the authors concluded that surface dehydration was the main cause of whitening and that it could be reduced if the relative humidity was maintained at 98-100% during storage. Other authors attributed whitening to the formation of lignin by enzyme action (BOLIN and HUXSOLL, 1991). In fact the responses to cuts and bruising of the tissue are both physical and physiological. Physical alterations are due to surface dehydration and can be reversible, whereas physiological alterations result in the formation of lignin, causing irreversible whitening (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995). Simões et al. (2009) reported that edible coatings containing chitosan prevented surface whitening of baby carrots during storage and preserved their overall visual quality.

Titrateable acidity and pH

The acidity of vegetables is due to the presence of organic acids and is usually determined by the analyses of titrateable acidity and pH. The titrateable acidity represents all the acid groups found in the sample, that is, the organic acids are determined as the free acids and in the form of their salts, and also the phenolic compounds. However, due to the buffering capacity of the organic acids, variations can occur in the titrateable acidity but not in the determination of the pH value (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). In the present

work only slight variations in pH were observed but considerable variation in titratable acidity, in all the samples.

It could be inferred that the variations in acidity obtained in the present study were due to the metabolic processes of the vegetable and of the deteriorative microorganisms developing during storage, resulting in an increase in the concentration of organic acids, as reported by Lima et al. (2003). Oliveira et al. (2014), working with 2 x 2 cm cubes of melon immersed in a citric acid: sodium citrate (1:1) solution containing *Lactobacillus rhamnosus*, related the increase in acidity during storage at temperatures of 6 °C and 15 °C for a maximum of 120 hours to degradation of the fruit sugars and consequent liberation of acids.

As can be seen in Table 4 the coating with probiotic (T1) partially inhibited the increase in acidity of the minimally processed carrot slices. The coating without probiotic (T2) also contributed to a reduction in acids as compared to the control, although to a lesser extent.

Viability of the Lactobacillus acidophilus

The decrease in viability of the *Lactobacillus acidophilus* only at the start of the experiment probably occurred due to its adaptation to the coating to which it was added. However the cell viability was duly recovered (above 10^7 CFU g⁻¹ of coating) during the storage period, indicating that the alginate based coating used for the minimally processed carrot was adequate as a vehicle for the probiotic bacteria studied. One gram of the coating was sufficient to cover approximately three carrot slices. With respect to the probiotic count in the food, a concentration of between 10^6 and 10^7 CFU g⁻¹ is recommended at the moment of consumption (FAO/WHO 2002; CRUZ et al., 2009). Hence, according to these values, in order that the carrot coated with the coating containing added *Lactobacillus acidophilus* present probiotic potential, a minimal daily consumption of 77 grams of the product is required.

Tapia et al. (2007), working with papaya coated with a 2% sodium alginate coating with added *Bifidobacterium lactis* Bb-12 obtained results for cell viability similar to those found in the present study, as also Angiolillo et al. (2014), who obtained cell viability values for *Lactobacillus rhamnosus* to the order of 4.52×10^7 CFU.g⁻¹ for cheese coated with sodium alginate.

Sodium alginate, in addition to being safe for human consumption (BLANDÓN et al., 2016), is employed in the encapsulation of microorganisms such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, improving their resistance during processing and storage (ROSS et al., 2005).

The inclusion of *L. acidophilus* in the alginate based coating probably contributed to the cell stability of the bacterium. The coating technique allowed the vegetable to present probiotic potential without causing any significant physical or chemical alterations.

Analysis of the contaminants

When minimally processed in pieces, the physiology of the vegetables corresponds to that of injured tissue, since the surfaces are submitted to conditions of stress, favoring fungal and bacterial growth. In the present study potentially pathogenic bacteria were absent, showing that the preventative measures taken, involving sanitizing and low temperature storage, contributed to the maintenance of microbiological quality, such that at the end of the 20 days of storage, all the samples, submitted to all the treatments, were fit for consumption.

Aerobic mesophylls and fungi were present in numbers not considered high according to the literature. For carrots cut in the form of sticks to be accepted, the maximum aerobic mesophyll bacterial count should not exceed (5×10^8 CFU g⁻¹) (LAVELLI et al., 2006). There is no established limit for yeast and molds in minimally processed carrots, but according to Franzetti and Galli (1999), ready to eat carrots with yeast counts to the order of 10^2 CFU g⁻¹ are considered to be of good quality. Minimally processed carrots cut in the form of “*julienne*” (sticks) and stored at temperatures of 4 °C and 10 °C were evaluated microbiologically, and a yeast count of 5×10^6 CFU g⁻¹ was considered to be the limit for samples stored at a temperature of 10 °C for 4 days (LAVELLI et al., 2006).

It is possible that the presence of *Lactobacillus acidophilus* in sample T1 inhibited fungal growth during the 20 days of storage, since sample T2 (coating without probiotic) showed contamination by these deteriorative organisms during the last two days of storage analyzed. However, since the moisture content of sample T2 was slightly higher than that of T1, the influence of this parameter on fungal growth cannot be discarded. Nevertheless, since the acidity the increase was lower in the samples with probiotics, these results suggest that the probiotic microorganism could have contributed to preservation of the carrot slices, also remembering that *L. acidophilus* species are involved in the production of anti-microbial substances that act against other bacteria, virus, protozoa and fungi (ZHAO et al., 2015). Angiolillo et al. (2014) showed that the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* could also have an antimicrobial effect since, when added to a sodium alginate coating applied to cheese, it exerted slight inhibition against *Pseudomonas* spp. and bacteria of the family Enterobacteriaceae. Thus microorganisms can also contribute to increasing the safety for consumption of the food to

which they are added and extend its shelf life, although more research is required to confirm these effects.

Conclusions

The sodium alginate based edible coating used to coat the minimally processed carrot slices was efficient as a support for freeze dried *L. acidophilus*, conserving its cell viability and consequently indicating the possible probiotic potential of a food product of vegetable, and not animal, origin.

The use of these coatings (with and without probiotics) applied to minimally processed carrot slices presented advantages, such as less fresh weight loss and greater preservation of the moisture content and appearance of the product, these factors being determinants for the commercialization of the products. In addition it was shown visually that the coatings minimized surface whitening.

The presence of *L. acidophilus* in the coating decreased the metabolism of the minimally processed carrot slices, resulting in less variation in acidity contents during storage. There are also indications that the probiotic can inhibit contamination of the product by fungi, although more research is required to confirm these effects.

References

- ALEGRIA, C.; PINHEIRO, J.; GONÇALVES, E. M.; FERNANDES, I.; MOLDÃO, M.; ABREU, M. Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 11, p. 155-161, 2010.
- ANGIOLILLO, L.; CONTE, A.; FACCIA, M.; ZAMBRINI, A. V.; DEL NOBILE, M. A. A new method to produce synbiotic Fiordilatte cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 22, p. 180-187, 2014.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 18 th Ed., **Official Methods of Analysis**, Arlington, VA, USA, 2005.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. **Postharvest Biology and Tecnhnology**, Amsterdam, v. 4, p. 319-329, 1994.
- AYRES, M.; AYRES, JR. M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.
- AZARAKHSH, N.; OSMAN, A.; GHAZALI, H. M.; TAN, C. P.; ADZAHAN, N. M. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for *shelf-life* extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Tecnhnology**, Amsterdam, v. 88, p. 1-7, 2014.
- BEN-YEHOSHUA, S.; RODOV, V. Transpiration and Water Stress. In BARTZ, J.A., BRECHT, J.K. (2nd Ed.). **Postharvest physiology and pathology of vegetables**, Second edition, New York: Marcel Dekker, 2003.
- BENNETT, R. W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: DOWNES, F.P. and K., ITO (ed.) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4^a Edn. American Public Health Association, Washington, D.C., Chapter 32, p. 311-316, 2001.
- BLANDÓN, L. M.; ISLAN, G. A.; CASTRO, G. R.; NOSEDA, M. D.; THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C. R. Kefiran-alginate gel microspheres for oral delivery of ciprofloxacin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 145, p. 706-715, 2016.
- BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C.C. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 56, p. 416-418, 1991.
- BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, Hat Yai, v. 15, p. 237-248, 2008.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

- CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, p. 320-324, 1995.
- COSTA, C.; CONTE, A.; BUONOCORE, G. G.; LAVORGNA, M.; DEL NOBILE, M. A. Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the *shelf-life* of fresh-cut carrots. **Food Research International**, Barking, v. 48, p. 164-169, 2012.
- CRUZ, A. G.; ANTUNES, A. E. C.; SOUSA, A. L. O. P.; FARIA, J. A. F.; SAAD, S. M. I. Ice cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, Barking, v. 42, p. 1233-1239, 2009.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. In: Food Science and Technology 4th edn. Boca Raton, New York, 2010.
- DEMERS, M.; DAGNAULT, A.; DESJARDIN, J. A randomized double-blind controlled trial: Impact of probiotics on diarrhea in patients treated with pelvic radiation. **Clinical Nutrition**, Oxford, v. 33, p. 761-767, 2014.
- DOWNES, F. P.; ITO, K. (Eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 edn. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.
- FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; BARROS, S. T.; BRUNO, N. V.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, E. C. B. A. Development and evaluation of biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 112, p. 194-204, 2016.
- FAKHOURI, F. M.; GROSSO, C. Effect of edible coating on the *shelf life* of in *natura* Guava (*Psidium guajava* L.) stored under refrigeration. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, p. 203-211, 2003.
- FAO/WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations**, World Health Organization Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 2001.
- FAO/WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 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. **Food Science and Technology**, London, v. 28, p. 872-880, 2008.
- FRANZETTI, L.; GALLI, A. Microbial quality indicator in minimally processed stick carrots. **Annali di Microbiologia ed Enzimologia**, Milano, v. 49, p. 37-144, 1999.
- GAO, P.; ZHU, Z.; ZHANG, P. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and *shelf life* of table grapes. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 95, p. 371-378, 2013.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Physical characteristics of cassava modified starch films. **Food Science and Technology**, London, v. 28, p. 231-240, 2008.

IFIC Foundation. **Functional foods: opening the door to better health**, **Food Insight**. November/December, 1995.

ISO 6579. **Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella spp.***, 4^a edn. The International Organization for Standardization, amendment 1: 15/07/2007, 2002.

JAWORSKA, D.; NEFFE, K.; KOLOZYN-KRAJEWSKA, D.; DOLATOWSKI, Z. J. Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3[']/IV in dry fermented pork loins. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 46, p. 2491-2497, 2011.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 14, p. 737-743, 2004.

LACEY, A. M. L.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-ESTACA, J.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 16, p. 277-282, 2012.

LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: DOWNES, F.P., and K., ITO (edn.) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4^a Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., Chapter 39, p. 387-403, 2001.

LANDETE, J. M.; MEDINA, M.; ARQUE, J. L. Fluorescent reporter systems for tracking probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 32, p. 119, 2016.

LAVELLI, V.; PAGLIARINI, E.; AMBROSOLI, R.; MINATI, J. L.; ZANONI, B. Physicochemical, microbial, and sensory parameters as indices to evaluate the quality of minimally processed carrots. **Postharvest Biology and Technnology**, Amsterdam, v. 40, p. 34-40, 2006.

LECETA, I.; MOLINARO, S.; GUERRERO, P.; KERRY, J. P.; CABA, K. Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. **Postharvest Biology and Technnology**, Amsterdam, v. 100, p. 142-150, 2015.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 37, p. 106-126, 2012.

LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S.; LUCHESE, R. H.; GODOY, R. L. O.; SABAA-SRUR, A. U. O Minimally processed carrots in modified atmosphere packaging and gama irradiation treatment: microbiological, fisical-chemistry and chemistry evaluation. **Food Science and Technology**, London, v. 23, p. 240-250, 2003.

MIGUEL, A. C. A.; DIAS, J. R. P. S.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F. Postharvest of grape involved with films of sodium alginate and cold storage. **Food Science and Technology**, London, v. 29, p. 277-282, 2009.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P.; K. ITO (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4^a Ed. American Public Health Association, Washington, D.C. Chapter 7, p. 63-67, 2001.

OLIVEIRA, P. M.; LEITE, B. R. C. J. R.; MARTINS, M. L.; MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M. Minimally processed yellow melon enriched with probiotic bacteria. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, p. 2415-2426, 2014.

OUWEHAND, A. C.; DONGLIAN, C.; WEIJIAN, X.; STEART, M., N. I. D. J.; STEWART, T.; MILLER, L. E. Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: A randomized dose response study. **Vaccine**, Kidlington, v. 32, p. 458– 463, 2014.

PRADO, S.; ROMALDE, J. L.; BRAJA, J. L. Review of Probiotics for use in bivalve hatcheries. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 145, p. 1-11, 2010.

RIGOBELLO, E. C. (Org.) **Probiotics**. Rijeka: In Teck, Croatia, p. 44-46, 2012.

ROSS, R. P.; DESMOND, C.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C. A Review. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 98, p. 1410-1417, 2005.

SAARELA, M. **Functional foods: Concept to product**. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 205. Second edition, 2011.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, New York, v. 61, p. 91-99, 2003.

SIMÕES, A. D. N.; TUDELA, J. A.; ALLENDRE, A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M. I. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 364-370, 2009.

SOUZA, M. P.; VAZ, A. F. M.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Effect of an edible nanomultilayer coating by electrostatic self-assembly on the shelf life of fresh-cut mangoes. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 8, p. 647-654, 2015.

SPAGNOL, W. A.; PARK, K. J.; SIGRIST, J. M. M. Respiration rate of storage processed carrots at different temperatures. **Food Science and Technology**, London, v. 26, p. 550-554, 2006.

TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; BANHE, A. A. Comparison of culture media to recover fungi from flour and tropical fruit pulp. **Journal of Food Mycology**, England, v. 2, p. 291-302, 1999.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; RODRÍGUEZ, F. J.; RAMÍREZ, J.; CARMONA, A.; MARTIN-BELLOSO, O. Alginate- and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 2, p. 190-196, 2007.

YAM, K. L.; LEE, D. S. **Design of modified atmosphere packaging for fresh produce.** In ROONEY, M.L. (Edn). *Active Food Packaging*, London: C., 1995.

ZHAO, Y.; JIANG, L.; LIU, T.; WANG, M.; CAO, W.; BAO, Y.; QIN, J. Construction and immunogenicity of the recombinant *Lactobacillus acidophilus* pMG36e-E0-LA-5 of bovine viral diarrhea virus. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 225, p. 70-75, 2015.

CAPÍTULO 3

CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA: COBERTURAS COMESTÍVEIS À BASE DE ALGINATO E QUITOSANA COM E SEM ADIÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus* LA3

RESUMO

A utilização de revestimentos comestíveis constitui uma alternativa tecnológica interessante para promover conservação de frutas e hortaliças e para carrear substâncias e até micro-organismos de interesse como probióticos, micro-organismos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. O objetivo do presente trabalho foi elaborar coberturas comestíveis à base de alginato de sódio e de alginato de sódio com quitosana, adicionadas ou não de *Lactobacillus acidophilus* LA3, e avaliar sua aplicação em cenouras minimamente processadas. Foram testados quatro tratamentos de coberturas, compostas por alginato de sódio (1,5 g/100 g de água), glicerol (0,75 g/100 g de água), óleo de girassol (0,04 g/100 g de água) e tween 80 (0,05 g/100 g de água) (T1 e T3) mais a adição de quitosana (0,75 g/100 g de água) (T2 e T4). Além disso, os tratamentos T3 e T4 tiveram *L. acidophilus* incorporados nas coberturas na ordem de $2,9 \times 10^8$ UFC·g⁻¹ e $5,1 \times 10^8$ UFC·g⁻¹, respectivamente. Cenouras em rodela foram mergulhadas nas respectivas coberturas formuladas e gelificadas em solução aquosa de cloreto de cálcio 2,0 g/100 g de água. As amostras foram armazenadas à temperatura de $8 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ por um período de 19 dias, durante o qual foram realizadas análises físicas, químicas e microbiológicas. As coberturas contribuíram para diminuição da perda de massa em relação ao controle. O probiótico apresentou redução considerável de células viáveis em apenas 7 dias, o que foi atribuído ao fraco desempenho da cultura em meio não lácteo, com provável falta de nutrientes adequados à sua manutenção. Todas as amostras estavam aptas ao consumo no 19º dia de armazenamento. Todas as coberturas minimizaram o esbranquiçamento das cenouras em fatias, em relação ao controle, sendo este um fator relevante para a aparência da cenoura minimamente processada.

Palavras-chave: Vegetais minimamente processados, *Daucus carota* L., *Lactobacillus acidophilus*

3.1 INTRODUÇÃO

Atualmente muitos consumidores têm consciência de que uma dieta adequada necessita incluir frutas e hortaliças, pois esses produtos apresentam teores consideráveis de nutrientes funcionais, tais como: fibras, vitaminas, minerais e compostos bioativos, auxiliando na promoção da saúde (OMS-OLIV; SOLIVA-FORTUNI, 2011). Paralelamente, o estilo de vida dos consumidores nos dias de hoje demanda praticidade, rapidez e segurança na alimentação. Desse modo, o processamento mínimo de frutas e hortaliças surgiu como tecnologia emergente para atender principalmente este novo perfil de consumidor presente no mercado (ALVARENGA; TOLEDO; PAULILLO, 2014).

No âmbito da comercialização de hortaliças na forma minimamente processada, a cenoura tem destaque pelo seu grande consumo em diversos modelos de apresentação. No entanto, essa hortaliça sofre, devido ao processamento, uma série de estresses e alterações metabólicas indesejáveis, que acarretam na redução da vida útil quando comparada à sua forma *in natura* (HENRIQUE; EVANGELISTA, 2006). Assim, a utilização de revestimentos comestíveis surge como alternativa tecnológica interessante, podendo atuar na diminuição dos efeitos adversos potencializados devido a esses processos (LUVIELMO; LAMAS, 2013).

Dentre os compostos mais utilizados na elaboração desses revestimentos comestíveis estão as proteínas, os lipídios, ou polissacarídeos ou ainda a combinação dos mesmos (WONG; CAMIRAND; PAVLATH, 1994; VICENTINO et al., 2011). Os revestimentos formulados à base de polissacarídeos apresentam boa resistência a trocas gasosas, podendo reduzir a taxa de escurecimento enzimático que ocorre devido à ação das polifenoloxidasas (LUVIELMO; LAMAS, 2013). Além disso, a utilização dos polissacarídeos pode conferir brilho e transparência, melhorando o aspecto visual das frutas e hortaliças (OLIVEIRA; GRDEN; RIBEIRO, 2007), além de servirem como veículo de substâncias de interesse, até mesmo de lactobacilos vivos, como é o caso dos probióticos. Nesse sentido, polissacarídeos e proteínas têm sido utilizados amplamente em técnicas de microencapsulação, conferindo melhor sobrevivência celular aos micro-organismos encapsulados (LAURENTI; GARCIA, 2013; RATHORE et al., 2013; SATHYABAMA et al., 2014). Entretanto, ainda que em menor escala, também têm sido reportados estudos com coberturas comestíveis à base de polissacarídeos como carreadoras de micro-organismos probióticos (TAPIA et al., 2007).

O alginato de sódio é um polissacarídeo que forma filmes com característica hidrofílica, portanto são pobres como barreira à umidade. A incorporação do cálcio reduz a permeabilidade do vapor de água, fazendo com que o filme de alginato se torne insolúvel à água (OLIVAS;

MATTINSON; BARBOSA-CANOVAS, 2007). O processo de formação de gel ocorre por meio de reticulação (*cross-linking*) com íons bi-valentes como o cálcio, sendo que grande parte dos estudos atuais utilizam o cloreto de cálcio para a obtenção da solução filmogênica (TRIGO, 2010).

Estudos sobre quitosana, por sua vez, têm sido amplamente difundidos (ALBUQUERQUE et al., 2009) devido às suas propriedades antimicrobianas (PRANOTO; SALOKHE; RAKSHIT, 2005; CAMPANIELLO et al., 2008; DUTTA et al., 2009; PITAK; RAKSHIT, 2011), nutricionais (fibra funcional), antioxidantes e de geleificação (CASARIEGO et al., 2008), esta última contribuindo na formação de revestimentos biodegradáveis ou comestíveis (UGALDE, 2014).

Como agente antimicrobiano, o mecanismo de ação da quitosana varia com o tipo de micro-organismo (ELSABEE; ABDU, 2013) bem como com o peso molecular da quitosana (DUTTA; TRIPATHI; DUTTA, 2011), o que dificulta a elucidação do mesmo. Yadav e Bishe (2004), assim como Muzzarelli et al (1990) reportam que a atividade antimicrobiana da quitosana em relação as bactérias estaria associada com sua natureza policatiônica, cujos grupos protonados se ligariam seletivamente à superfície negativamente carregada dos micro-organismos, causando danos aos mesmos. Essa interação, também associada à capacidade da quitosana de danificar paredes celulares de fungos, dependeria da concentração, do grau de desacetilação e do pH (ASSIS; BRITTO, 2011). O efeito conjunto dos diversos fatores sobre a atividade antimicrobiana deste é compartilhado por outros autores, que os atribuem às propriedades físico-químicas das soluções, à concentração utilizada, ao tempo de exposição e às características da membrana do micro-organismo exposto (COSTA SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006; HARISH-PRASHANT; THARANATHAN, 2007, DUTTA et al., 2009). Outros ainda associam o peso molecular da quitosana com sua atividade (DUTTA; TRIPATHI; DUTTA, 2011), assim como à ação contra as bactérias gram-positivas e gram-negativas (ZHENG; ZHU, 2003).

A quitosana também é relacionada à viabilidade de bactérias probióticas. De acordo com Barreteau, Delattre e Michud (2006), quitosana de baixa massa molecular seria benéfica ao crescimento e manutenção da viabilidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Etchepare et al. (2016) constataram aumento da sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus* LA-14 em microcápsulas de alginato de sódio gelificadas em solução de cloreto de cálcio e expostas ao teste *in vitro* do suco gástrico e intestinal, quando elaboradas com a adição de amido resistente e gelificadas em solução de cloreto de cálcio e quitosana.

De acordo com a ANVISA (2002) alimento probiótico é aquele que, quando administrado em quantidade adequada, traz consigo micro-organismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo.

Grande parte dos alimentos probióticos apresentam como veículo produtos lácteos (BADARÓ et al., 2008). Dessa forma, seu consumo fica limitado, de modo que estes alimentos não podem ser ofertados à parcela de consumidores intolerantes à lactose e/ou alérgicos às proteínas do leite. Diante desse cenário, há a necessidade de desenvolver veículos opcionais que não apresentem essa limitação ao consumo, como frutas e hortaliças que surgem como opção interessante e saudável.

O intuito deste trabalho foi avaliar o desempenho de coberturas comestíveis à base de alginato de sódio e quitosana sobre a qualidade de cenouras minimamente processadas e a capacidade das mesmas veicularem *Lactobacillus acidophilus* LA3.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Cenoura minimamente processada

Nesse estudo foram utilizadas cenouras (*Daucus carota* L.) do cultivar Verano, oriundas do município de São Gotardo – MG. A colheita foi realizada no mês de agosto de 2015 e as cenouras foram encaminhadas para o Laboratório de Processamento de Alimentos da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília, e mantidas sob refrigeração a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

O processamento mínimo constituiu-se das seguintes etapas: seleção e classificação, lavagem, descascamento, primeira sanificação, enxague, corte, segunda sanificação e drenagem. Os requisitos para seleção e classificação foram a ausência de danos mecânicos e fisiológicos (ALMEIDA et al., 2011), ausência de infecção fúngica e padronização do diâmetro e comprimento das raízes tuberosas.

A lavagem das cenouras foi realizada com detergente neutro e água corrente, seguida de descascamento e sanificação por imersão do vegetal em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 20 minutos. Em seguida, as cenouras foram enxaguadas e fatiadas em cortador elétrico doméstico (Master Pro Fun Kitchen Inox, Fun Kitchen, São José/SC, Brasil) no formato de rodela de aproximadamente 4 mm de espessura e 4 cm de diâmetro, e imersas em solução com hipoclorito de sódio a 50 ppm por 10 minutos (SILVA et al., 2011). Por fim, foram colocadas sobre papéis-toalha absorventes para retirar o excesso de água superficial. Todo o procedimento ocorreu em ambiente higienizado e climatizado em temperatura entre 15 e 20 °C.

3.2.2 Probiótico

Foi utilizada linhagem probiótica de *Lactobacillus acidophilus* LA3 ativado para aplicação em alimentos (Sacco[®], Campinas, Brasil).

A multiplicação e ativação do micro-organismo foi realizada com incubação de 0,1 grama do micro-organismo liofilizado em 7,9 mL de leite integral (Molico, São Paulo, Brasil) reconstruído (12%) e adicionado de extrato de levedura (0,3%) e L-cisteína (0,05%), por 96 horas a 37 °C (OLIVEIRA, 2011, com algumas modificações). Em continuidade, dois repiques em Caldo *deMan, Rogosa and Sharpe* (MRS) adicionado de L-cisteína (0,05%) foram realizados a 37 °C por 72 horas cada. O segundo tubo de repique foi vertido em um erlenmeyer contendo Caldo MRS com adição de L-cisteína (0,05%) de forma que o volume final obtido fosse 100 mL. A incubação foi a 37 °C por 72 horas. Após o período de crescimento, retirou-se do erlenmeyer 46 mL do sobrenadante e acrescentou-se 6 mL de glicerina esterilizada ao restante, obtendo-se, assim, a solução estoque. Microtubos tipo Eppendorf, com capacidade de 2,5 mL (Labcon, Analítica, São Paulo, Brasil), esterilizados, foram preenchidos com 2 mL da solução estoque e submetidos ao congelamento rápido à temperatura de – 86 °C. A viabilidade da cultura contida nessa solução estoque, antes do congelamento, apresentou concentração de células viáveis igual a $4,6 \times 10^8$ UFC·mL⁻¹.

Com um dos tubos de Eppendorf procedeu-se à ativação do inóculo para a utilização nas coberturas comestíveis, de forma que uma alíquota da amostra estoque foi inicialmente semeada, através de uma alça de platina, em 8mL de leite integral (Molico, São Paulo, Brasil) reconstituído (12%) com extrato de levedura (0,3%) e L-cisteína (0,05%) sob incubação de 20 horas a 37 °C, seguido por dois repiques em 8 mL de meio formulado enriquecido com extrato de beterraba (6%) (LIMA, 2010), extrato de soja (10%), sacarose (4%), extrato de levedura (0,5%), L-cisteína (0,05%), sulfato de zinco (0,008%) e sulfato de magnésio (0,005%) incubados a 37 °C por 24 horas cada. Após o segundo repique, o tubo foi vertido sobre o erlenmeyer com meio formulado de forma que o volume final obtido fosse 100 mL. Após 24 horas de incubação, os *L. acidophilus* estavam na ordem de $4,7 \times 10^{10}$ UFC·g⁻¹, sendo retirados 2,5 mL desse meio, os quais foram adicionados em 300 mL de cobertura comestível no T3 e T4.

Todo o processo de ativação foi conduzido sob condições assépticas, com material e meios de cultura devidamente esterilizados.

3.2.3 Coberturas comestíveis e adição dos probióticos

Após testes preliminares (**Apêndices A e B**), foram preparadas as soluções contendo os dois polissacarídeos, sendo que as soluções estoque à base de alginato de sódio (Dinâmica®, Diadema, Brasil) e quitosana com grau de desacetilação de 87,7% (Polymar, Fortaleza, Brasil), foram preparadas separadamente, com o dobro da concentração final planejada para cada substância e alíquotas iguais de cada uma das soluções foi misturada no agitador mecânico (MA 259, MARCONI, Piracicaba, Brasil) na velocidade de 2400 rpm por 5 minutos, seguindo-se o ajuste do pH com ácido acético 30%. As proporções de cada componente estão descritas nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 – Formulação da cobertura comestível aplicada nos tratamentos T1 e T3.

INGREDIENTES	Quantidade (g/100 g)
Alginato de sódio	1,5
Glicerol	0,75
Tween 80	0,05
Óleo de girassol	0,04

Tabela 7 – Formulação da cobertura comestível aplicada nos tratamentos T2 e T4.

INGREDIENTES	Quantidade (g/100 g)
Alginato de sódio	1,5
Quitosana	0,75
Glicerol	0,75
Tween 80	0,05
Óleo de girassol	0,04

Para tanto, o alginato de sódio foi previamente dissolvido em água aquecida a 70 °C e agitado mecanicamente (MA 259, MARCONI, Piracicaba, Brasil) a 2400 rpm por 5 minutos até sua completa dissolução. Foi adicionado glicerol (Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil), óleo de girassol (Cargill Agrícola S.A, Brasil) e Tween 80 (Cooperativa Agroindustrial Alegrete, Brasil), homogeneizando-se novamente no agitador mecânico por 3 minutos até a sua total dissolução.

A solução de quitosana foi agitada vigorosamente em liquidificador doméstico (Arno), por aproximadamente 20 minutos e acidificada com ácido acético 30% m/v, também sob agitação, até pH 4,0 - 4,5 (DEVLEIGHIERE; VERMEULEN; DEBEVERE, 2004). A quitosana é considerada solúvel em pH inferior a 6,5, formando soluções viscosas, sendo que, dentre os

ácidos orgânicos, o acético e o fórmico são os mais utilizados para sua solubilização (DAMIAN et al., 2005).

Na preparação das coberturas com a mistura das soluções de alginato de sódio e quitosana, o pH da solução alcançou valores próximos a 7.

Devido ao metabolismo do probiótico e ao mecanismo de ação da quitosana, a atenção ao parâmetro pH é de extrema necessidade. Em todas as coberturas comestíveis formuladas, houve controle e padronização do pH final em 5,5, com adição do ácido acético 30%, uma vez a quitosana perde sua atividade antibacteriana quando o pH de sua solução se aproxima da neutralidade (TSAI; HWANG, 2004). Além disso, o micro-organismo utilizado, *Lactobacillus acidophilus*, apresenta pH ótimo de crescimento entre 5,5 e 6,2 (RIBEIRO, 2012).

Após a preparação das coberturas comestíveis foi adicionada a cultura probiótica ativada na ordem de $2,9 \times 10^8$ UFC·g⁻¹ e $5,1 \times 10^8$ UFC·g⁻¹, nos respectivos revestimentos T3 e T4.

No decorrer do procedimento utilizaram-se materiais esterilizados e ambiente controlado, para evitar contaminação externa e erro metodológico.

3.2.4 Aplicação dos revestimentos e armazenamento da cenoura minimamente processada

Os revestimentos comestíveis foram aplicados nas cenouras em rodela através da técnica *dipping* (COSTA et al., 2012), ou seja, imersão do alimento nas soluções preparadas à base de alginato de sódio, ou à base de quitosana e alginato de sódio, por 2 minutos, seguida de imersão em solução de cloreto de cálcio por 1 minuto. Posteriormente, foram acondicionadas em embalagem de poliestireno expandido forrada com folha de acetato, à temperatura de $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas, para que ocorresse secagem parcial da cobertura comestível. Após a desidratação sob refrigeração, por aproximadamente 12 horas, as embalagens foram seladas com filme de PVC esticável 20 μm e armazenadas na mesma temperatura pelo período de 19 dias. Cenouras minimamente processadas sem cobertura foram armazenadas nas mesmas condições descritas e usadas como controle amostral. O Quadro 1 mostra como foram divididos os tratamentos.

Quadro 1 - Distribuição dos quatro tratamentos com coberturas comestíveis e do controle das cenouras minimamente processadas.

Tratamento	Cenoura minimamente processada	Cobertura Alginato de sódio	Cobertura Quitosana e Alginato de sódio	Adição de Probiótico <i>L.acidophilus</i> à cobertura
C	X			
T1	X	X		
T2	X		X	
T3	X	X		X
T4	X		X	X

A Figura 6 mostra o fluxograma geral das cenouras minimamente processadas, antes de terem a cobertura comestível adicionada ou do Tratamento Controle (C). A Figura 7 descreve a formulação e a aplicação das coberturas comestíveis alginato (T1), alginato com adição de micro-organismos probióticos (T2), alginato + quitosana (T3) e alginato + quitosana com adição de micro-organismos probióticos (T4).

Figura 6 - Fluxograma geral do processamento mínimo das cenouras antes da aplicação das coberturas e para o Tratamento Controle (C).

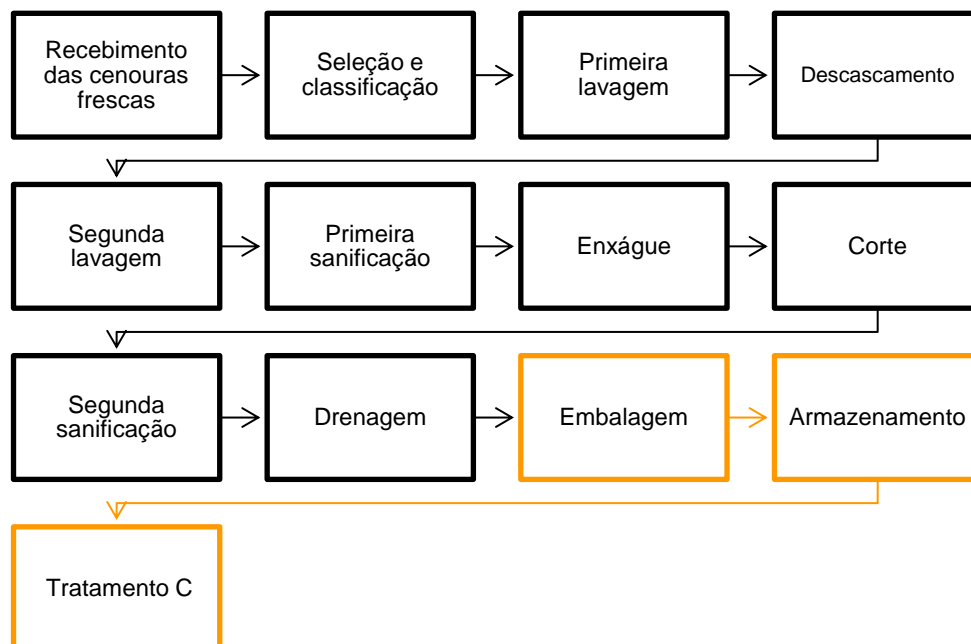
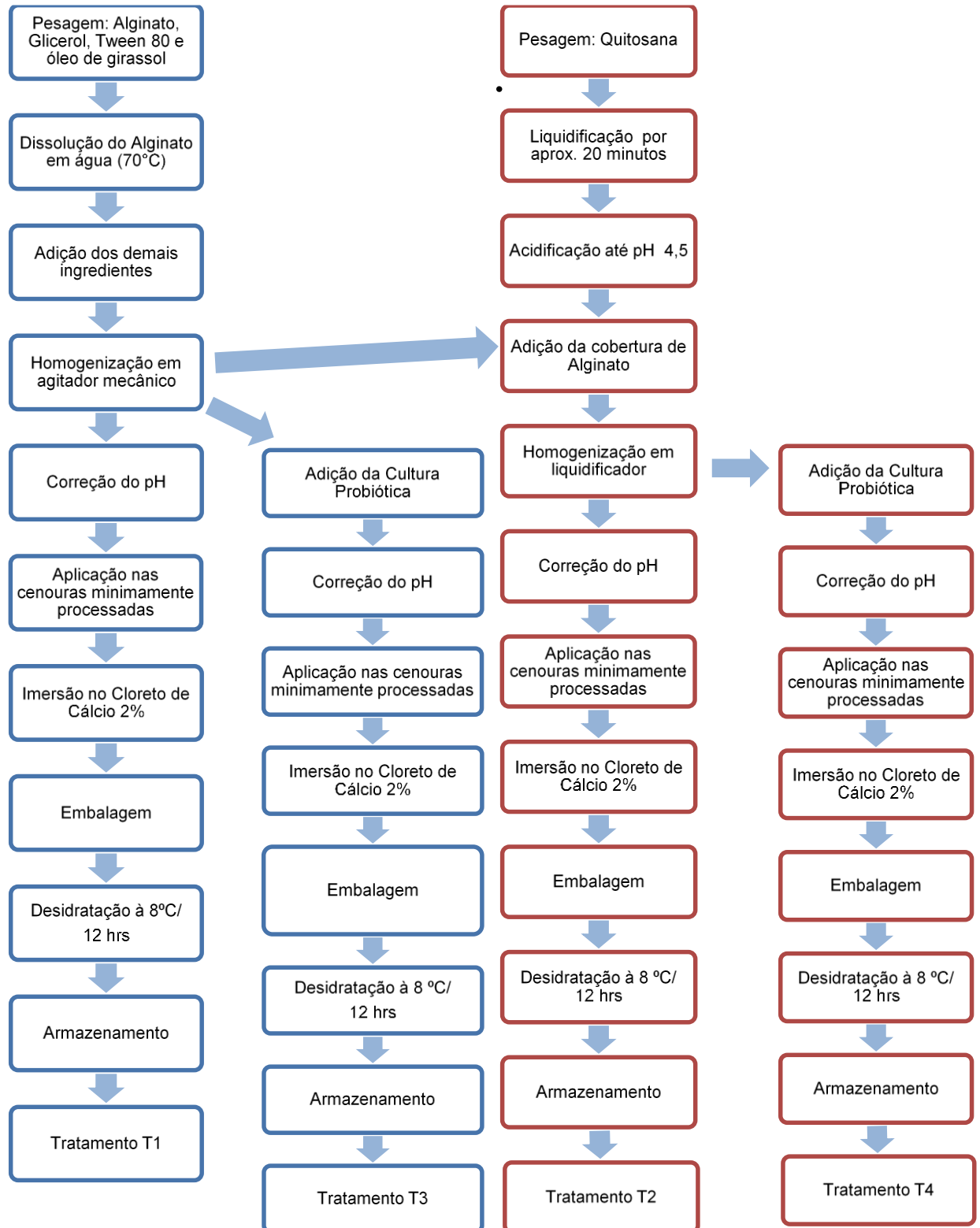


Figura 7 - Fluxograma do desenvolvimento e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas, obtenção dos tratamentos T1, T2, T3 e T4.



3.2.5 Análises físico-químicas

As análises de perda de massa fresca, umidade, acidez titulável, pH e espessura, foram realizadas no Laboratório de físico-química da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília, e a análise da cor, no Laboratório de Engenharia de Processos da Universidade Estadual Paulista (UNESP/IBILCE) – *Campus* de São José do Rio Preto/SP nos dias 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19 de armazenamento. Para a determinação da cor foram feitas 10 medidas para cada tratamento, sendo que as outras análises foram realizadas em triplicata. Para as análises de umidade, acidez titulável e pH foram utilizadas cinco bandejas, com 12 rodela cada, sendo trituradas com mixer doméstico. Todas as análises foram iniciadas no dia 1, devido à desidratação parcial da cobertura em refrigeração por 12 horas, que é feita de um dia para outro, após as imersões nas coberturas comestíveis.

3.2.5.1 Umidade

A análise de umidade foi determinada pelo método gravimétrico, pesando-se em balança analítica (Gehaka AG 200, São Paulo/SP, Brazil) 2 gramas de amostra em pesa-filtros de vidro com tampa esmerilhada, e secando-se em estufa a vácuo (MARCONI 033, Piracicaba/SP, Brasil) a 70 °C, até obtenção de peso constante. A análise foi realizada seguindo metodologia descrita na norma da AOAC (2005) nº 920.151.

3.2.5.2 Perda de massa

A porcentagem de perda de massa, devido à respiração e transpiração, foi calculada pela seguinte equação (Eq. 2):

$$\Delta M = \left(\frac{M_f}{M_i} - 1 \right) \times 100 \quad (2)$$

onde ΔM representa a variação de massa em relação à massa inicial, dada em porcentagem, M_f é a massa após um tempo de armazenamento t e M_i é a massa no instante inicial em que a embalagem é fechada.

As amostras foram pesadas em balança semianalítica (Marte AS 510, Santa Rita do Sapucaí/MG, Brasil). Sendo o valor da massa inicial sempre o do 1º dia de armazenamento.

3.2.5.3 Acidez Titulável e pH

O valor do pH foi determinado usando um pHmetro modelo PG1800 (Gehaka, São Paulo, Brasil) de acordo com a metodologia da AOAC (2005) nº 981.12. A acidez titulável foi determinada de acordo com a metodologia da AOAC (2005) nº 942.15 e os resultados foram expressos em g de ácido cítrico /100 g de amostra.

3.2.5.4 Espessura

As espessuras das cenouras minimamente processadas com ou sem suas respectivas coberturas comestíveis foram determinadas utilizando um micrômetro manual ($\pm 0,001$ mm) da marca Mitutoyo. Foram selecionadas aleatoriamente 3 rodela, de cada tratamento, para compor cinco medidas em regiões distintas de cada rodela. Portanto de cada tratamento foi obtido três médias, que foram compostas cada uma por cinco medidas de espessura.

3.2.5.5 Cor

Para verificação da cor dos quatro tratamentos e do controle foi utilizado o Espectrofotômetro de bancada ColorFlex da marca HunterLab, Estados Unidos, obtendo leitura direta de refletância das coordenadas L^* , a^* , b^* , sendo que L^* mede a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* indica a posição da cor entre vermelho (+a) e verde (-a) e a coordenada b^* entre amarelo (+b) e azul (-b). Através destes dados foi calculado a intensidade de cor ou Chroma (c^*) (Eq. 3) e ângulo hue (h°) (Eq. 4), determinados segundo Palou et al. (1999) e McGuire (1992) e o Índice de Esbranquiçamento (IE) (Eq. 5), conforme descrito por Avena-Bustillos et al. (1993), Lavelli et al. (2006) e Simões (2008):

$$c^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

$$h^\circ = \arctang(b^*/a^*) \quad (4)$$

$$IE = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (5)$$

3.2.6 Análises microbiológicas

3.2.6.1 Viabilidade celular dos *Lactobacillus acidophilus* LA3

Foram realizadas nos tempos 0, 1, 7 e 14 dias de armazenamento análises de viabilidade, utilizando 1 grama de revestimento comestível diluído em 99 mL de citrato de sódio (2% m/v)

à 40 °C (OLIVEIRA, 2011), para verificar se o alginato de sódio ou quitosana manteve a viabilidade do probiótico, sendo essa a diluição 10^{-2} . Houve sequência da diluição seriada em citrato de sódio até a diluição 10^{-7} , e posterior plaqueamento em profundidade em meio MRS agar com sobrecamada (vedação com agar). A incubação foi realizada em BOD (NOVA Instruments, NI 1704) por 48 horas a 37 °C. As análises foram feitas em triplicata no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília.

3.2.6.2 Análises de contaminantes

As análises de contaminantes foram feitas conforme a Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) com o controle de Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp.* Para complementar o controle da qualidade microbiológica do processo dos tratamentos foi realizado também o estudo de presença de coliformes totais, psicotróficos, bolores e leveduras.

Após a homogeneização e diluição seriada até 10^{-4} das cenouras minimamente processadas com ou sem coberturas, foram feitas análises microbiológicas nos tempos 1, 11 e 21 de armazenamento, em triplicada.

A Contagem total de psicotróficos em placas foi realizada por plaqueamento em superfície em meio *Plate Count Agar* (PCA) seguindo metodologia da American Public Health Association (MORTON, 2001). Para bolores e leveduras foi realizado o plaqueamento em superfície em meio *Potato Dextrose Agar* (PDA) seguindo metodologia da American Public Health Association (TANIWAKI; IAMANAKA; BANHE, 1999).

A contagem de coliformes totais/termotolerantes foi realizada pelo método do número mais provável (NMP) segundo metodologia da American Public Health Association (DOWNES; ITO, 2001).

Para análise de presença e ausência de *Salmonella spp.* foi utilizado o método tradicional de identificação descrito pela International Organization for Standardization 6579:2007 (ISO, 2007), o qual incluiu as etapas de pré-enriquecimento da amostra em água peptonada, enriquecimento seletivo em Caldo Tetrionato e Caldo Rappaport Vassiliadis, esgotamento por estrias em meios seletivos diferenciais, isolamento em Ágar Nutriente, seguida de provas bioquímicas e sorológica.

3.2.7 Parâmetros cinéticos e Análise estatística

As reduções de massa e de espessura ao longo do armazenamento foram descritas através de taxas, com base em modelos cinéticos de reação. Para a determinação do modelo

cinético que melhor se ajusta aos dados experimentais, bem como a ordem da reação e suas correspondentes constantes de reação, foram testados os modelos de ordem zero (Eq.6), primeira ordem (Eq. 7) e segunda ordem (Eq. 8).

$$\frac{dy}{dt} = -k[y]^0 = -k \quad (6)$$

$$\frac{dy}{dt} = -k[y]^1 = -ky \quad (7)$$

$$\frac{dy}{dt} = -k[y]^2 = -ky^2 \quad (8)$$

onde a variável y representa a grandeza que varia em função do tempo de armazenamento, t é o tempo de armazenamento (dias) e k é a constante de velocidade.

Para determinar as constantes, as equações diferenciais foram integradas, resultando nas expressões:

$$y = -kt + y_0 \quad (9)$$

$$\ln y = -kt + \ln y_0 \quad (10)$$

$$\frac{1}{y} = -kt + \frac{1}{y_0} \quad (11)$$

onde o subscrito 0 significa condição inicial.

Os ajustes das equações foram realizados por regressão linear e avaliados através do coeficiente de determinação (R^2).

Para avaliar a significância das medidas experimentais, as amostragens foram feitas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) completada com o teste de Tukey através do programa BIOESTAT (AYRES et al., 2007; BUSSAB; MORETTIN, 2011). Os resultados foram considerados significativos para p -valor $< 5\%$.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Análises Físico-químicas

3.3.1.1 Umidade

As umidades determinadas nas amostras com e sem cobertura, em geral, apresentaram baixíssima variação ao longo do armazenamento (Tabela 8). Além disso, há uma grande

semelhança entre todos os tratamentos, que variaram dentro de uma faixa entre 88,9 e 91%, ainda que algumas diferenças significativas tenham sido constatadas.

Tabela 8 – Valores médios de umidade (%) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trat.	Armazenamento (dias)						
	1 (M \pm DP)	4 (M \pm DP)	7 (M \pm DP)	10 (M \pm DP)	13 (M \pm DP)	16 (M \pm DP)	19 (M \pm DP)
C	90,7 \pm 0,10	90,4 \pm 0,01	89,9 \pm 0,10	90,1 \pm 0,10	90,0 \pm 0,30	89,1 \pm 0,10	88,9 \pm 0,10
	C a	Ca	Ba	BCab	Bb	Aa	Aa
T1	90,1 \pm 0,01	90,5 \pm 0,10	90,3 \pm 0,20	90,6 \pm 0,10	90,5 \pm 0,10	88,9 \pm 0,10	88,9 \pm 0,01
	Ba	Da	CDa	CDb	CDc	Aa	Aa
T2	89,8 \pm 0,10	91,0 \pm 0,20	90,3 \pm 0,10	90,0 \pm 0,10	90,5 \pm 0,20	89,8 \pm 0,01	89,9 \pm 0,10
	Aa	Ca	Bb	ABa	Bc	Aa	Ab
T3	90,8 \pm 0,60	90,6 \pm 0,20	90,8 \pm 0,01	90,6 \pm 0,54	90,8 \pm 0,10	89,5 \pm 0,10	89,7 \pm 0,30
	Ba	Ba	Bc	Ba	Bc	Aa	Ab
T4	88,9 \pm 2,50	89,4 \pm 1,20	90,3 \pm 0,20	89,8 \pm 0,61	89,3 \pm 0,10	89,5 \pm 0,10	89,6 \pm 0,10
	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Ab

*M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*.

As umidades não mostram tendências claras em suas variações ao longo do armazenamento, porém, sugerem que as amostras que sofreram maior redução de conteúdo de água foram aquelas sem cobertura (C), o que seria esperado, frente à capacidade das coberturas de reterem umidade e restringirem a difusão da água das cenouras para a superfície, onde ocorreria o processo de evaporação. Entretanto, também seria esperado que a cobertura sofresse redução de umidade ao longo do tempo de armazenamento. As coberturas comestíveis constituídas de proteínas, e polissacarídeos, na forma isolada ou em misturas (DEBEAUFORT; QUEZADA-GALLO; VOILLEY, 1998), protegem os vegetais contra a perda de água, onde a película formada perde umidade primeiro que o vegetal, evitando a desidratação do mesmo. Por outro lado, quando lipídios são adicionados nessas coberturas em geral há uma diminuição da permeabilidade ao vapor d'água (ROJAS-GRAU et al., 2007), contribuindo para a manutenção da umidade dos vegetais minimamente processados.

3.3.1.2 Perda de massa

A perda de massa é o principal problema da deterioração da qualidade das hortaliças durante o armazenamento, e é devido à respiração e à transpiração. A perda de massa das cenouras se dá predominantemente devido à transpiração, quando ocorre um processo de

evaporação da água devido à diferença de pressão de vapor d'água entre a atmosfera circundante e a superfície da hortaliça (GRIERSON; WARDOWSKI, 1978; CHITARRA; CHITARRA, 1990). Essa migração de água do interior do vegetal para o meio ambiente ocorre através do corte e eventuais injúrias que expõem os tecidos para o ar e facilita a evaporação da água (RAMIREZ et al., 2015).

A Tabela 9 e a Figura 8 apresentam a perda de massa fresca (%) durante o tempo de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, das cenouras minimamente processadas com os diferentes tratamentos, em relação à massa inicial, nos tempos 4, 7, 10, 13, 16 e 19 dias.

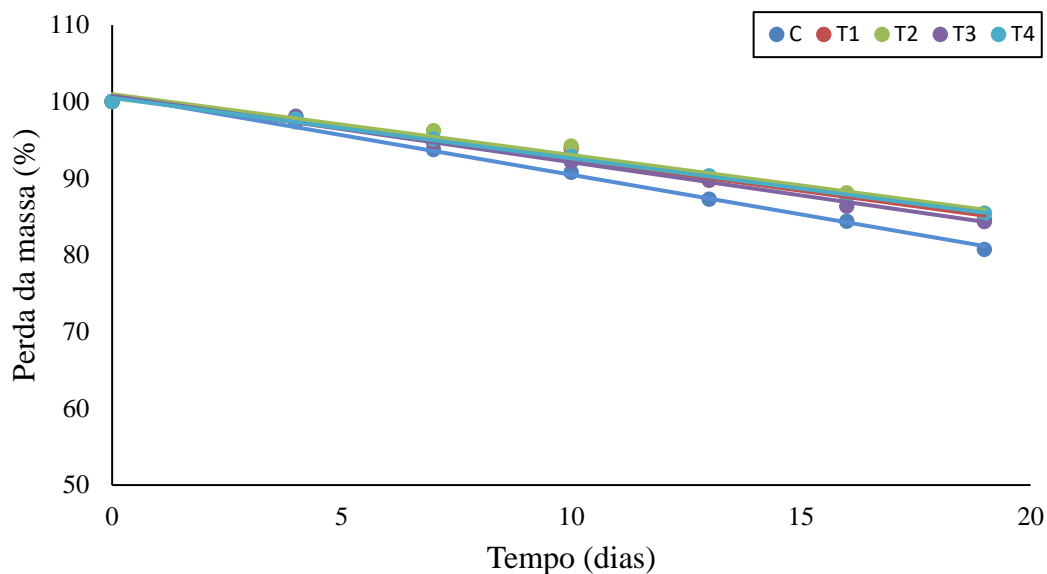
Tabela 9 – Valores médios da perda de massa fresca (%) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trat.	Armazenamento (dias)					
	4 (M \pm DP)	7 (M \pm DP)	10 (M \pm DP)	13 (M \pm DP)	16 (M \pm DP)	19 (M \pm DP)
C	2,60 \pm 0,20	6,24 \pm 1,04	9,21 \pm 1,71	12,73 \pm 2,70	15,58 \pm 2,77	19,26 \pm 3,01
T1	2,48 \pm 0,20	5,29 \pm 0,16	6,13 \pm 1,05	10,26 \pm 0,64	12,38 \pm 0,90	15,40 \pm 1,02
T2	2,03 \pm 0,49	3,78 \pm 0,95	5,77 \pm 1,09	9,82 \pm 1,63	11,90 \pm 2,36	14,52 \pm 3,06
T3	1,91 \pm 0,37	5,12 \pm 0,61	7,78 \pm 1,12	10,23 \pm 1,76	13,62 \pm 3,28	15,66 \pm 2,82
T4	2,28 \pm 0,38	4,87 \pm 0,28	7,12 \pm 0,20	9,66 \pm 0,13	12,37 \pm 0,22	14,60 \pm 0,87

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

Figura 8: Modelo cinético da perda da massa fresca (%) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e respectivos ajustes lineares.



$y_C = -1,034t + 100,82$ $R^2 = 0,9947$	$y_{T1} = -0,8135t + 100,6$ $R^2 = 0,9847$	$y_{T2} = -0,7932t + 100,99$ $R^2 = 0,9800$	$y_{T3} = -0,865t + 100,77$ $R^2 = 0,9922$	$y_{T4} = -0,7885t + 100,5$ $R^2 = 0,9966$
--	---	--	---	---

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

Com base nos resultados obtidos, constata-se que todas as amostras perderam massa fresca durante o armazenamento, sendo que o melhor ajuste do modelo cinético foi o de ordem zero, para todas as amostras.

A amostra controle apresentou as maiores médias de perda de massa durante todos os períodos analisados, principalmente a partir do décimo dia, apresentando uma perda de massa total de 19,26%, sendo que a média da perda de massa das amostras com coberturas comestíveis foi de 15,04%. Portanto, a amostra controle teria diferido das amostras com cobertura em aproximadamente 22% no último dia, evidenciando uma tendência de maior conservação de massa para as cenouras com revestimento comestível. Segundo Fai et al. (2016), isto pode ser justificado pela proteção da cobertura comestível, como uma barreira, em áreas superficiais cortadas, levando a menor perda de massa fresca que as amostras sem revestimento. Pois, os autores formularam uma solução de substâncias solúveis extraídas da farinha de resíduos de frutas e hortaliças e, pelos métodos de imersão e spray, recobriram cenouras em tiras, e

obtiveram menor perda significativa de massa ($p < 0,05$), de 6 a 10 e de 4 a 10 dias de armazenamento, correspondendo respectivamente a média de 12% e 23%, menor que a amostra sem revestimento.

Villadiego (2004) não constatou diferenças de perda de massa fresca em suas amostras com e sem revestimentos. As quatro amostras com revestimentos contendo 4% de amido, 2% de glicerol e quitosana em concentrações de 0,5%, 0,75%, 1,0% e 1,5% (p/p) e a amostra controle apresentaram média de 15% de perda de massa, armazenadas por 15 dias à 8 °C.

3.3.1.3 Acidez Titulável e pH

A acidez titulável e o potencial hidrogeniônico (pH) são métodos comumente utilizados para medir a acidez em frutas e hortaliças, de maneira que a primeira análise representa todos os grupamentos ácidos encontrados na amostra (ácidos orgânicos livres e na forma de sais e compostos fenólicos), e o segundo expressa apenas a quantidade de ácido dissociado na solução (KRAMER, 1973; GARCIA, 2009).

Os resultados das análises de pH estão expressos na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores médios de pH dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a 8 °C ± 2 °C.

Trat.	Armazenamento (dias)						
	1 (M ± DP)	4 (M ± DP)	7 (M ± DP)	10 (M ± DP)	13 (M ± DP)	16 (M ± DP)	19 (M ± DP)
C	6,75±0,06 F b	6,42±0,02 Eb	6,34±0,03 Db	6,31±0,04 Dd	6,23±0,05 Cc	6,08±0,03 Ba	5,89±0,01 Ac
T1	6,42±0,08 Ea	6,03±0,01 Da	5,72±0,01 Ba	5,85±0,02 Ca	5,78±0,05 BCb	5,76±0,01 BCa	5,57±0,01 Aa
T2	6,36±0,05 Ba	6,03±0,02 ABa	5,73±0,01 Aa	5,84±0,01 ABa	5,63±0,02 Aa	5,98±0,57 ABa	5,61±0,01 Aa
T3	7,03±0,02 Ec	6,58±0,07 Dc	6,10±0,02 Cc	6,08±0,03 Cc	5,90±0,02 Bb	5,94±0,03 Ba	5,75±0,03 Ab
T4	6,84±0,05 Fb	6,53±0,07 Ebc	6,22±0,09 Dd	5,95±0,04 Bb	5,85±0,02 Bb	6,07±0,04 Ca	5,73±0,02 Ab

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

Em todos os tratamentos analisados ocorreu diminuição significativa dos valores de pH ao longo do período de armazenamento. Os tratamentos T3 e T4 apresentaram maior variação de pH durante o período total de armazenamento (decréscimo de 18,2% e 16,2%, respectivamente). Já para os tratamentos livres de adição do micro-organismo probiótico (C,

T1 e T2), os índices de redução no pH foram relativamente menores 12,7%, 13,2% e 11,8%, respectivamente. Essas reduções podem indicar algum tipo de deterioração ou de metabolismo intensificado, o que poderia estar associado à matéria prima ou ainda às contaminações durante o processamento. Assim, a diminuição gradual do pH nas amostras analisadas neste estudo pode estar associada à ação de micro-organismos que produzem ácidos orgânicos aumentando a concentração de íons H⁺ (LIMA, 2003).

Bierhals (2010) através de comparações de abacaxis com coberturas à base de fécula de mandioca e alginato de sódio, com amostras sem revestimentos, obteve resultados que apresentaram a mesma tendência de queda estatisticamente significativa do pH, ($p < 0,05$), ao longo do armazenamento de 12 dias a 5 °C, sendo que outros autores também apontaram semelhante comportamento (SOUTO et al., 2004; VIANA et al., 2009).

Quanto aos ácidos orgânicos predominantes na cenoura, Lima (2003) destaca que são principalmente o ácido málico, o cítrico, o isocítrico, o succínico e o fumárico. A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos da análise de Acidez Titulável.

Tabela 11 - Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a 8 °C ± 2 °C.

Trat.	Armazenamento (dias)						
	1 (M ± DP)	4 (M ± DP)	7 (M ± DP)	10 (M ± DP)	13 (M ± DP)	16 (M ± DP)	19 (M ± DP)
C	0,653±0,003 A a	0,784±0,009 Bb	0,979±0,012 Cb	1,137±0,063 Dc	1,040±0,064 CDb	0,973±0,058 Ca	1,055±0,095 CDa
T1	0,565±0,004 Aa	1,001±0,051 Be	1,140±0,041 BCe	1,011±0,066 Bbc	1,071±0,008 BCab	1,153±0,052 BCb	1,186±0,104 Cab
T2	0,592±0,005 Aa	0,879±0,007 Bd	1,047±0,044 CDc	0,964±0,016 BCb	1,107±0,064 Dab	1,131±0,014 Db	1,025±0,081 CDa
T3	0,527±0,127 Aa	0,604±0,067 Aa	0,793±0,004 Ba	0,848±0,056 Ba	0,986±0,003 Ba	1,181±0,014 Cb	1,211±0,069 Cab
T4	0,597±0,108 Aa	0,791±0,008 Bc	1,060±0,058 Cc	0,956±0,056 BCb	1,186±0,005 Cb	1,296±0,045 CDc	1,322±0,029 Db

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

No dia 1, todos os tratamentos analisados, inclusive o controle, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si. Observando os resultados de um modo geral, houve grande variação e aumento da acidez para todas as amostras, ao longo dos 19 dias, em concordância com o abaixamento do pH (Tabela 10).

Analisando o primeiro e o último dia de armazenamento das amostras com cobertura probiótica (T3 e T4), verificou-se que o aumento da acidez ultrapassou 120% para duas amostras, seguindo-se a amostra T1 com aumento aproximado de 109%. Porém, as três amostras não apresentaram diferença estatística, entre si, no último dia de armazenamento. O controle (C) e a amostra (T2) que continha alginato e quitosana, foram as que formaram menor quantidade de ácidos durante o armazenamento.

3.3.1.4 Espessura

A espessura das coberturas está diretamente relacionada às suas propriedades de barreira aos gases e ao vapor de água (VARGAS et al., 2008). A Tabela 12 e a Figura 9 apresentam a variação da espessura das fatias de cenoura durante seu armazenamento, a partir do dia 1. Portanto, comparando-se as espessuras de todas as amostras no dia 1, constata-se que, em média, as amostras com cobertura ficaram aproximadamente 0,5 mm mais espessas que as fatias sem cobertura (controle).

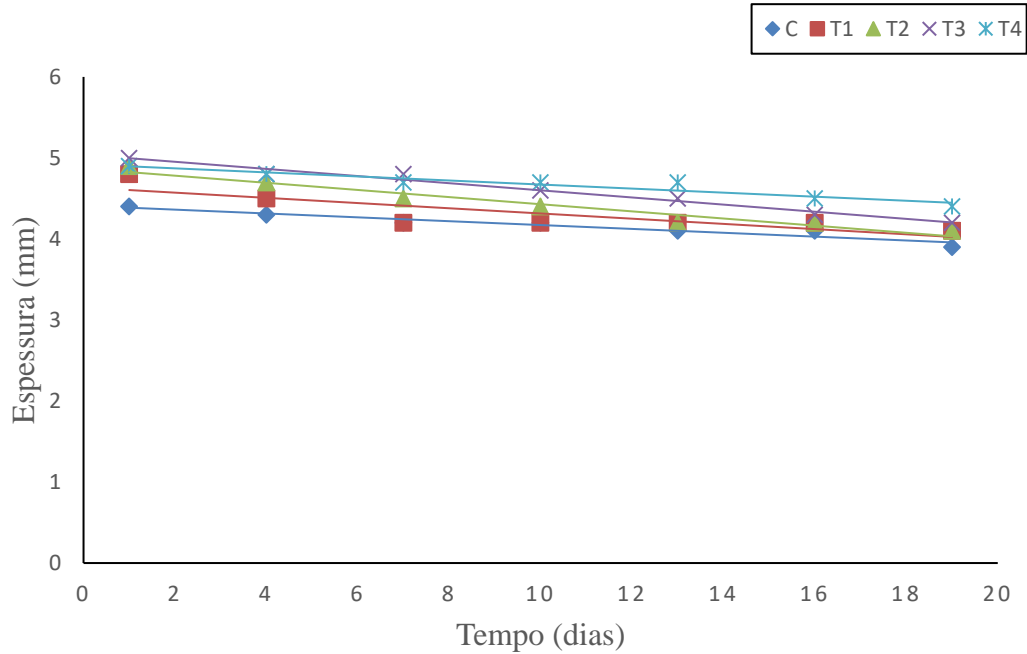
Tabela 12 – Valores médios de espessura (mm) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trat.	Armazenamento (dias)						
	1 (M ± DP)	4 (M ± DP)	7 (M ± DP)	10 (M ± DP)	13 (M ± DP)	16 (M ± DP)	19 (M ± DP)
C	4,41±0,07	4,27±0,03	4,22±0,07	4,24±0,06	4,13±0,04	4,11±0,02	3,90±0,07
T1	4,83±0,19	4,49±0,11	4,23±0,05	4,23±0,05	4,21±0,04	4,17±0,03	4,07±0,23
T2	4,93±0,29	4,69±0,18	4,46±0,21	4,36±0,19	4,24±0,15	4,18±0,18	4,05±0,07
T3	4,97±0,22	4,84±0,22	4,76±0,30	4,63±0,30	4,49±0,22	4,30±0,31	4,17±0,37
T4	4,91±0,19	4,79±0,12	4,73±0,11	4,68±0,24	4,65±0,19	4,53±0,22	4,44±0,24

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

Figura 9: Modelo cinético da espessura (mm) em relação à massa inicial dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e respectivos ajustes lineares.



$$y_C = -0,0238t + 4,4095 \quad R^2 = 0,9259 \quad y_{T1} = -0,032t + 4,636 \quad R^2 = 0,7064 \quad y_{T2} = -0,044x + 4,869 \quad R^2 = 0,9507 \quad y_{T3} = -0,044x + 5,040 \quad R^2 = 0,9779 \quad y_{T4} = -0,025x + 4,921 \quad R^2 = 0,9037$$

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

A diminuição da espessura das amostras com cobertura, com exceção do tratamento T4, foi maior que a da amostra controle, o que seria esperado pelo fato de que as coberturas contêm elevado conteúdo de água e que são altamente deformáveis com a variação do conteúdo de água. O tratamento T4 foi similar ao controle, diminuindo aproximadamente 0,5 mm, sendo que sua variação, em relação à espessura inicial, foi de aproximadamente 10% em 19 dias. Na figura 9, os coeficientes do X, da amostra C e T4, apresentam valores próximos entre si, indicando que as amostras obtiveram as menores variações em cada período avaliado.

Todos os demais tratamentos apresentaram reduções de aproximadamente 0,9 mm de espessura, ou seja, 16% em relação à espessura inicial.

No processo de aplicação de coberturas comestíveis, a viscosidade da cobertura e suas interações de superfície no produto minimamente processado (tensão superficial da cobertura, rugosidade e porosidade da superfície) afetam a espessura e a estrutura formada pela película (VILLALOBOS-CARVAJAL et al., 2009).

No entanto, em geral os resultados mostraram tendências coerentes, sugerindo que a amostragem foi capaz de representar a espessura agregada pelas coberturas e a redução mais rápida dessa sobre-espessura do que da amostra sem cobertura.

3.3.1.5 Cor

A modificação da cor ocorre naturalmente durante a vida pós-colheita das cenouras, como evidência do amadurecimento, que é acompanhado pela diminuição da claridade. Quando o produto é minimamente processado sofre algumas alterações metabólicas indesejáveis, como a perda do suco celular na superfície cortada, a desidratação e a ação de oxidantes utilizados na sanitização (LANA, 2000). A consequência destes fatores é o esbranquiçamento (Tabela 13) das superfícies das raízes, tornando o produto com aparência envelhecida e pouco atraente para o consumidor.

Tabela 13 – Médias do Índice de Esbranquiçamento (IE) dos quatro tratamentos e da amostra controle, durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trat.	Armazenamento (dias)						
	1 (M \pm DP)	4 (M \pm DP)	7 (M \pm DP)	10 (M \pm DP)	13 (M \pm DP)	16 (M \pm DP)	19 (M \pm DP)
C	29,66 \pm 0,27 Ac	35,32 \pm 1,72 BCc	34,05 \pm 1,94 Bd	35,17 \pm 2,07 Cd	35,07 \pm 1,95 BCd	36,28 \pm 2,60 CDd	38,22 \pm 1,77 Dc
T1	23,74 \pm 0,97 Aa	24,16 \pm 1,90 Aa	23,79 \pm 0,75 Aa	26,65 \pm 1,01 Bb	28,32 \pm 1,20 BCb	26,47 \pm 2,23 Ba	29,02 \pm 2,37 Cab
T2	24,68 \pm 1,19 Ab	25,56 \pm 0,73 Aa	26,93 \pm 0,92 ABb	28,05 \pm 0,92 Bc	30,84 \pm 3,45 Cc	32,90 \pm 0,94 Cc	30,87 \pm 3,35 Cb
T3	23,98 \pm 0,47 Ab	23,92 \pm 0,94 Aa	24,82 \pm 1,56 Aa	23,72 \pm 0,98 Aa	23,26 \pm 1,18 Aa	25,51 \pm 2,17 Aa	31,47 \pm 0,89 Bb
T4	25,38 \pm 0,39 Ab	29,29 \pm 3,10 Bb	28,87 \pm 2,18 Bc	27,40 \pm 0,54 Abc	28,66 \pm 3,30 Bc	28,80 \pm 0,96 Bb	28,29 \pm 1,72 Ba

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*

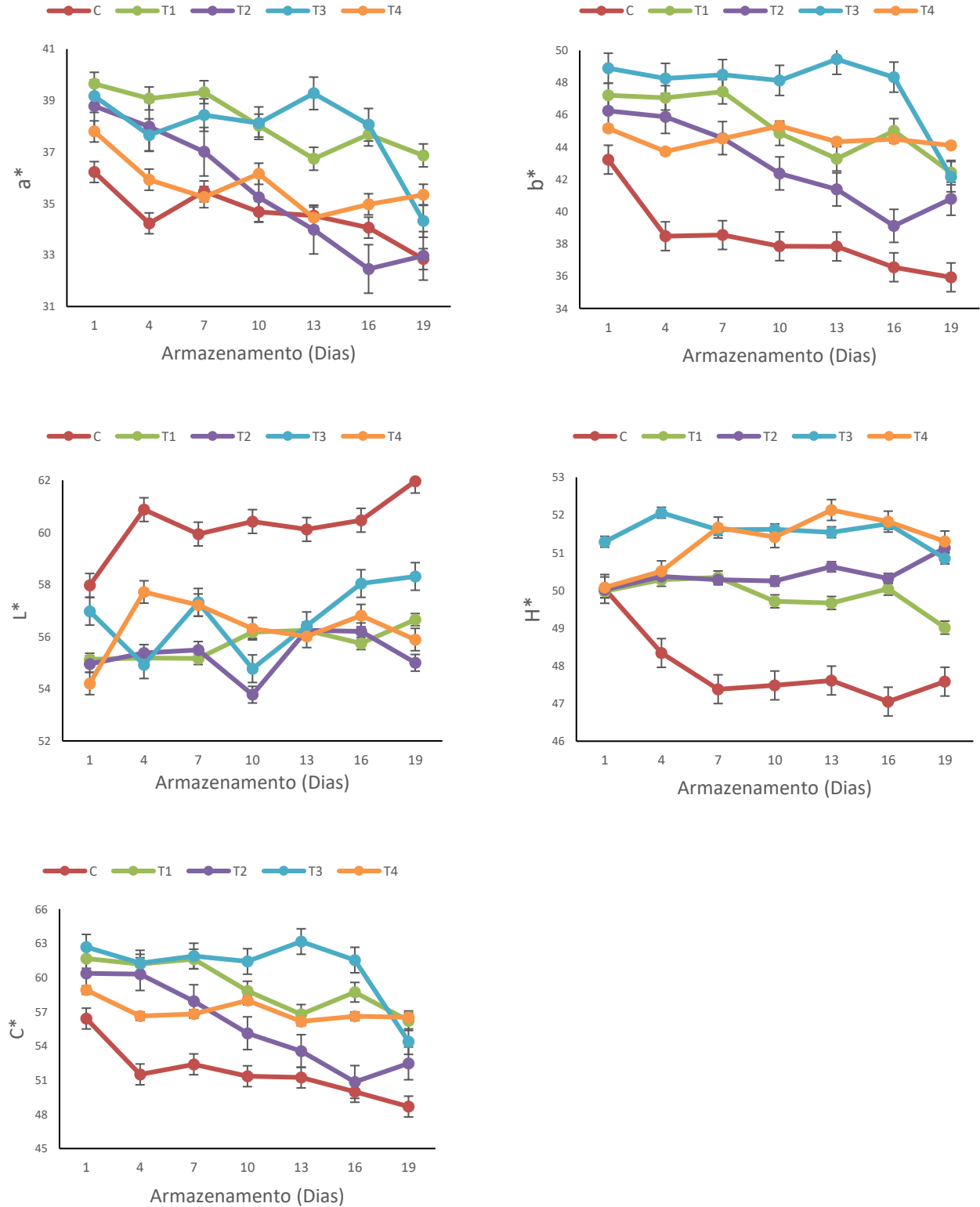
A comprovação deste fato se dá com a determinação do Índice de Esbranquiçamento (IE), da amostra controle, que já no quarto dia de armazenamento apresentou aumento do índice em quase 6% em relação ao primeiro dia (Tabela 13), seguida pela T4 com variação do índice em quase 4%. As amostras T1, T2 e T3 não apresentaram diferenças significativas, neste período. O tratamento T3 apresentou diferença significativa do IE no último dia de armazenamento, apesar destas diversidades de valores, foi a amostra T4 que teve menor aumento do seu IE (11,52% \pm 7,73%) ao longo dos 19 dias.

Com relação aos outros parâmetros de cor, as amostras revestidas, em especial a T3, apresentaram valores de a^* e b^* maiores e L^* menores ($p < 0,05$) (Figura 10) que a controle, durante todo armazenamento. Inicialmente, isto pode ter ocorrido devido a própria cor levemente amarelada do revestimento, juntamente com a cor das cenouras. A amostra T3 foi a única que não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) no tom H^* (Figura 8), a qual designa a cor propriamente dita da amostra (BIERHALS, 2010), indicando que a cobertura à base de alginato de sódio e probiótico foram capazes de evitar alterações de cor das cenouras em rodela ao longo da estocagem.

Foi observado um esbranquiçamento gradual, correspondente ao aumento dos valores de L^* ao longo do tempo, para todas as amostras ($p < 0,05$). No entanto, os valores de L^* foram significativamente mais baixos ($p < 0,05$) para as amostras revestidas do que para a controle, sugerindo que o esbranquiçamento foi mais distinto nas cenouras não revestidas. Portanto, os valores do IE e do L^* foram maiores no 19º dia do que no 1º, para todas as amostras, porém com maior ressalva para amostra controle.

O principal responsável pelo desenvolvimento do "white blush" nas superfícies das cenouras e de outros produtos hortícolas é a desidratação das camadas dos tecidos (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995). Possivelmente, foi a desidratação na superfície da cenoura minimamente processada, sem revestimento, que provocou o esbranquiçamento da amostra, que, além disso, também apresentou aspecto opaco pela perda da vivacidade da cor, o que foi comprovado pelos baixos valores de C^* (Figura 10), durante todo armazenamento.

Figura 10: Valores de L^* , a^* , b^* , H^* e saturação da cor (c^*) da cenoura minimamente processada (C) com cobertura de alginato de sódio (T1) adicionada de *Lactobacillus acidophilus* (T3) e com cobertura de alginato de sódio e quitosana (T2) adicionada de *Lactobacillus acidophilus* (T4). Os valores são médias de três réplicas. As barras verticais representam o desvio padrão.

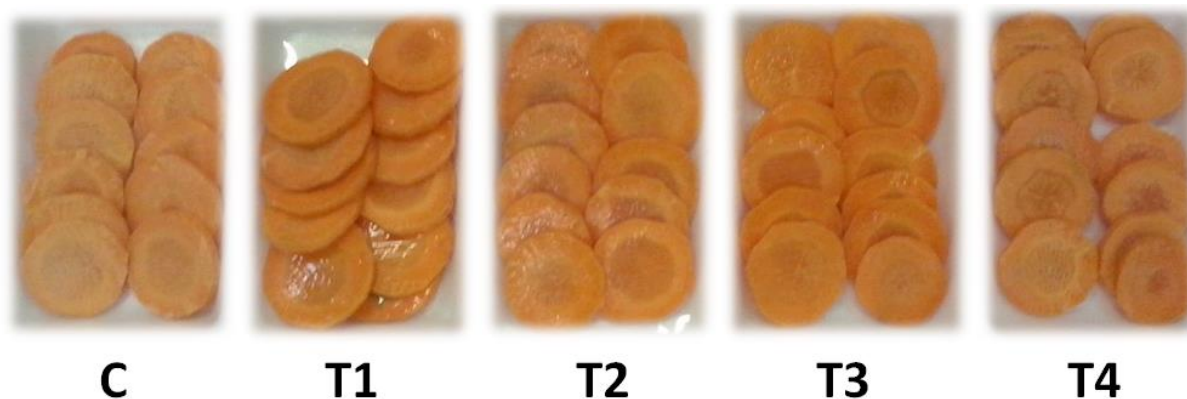


Estudos demonstraram que a desidratação e as alterações estruturais das camadas de células mais superficiais são as principais causadoras do esbranquiçamento, cuja descoloração prejudica sua qualidade (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995).

Além disso, sucessivas reidratações podem ou não reverter o esbranquiçamento na superfície de cenouras minimamente processadas, dependendo do grau de desidratação sofrido e, conseqüentemente, da perda de matéria fresca (SIMÕES et al., 2009).

Na Figura 11 constata-se na amostra C a predominância do esbranquiçamento superficial em relação aos tratamentos com coberturas comestíveis.

Figura 11 - Cenouras minimamente processadas com (T1, T2, T3 e T4) e sem (C) cobertura comestível após 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*.

Pushkala, Parvathy e Srividya (2012) correlacionam a perda de peso e a diminuição da umidade, com a desidratação superficial da amostra controle (cenoura ralada) e a conseqüente redução na cor laranja do produto. As coberturas comestíveis, ao protegerem a superfície da desidratação, reduziram a perda de peso em relação ao controle e também mantiveram maior hidratação superficial. Nesse experimento as amostras com cobertura T1, T2, T3 e T4 obtiveram menor IE e menor perda de peso com relação à amostra controle. Possivelmente as substâncias hidrofílicas que constituem a cobertura, ajudaram a manter a superfície do tecido da planta com maior umidade, evitando a desidratação e conseqüente descoloração, como já apontado por Vargas et al. (2008). Porém, concentrações exageradas de quitosana podem não exercer esse efeito. Num experimento em que quitosana em pó foi misturada com cenoura ralada, acima de 0,3 e 0,4% de quitosana em relação à massa de cenouras, após armazenamento a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10

dias, o aditivo causou redução no conteúdo de umidade da hortaliça, realçado pela superfície seca das amostras (PUSHKALA; PARVATHY; SRIVIDYA, 2012).

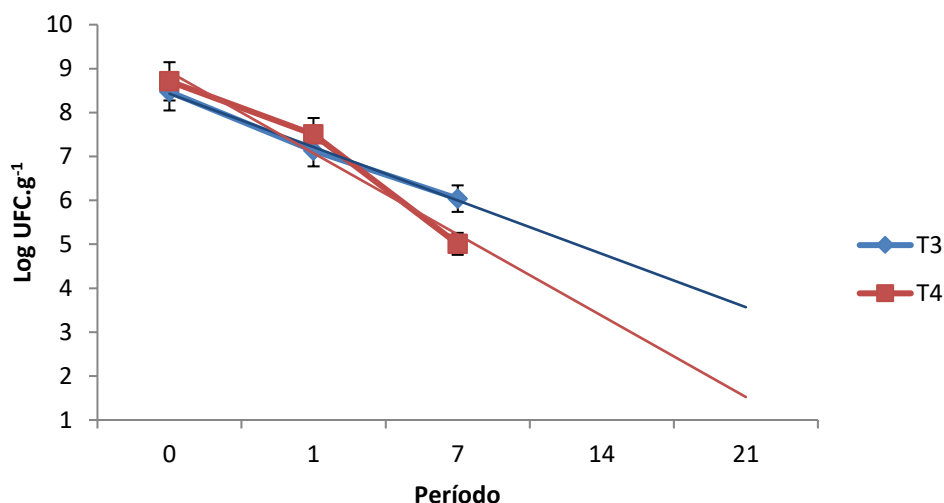
Resultados semelhantes foram apontados por Mei et al. (2002) quando mediram o IE de “baby carrots” revestidas com três tipos de coberturas comestíveis: goma xantana, goma xantana com cálcio, goma xantana com vitamina E e a amostra controle (sem cobertura). O esbranquiçamento foi significativamente retardado pelos revestimentos durante as três semanas de armazenamento à temperatura de 2 °C. Com valores bem similares aos encontrados neste trabalho, os autores reportam que a amostra controle tinha IE de 30, e que aumentou até 38,6, enquanto que as amostras com coberturas quase não variaram durante os 21 dias.

3.3.2 Análises microbiológicas

3.3.2.1 *Lactobacillus acidophilus* LA3

Os resultados para viabilidade celular dos *Lactobacillus acidophilus* LA3 estão descritos na Figura 12.

Figura 12 - Log UFC de *L. acidophilus*.g⁻¹ de cobertura, formulada segundo tratamento T3 e T4, durante o tempo de armazenamento da cenoura minimamente processada.



Inicialmente inoculados (tempo 0), na ordem de $2,9 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ e $5,1 \times 10^8$ UFC.g⁻¹, nos respectivos revestimentos T3 e T4, o probiótico apresentava-se em concordância com a legislação e com células metabolicamente viáveis, porém, após o término do processamento e da secagem em refrigeração por 12 horas dos minimamente processados, a análise de viabilidade na cobertura do tratamento T3 teve diminuição de $2,2 \times 10^1$ UFC.g⁻¹, e no tratamento

T4 a perda foi de $1,6 \times 10^1$ UFC.g⁻¹. Após 7 dias, os *Lactobacillus acidophilus* LA3 presentes no tratamento T3 tiveram perda na viabilidade em $1,2 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ em relação ao dia 1, e os inoculados no tratamento T4 tiveram diminuição em $3,1 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ de células viáveis, provavelmente porque os micro-organismos não obtiveram condições favoráveis (nutrientes, umidade e adaptação ao meio). Além disso, é possível que a presença de quitosana no tratamento T4 tenha influenciado uma maior perda. Após 14 dias de armazenamento não foi possível quantificar as células viáveis, pois as mesmas se encontravam abaixo do fator de diluição plaqueado (diluição 10^{-5}). Desta maneira, a cobertura desenvolvida mostrou-se ineficiente como veículo ao *L. acidophilus* LA3.

Tsai e Hwang (2004) em experimentos com incubação de *Lactobacillus acidophilus* JCM 1173 em MRS caldo com adição de solução de quitosana à 1000 ppm obtiveram valor de taxa de sobrevivência de 90 e 96%, utilizando quitosana com grau de desacetilação (GD), respectivamente, de 95% e 50%. No presente trabalho foi obtida taxa de sobrevivência reduzida nas amostras tratadas em condições experimentais semelhantes (abaixo do fator de diluição 10^{-5}), porém com espécies diferentes de *Lactobacillus*, devendo-se destacar também que a concentração de quitosana testada foi 7,5 vezes superior dos pesquisadores Tsai e Hwang (2004). Ainda, Tsai e Hwang (2004) verificaram sensibilidades diferentes à quitosana para bactérias da mesma espécie, mas de linhagens diferentes, como o *L. acidophilus* CCRC 14026. Após incubação em caldo com adição de 500 ppm do referido polímero, os autores obtiveram 0 e 37% de taxa de sobrevivência, respectivamente, para quitosana com grau de desacetilação 95% e 70%.

Uma cobertura que serve de veículo para micro-organismos probióticos necessita manter conteúdo de água e de nutrientes propício à manutenção dos micro-organismos (SIMEONI et al., 2014). Aditivos como frutooligossacarídeo (FOS) 30g/L e sorbitol 2,5g/L foram utilizados como ingredientes para formulação de um revestimento à base de metil celulose, na qual foram incorporados os *L. plantarum* CIDCA 83114 (QUIROZ et al, 2015). Segundo os autores, snacks de maçãs fatiadas em formato de anéis, preparados através de desidratação osmótica e secagem por ar aquecido receberam esse revestimento que, em seguida, foi desidratado a 60 °C/50 minutos. Apesar da baixa umidade do produto, essa cobertura desidratada protegeu os probióticos, mantendo viabilidade média de 10^6 UFC/g, depois de 90 dias de armazenamento.

Fatores como linhagem do probiótico, cepas resistentes e adaptáveis ao meio, número inicial de células viáveis, adição de micronutrientes, conhecimento da fase de crescimento em

que o inóculo é adicionado à cobertura e embalagem adequada para o produto, são variáveis determinantes para que o revestimento desenvolvido seja eficaz como veículo do probiótico.

Desta forma, a adição de *Lactobacillus acidophilus* LA3 nas soluções filmogênicas subsequentemente aplicadas às cenouras minimamente processadas necessita de aperfeiçoamento dos mecanismos de manutenção da viabilidade celular em meio não lácteo, provavelmente através de uma composição mais adequada da cobertura.

3.3.2.2 Análise dos contaminantes

No presente trabalho, foi verificado que as amostras analisadas apresentaram-se de acordo com os parâmetros determinados pela legislação vigente.

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados das análises realizadas para aferir a qualidade microbiológica dos tratamentos utilizando as especificações da legislação e complementando com o estudo de presença de coliformes totais, bolores, leveduras e psicrotróficos.

Tabela 14 – Qualidade microbiológica em Log.UFC.g⁻¹ da cenoura minimamente processada segundo o tratamento e tempo de armazenamento.

	Micro-organismo	Esp.*	Tempo (dias)		
			1	11	21
C	Coliformes totais	-	-	-	-
	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-
	Psicrotróficos	-	-	3,05 ^{bA} ± 0,01	4,36 ^{bB} ± 0,01
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-
T1	Coliformes totais	-	-	-	-
	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-
	Psicrotróficos	-	-	5,90 ^{dB} ± 0,00	4,50 ^{bA} ± 0,33
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-
T2	Coliformes totais	-	-	-	-
	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-
	Psicrotróficos	-	-	2,25 ^{aA} ± 0,24	5,17 ^{cB} ± 0,32
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-
T3	Coliformes totais	-	-	-	-
	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-
	Psicrotróficos	-	-	2,94 ^{bA} ± 0,04	3,73 ^{aB} ± 0,12
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-
T4	Coliformes totais	-	-	-	-
	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-
	Psicrotróficos	-	-	4,69 ^{cA} ± 0,21	4,20 ^{abA} ± 0,03
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-

*Especificação ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001.

M = Média da triplicata Log.UFC.g⁻¹; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato. T3 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato adicionada de *L. acidophilus*. T4 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato adicionada de *L. acidophilus*.

É crescente a ocorrência de surtos alimentares associados ao consumo de produtos frescos de origem vegetal (BEUCHAT, 2002), devido ao fato que a contaminação do vegetal pode ocorrer de diversas formas: durante o crescimento, a colheita, a distribuição e a preparação final. Estes produtos vegetais consumidos de forma fresca podem abrigar concentrações elevadas de micro-organismos contaminantes (VILAS BOAS, 2002).

O processo de higiene e manipulação de minimamente processados, quando realizado devidamente, é uma ferramenta importante para o controle da inocuidade de frutas e hortaliças.

Os limites microbiológicos, para tais grupos de produtos alimentícios, se encontram na Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) do grupo 3 item a, sendo necessário o controle de Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp.*

Foi contabilizada a presença de micro-organismos psicrotróficos em todos os tratamentos analisados, porém, para que haja alterações nos alimentos a contagem destes micro-organismos devem atingir o valor de 10^7 UFC.mL⁻¹ (ALCÂNTARA, 2009), e no caso, os números encontrados para todas amostras foram inferiores no máximo na ordem de 10^5 UFC.mL⁻¹.

Os micro-organismos psicrotróficos se caracterizam por ter capacidade de crescimento a 0 °C, mas têm como temperatura ótima de crescimento cerca de 20 a 30 °C (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Desta forma, estão comumente relacionados com a deterioração de vegetais *in natura* ou minimamente processados (LEITE, 2007). É importante ressaltar que todos os tratamentos, durante todo o período de armazenamento, inclusive o controle, encontravam-se em condições próprias para consumo em relação à qualidade microbiológica.

3.4 CONCLUSÃO

O uso de coberturas comestíveis (com e sem adição de micro-organismos) aplicadas em cenouras minimamente processadas apresentaram influências benéficas, reduzindo a transpiração, o que trouxe como consequência uma menor perda de massa fresca, maior preservação da umidade superficial e consequente diminuição do esbranquiçamento, sendo estes fatores determinantes para a comercialização do produto.

As coberturas que continham quitosana (T2 e T4) apresentaram menor perda de massa, aproximadamente 6,6%, em relação as outras amostras com coberturas, nos 19 dias de armazenamento.

A adição de *L. acidophilus* LA3 às coberturas comestíveis à base de alginato de sódio e à base de alginato de sódio e quitosana não apresentou viabilidade positiva, possivelmente devido à falta de nutrientes específicos para cepa em questão. Novas investigações serão necessárias para melhorar a viabilidade do probiótico nas coberturas comestíveis das cenouras minimamente processadas, como adição de substâncias que forneçam mais nutrientes aos micro-organismos probióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, R. B.; SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; STAMFORD, T. C. M. Perspectiva e potencial aplicação de quitosana como inibidor de *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Espanha, v. 10, n. 5, p. 260-274, 2009.
- ALCÂNTARA, E. M. de. **Caracterização física, química e microbiológica de morango, alface e cenoura orgânicos**. 2009. 107 f. Dissertação (Curso de mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- ALMEIDA, E. I. B.; RIBEIRO, W. S.; COSTA, L. C.; LUCENA, H. H.; BARBOSA, J. A. Análise da Eficiência de Biofilmes e Filme de PVC sobre o aumento da vida útil Pós-Colheita de Cenoura. **Revista Agropecuária Técnica**, Paraíba, v.32, n.1, 2011.
- ALVARENGA, A. L. B.; TODELO, J. C.; PAULILLO, L. F. O. Qualidade e segurança de vegetais minimamente processados: proposta de estruturas de governança entre os agentes da cadeia e os sinais da qualidade. **Gestão & Produção**, São Carlos, v. 21, n. 2, p. 341-354, 2014.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c77370047457bcc8888dc3fbc4c6735/RDC_02_2002.pdf?MOD=AJPERES.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of A.O.A.C International**, 18 th ed., Arlington, 2005.
- ASSIS, O.B.G.; BRITTO, B. G. D. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique. **Polymer international**, England, v. 60, p. 932–936, 2011.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, United States, v. 36, n. 3, p. 801-805, 1993.
- AYRES, M.; AYRES Jr. M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.
- BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRRES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. Alimentos probióticos: Aplicação como promotores da saúde humana. **Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 2, n. 3, 2008.
- BARRETEAU H.; DELATTRE C.; MICHUD, P. Production of oligosaccharides as promising new food additive generation. **Food Technology and Biotechnology**, Croácia, v. 44, n. 3, p. 323, 2006.
- BEUCHAT, L. R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 59, n. 2, p. 204-2016, 2002.

BIERHALS, V. S. **Estudo de vida útil de abacaxis (*Ananas comosus* L. Merrill cv ‘pérola’) minimamente processados em rodela com coberturas comestíveis**. 2010. 161 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 10 de janeiro de 2001.

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. **Estatística Básica**. 7ªed., São Paulo: Saraiva, 2011. 540 p.

CAMPANIELLO, D.; BEVILACQUA, A.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R.; Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 8, p. 992 – 1000, 2008.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, L.; DIAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.22, n. 8, p. 1452 – 1459, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**, Lavras: ESAL-FAEFE, 1990, 130 p.

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of Surface White Discoloration of Peeled (Minimally Processed) carrots during Storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, n. 2, p. 320-324, 1995.

COSTA SILVA, H. S. R.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

COSTA, C.; CONTE, A.; BUONOCORE, G. G.; LAVORGNA, M.; DEL NOBILE, M. A. Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots. **Food Research International**, Barking, v.48, n. 1, p. 164 – 169, 2012.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A. de; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 195-205, 2005.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 38, n. 4, p.299-313, 1998.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 703 – 714, 2004.

DOWNES, F. P.; ITO, K (Eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.

DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P. K. Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. **Food Science and Technology International**, London, v. 18, n. 1, p. 3–34, 2011.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1173 – 1182, 2009.

ELSABEE, M.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, Lausanne, v. 33, p. 1819–1841, 2013.

ETCHEPARE, M. A.; RADDATZ, G. C.; FLORES, E. M. M.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; BARIN, J. S.; GROSSO, C. R. F.; MENEZES, C. R. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. **Food Science and Technology**, London, v. 65, p.511-517, 2016.

FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; BARROS, S. T.; BRUNO, N. V.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, E. C. B. A. Development and evaluation of biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 112, p. 194-204, 2016.

GARCIA, L. C. **Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados**. 2009, 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

GRIERSON, W.; WARDOWSKY, W. F. Relative humidity effects on the postharvest life of fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.13, n. 5, p. 570-574, 1978.

HARISH-PRASHANTH, K. V.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential - an overview. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 18, n. 3, p. 117-131, 2007.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs- **Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.**, 4^a Ed. 2002. The International Organization for Standardization, amendment 1: 15/07/2007.

KRAMER, A. Fruits and vegetables. In: KRAMER, A. TWIGG, B. A. **Quality control for the food industry**. Connecticut: Avi, v. 2, p.157-227, 1973.

LANA, M. M. Aspectos da fisiologia de cenoura minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, n. 3, p. 154-158, 2000.

LAURENTI, E.; GARCIA, S. Eficiência de materiais encapsulantes naturais e comerciais na liberação controlada de probiótico encapsulado. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 107-115, 2013.

LAVELLI, V.; PAGLIARINI, E.; AMBROSOLI, R.; MINATI, J. L.; ZANONI, B. Physicochemical, microbial, and sensory parameter as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 34 - 40, 2006.

LEITE, M. O. **Caracterização da qualidade nutricional, microbiológica, física e de vida útil pós-colheita de alface (*Lactuca sativa* L.) in natura, cultivadas por agricultura natural, hidropônica e método convencional, higienizadas e acondicionadas em atmosfera natural.** 2007, 97 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

LIMA, I. R. **Desenvolvimento de produto vegetal desidratado a base de raízes tuberosas fermentadas com bactérias probióticas protegidas pela presença de betaína.** 2010, 91F. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

LIMA, K. S. C. Cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosferas modificadas e tratadas com radiação gama: avaliação microbiológica, físico-química e química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 240-250, 2003.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, Pelotas, v. 8, n.1, p. 8-15, 2013.

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

MEI, Y.; ZHAO, Y.; YANG, J.; FURR, H. C. Using Edible Coating to Enhance Nutritional and Sensory Qualities of Baby Carrots. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 67, n. 5, 2002.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P.; K. ITO (Ed.) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 a Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., Chapter 7, p. 63-67, 2001.

MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILLIPPINI, O.; GIOVANETTI, E.; BIAGINI, G.; VARALDO, P.R. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Washington, p. 2019-2023, 1990.

OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.45, p.89–96, 2007.

OLIVEIRA, C. S. de; GRDEN, L.; RIBEIRO, M. C. de O. Utilização de Filmes Comestíveis em Alimentos. **Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimentos em Tecnologia de Alimentos**, Ponta Grossa, v. 01, p. 52 - 57, 2007.

OLIVEIRA, D. L. P. **Produção e avaliação de micropartículas lipídicas contendo *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium lactis* produzidas por spray chilling.** 2011, 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

OMS-OLIV, G.; SOLIVA-FORTUNY, R. Future trends in fresh-cut fruit and vegetable processing. In: MARTIN-BELLOSO, O., SOLIVA-FORTUNY, R. (Eds.) **Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing.** London, New York, CRC Press, p. 377-386, 2011.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, L.; SWANSON, B.G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 64, n. 1, p. 42-45, 1999.

PITAK, N.; RAKSHI, S. K.; Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self sealing films used for preserving fresh-cut vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 44, n. 10, p. 2310 – 2315, 2011.

PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RASKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 3, p. 267 – 272, 2005.

PUSHKALA, R.; PARVATHY, K. R.; SRIVIDYA, N. Chitosan powder coating, a novel simple technique for enhancement of shelf life quality of carrot shreds stored in macro perforated LDPE packs. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 16, p. 11 – 20, 2012.

QUIROZ, M. J. T.; ROMANO, N.; MOBILI, P.; PINOTTI, A.; GOMEZ-ZAVAGLIA, A.; BERTOLA, N. Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Functional Foods**, Netherlands, v.16, p.164–173, 2015.

RAMIREZ, M. E.; TIMON, M. L.; PETRON, M. J.; ANDRES, A. I. Effect of chitosan, pectin and sodium caseinate edible coatings on shelf life of fresh-cut prunus pérsica var. nectarine. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 39, n. 6, p. 2687 – 2697, 2015.

RATHORE, S.; DESAI, P. M.; LIEW, C. V.; CHAN, L. W.; HENG, P. W. S. Microencapsulation of microbial cells. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 116, n. 2, p. 369-381, 2013.

RIBEIRO, M. C. O. **Caracterização do *Pediococcus acidilactici* B14 quanto às propriedades probióticas e sua associação com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 com aplicação em sobremesa com soja aerada potencialmente simbiótica.** 2012, 206 f. Tese – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

ROJAS-GRAU, M. A; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M; SOLIVA-FORTUNY, R. C; AVENA-BUSTILLOS, R. J; MCHUGH, T. H, MARTIN-BELLOSO, O. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 254–264, 2007.

SATHYABAMA, S.; KUMAR, M. R.; DEVI, P. B.; VIJAYABHARATHI, R.; PRIYADHARISINI, V. B. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 57, n.1, p. 419-425, 2014.

SILVA, E. de O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, L. T. **Processamento Mínimo de Produtos Hortifrutícolas.** Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2011.

SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. M.; MENEZES, M. F. C.; STEFANELLO, F. S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v.18, p. 66-75, maio, 2014.

SIMÕES, A. D. N. **Caracterização anatômico-fisiológica e conservação de cenoura minimamente processada.** 2008, 95 f, Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

SIMÕES, A. D. N.; TUDELA, J. A.; ALLENDRE, A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M. I. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 364-370, 2009.

SOUTO, R. F. et al. Conservação pós-colheita de abacaxi 'Pérola' colhido no estágio de maturação "pintado" associando-se refrigeração e atmosfera modificada, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 26, n.01, p.24-28, 2004.

TANIWAKI, M. H., IAMANAKA, B. T., BANHE, A. A. Comparison of culture media to recover fungi from flour and tropical fruit pulp. **Journal of Food Mycology**, England, v. 2, p. 291-302, 1999.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A; RODRÍGUEZ, F. J.; RAMÍREZ, J.; CARMONA, A.; MARTIN-BELLOSO, O. Alginate and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 72, n. 4, p.190-196, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre, Artmed. 2012.

TRIGO, J. M. **Qualidade de mamão 'Formosa' minimamente processado utilizando revestimento comestíveis**. 2010. 102 f. Dissertação (Ciência e tecnologia de alimentos)- Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.

TSAI, G. J.; HWANG, S. P. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of shrimp chitosan against some intestinal bacteria. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 70, p. 675–681, 2004.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 162f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.

VARGAS, M.; PASTOR, C.; CHIRALT, A.; McCLEMENTS, D. J.; GONZÁLEZ-MARTINEZ, C. Recent Advances in Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 48, n. 6, p. 496-511, 2008.

VIANA, E.; AMORIM, T. S.; OLIVEIRA, L.; REINHARD, D. H.; SILVEIRA, F.; SANTANA, F. A.; SANTANA, P. N. Physicochemical characteristics of minimally processed 'Pérola' pineapples treated with edible coatings. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 40, n. 01, p. 291-298, 2009.

VICENTINO, S. L; FLORIANO, P. Q; DRAGUNSKI, D. C; CAETANO, J. Filmes de amidos de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. **Química Nova**, São Paulo, v.34, n.8, p. 1309-1314, 2011.

VILAS-BOAS, E. V. de B. **Qualidade de alimentos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE/DCA, 2002, p. 68.

VILLADIEGO, A.M.D. **Desenvolvimento de um revestimento comestível antimicrobiano a base de amido de inhame com quitosana na conservação de cenoura minimamente**

processada. 2004, 128f. Tese (Doutorado em ciências e tecnologia de alimento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; HERNÁNDEZ-MUNOZ, P.; ALBORS, A.; CHIRALT, A. Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, n. 2, p. 526-535, 2009.

WONG, D. W. S.; CAMIRAND, W. M.; PAVLATH, A. E. Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables. **J. M. Krochta** (Ed). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Co., Inc., p. 65-88, 1994.

YADAV, A. V.; BHISE, S. B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, Columbus, v. 87, n. 9, p. 1176-1178, 2004.

ZHENG, L. Y.; ZHU, J. F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 54, p. 527–530, 2003.

CAPÍTULO 4
**CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DE CENOURAS
MINIMAMENTE PROCESSADAS COM COBERTURA COMESTÍVEL À BASE DE
ALGINATO DE SÓDIO E DE ALGINATO DE SÓDIO COM QUITOSANA**

RESUMO

Nos últimos anos, os produtos minimamente processados mostraram um aumento significativo de vendas na área de hortaliças minimamente processadas, sendo a cenoura um dos destaques. A cenoura minimamente processada, assim como qualquer outra fruta ou hortaliça que passa por etapas de corte durante um processamento mínimo diminui sua vida de prateleira em relação à não processada. Além disso, os consumidores mais esclarecidos vêm demonstrando interesse crescente por alimentos funcionais. Com o objetivo de aumentar a vida útil da cenoura minimamente processada em rodela, mantendo-a com as características de produto fresco, foi aplicada cobertura comestível à base de alginato de sódio assim como alginato de sódio e quitosana. Para tanto, foram avaliadas amostras revestidas por uma cobertura composta por alginato de sódio (1,5 g/100 g de água), glicerol (0,75 g/100 g de água), óleo de girassol (0,04 g/100 g de água) e tween 80 (0,05 g/100 g de água) (T1) e a combinação dessa cobertura com quitosana (0,75 g/100 g de água) (T2), sendo ambas comparadas às amostras controle, sem cobertura (C). As cenouras em rodela foram mergulhadas nas respectivas soluções e, a seguir, no cloreto de cálcio (2 g/100 g de água). As amostras foram armazenadas à temperatura de $8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, sendo que aquelas submetidas aos tratamentos T1 e T2 tiveram comportamento semelhante quanto às análises físico-químicas, apresentando menor diminuição de umidade e massa fresca, quando comparadas à amostra controle (C). As coberturas comestíveis não foram eficientes para diminuir a taxa de respiração das cenouras minimamente processadas durante os 22 dias de armazenamento à temperatura de $8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, comparadas à taxa de respiração da amostra controle, porém esse fator não influenciou negativamente na análise sensorial feita nos dias 1, 7 e 14. O teste aplicado foi o método afetivo de aceitação, com as notas variando de 0,0 a 9,0, sendo que a amostra C obteve as notas mais baixas em relação a T1 e T2, em todos os atributos, nos três dias de avaliação. No último dia de análise a amostra T1 apresentou a média de nota mais alta nos quesitos avaliação global e textura ($6,89 \pm 1,60$ e $6,89 \pm 1,58$, respectivamente), seguida pela amostra T2 ($6,85 \pm 1,54$) no quesito aparência. Com relação à intenção de compra, no décimo quarto dia, a amostra T1 atingiu o mais alto valor (59%), sendo

que a textura crocante e a aparência fresca foram os itens que os provadores mais gostaram nesta amostra, nos três dias de avaliação.

Palavras-chave: Revestimento, Característica sensorial, taxa de respiração, *Daucus carota* L.

4.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os produtos minimamente processados mostraram um aumento significativo de vendas, podendo-se deduzir que o aumento da demanda desse tipo de produto se deve principalmente pelo estabelecimento de novos estilos de vida, caracterizados pela falta de tempo nas preparações domésticas, seguido por uma evolução da estrutura do consumo de alimentos e uma desestruturação das refeições (GALGANO et al., 2015). Das hortaliças minimamente processadas, a cenoura (*Daucus carota* L.) é uma das mais populares, pela sua versatilidade de uso e formas de apresentação ao consumidor (LANA, 2000), no entanto, mesmo em embalagens sob refrigeração apresentam rápida deterioração, exibindo alterações fisiológicas negativas, como a perda da firmeza, desenvolvimento de odores desagradáveis e o esbranquiçamento superficial (LECETA et al., 2015).

Uma opção para aumentar a vida útil dos vegetais minimamente processados é a aplicação de cobertura comestível, ou seja, uma fina camada de material comestível aplicado à superfície dos vegetais. Por estarem em contato com os alimentos, é desejável que os filmes e coberturas comestíveis apresentem propriedades sensoriais neutras (transparente, inodoro e insípido), de modo a não alterar a qualidade dos alimentos (FAKHOURI et al., 2007). Sua função é restringir a perda de umidade para o ambiente, diminuir a taxa de respiração e alterações de textura, melhorar a integridade mecânica e a aparência dos vegetais (VANETTI, 2000).

Diversos polissacarídeos têm sido testados como revestimentos comestíveis, incluindo o alginato de sódio, de natureza hidrofílica, extraído de algas marinhas pardas. Ele é comercialmente disponível como um sal de sódio do ácido algínico, sendo um polissacarídeo natural, formado por ácido poliurônico de cadeia linear. A propriedade de geleificação do alginato de sódio na presença de cátions polivalentes é útil na formação do filme, sendo os sais de cálcio os agentes geleificantes mais efetivos, pois quando a solução de alginato de sódio e o cálcio entram em contato, um gel instantâneo é formado na interface (MENEGUEL; BENASSI; YAMASHITA, 2008). Segundo Mortazavian et al. (2008) a quitosana também apresenta uma boa capacidade de formação de película, sendo utilizada como revestimento exterior em cápsulas feitas com polímeros aniônicos como alginato.

Quitosana ($\beta(1\rightarrow4)2$ -amino-2-deoxi-D-glicopiranosose) é a forma desacetilada da quitina e possui propriedades particularmente interessantes na área de alimentos como não toxicidade (OUATTARA et al., 2000; VÁSCONEZ et al., 2009), capacidade de formar filmes biodegradáveis (ROSA, 2002; ELSABEE; ABDOL, 2013), solubilidade em meio ácido aquoso

(BRUGNEROTTO; LIZARDI; GOYCOOLEA, 2001) e potencial ação antimicrobiana (BRODY et al., 2002).

Os recobrimentos comestíveis podem ser utilizados sob forma conjunta, sendo o alginato de sódio um polieletrólito aniônico que forma complexos com a quitosana, apresentando ligações mecanicamente fortes em baixos valores de pH, onde a quitosana é solúvel (HAMMAN, 2010).

As coberturas comestíveis, além de retardar a senescência dos frutos, é considerada uma técnica simples e relativamente barata (RAMIREZ et al., 2015), portanto, as pesquisas neste campo têm se intensificado recentemente, produzindo alimentos de alta qualidade (GARG; CHUREY; SPLITTSTOESSER, 1990; ROLLER; COVILL, 1999).

Considerando a demanda dos consumidores por alimentos com qualidade, é importante avaliar a qualidade sensorial dos produtos, inclusive durante o armazenamento, pois os processos metabólicos que ocorrem nos alimentos, na maioria das vezes, promovem alterações importantes.

Nas análises sensoriais, são utilizados os órgãos do sentido humano para realização de medidas multidimensionais integradas que objetivam determinar a aceitação de um produto por parte do consumidor. A aceitação ou rejeição de um alimento depende predominantemente de suas propriedades sensoriais, sendo que uma escala hedônica pode ser utilizada para mensurar a aceitação do consumidor. Nesse tipo de avaliação, podem ser medidos tanto fatores intrínsecos (como o aroma, textura, sabor) quanto fatores extrínsecos (como aparência, cor e até mesmo a embalagem) (HERNANDES et al., 2007).

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar atributos sensoriais, avaliação global, intenção de compra e parâmetros físico-químicos de cenouras minimamente processadas com ou sem cobertura comestível à base de alginato de sódio e à base alginato de sódio mais quitosana, armazenadas a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 22 dias.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Cenoura minimamente processada

Nesse estudo foram utilizadas cenouras (*Daucus carota* L.) do cultivar Verano, oriundas do município de São Gotardo – MG.

A colheita foi realizada no mês de fevereiro de 2016 e as cenouras foram encaminhadas para o Laboratório de Processamento de Alimentos da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília, e mantidas sob refrigeração a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

O processamento mínimo constituiu-se das seguintes etapas: seleção e classificação, lavagem, descascamento, primeira sanificação, enxague, corte, segunda sanificação e drenagem. Os requisitos para seleção e classificação foram a ausência de danos mecânicos e fisiológicos (ALMEIDA et al., 2011), ausência de infecção fúngica e padronização do diâmetro e comprimento das raízes tuberosas.

A lavagem das cenouras foi realizada com detergente neutro e água corrente, seguida de descascamento e sanificação por imersão do vegetal em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 20 minutos. Em seguida, as cenouras foram enxaguadas e fatiadas em cortador elétrico doméstico (Master Pro Fun Kitchen Inox, Fun Kitchen, São José/SC, Brasil) no formato de rodela de aproximadamente 4 mm de espessura e 4 cm de diâmetro, e imersas em solução com hipoclorito de sódio a 50 ppm por 10 minutos (SILVA et al., 2011). Por fim, foram colocadas sobre papéis-toalha absorventes para retirar o excesso de água superficial. Todo o procedimento ocorreu em ambiente higienizado e climatizado em temperatura entre 15 e 20 °C.

4.2.2 Cobertura comestível

Após testes preliminares (**Apêndices A e B**), foram preparadas as soluções contendo os dois polissacarídeos, alginato de sódio (Dinâmica®, Diadema, Brasil) e quitosana com grau de desacetilação de 87,7% (Polymar, Fortaleza, Brasil), glicerol (Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil), surfactante Tween 80 (Cooperativa Agroindustrial Alegrete, Brasil) e óleo de girassol (Cargill Agrícola S.A, Brasil). As proporções de cada componente estão descritas nas Tabelas 15 e 16.

As soluções à base de alginato de sódio e quitosana, preparadas separadamente, com o dobro da concentração final planejada para cada substância e alíquotas iguais de cada uma das soluções foi misturada no agitador mecânico (MA 259, MARCONI, Piracicaba, Brasil) na velocidade de 2400 rpm por 5 minutos, seguindo-se o ajuste do pH com ácido acético 30%.

Tabela 15 – Formulação da cobertura comestível aplicada no tratamento T1.

INGREDIENTES	Quantidade (g/100 g)
Alginato de sódio	1,5
Glicerol	0,75
Tween 80	0,05
Óleo de girassol	0,04

Tabela 16 – Formulação da cobertura comestível aplicada no tratamento T2.

INGREDIENTES	Quantidade (g/100 g)
Alginato de sódio	1,5
Quitosana	0,75
Glicerol	0,75
Tween 80	0,05
Óleo de girassol	0,04

Para tanto, o alginato de sódio foi previamente dissolvido em água aquecida a 70 °C e levado para o agitador mecânico a 2400 rpm por 5 minutos até sua completa dissolução. Foi adicionado glicerol, óleo de girassol e tween 80, homogeneizando-se novamente no agitador mecânico por 3 minutos até a sua total dissolução.

A solução de quitosana foi agitada vigorosamente em liquidificador doméstico (Arno), por aproximadamente 20 minutos e acidificada com ácido acético 30% m/v, também sob agitação, até pH 4,0 - 4,5 (DEVLIEGHERE; VERMEULEN; DEBEVERE, 2004). A quitosana é considerada solúvel em pH inferior a 6,5, formando soluções viscosas, sendo que, dentre os ácidos orgânicos, o acético e o fórmico são os mais utilizados para sua solubilização (DAMIAN et al., 2005).

Na preparação das coberturas com a mistura das soluções de alginato de sódio e quitosana, o pH da solução alcançou valores próximos a 7. Entretanto, a ação antimicrobiana da quitosana requer que o pH não esteja próximo da neutralidade. Além disso, para efeito de comparação com coberturas similares que tiveram a adição de micro-organismos probióticos (Capítulo 3), o pH foi padronizado em 5,5 com adição do ácido acético 30%. No decorrer do desenvolvimento utilizaram-se materiais esterilizados e ambiente controlado, para evitar contaminação externa.

4.2.3 Aplicação do revestimento e armazenamento da cenoura minimamente processada

Os revestimentos comestíveis foram aplicados nas cenouras em rodela através da técnica *dipping* (COSTA et al., 2012), ou seja, imersão do alimento nas soluções preparadas à base de alginato de sódio, ou a base de quitosana e alginato de sódio por 2 minutos, seguido de imersão em solução de cloreto de cálcio por 1 minuto. Posteriormente, foram acondicionadas em embalagem de poliestireno expandido forrado com folha de acetato, armazenadas à temperatura de 8 °C ± 2 °C por 12 horas para que ocorresse secagem parcial da cobertura comestível. Após a desidratação sob refrigeração, por aproximadamente 12 horas, as embalagens foram seladas com filme de Policloreto de Vinila (PVC) esticável de 20µm e

armazenadas na mesma temperatura pelo período de 22 dias. Cenouras minimamente processadas sem cobertura foram armazenadas nas mesmas condições descritas e usadas como controle amostral. A Figura 13 e 14 demonstra como foram divididos os tratamentos.

Figura 13 - Fluxograma do processamento mínimo das cenouras, e obtenção do tratamento controle (C).

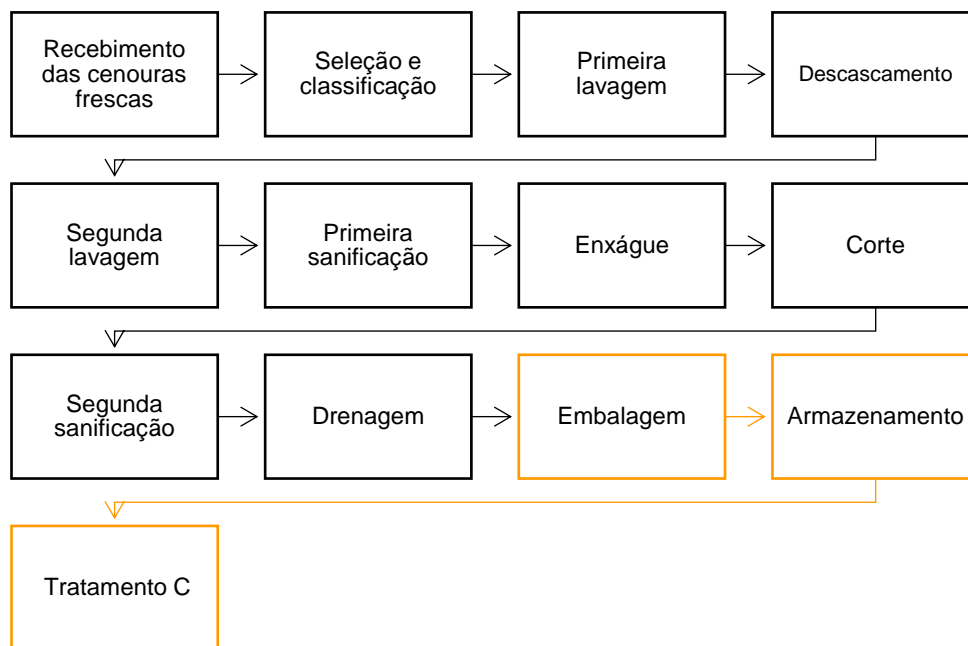
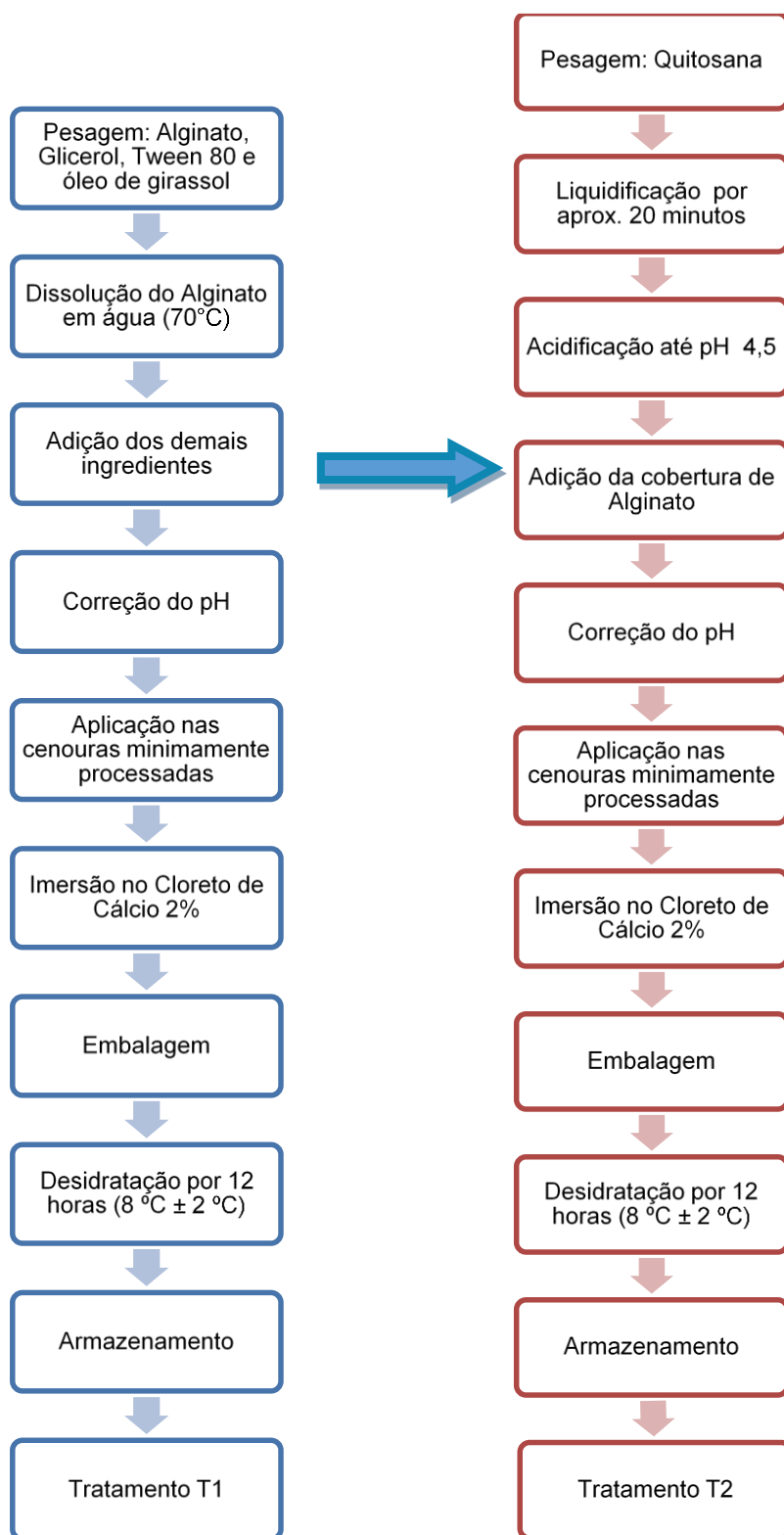


Figura 14 - Fluxograma do desenvolvimento e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas, obtenção dos tratamentos T1 e T2.



4.2.4 Análises físico-químicas

As análises de perda de massa, umidade e firmeza foram realizadas no Laboratório de físico-química da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília, e a taxa de respiração (O₂/CO₂) no Laboratório de Engenharia de Processos da Universidade Estadual Paulista (UNESP/IBILCE) – *Campus* de São José do Rio Preto/SP nos dias 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, exceto a umidade, firmeza e taxa de respiração, as quais foram realizadas nos dias 1, 8, 15 e 22. As análises foram realizadas em triplicata, sendo que para umidade foram utilizadas amostras de 5 bandejas para cada dia. Todas as análises iniciaram-se no dia 1, devido à desidratação parcial da cobertura em refrigeração por 12 horas, que é feita de um dia para outro, após as imersões nas coberturas comestíveis.

4.2.4.1 Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, pesando-se em balança analítica (Gehaka AG 200, São Paulo/SP, Brazil) 2 gramas de amostra triturada em mixer doméstico, em pesa-filtros de vidro com tampa esmerilhada, e secando-se em estufa a vácuo (MARCONI 033, Piracicaba/SP, Brasil) a 70 °C, até obtenção de peso constante. A análise foi realizada seguindo metodologia descrita na norma da AOAC (2005) n° 920.151.

4.2.4.2 Perda de massa

No processo de respiração, o vegetal produz energia, CO₂ e água. Entretanto, a água produzida permanece dentro do tecido enquanto que o CO₂ escapa. A perda, em massa, é resultado do balanço de massa entre a entrada de O₂ e a liberação de CO₂ (BEN-YEHOSHUA; RODOV, 2003). Portanto, a perda pela respiração deve-se aos átomos de carbono perdidos para atmosfera toda vez que uma molécula de CO₂ é produzida (CARON; JACOMINO; KLUGE, 2003; TRIGO, 2010). A geração de calor interna ao tecido vegetal pode levar a uma perda de peso adicional, uma vez que parte de sua dissipação pode ocorrer através da evaporação da água (BEN-YEHOSHUA; RODOV, 2003). A porcentagem de perda de massa, devido à respiração e transpiração, foi calculada de acordo com a Eq. (12):

$$\Delta M = \left(\frac{M_f}{M_i} - 1 \right) \times 100 \quad (12)$$

onde ΔM representa a variação de massa em relação à massa inicial, dada em porcentagem, M_f é a massa após um tempo de armazenamento t e M_i é a massa no instante inicial em que a embalagem é fechada.

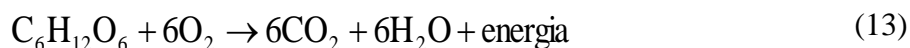
As amostras foram pesadas em balança semi-analítica (Marte AS 510, Santa Rita do Sapucaí/MG, Brasil), sendo que o valor da massa inicial foi sempre o do 1º dia de armazenamento.

4.2.4.3 Firmeza

Foi determinada diretamente no texturômetro *Universal Testing Machine*, modelo TA.XT.plus (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra), a firmeza das rodela de cenouras com e sem cobertura, expressa em Newton (N), através do teste de resistência a punção. A análise foi baseada na metodologia para “Grape Penetration”, com adaptações, do banco de dados do equipamento. Três rodela de cada tratamento foram utilizadas, posicionando-as individualmente sobre uma superfície lisa, sendo feitas 3 compressões em pontos distintos de cada rodela, distribuídos uniformemente, pelo probe modelo P/2 de 2,0 mm de diâmetro com velocidade pré-teste de 1,0 mm/s; velocidade do teste de 2,0 mm/s; velocidade pós-teste de 2,0 mm/s, posicionado a uma distância de 30 mm da amostra. Os resultados foram expressos pelo valor médio dos picos de força de 3 amostras distintas, em gramas e convertidos em N.

4.2.4.4 Taxa Respiratória

A respiração vegetal, do ponto de vista químico, pode ser expressa como a oxidação de substratos orgânicos como açúcares, amido e ácidos orgânicos. A respiração aeróbia envolve reações complexas catalisadas por enzimas específicas e interconectadas através de percursos metabólicos (KADER; SALTVEIT, 2003). Entretanto, essas reações podem ser representadas de maneira simplificada e geral pela Eq. (13) (YAM; LEE, 1995):



Para determinação da taxa respiratória das cenouras minimamente processadas com e sem coberturas comestíveis, aproximadamente 35 g de amostra foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido (160 mm × 110 mm × 30 mm) cobertas com filme de Policloreto de Vinila (WYDA, Sorocaba/SP, Brasil), de gramatura 8,71 g/m², 20 µm espessura e área de permeação de 1,5 dm², armazenadas à temperatura de 8 °C ± 2 °C, por 22 dias. O

método para determinação da taxa respiratória consistiu na adesão do septo de silicone ao centro da parte inferior da bandeja, onde frações molares de O₂ e CO₂ foram medidas com auxílio de uma agulha acoplada ao equipamento O₂/CO₂ Process Analyzer modelo PA 7.0 (Witt-Gasetechnik, Witten, Alemanha), cujo sensor de O₂ é eletroquímico e o de CO₂ é infravermelho, isto é, o sensor detecta a concentração devido à capacidade do gás de absorver radiação infravermelha. O aparelho foi devidamente calibrado antes das medições e as análises foram feitas em triplicata, sendo que as amostras perfuradas não foram aproveitadas para os ensaios seguintes.

Esta análise mede a porcentagem de CO₂ produzido e o O₂ consumido das cenouras minimamente processadas com e sem revestimento, dentro da embalagem de armazenamento, sendo esses resultados inseridos nas equações 14 e 15 para determinar a taxa de respiração, calculada como mol de oxigênio consumido (TR_{O_2}) ou gás carbônico produzido (TR_{CO_2}) dia⁻¹. g⁻¹ de amostra.

$$TR_{O_2} = \frac{V \cdot \frac{(20.8 - \%O_2)}{100} \cdot P}{t \cdot m \cdot R \cdot T} \quad (14)$$

$$TR_{CO_2} = \frac{V \cdot \frac{\%CO_2}{100} \cdot P}{t \cdot m \cdot R \cdot T} \quad (15)$$

onde V representa o volume do espaço-livre da embalagem (dm³), % O₂ e % CO₂ as porcentagens molares dos gases no espaço-livre no tempo t (h), m é a massa da amostra (g), R constante universal dos gases (82,05 cm³. atm. K⁻¹. mol⁻¹), P é a pressão (atm) e T a temperatura absoluta (283,15K).

4.2.5 Análise Sensorial

Para verificar a vida de prateleira das cenouras em rodela com e sem cobertura comestível, foi aplicado nos dias 1, 7 e 14 o método afetivo de aceitação do produto. Foram apresentados aos provadores, pratos brancos descartáveis codificados aleatoriamente (com três dígitos), sendo que as amostras (C, T1 e T2) foram apresentadas uma a uma, com uma rodela de cenoura em cada prato. Junto com a amostra foi recomendado ao julgador ingerir água entre as amostras para limpeza do palato, servida em copos plásticos descartáveis (capacidade de 200 mL) à temperatura ambiente. As amostras foram apresentadas aos provadores de forma monádica, em blocos completos, e todas as amostras estavam à temperatura de refrigeração.

Antes da análise sensorial foi aplicada uma avaliação (Figura 15), com 55 pessoas, para verificar se poderiam e tinham interesse em participar da análise sensorial, após a seleção foram convocados os futuros julgadores para os três dias.

Foi solicitado aos julgadores que avaliassem cada amostra de cenoura, conforme a ficha sensorial (Figura 16), de acordo com a escala hedônica estruturada de nove pontos, o quanto gostou ou desgostou da amostra, cujos extremos correspondem a “desgostei extremamente” (1) e “gostei extremamente” (9), conforme sua aparência, aroma, textura, cor, sabor e avaliação global. Os produtos foram considerados aceitáveis quando 50% da média das notas dos provadores foi maior ou igual a 6,0 (CONTI-SILVA; SILVA; AREAS, 2011). Nesta mesma ficha sensorial foi exposta uma avaliação, utilizando comentários sobre o que mais e menos gostou da amostra, uma pergunta se o julgador constatou cor artificial na amostra e finalmente a avaliação com a escala de intenção de compra, variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria”.

Figura 15 - Ficha para seleção dos julgadores

Nome: _____	Termo: _____	Periodo: _____	Idade: _____
Você gosta de cenoura <i>in natura</i> ? () Sim () Não			
Você tem por hábito consumir a cenoura <i>in natura</i> ? () Sim () Não			
Qual a frequência do consumo? () 1x por mês () 2 a 3 vezes por mês () mais de 3x por mês			
Tem alergia a camarão? Ou qualquer outro fruto do mar? () Sim () Não			
Aceitaria fazer análise sensorial da cenoura <i>in natura</i> ? () Sim () Não			

Figura 16 - Ficha da Análise sensorial para avaliação das amostras com (T1 e T2) e sem coberturas (C).

Nome: _____ Idade: _____
 Sexo: _____

1) Por favor, avalie esta amostra de cenoura minimamente processada, utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo (descrito no quadro) do produto.

9 – gostei extremamente
 8 – gostei muito
 7 – gostei moderadamente
 6 – gostei ligeiramente
 5 – nem gostei nem desgostei
 4 – desgostei ligeiramente
 3 – desgostei moderadamente
 2 – desgostei muito
 1 – desgostei extremamente

N° amostra: _____	
Item	Código
Aparência	
Cor (esbranquiçada)	
Sabor	
Aroma	
Textura	
Avaliação Global	

2) A cenoura tem uma aparência artificial? () Sim () Não

3) Descreva o que você mais gostou e menos gostou nesta amostra.
 + gostei _____
 - gostei _____

4) Assinale com um X, na letra que corresponde a sua atitude de compra:
 (a) Eu certamente compraria esta amostra (b) Eu provavelmente compraria esta amostra
 (c) Tenho dúvidas se compraria ou não esta amostra (d) Eu provavelmente não compraria esta amostra.
 (e) Eu certamente não compraria esta amostra.

Comentários:

4.2.6 Parâmetros cinéticos e Análise estatística

As reduções de massa ao longo do armazenamento foram descritas através de modelo cinético de reação de ordem zero, de acordo com a seguinte equação:

$$y = -kt + y_0 \quad (16)$$

onde a variável y representa a grandeza que varia em função do tempo de armazenamento, t é o tempo de armazenamento (dias) e k é a constante de velocidade de reação de ordem zero e o subscrito 0 significa condição inicial.

Os ajustes das equações foram realizados por regressão linear e avaliados através do coeficiente de determinação (R^2).

Para avaliar a significância das medidas experimentais, as amostragens foram feitas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) completada com o teste de Tukey através do programa BIOESTAT (AYRES et al., 2007; BUSSAB; MORETTIN, 2011). Os resultados foram considerados significativos para p-valor < 5%.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análises físico-químicas

4.3.1.1 Umidade, Perda de Massa e Firmeza

As amostras com coberturas comestíveis apresentaram as menores reduções na umidade durante todo o período de estocagem (Tabela 17). A amostra controle teve uma diminuição de 3,7% de umidade e as amostras T1 e T2, 1,8% e 1,2%, respectivamente.

Tabela 17 – Valores médios de umidade (%) de cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1 (M ± DP)	8 (M ± DP)	15 (M ± DP)	22 (M ± DP)
C	90,5 ± 0,001	90,0 ± 0,002	88,6 ± 0,003	87,2 ± 0,001
	Da	Ca	Ba	Aa
T1	91,2 ± 0,001	91,3 ± 0,006	90,6 ± 0,001	89,6 ± 0,006
	ABb	Bb	Ac	Ab
T2	90,3 ± 0,002	89,8 ± 0,004	89,8 ± 0,001	89,2 ± 0,005
	Ba	ABa	ABb	Ab

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

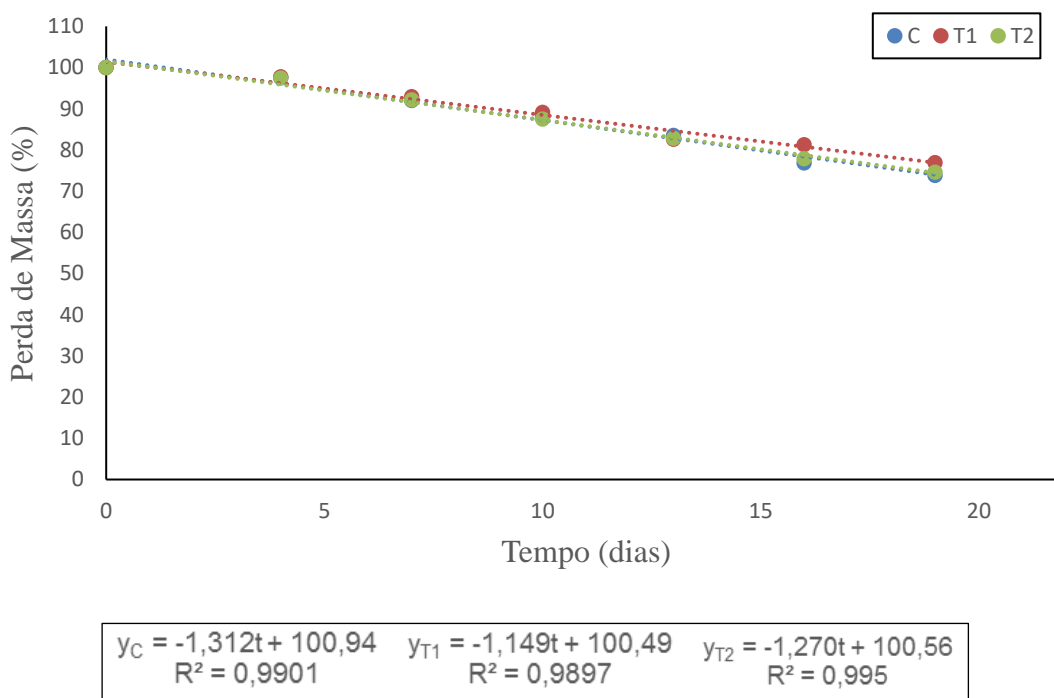
Além da diminuição da umidade, durante o armazenamento, houve a perda de massa fresca (Tabela 18 e Figura 17) para todas as amostras.

Tabela 18 – Valores médios da perda de massa fresca (%) calculadas de acordo com a Eq. (12) para cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trat.	Armazenamento (dias)					
	4 (M ± DP)	7 (M ± DP)	10 (M ± DP)	13 (M ± DP)	16 (M ± DP)	19 (M ± DP)
C	2,36 ± 1,66	7,96 ± 0,89	11,78 ± 0,46	16,47 ± 0,87	23,18 ± 5,21	26,19 ± 2,04
T1	2,22 ± 0,17	7,05 ± 1,15	10,89 ± 1,68	17,38 ± 5,88	18,68 ± 3,02	23,05 ± 3,41
T2	2,55 ± 0,50	7,87 ± 1,46	12,47 ± 1,44	17,16 ± 1,03	22,11 ± 1,68	25,39 ± 2,55

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Figura 17: Perda da massa fresca (%) observada (pontos) e calculada (linhas) de acordo com a Eq. (16) para cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 19 dias de armazenamento a $8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e respectivos ajustes lineares.



Houve a diminuição das massas frescas das três amostras durante os 19 dias de armazenamento, porém no último dia de análise apresentaram perdas de massa superiores às encontradas no Capítulo 2 (média da perda de massa fresca das três amostras, 12%) e no Capítulo 3 (16%, aproximadamente). Uma das causas que explicaria esses distintos resultados entre os Capítulos seria a época de obtenção da matéria prima, cujos fatores climáticos durante o desenvolvimento da cenoura no plantio e na época de colheita poderiam influenciar a composição da cenoura e a difusividade da água durante o armazenamento e o cultivar (Planalto e Verano).

Na Figura 17 comprova-se pelo valor das taxas de reação, que a maior perda de massa fresca ocorreu com a amostra controle ($1,3124\text{ s}^{-1}$), seguida da amostra com cobertura de alginato e quitosana ($1,2702\text{ s}^{-1}$) e, por fim, da amostra apenas com quitosana ($1,1487\text{ s}^{-1}$), sendo que o modelo cinético que melhor se ajustou aos resultados foi o de ordem zero.

A perda de massa é um dos principais fatores na vida de armazenamento de muitos produtos hortícolas. Ela ocorre em razão do tempo de armazenamento e da transpiração. Essa perda tem efeitos marcantes sobre a fisiologia dos tecidos vegetais e, em alguns casos, antecipa a maturação e a senescência de alguns frutos. A perda da umidade está relacionada a perdas quantitativas, na aparência (murchamento e enrugamento), nas qualidades texturais (amaciamento, perda de frescor e suculência) e na qualidade nutricional (GROPPO, 2007).

A textura é um dos atributos de qualidade mais importante em vegetais e tem grande influência na aceitação por parte do consumidor (OLIVAS; BARBOSA CÁNOVAS, 2005), sendo que suas propriedades mecânicas são determinadas pela composição da parede celular, turgor e anatomia das células, pelo teor de umidade, estágio de maturação, variedade e, também, condições de processo (CHIUMARELLI, 2011)

A perda de umidade e a massa fresca demonstraram relação com a medida da firmeza das três amostras (Tabela 19).

Tabela 19 – Valores médios da Firmeza (N) de cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1 (M \pm DP)	8 (M \pm DP)	15 (M \pm DP)	22 (M \pm DP)
C	11,30 \pm 0,30	11,23 \pm 0,66	12,30 \pm 0,41	12,63 \pm 0,57
T1	11,53 \pm 0,40	12,79 \pm 0,41	14,01 \pm 0,57	12,18 \pm 1,45
T2	11,53 \pm 1,41	11,54 \pm 0,29	13,08 \pm 0,97	12,19 \pm 0,57

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Ao longo dos 22 dias de armazenamento, as amostras apresentaram pequenas oscilações nos valores, porém com leve tendência ao aumento da firmeza, associado a perda de água das amostras. Entretanto, a análise de firmeza não foi capaz de diferenciar amostras murchas de amostras crocantes.

As amostras controle, que perderam mais massa, tornaram-se murchas e compactas, o que não ocorreu com as amostras com coberturas. Este fato fez com que, na análise de punção das amostras controle, o probe do penetrômetro necessitou de maior força para romper seu tecido, situação também reportada por Brackmann e Saquet (1995), que estudaram três

cultivares de caqui (Taubaté, Baurú e Fuyu), em temperaturas de armazenamento de +0,5 °C e -0,5 °C, e em condições de atmosfera normal e controlada. A cultivar Taubaté, após os 85 dias de armazenamento, em atmosfera normal, independente da temperatura, apresentou elevada firmeza da polpa devido ao murchamento, conferindo assim uma maior resistência à penetração da ponteira do penetrômetro.

Já para Bierhals (2010), as forças máximas de penetração (N) no abacaxi em rodela, sem revestimento e revestidos com fécula de mandioca (1, 2 e 3%) ou alginato de sódio (1 e 2%) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), ao longo dos 7 dias de armazenamento à 5 °C. Demonstrando que as coberturas de fécula de mandioca e alginato de sódio não alteraram a característica natural do produto.

4.3.1.2 Taxa Respiratória

A taxa de respiração representada pelo consumo de O_2 (TR_{O_2}) e pela produção de CO_2 (TR_{CO_2}) em função dos dias de armazenamento, de acordo com as equações 8 e 9, sem considerar a permeabilidade da embalagem a esses gases está apresentada na Tabela 20, em função do tempo de armazenamento.

Tabela 20 - Taxa de respiração representada pelo consumo de O_2 (TR_{O_2}) e pela produção de CO_2 (TR_{CO_2}) das cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, sem considerar a permeabilidade da embalagem (PVC esticável $20\text{ }\mu\text{m}$).

Dias	$TR_{O_2} \times 10^6$ (mol dia ⁻¹ g ⁻¹)					
	Controle		T1		T2	
	média	DP	média	DP	média	DP
1	6,44	2,43	7,83	4,08	6,92	1,14
8	0,28	0,11	1,87	0,88	1,06	0,14
15	0,19	0,02	0,34	0,11	0,27	0,05
22	0,11	0,03	0,21	0,05	0,17	0,04

Dias	$TR_{CO_2} \times 10^6$ (mol dia ⁻¹ g ⁻¹)					
	Controle		T1		T2	
	média	DP	média	DP	média	DP
1	2,79	0,37	4,83	0,97	4,61	1,65
8	0,12	0,04	0,52	0,24	0,60	0,07
15	0,08	0,01	0,20	0,06	0,16	0,01
22	0,03	0,02	0,12	0,04	0,07	0,01

DP = desvio padrão

Para considerar a permeabilidade da embalagem, utilizaram-se dados de taxas de permeabilidade ao oxigênio e ao gás carbônico, de filme de PVC esticável de $20\text{ }\mu\text{m}$, determinadas por Sarantópoulos et al. (2003) a $25\text{ }^\circ\text{C}$ e 1 atm , de $5140\text{ cm}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $28466\text{ cm}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$, respectivamente. Com esses valores, calcularam-se as quantidades de O_2 e de CO_2 que permeariam a embalagem em função do gradiente de concentração do gás através da embalagem, isto é, entre o exterior e interior da embalagem, para cada período de armazenamento. A quantidade de O_2 consumida ou a quantidade de CO_2 produzida foi, então, somada à quantidade da mesma substância transferida através do filme, para resultar naquela que seria a taxa real de respiração do vegetal (Tabela 21).

Tabela 21 - Taxa de respiração representada pelo consumo de O_2 (TR_{O_2}) e pela produção de CO_2 (TR_{CO_2}) das cenouras minimamente processadas com cobertura comestível à base de alginato de sódio e quitosana (T2), com cobertura comestível à base de alginato de sódio (T1) e sem cobertura comestível (C) durante 22 dias de armazenamento a $8\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, considerando a permeabilidade da embalagem (PVC esticável $20\text{ }\mu\text{m}$)

Dias	$TR_{O_2} \times 10^6$ (mol dia ⁻¹ g ⁻¹)					
	Controle		T1		T2	
	média	DP	média	DP	média	DP
1	8,16	2,43	9,55	4,08	8,64	1,14
8	1,02	0,11	2,61	0,88	1,80	0,14
15	0,57	0,02	0,72	0,11	0,66	0,05
22	0,59	0,03	0,68	0,05	0,65	0,04

Dias	$TR_{CO_2} \times 10^6$ (mol dia ⁻¹ g ⁻¹)					
	Controle		T1		T2	
	média	DP	média	DP	média	DP
1	6,57	0,37	8,61	0,97	8,40	1,65
8	1,74	0,04	2,14	0,24	2,22	0,07
15	0,91	0,01	1,03	0,06	0,99	0,01
22	0,93	0,02	1,01	0,04	0,97	0,01

DP = desvio padrão

Se a variação desses gases ocorrer apenas pela via da respiração, caso haja uma completa oxidação da glucose, espera-se que um mol de oxigênio consumido resulte em um mol de gás carbônico produzido. Entretanto, outros substratos ou mesmo processos fermentativos podem causar um desbalanceamento desses valores (TAPPI et al., 2017). Constata-se na Tabela 20 que a respiração foi mais significativa no primeiro dia de armazenamento, mas que a taxa de produção de gás carbônico foi menor que a de produção de oxigênio. Com 8 ou mais dias de armazenamento, entretanto, as taxas caíram muito nas amostras controle, enquanto que nas demais, uma queda mais notável foi observada a partir de 15 dias de armazenamento. Os baixos valores seriam esperados, uma vez que se trata de uma hortifrútícula não climatérica (LIMA et al., 2003). Por outro lado, ao se introduzir a permeabilidade ao oxigênio e ao gás carbônico do filme de PVC, os valores de respiração aumentaram (Tabela 21). Cabe observar que os desvios padrão são os mesmos da tabela anterior, uma vez que a permeabilidade foi estimada para cada tempo de armazenamento e adicionada, igualmente, a todas as medidas experimentais tomadas naquela condição. Com essa consideração, constata-se que os valores das taxas de consumo de oxigênio e de produção de gás carbônico se mostraram mais semelhantes. De acordo com

Makino (2013), quando a razão entre a taxa de respiração TR_{O_2} e a TR_{CO_2} se encontra entre os valores de 0,7 e 1,3, pode-se considerar que a respiração é aeróbica. Praticamente todos os valores obtidos no presente estudo se distribuíram dentro desse intervalo quando a permeabilidade da embalagem aos gases foi considerada.

O estresse causado no tecido vegetal por operações de processamento, como manuseio, corte e embalagem, entre outros, favorece o aumento da taxa de respiração, o que provavelmente justifica os altos valores do consumo de oxigênio e produção de gás carbônico das amostras no primeiro dia de armazenamento. No entanto, a atividade metabólica e consequentemente a taxa de respiração diminui quando estes produtos são armazenados a baixas temperaturas. A redução da atividade metabólica ocorre gradualmente, pois é necessário um tempo de contato do produto com o ambiente a baixa temperatura (GARCIA et al., 2012). Assim, neste estudo, entre os dias 1 ao 8 constatou-se considerável redução da taxa de respiração daquelas amostras sem revestimento.

Fontes et al. (2008) encontraram que o alginato reduziu a taxa de respiração de maçãs recobertas com alginato em relação ao controle. Porém, as coberturas com fécula de mandioca e dextrina não foram tão eficientes. Os autores atribuíram esse resultado a possíveis microbolhas de ar que possibilitaram trocas gasosas.

Lai, Chen e Lai (2013) estudaram cenouras cortadas em cubos e revestidas em uma solução base de tapioca de amido e goma em pó de hsian-taso, adicionados com óleo de canela 0,1% – 0,3% (v/v) ou com extrato de semente de uva 0,3% – 0,6% (v/v). As amostras revestidas apresentaram maiores taxas de respiração, especialmente as amostras com solução base adicionadas de 0,3% de óleo de canela, seguido pelas amostras revestidas com solução base e extrato de semente de uva e amostras revestidas com amido de tapioca puro, em ordem decrescente. Lai, Chen e Lai (2013) atribuíram esse comportamento a um possível stress adicional devido à adição desses revestimentos. Não se descarta, entretanto, o fato de que as amostras controle, tanto no trabalho de Lai quanto no presente trabalho, foram submetidas às mesmas etapas de processo que as amostras com cobertura comestível. Isso significa que as amostras preparadas igualmente, porém, sem revestimento, ficaram expostas ao ambiente com temperatura controlada durante período de secagem das coberturas depositadas sobre as amostras revestidas. Uma vez que as taxas de respiração são intensas nas primeiras horas após o corte dos vegetais, é possível que a taxa de respiração das amostras controle tenha sido muito mais intensa que a das amostras com cobertura. Portanto, quando todas as amostras foram cobertas pelo filme de PVC esticável, as amostras controle já teriam passado pelo período

inicial de intensa respiração, enquanto que as coberturas, que diminuem o acesso do oxigênio aos tecidos, promoveriam, nas primeiras horas após o corte, um retardamento desse processo.

Simões et al. (2009) investigaram a taxa de respiração de cenouras em palitos revestidas com solução filmogênica contendo quitosana e amido de inhame e posterior secagem com ar forçado a 6 °C por 2,5 h, e cenouras não revestidas e não submetidas à secagem, embaladas em filme de polipropileno orientado OPP 35 µm microperfurados de diferentes permeabilidades, e não embaladas, sendo que todas as amostras foram armazenadas a 4 °C. Os autores relataram que as coberturas induziram uma maior taxa de respiração das amostras que não estavam embaladas ou ainda das amostras embaladas nos filmes menos permeáveis. Entretanto, uma atmosfera modificada favorável à conservação das cenouras foi atingida dentro da embalagem microperfurada de maior permeabilidade, independente das amostras terem cobertura ou não.

Com isso, no presente trabalho, pode-se supor que o filme de PVC esticável utilizado, por possuir alta permeabilidade a gases, após os primeiros dias de armazenamento, teria propiciado certo equilíbrio, juntamente com a redução natural do metabolismo de todas as amostras, criando uma atmosfera levemente modificada nas embalagens.

4.3.2 Seleção dos provadores

Das 55 pessoas que responderam à ficha de seleção (Figura 15), apenas 27 foram convocados a participar nos três dias de avaliação, sendo a maior causa da exclusão a alergia aos frutos do mar, e a ausência de um dia de análise. Os provadores foram discentes da Faculdade de Tecnologia em Alimentos (Fatec/Marília), não treinados, de ambos os sexos.

4.3.3 Atributos, Avaliação global e Intenção de compra.

Durante os 14 dias de armazenamento, os atributos aparência e cor das amostras T1 e T2 obtiveram as melhores notas com relação à amostra C (Tabela 22). É pertinente comentar sobre o sabor adstringente das cenouras minimamente processadas com quitosana na cobertura, pois esta característica foi em parte mascarada, prova disso seriam as notas altas concedidas pelos julgadores para amostra T2, no quesito sabor. Porém, no primeiro dia foi percebido por 18,5% dos julgadores um gosto “amargo e/ou estranho” na amostra T2, salientado no item “o que menos gostou”, no entanto na amostra T1, 11,1% dos julgadores identificaram um “sabor residual”, sendo que esta amostra não continha quitosana.

A adstringência é quimicamente definida como a capacidade de precipitar as proteínas salivares e é frequentemente descrita como secura, enrugamento e aspereza gerada na boca, portanto ela é tangível e não um estímulo gustativo (BRESLIN et al., 1993). A adstringência

está ligada aos polifenóis (taninos), sendo que a quitosana apresenta as mesmas características quando dissolvida em meio ácido, o que pode limitar a sua utilização para o consumo. A adstringência surge quando as proteínas salivares são precipitadas sob a forma de um complexo proteína-adstringente, e o efeito lubrificante da boca é perdido (RODRIGUEZ et al., 2003).

Devlieghere, Vermeulen e Debevere (2004) investigaram os efeitos de revestimentos de quitosana em frutas e hortaliças minimamente processadas (morango e alface), durante o armazenamento. Na análise sensorial os julgadores perceberam logo no primeiro dia um leve gosto amargo no morango e alface.

Tabela 22 - Notas (média e desvio padrão) de aceitação dos provadores quanto à aparência, cor, sabor, aroma, textura e avaliação global dos dois tratamentos e da amostra controle.

Atributo	Dia	Tratamentos		
		C	T1	T2
Aparência	1	5,2(2,0) ^{ABa}	7,6(1,5) ^{Bb}	7,6(1,2) ^{Bb}
	7	4,6(1,9) ^{Aa}	7,9(0,8) ^{Bb}	7,3(1,3) ^{Bb}
	14	4,3(1,8) ^{Aa}	6,5(1,9) ^{Ab}	6,9(1,5) ^{ABb}
Cor	1	4,9(1,9) ^{Aa}	7,9(1,3) ^{Bb}	7,8(1,0) ^{Bb}
	7	4,1(1,9) ^{Aa}	7,7(1,0) ^{Bb}	7,3(1,5) ^{Bb}
	14	4,0(1,9) ^{Aa}	6,3(1,9) ^{Ab}	6,6(1,6) ^{Ab}
Sabor	1	7,3(1,1) ^{Ba}	7,4(1,2) ^{Ba}	6,7(1,5) ^{Aa}
	7	6,5(1,6) ^{ABa}	6,7(1,5) ^{Aa}	7,3(1,2) ^{Ba}
	14	6,4(1,6) ^{Ba}	6,6(1,9) ^{Aa}	6,2(1,8) ^{Aa}
Aroma	1	6,3(1,6) ^{Ba}	6,9(1,5) ^{Aa}	6,7(1,3) ^{Aa}
	7	5,9(1,7) ^{Ba}	6,7(1,6) ^{Aab}	7,0(1,4) ^{ABb}
	14	6,0(1,5) ^{Ba}	6,1(1,9) ^{Aa}	6,1(1,9) ^{Aa}
Textura	1	6,8(2,1) ^{Ba}	7,4(1,5) ^{Ba}	7,4(1,2) ^{Ba}
	7	6,0(1,9) ^{Ba}	7,7(1,1) ^{Bb}	7,5(1,4) ^{Bb}
	14	5,4(1,9) ^{ABa}	6,9(1,6) ^{Ab}	6,5(1,6) ^{Aab}
Avaliação Global	1	6,8(1,2) ^{Ba}	7,7(0,9) ^{Bb}	7,3(0,9) ^{Bab}
	7	5,4(1,7) ^{ABa}	7,4(1,1) ^{Bb}	7,4(1,2) ^{Bb}
	14	5,4(1,9) ^{ABa}	6,9(1,6) ^{Ab}	6,5(1,6) ^{Ab}

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato.

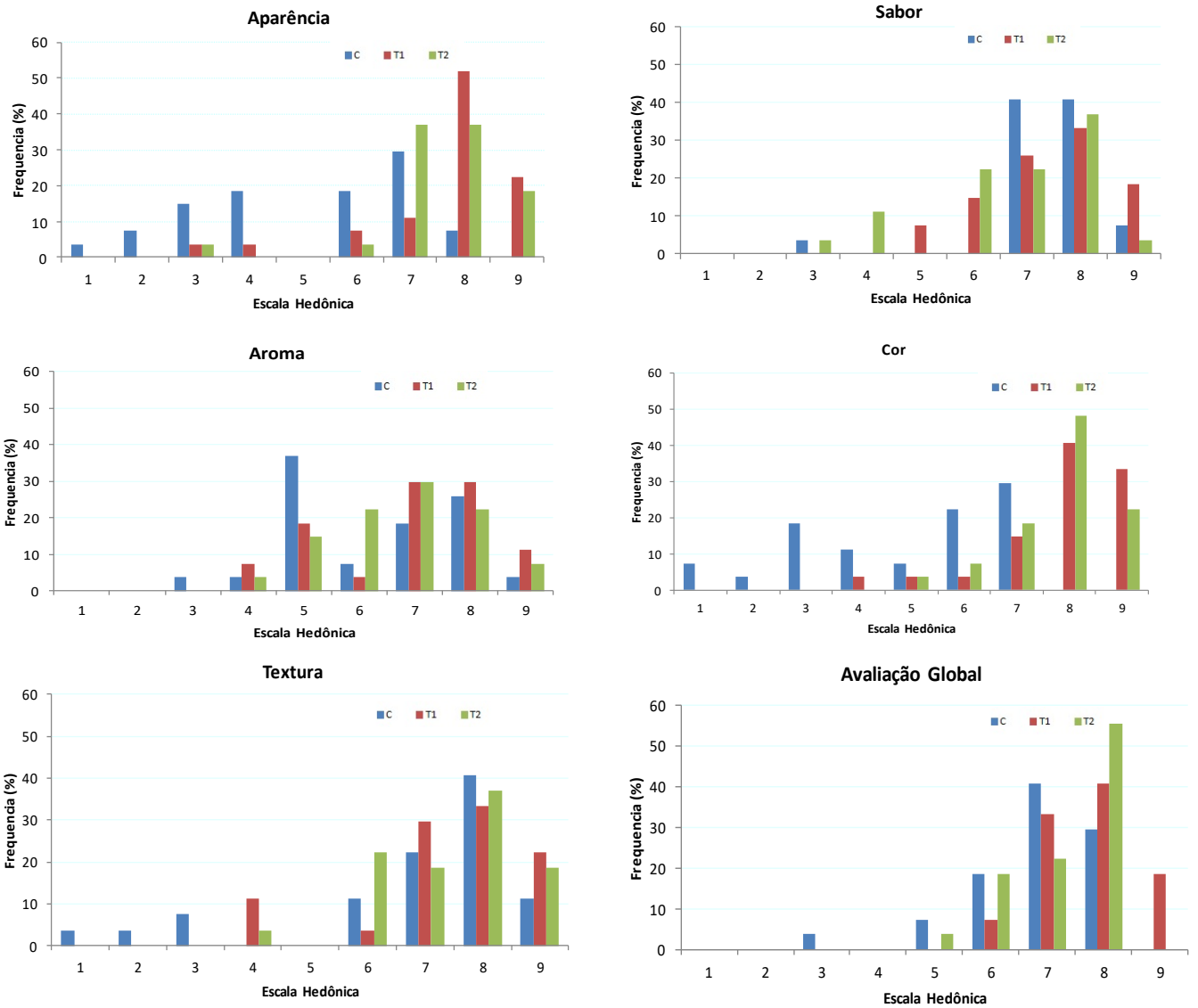
No primeiro dia de avaliação todas as amostras tiveram a frequência de 50% das notas igual ou acima de 6,0, para o atributo cor, sendo os valores de 51,85%, 92,59% e 96,29%, para as amostras C, T1 e T2, respectivamente (Figura 18).

Porém, na Tabela 23 foi constatado que 40,7% dos provadores identificaram o item que menos gostaram para amostra C, que foi a cor esbranquiçada, sendo este problema detectado antecipadamente por Avena-Bustillos et al. (1993), que através da análise sensorial detectaram no terceiro dia o esbranquiçamento de cenouras com e sem revestimento, armazenadas a 10 °C. Pereira, Minim, Chaves (2007) evidenciam que a análise sensorial foi mais sensível e eficiente na detecção do esbranquiçamento superficial das mini-cenouras com ou sem revestimento do que o método instrumental.

Um dos principais problemas tecnológicos enfrentados pela abrasão e corte na superfície dos tecidos das cenouras é a mudança da cor superficial, causando o esbranquiçamento, o qual é atribuído à desidratação da superfície e/ou à ativação do metabolismo fisiológico que leva à síntese de lignina (CISNEROS-ZEVALLOS; SALTVEIT; KROCHTA, 1995; PEREIRA et al., 2008). Segundo os últimos autores, devido à hidrofobicidade da lignina, o processo de lignificação poderia aumentar a refletância da luz, aumentando consequentemente o desenvolvimento da cor branca.

A perda da intensidade da cor laranja da cenoura minimamente processada durante o armazenamento, substituída por uma aparência esbranquiçada, reduz a aceitabilidade do consumidor (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006), pois está associada a atributos de qualidade sensorial, sendo a cor o requisito fundamental para decidir quanto à compra da cenoura minimamente processada, pois o consumidor escolhe o produto com as características mais próximas do produto *in natura*.

Figura 18 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 1º dia de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato.

Tabela 23 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 1º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
	Textura	37	Aparência	40,7
C	Aroma natural	3,7	Aroma	14,81
	Sabor	44,4	Textura	3,7
	Cor	3,7	Cor	40,7
	Aparência	3,7		
T1	Cor	37	Textura	22,2
	Aparência	29,7	Aroma	7,4
	Sabor	22,2	Brilho	11,1
	Textura	7,4	Sabor residual	11,1
	Características Idênticas as da Cenoura natural	3,7	Aparência Plástica	7,4
T2	Cor	29,6	Sabor	18,5
	Textura	22,2	Textura	11,1
	Aparência	26	Sabor estranho ou amargo	18,5
	Brilho	11,1	Aroma	11,1
	Características idênticas a da cenoura natural	3,7	Aparência	18
	Sabor	7,4		

No primeiro dia de avaliação a preferência em relação ao sabor era sobre a amostra controle, enquanto que quanto à aparência, cor e avaliação global, as amostras com revestimento foram preferidas. A textura apresentou melhor preferência na amostra T2 e o aroma só foi citado como preferido para amostra controle.

Na segunda avaliação (sétimo dia) a frequência de notas do atributo aparência da amostra T1 obteve 100% das notas igual ou maior que 6,0, seguido de T2, que obteve 92,59%, e da amostra C, que teve apenas 37,3% de notas acima de 6,0, (Figura 17). Para o atributo cor também ocorreu diferença entre as amostras. Obteve-se mais de 85% de notas acima ou igual à nota 6,0 da escala hedônica para amostras T1 e T2, consideradas aceitas, enquanto que a amostra C obteve baixa frequência de 33,33%, sendo que na Tabela 25 a média das notas para cor ficou abaixo de 5,0, o que também indica pontuação abaixo do limite de aceitação (CAMARGO; HAJ-ISA; QUEIROZ, 2007). A explicação do declínio das notas da amostra controle pode ser percebida na Tabela 24, pois aproximadamente 70% do item ‘o que menos gostou’ foi para a aparência e cor. Lavelli et al. (2006) comentam que no quinto dia de análise

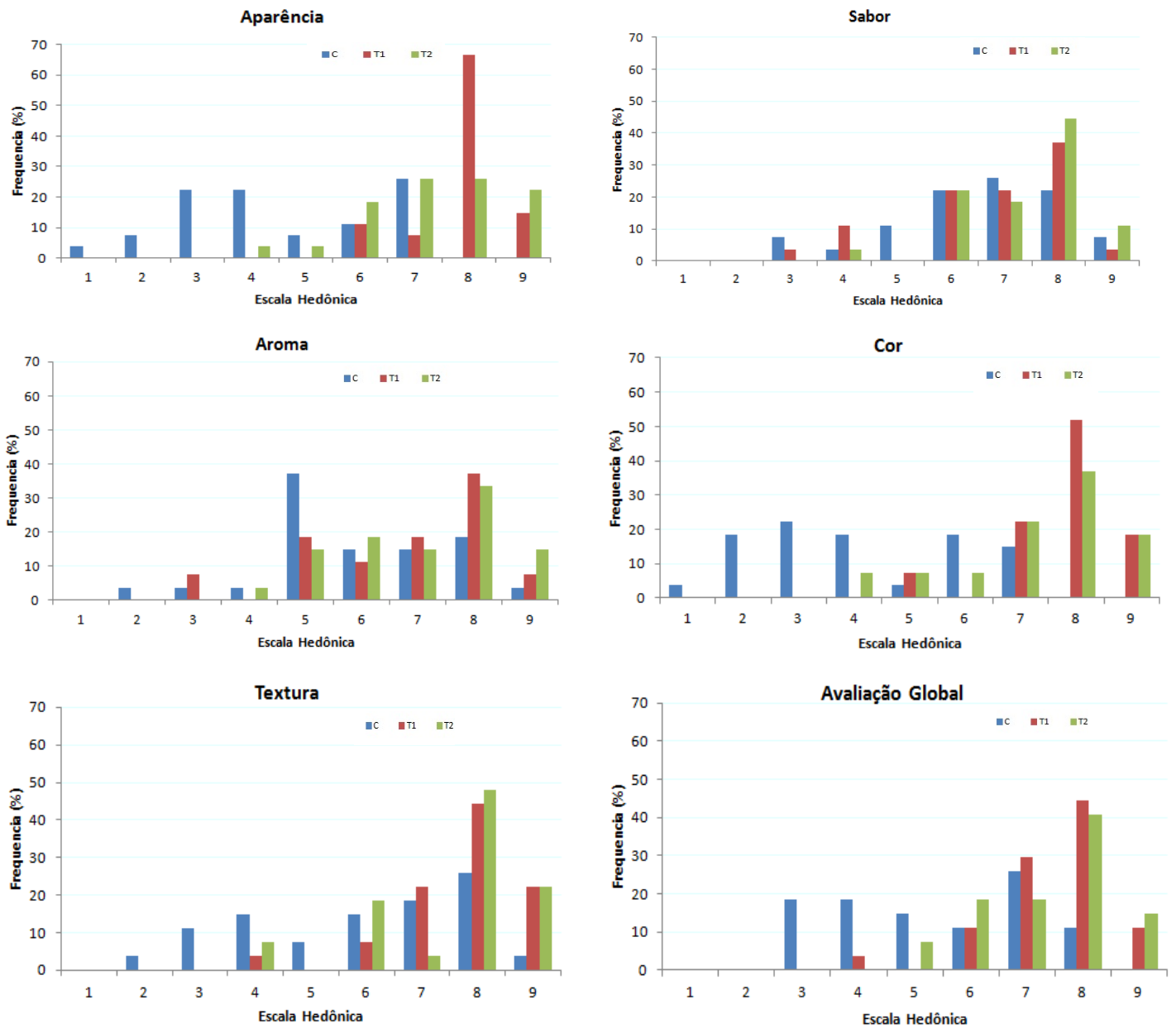
sensorial os provadores treinados detectaram esbranquiçamento nas cenouras minimamente processadas, sem cobertura, cortadas em formatos “julienne” armazenadas a temperatura de 4°C.

A amostra T1, apesar de ter sido avaliada com as notas mais elevadas quanto à aparência (Figura 18 e Figura 20), teve apontado como o que mais desagradou nesse quesito, o aspecto molhado e brilhante (Figura 19a) causado pelo caráter hidrofílico do alginato de sódio, que é capaz de formar soluções bem viscosas. A reticulação da cobertura de alginato de sódio com o cálcio reduz sua permeabilidade ao vapor de água, tornando os filmes de alginato insolúveis (BIERHALS, 2010) e consequentemente, aprisionando a umidade entre a cenoura e a película formada (Figura 19b). Resultados diferentes foram encontrados por Olivas, Mattinson e Barbosa-Cánovas (2007) que revestiram fatias de maçãs com coberturas à base de alginato de sódio e cloreto de cálcio, armazenadas a 5 °C em umidade relativa de 85%, sendo que o produto não apresentou brilho artificial, revitalizando até as características de produto fresco.

Figura 19 - Aspecto molhado e brilhante das amostras indicado pelos provadores (a) e cenoura com a cobertura comestível inchada, devido a retenção de umidade (b), as duas amostras são revestidas com solução à base de alginato.



Figura 20 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 7º dia de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato.

Tabela 24 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 7º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
C	Sabor característico da cenoura natural	33,3	Cor	20,0
	Textura	25,9	Aparência	50,3
	Aparência natural	3,1	Textura	22,2
			Sabor	3,7
			Aroma	3,7
T1	Cor	22,2	Sabor	11,1
	Brilho	7,4	Textura	14,8
	Textura	11,1	Aroma	3,7
	Aparência fresca	33,3	Aparência/molhada ou artificial	14,8
	Sabor	22,2		
T2	Sabor	3,7	Sabor	14,8
	Aparência	14,8	Sabor residual	18,5
	Textura	37	Aparência plastificada ou esbranquiçada	25,9
	Cor	14,8	Aroma	11,1
	Manteve características da cenoura	3,7	Textura	7,4

Na última análise, feita no décimo quarto dia de armazenamento, não houve diferença dos atributos sabor e aroma entre as amostras (Tabela 22). O aroma não apresentou variação significativa na amostra controle durante os 14 dias enquanto que as amostras T1 e T2 tiveram melhores notas no sétimo dia do que no primeiro, voltando a cair no décimo quarto dia. Bierhals (2010) estudou abacaxis em rodela com coberturas à base de fécula de mandioca e lactato de cálcio, sendo que para o atributo aroma não houve diferença significativa nos nove dias de armazenamento, até mesmo para amostra controle. Porém, concluiu que as rodela de abacaxi cobertas apresentaram aroma menos perceptível, provavelmente devido à barreira que a cobertura exerce na liberação do aroma.

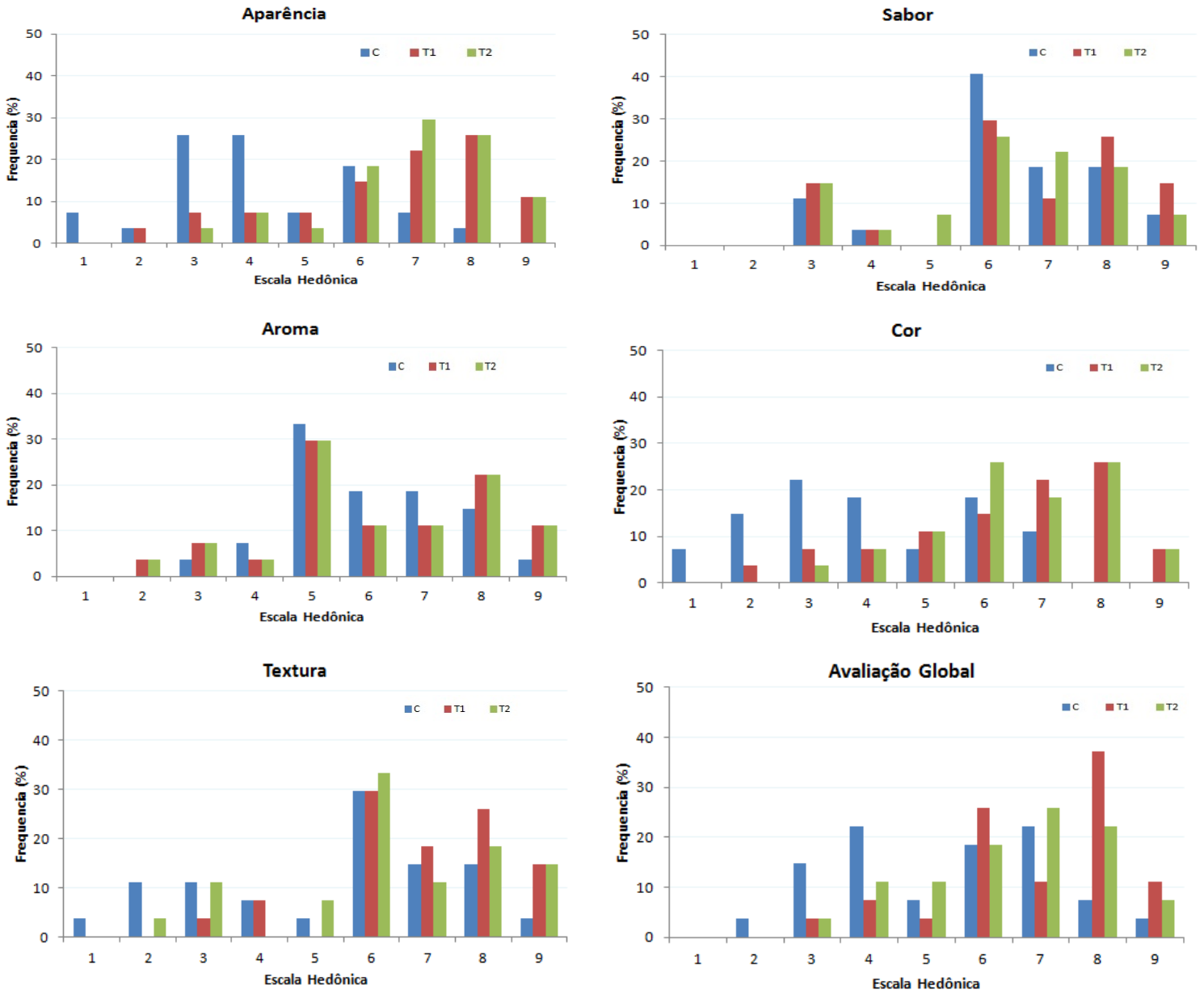
Em relação ao sabor, é importante destacar que, apesar das notas médias terem resultados muito semelhantes após 14 dias de armazenamento, todas elas tiveram média acima de 6,0. Os provadores avaliaram o sabor como o melhor atributo da amostra controle, porém, sua média foi inferior à do tratamento T1. O tratamento T2 recebeu a menor média, sendo que ainda foi percebido gosto residual amargo nessas amostras. Como já comentado, a quitosana pode provocar amargor e adstringência nos produtos revestidos, quando são utilizados ácidos, como acético ou láctico, para atingir pH entre 3,9 a 4,2 para ocorrer sua dissolução, este fato acaba limitando o seu consumo (HAN et al., 2005).

Ainda na Tabela 22, a nota para o atributo textura após 14 dias de armazenamento, foi maior para amostra T1 ($6,9 \pm 1,6$), seguida da amostra T2 ($6,5 \pm 1,6$) e por fim das amostras C ($5,4 \pm 1,9$), que já foram apontadas como ‘murchas’ (Tabela 25). A amostra T1 teve destaque na Tabela 25, no item ‘o que mais gostou, com 46,8% dos provadores apontando sua textura crocante. Em relação à frequência de notas (Figura 21), o atributo textura, obteve mais de 50% das notas acima ou igual à nota 6,0 para todas as amostras com 14 dias de armazenamento, sendo que a amostra T1 obteve a maior frequência (88,88%) e a T2, 77,77%.

Em relação à frequência do atributo aparência (Figura 21) constatou-se que as amostras T1 e T2 obtiveram mais de 74% das notas acima ou igual à nota 6,0 da escala hedônica, enquanto uma frequência baixa, de 29,6%, foi constatada para a amostra C. Comparando-se com as médias reportadas na Tabela 22, no décimo quarto dia de análise, a controle apresentou o valor de $4,3 \pm 1,8$, que já estaria abaixo da pontuação do limite de aceitação, cuja nota diferiu significativamente das médias dos tratamentos T1 e T2, ambas acima de 6,0.

No atributo cor, o comportamento dos provadores foi semelhante ao atributo ‘aparência’. As médias das amostras diferiram entre si, sendo que as amostras T1 e T2 obtiveram médias mais altas que a amostra C (Tabela 22). Na Figura 18, as amostras T1 e T2 obtiveram 70% e 77,8%, respectivamente, de frequência de notas acima ou igual à nota 6,0. A amostra C, por sua vez, obteve uma frequência baixa (29,6%) de notas acima ou igual a 6,0, podendo ser considerada não aceita pelos provadores. Portanto, após 14 dias de armazenamento, a amostra controle não alcançou o limite de pontuação de 5,0 e nem a frequência de notas igual ou maior que 6,0, nos atributos de aparência e cor.

Figura 21 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 14º dia de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura de alginato. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura de quitosana e alginato.

Tabela 25 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura de alginato de sódio (T1) e quitosana (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 14º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
C	Sabor	55,5	Textura murcha	22,2
	Textura	25,9	Aparência	44,4
	Aroma	3,7	Sabor	3,7
			Cor esbranquiçada	25,9
T1	Textura crocante	46,8	Aparência	18,5
	Sabor	18,5	Sabor	14,8
	Aroma	3,7	Aroma	11,1
	Aparência fresca	19,4	Cor esbranquiçada	7,4
	Cor	11,1	Textura	7,4
			Textura da cobertura	7,4
T2	Aparência	37	Textura murcha	18,5
	Sabor	11,1	Sabor estranho ou amargo	22,2
	Textura	18,5	Aroma	18,5
	Aroma	7,4	Cor	3,7
			Aparência	7,4

Uma análise da frequência para os termos mais citados nestes quatorze dias de armazenamento (Tabela 25) comprova que as baixas notas referentes à aparência e cor têm alguma associação com o esbranquiçamento da amostra. O item mais rejeitado da amostra controle foi a aparência (44,4%). Os analistas também apontaram a cor esbranquiçada (25,9%) como fator de rejeição. A aparência da amostra T1 também foi rejeitada por 18,5%, que apontaram esbranquiçamento (7,4%) e textura da cobertura (7,4%), este último provavelmente associado à textura de gel da cobertura de alginato. A amostra T2 teve apenas 7,4% de rejeição quanto à aparência, sem mencionar o esbranquiçamento ou textura da cobertura.

Resende et al. (2004) avaliou as modificações sensoriais em cenoura minimamente processada em dois tipos de cortes durante o armazenamento sob refrigeração a 7°C, por 14 dias. Os autores comentaram que o armazenamento influenciou significativamente a aparência e a cor das cenouras. Ambos os cortes apresentaram redução nos escores para aparência e cor com o decorrer do armazenamento.

O sabor foi o atributo com melhores notas dentro do grupo controle, independente do momento de avaliação (Tabela 22). Isso também pode ser verificado na Tabela 23 e Tabela 25, pois 44,4% e 55,5%, dos avaliadores marcaram o sabor no item “o que mais gostaram”, no

primeiro e no décimo quarto dia, respectivamente. Porém, as notas sofreram redução durante os 14 dias, com nível de significância de 5%.

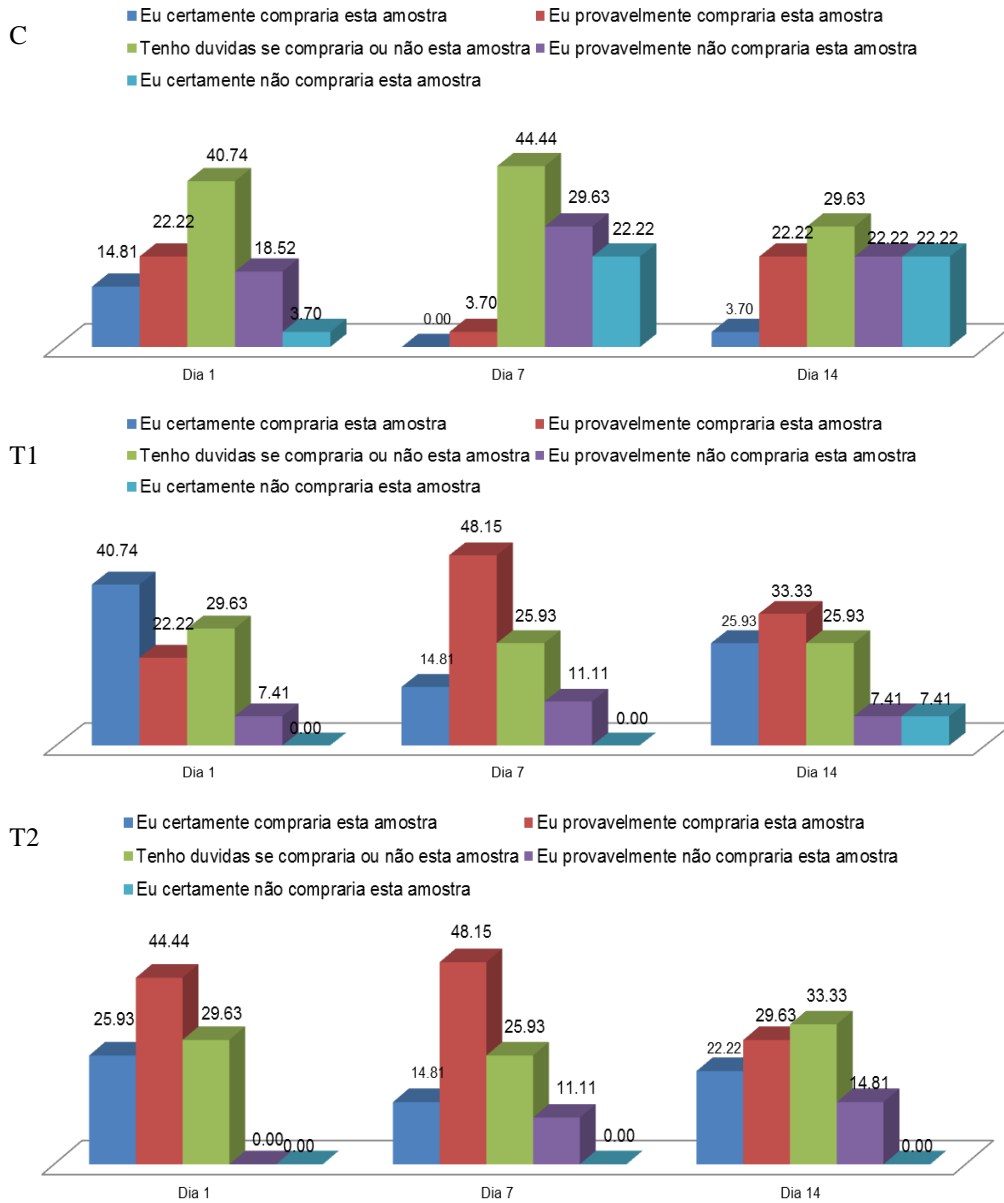
Comparando a amostra T1 com a T2, no quesito textura, a primeira teve uma queda de aproximadamente 7% das notas e a segunda 14%, observando o primeiro e último dia. Supondo-se que a ‘textura murcha’ apontada na amostra T2, ao final de 14 dias de armazenamento, esteja associada a uma maior perda de água, isso poderia estar indicando eficiência inferior da cobertura mista de alginato e quitosana em relação à cobertura somente com alginato. O motivo pode estar associado à heterogeneidade das soluções de quitosana, devido ao seu preparo e dissolução, refletindo-se na sua mistura com alginato de sódio, na qual seria esperada a formação de polieletrólitos complexos devido às interações entre as cargas dos polímeros de quitosana e alginato. Ainda pode-se considerar uma menor gelificação da cobertura a partir da reticulação pelo íon bivalente Ca, em comparação com a cobertura sem quitosana, pois o íon só reticula as moléculas de alginato.

Cabe destacar que foi detectado um esbranquiçamento ou aparência plastificada no sétimo dia de armazenamento das amostras T2, como consta na Tabela 24, no item que os julgadores ‘menos gostaram’, com 25,9% de rejeição para a amostra T2. Porém, este esbranquiçamento pode ainda ser atribuído a grânulos claros da quitosana que não foram totalmente dissolvidos, deixando a cenoura em rodela com leve aspecto de esbranquiçada. A quitosana é um polissacarídeo de complicada dissolução, pois a solubilidade depende do seu grau de desacetilação, massa molar, densidade e processo de fabricação (CASARIEGO et al., 2008).

Por fim, a avaliação global das amostras (Tabela 22) mostrou diferença significativa entre amostras com cobertura e sem cobertura, em 7 e 14 dias de armazenamento, onde as maiores notas foram atribuídas às amostras T1 e T2, sem diferença significativa entre elas.

Na Figura 22 é apresentada a intenção de compra das amostras C, T1 e T2 nos 1º, 7º e 14º dias de avaliação.

Figura 22 – Intenção de compras pelos provadores da cenoura minimamente processada do grupo C, T1 e T2 durante os três momentos de avaliação.



Comprova-se, na Figura 26, a redução das notas da avaliação global da amostra controle, no sétimo e décimo quarto dia de armazenamento. As respostas negativas “provavelmente” e “certamente” não comprariam aproximaram-se de valores 52% e 45%, sendo que no primeiro dia era menos de 23%.

Outro dado interessante é sobre a grande porcentagem de julgadores que tiveram dúvidas de compra da amostra controle no sétimo e décimo quarto dia, podendo estar relacionado às baixas médias das notas da Tabela 22, com relação às outras amostras (T1 e T2).

A amostra T1, nos 3 dias de avaliação, demonstrou alta intenção de compra, sendo que no primeiro e sétimo dia obteve quase 63% de afirmações “provavelmente” e “certamente” comprariam. No último dia de avaliação o valor foi de 59,26%, considerado alto comparado com os 25,92% da amostra controle.

Interessante verificar que nos dias 7 e 14 as intenções de compra de “provavelmente compraria” e “certamente compraria” para amostra T2 foram iguais, demonstrando que a amostra T2, apesar de algumas variações nas notas e frequência dos atributos durante os três momentos, foi a que apresentou maior constância para compra.

Avaliando conjuntamente as três amostras no último dia de armazenamento, com relação à intenção de compra, a amostra C obteve valor mais baixo de 25,92%, a T2 com 51,85% e com maior intenção de compra a amostra T1 com 59,26%.

Finalmente, sobre a última pergunta do questionário (pergunta 2 da Figura 16), se a cenoura tinha aspecto artificial, o retorno foi que a amostra T1 obteve o maior número de “sim”, nos três dias de análises (25,9%, 29,6% e 22,2%, nos dias 1, 7 e 14, respectivamente), seguido da amostra Controle (15,7%, 20,0% e 19,5%), sendo que para a amostra T2, os provadores apontaram menor artificialidade nos três dias de análise (14,8%, 11,1% e 14,8%, nos dias 1, 7 e 14, respectivamente). Portanto, os julgadores consideraram que a amostra T2 tinha um aspecto menos artificial que a amostra controle.

Na cobertura de alginato foi percebido uma textura gelatinosa por alguns provadores (Tabela 23, cobertura plastificada e Tabela 24, molhada e gelatinosa). Isso pode estar relacionado com a quantidade de cobertura aplicada sobre as cenouras, o que depende da viscosidade durante a aplicação, que, por sua vez, é função da concentração e da temperatura da solução. Esse aspecto e, talvez, a sensação de artificial na superfície das cenouras poderia interferir negativamente, o que não foi evidenciado nas coberturas fabricadas com a mistura de alginato e quitosana. Uma possível solução seria aplicar as coberturas numa temperatura mais elevada, de tal forma que tivessem menor viscosidade.

4.4 CONCLUSÃO

Os resultados das análises físico-químicas das cenouras em rodela revestidas, seguiram a tendência dos Capítulos anteriores, apresentando menor perda de umidade, em comparação com as cenouras controle em 22 dias de armazenamento.

As coberturas comestíveis pouco influenciaram na taxa de respiração das cenouras minimamente processadas, ainda que a presença da quitosana nas coberturas tenha correspondido a taxas ligeiramente superiores aos demais tratamentos e que as amostras sem cobertura tenham produzido menos gás carbônico durante o armazenamento. Apesar das causas não terem sido conclusivas, houve indícios de que o filme de PVC esticável teria propiciado uma atmosfera levemente modificada nas embalagens, mantendo baixas taxas durante boa parte do armazenamento, independentemente de haver ou não cobertura comestível nas amostras.

A perda de massa fresca e umidade contribuíram para as baixas notas da amostra controle na avaliação sensorial, que obteve notas médias abaixo de 6,0 no quesito cor e aparência, no sétimo e décimo quarto dia de armazenamento, respectivamente.

Ao final de 14 dias de armazenamento, a amostra com maior intenção de compra foi a que continha apenas alginato (T1), com 59,3%, seguida pela amostra com mistura de alginato e quitosana (T2), com 51,8%, talvez prejudicada pelo sabor adstringente da quitosana. Por outro lado, essa amostra foi avaliada como sendo a que apresentou menos aspecto artificial nos três dias de análise.

Portanto, pode-se afirmar que as coberturas de alginato, com ou sem quitosana, melhoraram a aceitação e intenção de compra e que o produto poderia ser comercializado por um período de, pelo menos, 14 dias, se armazenado em temperatura de $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. I. B.; RIBEIRO, W. S.; COSTA, L. C.; LUCENA, H. H.; BARBOSA, J. A. Análise da Eficiência de Biofilmes e Filme de PVC sobre o aumento da vida útil Pós-Colheita de Cenoura. **Revista Agropecuária Técnica**, Paraíba, v.32, n.1, 2011.

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of A.O.A.C International**, 18 th ed., Arlington, 2005.

AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, United States, v. 36, n. 3, p. 801-805, 1993.

AYRES, M.; AYRES Jr. M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.

BEN-YEHOSHUA, S.; RODOV, V. Transpiration and Water Stress. In BARTZ, J.A., BRECHT, J.K. (2nd Ed.). **Postharvest physiology and pathology of vegetables**, Second edition, New York: Marcel Dekker, 2003.

BIERHALS, V. S. **Estudo de vida útil de abacaxis (*Ananas comosus* L. Merrill cv ‘pérola’) minimamente processados em rodela com coberturas comestíveis**. 2010. 161 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A.A. Efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada sobre a conservação de caqui (*Diospyrus kaki* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, p. 375-378, 1995.

BRESLIN, P. A. S.; GILMORE, M. M.; BEACHAMO, G. K.; GREEN, B. G. Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation. **Chemical Senses**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 405-417, 1993.

BRODY, A. L. Action in active and intelligent packaging. **Food technology**, Chicago, v. 56, n. 2, p. 70-71, 2002.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F. M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, London, v. 42, n. 8, p. 3569-3580, 2001.

BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. **Estatística Básica**. 7. ed., São Paulo: Saraiva, 2011. 540 p.

CAMARGO, G. A.; HAJ-ISA, N.; QUEIROZ, M. R. Avaliação da qualidade de tomate seco em conserva. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.11, n. 5, p.521-526, 2007.

CARON, V. C.; JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A. Conservação de cenouras ‘Brasília’ tratadas com cera. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 597- 600, 2003.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; A.A. VICENTE.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZC, L.; DIAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1452–1459, 2008.

CHIUMARELLI, M. **Aplicação de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca e cera de carnaúba em maçãs minimamente processadas**. 2011. 249 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of Surface White Discoloration of Peeled (Minimally Processed) carrots during Storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, n. 2, p. 320-324. 1995.

CONTI-SILVA, A, C.; SILVA, M. M. P.; AREAS, J, A. G. Sensory acceptability of raw and extruded bovine rumen protein in processed meat products. **Meat Science**, Barking, v.88, p. 652–656. 2011.

COSTA, C.; CONTE, A.; BUONOCORE, G. G.; LAVORGNA, M.; DEL NOBILE, M. A. Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots. **Food Research International**, Barking, v.48, n. 1, p. 164 – 169, 2012.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A. de; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 195-205, 2005.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, London, v.21, n. 6, p. 703 – 714, 2004.

DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildford, v.17, p. 336-341, 2006.

ELSABEE, M.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, Lausanne, v. 33, p. 1819–1841, 2013.

FAKHOURI, F. M. F.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FONTES, L. C. B., SARMENTO, S. B. S., SPOTO, M. H. F., DIAS, C. T. S. Preservation of minimally processed apple using edible coatings. **Food Science and Technology**, London, v. 28, p. 872-880, 2008.

GALGANO, F.; CONDELLI, N.; FAVATI, F.; DI BIANCO, G.; PERRETTI, G.; CARUSO, M.C. Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 27, 2015.

GARCIA, L. C.; PEREIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. **Packaging Technology and Science**, v. 25, p. 413-425, 2012.

GARG, N.; CHUREY, J. J.; SPLITTSTOESSER, D. F. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 53, n. 8, p. 701-703, 1990.

GROPPO, V. D. **Laranja ‘Pêra’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck) minimamente processada: efeito de cloreto de cálcio e película de alginato de sódio na fisiologia e conservação.** 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

HAMMAN, J. H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. **Marine Drugs**, Basel, v. 8, n. 4, p. 1305-1322, 2010.

HAN, C.; LEDERER, C.; MCDANIEL, M.; ZHAO, Y. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan based edible coatings. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 70, n. 3, 2005.

HERNANDES, N. K; CONEGLIAN, R. C. C.; GODOY, R. L. O.; VITAL, H. C.; JUNIOR, M. F. Testes sensoriais de aceitação da beterraba vermelha (*Beta vulgaris*ssp. *vulgaris*L.), cv. Early Wonder, minimamente processada e irradiada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 64-68, 2007.

KADER, A. A.; SALTVEIT, M. E. Respiration and Gas Exchange. In BARTZ, J.A., BRECHT, J.K. (2nd Ed.). **Postharvest physiology and pathology of vegetables**. Second edition. New York: Marcel Dekker, 2003.

LAI, T. Y.; CHEN, C. H.; LAI, L. S. Effects of tapioca starch/decolorizes hsian-tsoa leaf gum-based active coatings on the quality of minimally processed carrots. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 6, p. 249-258, 2013.

LANA, M. M. Aspectos da fisiologia de cenoura minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 154-158, 2000.

LAVELLI, V.; PAGLIARINI, E.; AMBROSOLI, R.; MINATI, J. L.; ZANONI, B. Physicochemical, microbial, and sensory parameter as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 34-40, 2006.

LECETA, I.; MOLINARO, S.; GUERRERO, P.; KERRY, J. P.; CABA, K. Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 100, p. 142–150, 2015.

LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S.; LUCHESE, R. H.; GODOY, R. L. O.; SABAA-SRUR, A. U. O. Minimally processed carrots in modified atmosphere packaging and gama irradiation treatment: microbiological, fisical-chemistry and chemistry evaluation. **Food Science and Technology**, London, v. 23, p. 240-250, 2003.

MAKINO, Y. Review: Oxygen consumption by fruits and vegetables. **Food Science and Technology Research**, Tsukuba, v. 19, n. 4, p. 523-529, 2013.

MENEGUEL, R. F. A.; BENASSI, M. T.; YAMASHITA, F. Revestimento comestível de alginato de sódio para frutos de amora preta (*Rubus ulmifolius*). **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n.3, p. 609-618, 2008.

MORTAZAVIAN, A. M.; EHSANI, M. R.; AZIZI, A.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, S. M.; SOHRABVANDI, S. Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 63, p. 24–29. 2008.

OLIVAS, G. I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 45, n. 7-8, p. 657- 670, 2005.

OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 89 - 96, 2007.

OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 1-2, p. 139-148, 2000.

PEREIRA J. M. A. T. K.; MINIM, V. P. R.; CHAVES, J. B. P. Avaliação sensorial e instrumental do esbranquiçamento superficial de mini-cenoura durante armazenamento. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.3, p. 261-266, 2007.

PEREIRA J. M. A. T. K.; MINIM, V. P. R.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M. C. D.; SOARES, N. F. F.; MORETTI, C. L.; VIEIRA, J. V. Qualidade físico-química de mini-cenouras revestidas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 6, p. 537-542, 2008.

RAMIREZ, M. E.; TIMÓN, M. L.; PETRÓN, M. J.; ANDRÉS, A. I. Effect of chitosan, pectin and sodium caseinate edible coatings on shelf life of fresh-cut *prunus pérsica* var. nectarine. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 39, p. 2687–2697, 2015.

RESENDE, J. M.; COELHO, A. F. S.; CASTRO, E. C.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; NASCIMENTO, T.; BENEDETTI, B. C. Modificações sensoriais em cenoura minimamente processada e armazenada sob refrigeração. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 147-150, 2004.

RODRÍGUEZ, M. S., ALBERTENGO, L. A., VITALE, I., AGULLÓ, E. Relationship between adstringency and chitosan saliva solutions turbidity at different pH. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 68, n. 2, 2003.

ROLLER, S.; COVILL, N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 47, n. 1-2, p. 67-77, 1999.

ROSA, O. O. **Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados**. 2002. 120 f. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; TELES, C. S.; COPPELMANS, S. A. Effects of the package and storage temperatura on the quality of fresh-cut collard greens. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 185-190, jul./dez., 2003.

SILVA, E. de O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, L. T. **Processamento Mínimo de Produtos Hortifrutícolas**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2011.

SIMÕES, A. D. N; TUDELA, J. A.; ALLENDRE, A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M. I. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. **Posthaverst Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 364-370, 2009.

TAPPI, S.; MAURO, M. A.; TYLEWICZ, U.; DELLAROSA, N.; ROSA, M. D.; ROCCULI, P. Effects of calcium lactate and ascorbic acid on osmotic dehydration kinetics and metabolic profile of apples. **Food and Bioproducts processing**, Rugby, v. 103, p. 1-9, 2017.

TRIGO, J. M. **Qualidade de mamão ‘Formosa’ minimamente processado utilizando revestimento comestíveis**. 2010. 102 f. Dissertação (Ciência e tecnologia de alimentos)-Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

VANETTI, M. C. D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: Encontro Nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2. 2000. Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 44-52. 2000.

VÁSCONEZ, M. B.; FLORES, S. K.; CARMEN, A. C.; ALVARADO, J.; GERSCHENSON, L. N. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioc starch based edible films and coatings. **Food Research International**, Barking, v. 42, p. 762-769, 2009.

YAM, K. L; LEE, D. S. Design of modified atmosphere packaging for fresh produce. In ROONEY, M.L. (Ed). **Active Food Packaging**, London: Chapman & Hall. 1995.

CAPÍTULO 5

COBERTURA COMESTÍVEL À BASE DE ALGINATO E ÁGUA DE COCO COMO VEÍCULO DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* LA-3 APLICADA A CENOURA MINIMAMENTE PROCESSADA

RESUMO

Revestimentos comestíveis formulados com compostos nutritivos e bioativos em vegetais minimamente processados podem proporcionar novas funcionalidades e prolongar a vida útil desses produtos, e também pode servir de suporte para micro-organismos probióticos como bactérias ácido-lácticas funcionais. Por décadas, os produtos à base de leite foram os únicos utilizados como matrizes para os probióticos, impedindo seu consumo por indivíduos veganos, intolerantes à lactose e com restrição de colesterol na dieta. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho de uma cobertura comestível à base de alginato de sódio enriquecida com água de coco como carreadora de *Lactobacillus acidophilus* LA3, através da mensuração de sua viabilidade, quando aplicada em rodela de cenoura minimamente processadas. Essa avaliação foi realizada ao longo de seu armazenamento, juntamente com estudos de vida de prateleira e de aceitação sensorial. A cobertura foi composta por alginato de sódio (1,5 g/30 g de água + 70 g de água de coco), glicerol (0,75 g/30 g de água + 70 g de água de coco), óleo de girassol (0,04 g/30 g de água + 70 g de água de coco) e tween 80 (0,05 g/30 g de água + 70 g de água de coco) (T1) e o micro-organismo probiótico foi adicionado na cobertura (T2), sendo ambas comparadas à amostra sem cobertura (C). Os resultados demonstraram uma perda de viabilidade celular bacteriana de 1,83 ciclos logarítmicos da amostra T2, em 21 dias de armazenamento à temperatura de $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, cujo início apresentava $1,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ de células viáveis. A contagem dos micro-organismos contaminantes manteve-se dentro dos padrões exigidos pela legislação. O teste sensorial foi realizado nos dias 1, 7 e 14, utilizando o método afetivo de aceitação, sendo que as amostras com coberturas comestíveis apresentaram, em média, notas de 7,9 para avaliação global e a controle 6,5, no último dia de armazenamento. Um alto índice de respostas positivas sobre a aparência artificial das amostras com cobertura não depreciou a avaliação das mesmas, que receberam as melhores médias das notas em todos os atributos no último dia de análise. Portanto, a presença da cultura probiótica e da água de coco nas coberturas não provocou mudanças significativas na avaliação sensorial e na intenção de compra dos consumidores, o que prova a viabilidade da cobertura como veículo de probióticos em alimentos vegetais.

Palavras-chave: Cobertura comestível, alginato de sódio, viabilidade, *Cocos nucifera* L.

5.1 INTRODUÇÃO

Os desafios de inovação na área alimentícia aumentam com a mudança dos hábitos de compra dos indivíduos, pois se apresentam mais conscientes da relação entre boa alimentação e saúde, e por isso tem aumentado a procura por alimentos que, além de nutrir, proporcionam benefícios à vitalidade do ser humano (SIMEONI et al., 2014). Entre esses alimentos, estão os que podem ser denominados de funcionais, por resultarem em benefícios clínicos ou de saúde comprovados, além dos efeitos nutricionais conhecidos (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). O componente de um alimento que confere ao mesmo a característica de funcionalidade pode estar presente naturalmente, como é o caso dos carotenoides, nas cenouras. Podem, ainda, ser resultado da adição de tais componentes, como os probióticos, em uma matriz originalmente isenta ou com baixa quantidade do mesmo (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

As cenouras podem ser transformadas em produtos minimamente processados, apresentando características de produtos frescos, prontos para o consumo, práticos e nutritivos, que atendem as necessidades da nossa rotina atual. Porém, estes produtos são perecíveis e possuem o metabolismo ainda ativo, ou seja, continuam respirando e transpirando após a colheita. Este processamento embora mínimo, ocasionam danos mecânicos ao produto, provocando o rompimento dos tecidos e a mistura do conteúdo celular, acarretando inúmeras reações químicas, oxidativas ou não (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001). A aplicação de coberturas comestíveis em vegetais minimamente processados previne tais alterações, aumentando a qualidade e segurança dos alimentos recobertos, estendendo sua vida de prateleira.

Os polímeros são os materiais mais empregados para a formação de revestimentos comestíveis, constituídos pelos polissacarídeos, proteínas e lipídeos (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016), podendo ser utilizados sozinhos ou em combinações. Polímeros de alginato são altamente adequados para formação de coberturas em alimentos, devido às suas propriedades coloidais e a capacidade de formar géis fortes ou polímeros insolúveis mediante reação com cátions de metal polivalente, tais como Ca^{2+} (SONG et al., 2014, NAYIK; MAJID; KUMAR, 2015), tornando o filme de alginato uma barreira eficiente ao vapor d'água. A cobertura comestível no minimamente processado, pode reduzir a respiração vegetal e a modificação da cor, o escurecimento enzimático e a perda de água, além disso, pode ser reforçada sua proteção e funcionalidade, com a adição de ingredientes, como os antioxidantes (PÉREZ-GAGO; SERRA; DEL RÍO, 2006, GUIDELLI et al., 2015), corantes, aromas, substâncias antimicrobianas e probióticos.

Espitia et al. (2016) discorrem que os revestimentos que contêm probióticos podem aumentar a estabilidade dos alimentos revestidos (controlando o crescimento de microrganismos deteriorados pela competição) e também contribuir para a saúde dos consumidores, podendo ser considerados materiais ativos e potencialmente bioativos.

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas (> 6 a $7 \log$ UFC/g) conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Alguns destes benefícios são relatados, como a prevenção e tratamento da diarreia, atividade antimicrobiana, diminuição de sintomas causados pela intolerância à lactose, ação anti-cancerígena e anti-mutagênica e estimulação do sistema imunológico (SHORI; BABA, 2015). Em geral, as espécies dos *Lactobacillus* e dos *Bifidobacterium* são as mais utilizadas nas aplicações probióticas (PARVEZ et al., 2006). Porém, as bactérias probióticas são muito exigentes em nutrientes, sendo que o *L. acidophilus* apresenta necessidades nutricionais complexas, como a presença de aminoácidos e fatores de crescimento como riboflavina, ácido fólico, niacina e pantotenato de cálcio (DU PLESSIS et al., 1996 *apud* OLIVEIRA et al., 2002).

Além disso, esses microrganismos devem estar presentes no produto em concentrações significativas, para que ocorra ação benéfica no intestino, devem ser capazes de sobreviver à acidez estomacal e aos sais biliares (CHAMPAGNE et al., 2011). Previamente a esses fatores, a composição e as operações de processamento dos alimentos podem influenciar na sobrevivência das cepas dos probióticos, reduzindo-as durante o período de armazenamento do produto (AKIN; KIRMAC, 2007; RIBEIRO et al., 2014).

A maior parte dos produtos probióticos comercializados, são derivados do leite, e apresentam-se como eficientes matrizes para os micro-organismos probióticos. No entanto, outras matrizes alimentares, também têm sido estudadas como potencial veículo para estes micro-organismos. O número crescente de indivíduos com intolerância à lactose, dislipidemia e de alimentação vegana reforçam a importância do desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos, tais como frutas e produtos hortícolas (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; PERES et al., 2012; LEE; BOO; LIU, 2013).

A água de coco, extraída de cocos frescos e verdes, tem um sabor agradável, e concentrações equilibradas de sódio, potássio, cálcio e magnésio, esta composição pode favorecer a viabilidade das bactérias lácticas no meio (YULIANA; RANGGA; RAKHMIATI, 2010). Porém, a água de coco possui enzimas que devem ser inativadas por manifestarem alterações indesejáveis, sendo um dos principais problemas o desenvolvimento da coloração rósea, devido à presença da polifenoloxidase e peroxidase. Estas enzimas apresentam o máximo

de atividade em pH 6,0 e 5,5 e à temperatura de 25 e 35 °C, respectivamente (MAGALHÃES *et al.*, 2005). Geralmente, a função catalítica das enzimas é destruída por exposição térmica curta a 70-90 °C (WEEMAES *et al.*, 1998). No entanto, Campos *et al.* (1996) relataram que o tratamento térmico a 90 °C por mais de 100 segundos pode diminuir a qualidade do sabor da água de coco verde. Além disso, verificou-se que os compostos fenólicos na água de coco oxidam-se da mesma forma que as catequinas durante a pasteurização, levando a uma descoloração amarelada (ITO *et al.*, 2003). Essa coloração amarelada da água de coco pode também ser devida à ocorrência da reação de *Maillard* durante a pasteurização, uma vez que proteínas e açúcares redutores estavam disponíveis na água de coco (JAYALESHMY; MATHEW, 1990).

O objetivo deste trabalho foi formular coberturas comestíveis à base de alginato de sódio enriquecida com água de coco, em cenouras minimamente processadas, com e sem a adição dos *Lactobacillus acidophilus* LA3 ativado, e avaliar a sobrevivência desta espécie na cobertura e a vida de prateleira dos produtos revestidos ou não. Os atributos de qualidade e a intenção de compra das amostras também foram analisados através do teste afetivo de aceitação durante 14 dias de armazenamento a 8 °C ± 2 °C.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Cenoura minimamente processada

Nesse estudo foram utilizadas cenouras (*Daucus carota* L.) do cultivar Verano, oriundas do município de São Gotardo – MG.

A colheita foi realizada no mês de agosto de 2016 e as cenouras foram encaminhadas para o Laboratório de Processamento de Alimentos da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília, e mantidas sob refrigeração a 8 °C ± 2 °C.

O processamento mínimo constituiu-se das seguintes etapas: seleção e classificação, lavagem, descascamento, primeira sanificação, enxague, corte, segunda sanificação e drenagem (Figura 20). Os requisitos para seleção e classificação foram a ausência de danos mecânicos e fisiológicos (ALMEIDA *et al.*, 2011), ausência de infecção fúngica e padronização do diâmetro e comprimento das raízes tuberosas.

A lavagem das cenouras foi realizada com detergente neutro e água corrente, seguida de descascamento e sanificação por imersão do vegetal em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 20 minutos. Em seguida, as cenouras foram enxaguadas e fatiadas em cortador elétrico doméstico (Master Pro Fun Kitchen Inox, Fun Kitchen, São José/SC, Brasil) no formato de

rodela de aproximadamente 4 mm de espessura, e imersas em solução com hipoclorito de sódio a 50 ppm por 10 minutos (SILVA et al., 2011). Por fim, foram colocadas sobre papéis-toalha absorventes para retirar o excesso de água superficial. Todo o procedimento ocorreu em ambiente higienizado e climatizado em temperatura entre 15 e 20 °C.

5.2.2 Probiótico

Foi utilizada linhagem probiótica de *Lactobacillus acidophilus* LA3 para aplicação em alimentos (Sacco[®], Campinas, Brasil). A multiplicação e ativação do micro-organismo foi realizada com incubação de 0,1 grama do micro-organismo liofilizado em 7,9 mL de leite integral (Molico, São Paulo, Brasil) reconstruído (12%) e adicionado de extrato de levedura (0,3%) e L-cisteína (0,05%), por 96 horas a 37°C. Em continuidade, através de alçadas, dois repiques em Caldo *deMan, Rogosa and Sharpe* (MRS) adicionado de L-cisteína (0,05%) foram realizados a 37°C por 72 horas cada.

O segundo tubo de repique foi vertido em um erlenmeyer contendo Caldo MRS com adição de L-cisteína (0,05%) de forma que o volume final obtido fosse 100 mL. A incubação foi a 37 °C por 72 horas. Após o período de crescimento retirou-se do erlenmeyer 46 mL do sobrenadante e acrescentou 6 mL de glicerina esterilizada no restante, obtendo-se, assim, a solução estoque. Microtubos tipo eppendorf, com capacidade de 2,5 mL (Labcon, Analítica, São Paulo, Brasil), esterilizados, foram preenchidos com 2 mL da solução estoque e submetidos ao congelamento rápido a -86°C. A viabilidade da cultura contida nessa solução estoque, antes do congelamento, apresentou concentração de células viáveis igual a $7,2 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹

Com um dos tubos de Eppendorf procedeu-se à produção do inóculo para a utilização nas coberturas comestíveis, de forma que uma alçada da amostra estoque foi inicialmente inoculada em leite integral (Molico, São Paulo, Brasil) reconstituído (12%) com extrato de levedura (0,3%) e L-cisteína (0,05%) por 20 horas a 37 °C, seguido por dois repiques por alçadas em meio formulado enriquecido com água de coco verde (6%), extrato de soja (10%), sacarose (3%), extrato de levedura (0,5%), L-cisteína (0,05%), sulfato de zinco (0,008%) e sulfato de magnésio (0,005%) incubados a 37 °C por 24 horas cada. Após o segundo repique, 10 mL do inóculo foi vertido sobre 300 mL da solução de cobertura comestível. Todo o processo de ativação foi conduzido sob condições assépticas, com material e meios de cultura devidamente esterilizados.

5.2.3 Coberturas comestíveis e adição dos probióticos

As coberturas constituíram-se de alginato de sódio (Dinâmica®, Brasil), glicerol como agente plastificante (Rioquímica Farmacêutica Ltda, Brasil), óleo de girassol (Cargill Agrícola S.A, Brasil) e surfactante Tween 80 (Cooperativa Agroindustrial Alegrete, Brasil). A formulação utilizada encontra-se na Tabela 26.

A proporção de 70% de água de coco em 30% de água destilada foi estabelecida, pois até esta quantidade de água de coco não ocorreu mudança de viscosidade na solução com os ingredientes da cobertura comestível. A solução foi submetida a tratamento térmico de 70 °C/10 minutos para inativar as enzimas que modificam a cor e sabor da água de coco (WEEMAES et al., 1998).

Tabela 26 – Formulação da cobertura comestível à base de alginato de sódio dissolvida em água de coco + água destilada.

INGREDIENTES	Quantidade (g/100 g)
Alginato de sódio	1,5
Glicerol	0,75
Tween 80	0,05
Óleo de girassol	0,04

Após o tratamento térmico, foi adicionado o alginato de sódio na solução de água de coco mais água aquecida, sendo previamente dissolvido a 70 °C durante 10 minutos e em seguida levado para o agitador mecânico (MA 259, MARCONI, Piracicaba, Brasil) a 2400 rpm por 5 minutos até sua completa dissolução. Foi adicionado glicerol, óleo de girassol e tween 80, homogeneizando-se a mistura no agitador mecânico por 3 minutos até a sua total dissolução. Ao final, a solução apresentou o pH de 5,0. Após a preparação da cobertura comestível, foi adicionada a cultura probiótica ativada.

5.2.4 Aplicação dos revestimentos e armazenamento da cenoura minimamente processada

O revestimento comestível foi aplicado nas cenouras em rodela através da técnica *dipping* (COSTA et al., 2012), ou seja, imersão do alimento na solução preparada à base de alginato de sódio e água de coco, por 2 minutos, seguido de imersão em solução de cloreto de cálcio por 1 minuto. Posteriormente, foram acondicionadas em embalagem de poliestireno expandido forrado com folha de acetato, e armazenadas à temperatura de 8 °C ± 2 °C por 12 horas para que ocorresse secagem parcial da cobertura comestível. Após a desidratação sob

refrigeração, as embalagens foram seladas com filme de PVC esticável 20 μ m (WYDA, Sorocaba/SP, Brasil) e armazenadas na mesma temperatura pelo período de 21 dias. Cenouras minimamente processadas sem cobertura foram armazenadas nas mesmas condições descritas e usadas como controle amostral.

A Figura 23 mostra o fluxograma geral das cenouras minimamente processadas enquanto que a Figura 24 descreve a formulação e a aplicação das coberturas comestíveis, sem adição (T1) e com adição (T2) de micro-organismos probióticos.

Figura 23 - Fluxograma geral do processamento mínimo das cenouras antes da aplicação das coberturas e para o tratamento controle (C).

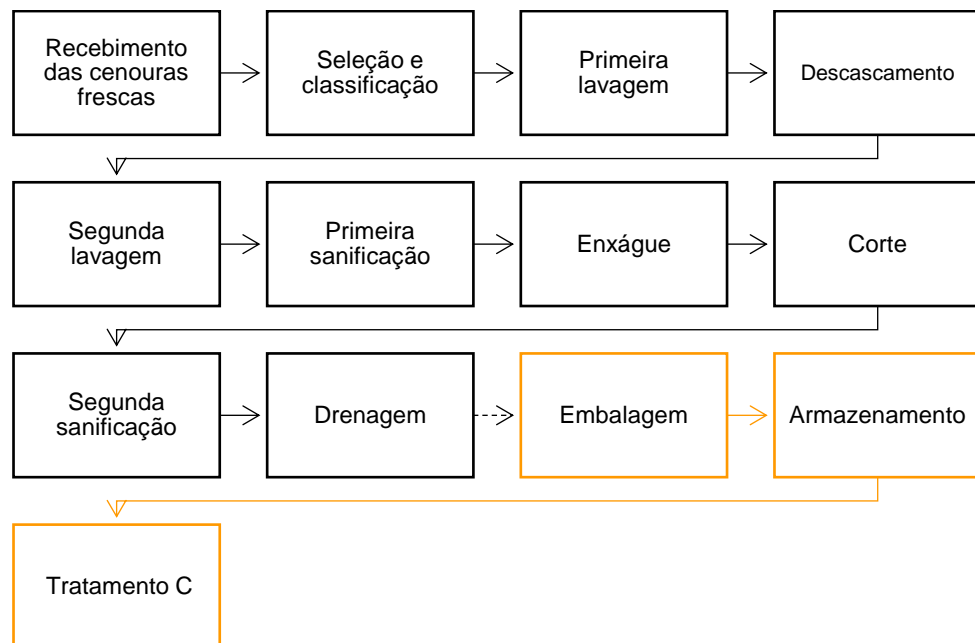
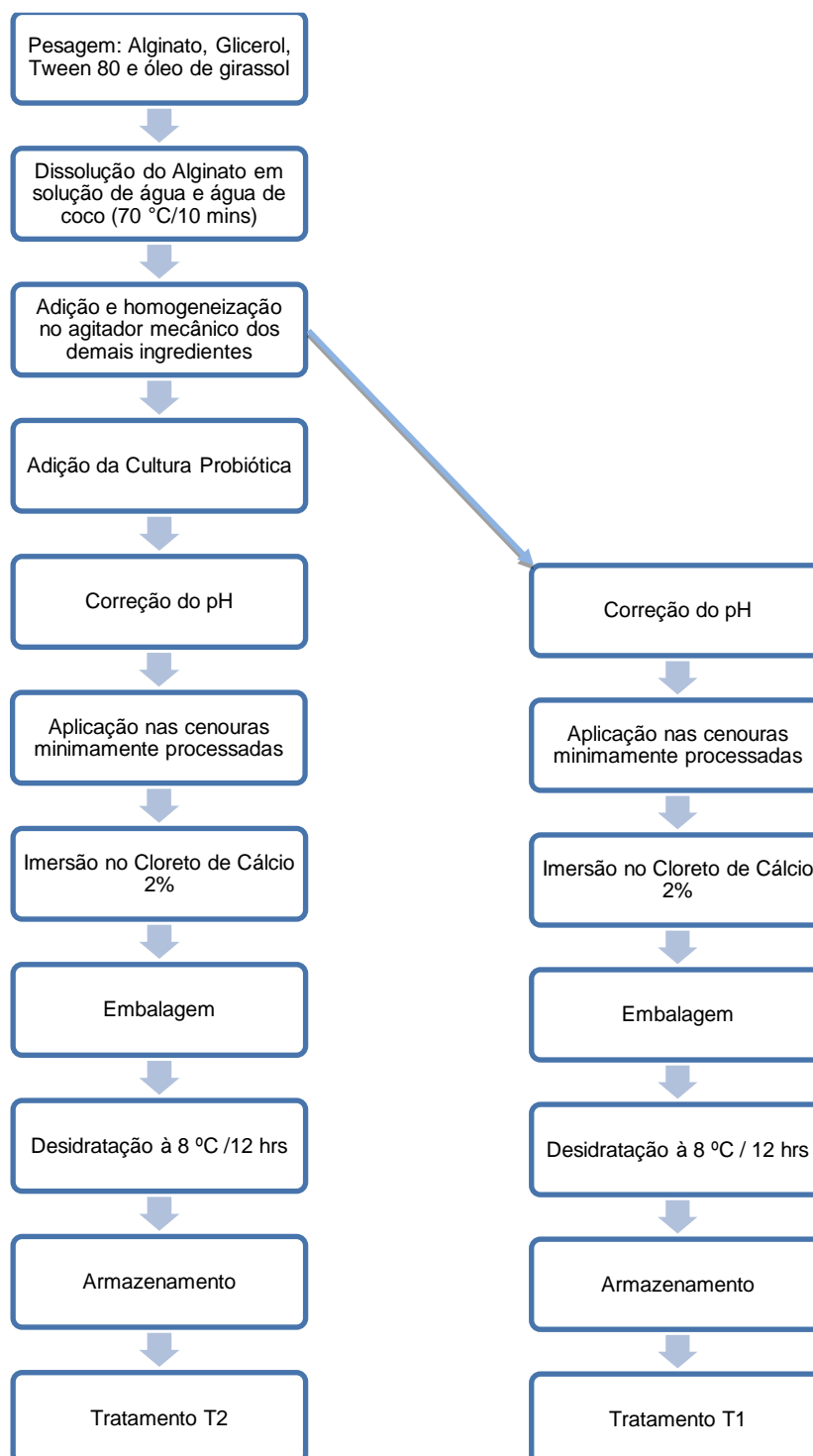


Figura 24 - Fluxograma da elaboração e aplicação das coberturas nas cenouras minimamente processadas pelos tratamentos T1 e T2.



5.2.5 Análises microbiológicas

5.2.5.1 Viabilidade celular dos *Lactobacillus acidophilus* LA3

Análises de viabilidade celular foram realizadas nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento das amostras, utilizando 10 gramas da cenoura com revestimento comestível diluído em 90 mL de citrato de sódio (2% m/v), extrato de levedura (0,1% m/v) e L-cisteína (0,05%) (OLIVEIRA, 2011), para verificar se a cobertura de alginato de sódio diluído em água de coco manteve a viabilidade do probiótico, sendo essa a diluição 10^{-1} . Houve sequência da diluição seriada em citrato de sódio até a diluição 10^{-8} , e posterior plaqueamento em profundidade em meio MRS ágar com sobrecamada (vedação com agar). A incubação foi realizada em BOD (NOVA Instruments, NI 1704) por 48 horas a 37 °C. As análises foram feitas em triplicada e de maneira asséptica no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília.

5.2.5.2 Análises de micro-organismos contaminantes

As análises de contaminantes foram feitas conforme a Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) com o controle de Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp.* Para complementar o controle da inocuidade do processo de produção dos tratamentos foi realizado também o estudo de presença de coliformes totais, psicotróficos, bolores e leveduras.

Após a homogeneização e diluição seriada até 10^{-4} das cenouras minimamente processadas com ou sem coberturas, adicionados ou não de *Lactobacillus acidophilus* ativados, foram feitas análises microbiológicas, de Coliformes termotolerantes, *Salmonella spp.*, psicotróficos, bolores e leveduras nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, em triplicada e Coliformes totais nos dias 1, 7 e 14, de maneira asséptica no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia – FATEC/Marília.

A Contagem total de psicotróficos em placas foi realizada por plaqueamento em superfície em meio PCA seguindo metodologia da *American Public Health Association* (MORTON, 2001). Para bolores e leveduras foi realizado o plaqueamento em superfície em meio PDA seguindo metodologia da *American Public Health Association* (TANIWAKI; IAMANAKA; BANHE, 1999).

Foi utilizada a técnica da Placa Petrifilm™ EC (3M Company, St. Paul, MN, EUA), sendo que 1 mL de cada amostra diluída foi adicionada aos petrifilms e estes foram incubados a 35 °C por 24 hrs, para determinação de Coliformes Totais. O resultado foi obtido pela

contagem das colônias e expresso em UFC.g⁻¹. Tal método foi validado pela *Association Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005) n° 991.14. Para verificação dos Coliformes termotolerantes foi utilizado o método validado pela AFNOR 3M 01/2 – 09/89C, também utilizando à técnica da Placa PetrifilmTM EC (3M Company, St. Paul, MN, EUA), onde 1 mL de cada amostra diluída foi adicionada aos petrifilms e estes foram incubados a 44 °C por 24 hrs. O resultado foi obtido pela contagem das colônias e expresso em UFC.g⁻¹

Para análise de presença e ausência de *Salmonella spp* foi utilizado o método tradicional de identificação descrito pela *International Organization for Standardization 6579:2007* (ISO, 2007), que incluiu as etapas de pré-enriquecimento da amostra em água peptonada, enriquecimento seletivo em Caldo Tetrionato e Caldo Rappaport Vassiliadis, esgotamento por estrias em meios seletivos diferenciais, isolamento em Ágar Nutriente, seguida de provas bioquímicas e sorológica.

5.2.6 Análise Sensorial

Para verificar a vida de prateleira das cenouras em rodela com e sem cobertura comestível, o método afetivo de aceitação dos produtos foi aplicado nos dias 1, 7 e 14. As amostras correspondentes aos tratamentos C, T1 e T2 foram apresentadas aos provadores, uma a uma, na forma de uma rodela de cenoura em um prato branco descartável codificado aleatoriamente (com três dígitos). Junto com a amostra foi recomendado ao julgador ingerir água entre as amostras para limpeza do palato, servida em copos plásticos descartáveis (capacidade de 200 mL) à temperatura ambiente. As amostras foram apresentadas aos provadores de forma monádica, em blocos completos, e todas as amostras estavam em temperatura de refrigeração.

Antes da análise sensorial foi aplicada uma avaliação (Figura 25), com 90 pessoas, para verificar se poderiam e tinham interesse em participar da análise sensorial. Após a seleção foram convocados os futuros julgadores para os três dias de análises.

Foi solicitado aos julgadores que avaliassem cada amostra de cenoura, conforme a ficha sensorial (Figura 26), de acordo com a escala hedônica estruturada de nove pontos, o quanto gostou ou desgostou da amostra, cujos extremos correspondem a “desgostei extremamente” (1) e “gostei extremamente” (9), conforme sua aparência, aroma, textura, cor, sabor e avaliação global. Os produtos foram considerados aceitáveis quando 50% das notas dos provadores foi maior ou igual a 6,0 (CONTI-SILVA; SILVA; AREAS, 2011). Nesta mesma ficha sensorial foi exposta uma avaliação, utilizando comentários sobre o que mais e menos gostou da amostra,

uma pergunta se o julgador constatou cor artificial na amostra e finalmente a avaliação com a escala de intenção de compra, variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria”.

Figura 25 - Ficha para seleção dos julgadores

Nome: _____ Termo: ____ Período: ____ Idade: ____

Você gosta de cenoura *in natura*? () Sim () Não

Você tem por hábito consumir a cenoura *in natura*? () Sim () Não

Qual a frequência do consumo? () 1x por mês () 2 a 3 vezes por mês () mais de 3x por mês

Aceitaria fazer análise sensorial da cenoura *in natura*? () Sim () Não

Figura 26 - Ficha da Análise sensorial para avaliação das amostras com cobertura (T1) e probiótico (T2) e sem cobertura (C).

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: _____

1) Por favor, avalie esta amostra de cenoura minimamente processada, utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo (descrito no quadro) do produto.

9 – gostei extremamente
8 – gostei muito
7 – gostei moderadamente
6 – gostei ligeiramente
5 – nem gostei nem desgostei
4 – desgostei ligeiramente
3 – desgostei moderadamente
2 – desgostei muito
1 – desgostei extremamente

N° amostra: _____	
Item	Código
Aparência	
Cor (esbranquiçada)	
Sabor	
Aroma	
Textura	
Avaliação Global	

2) A cenoura tem uma aparência artificial? () Sim () Não

3) Descreva o que você mais gostou e menos gostou nesta amostra.

+ gostei _____

- gostei _____

4) Assinale com um X, na letra que corresponde a sua atitude de compra:

(a) Eu certamente compraria esta amostra (b) Eu provavelmente compraria esta amostra
(c) Tenho dúvidas se compraria ou não esta amostra (d) Eu provavelmente não compraria esta amostra.
(e) Eu certamente não compraria esta amostra.

Comentários:

5.2.7 Análise estatística

As amostragens foram feitas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) completada com o teste de Tukey através do programa BIOESTAT (AYRES et al., 2007; BUSSAB; MORETTIN, 2011). Os resultados foram considerados significativos para p-valor < 5%.

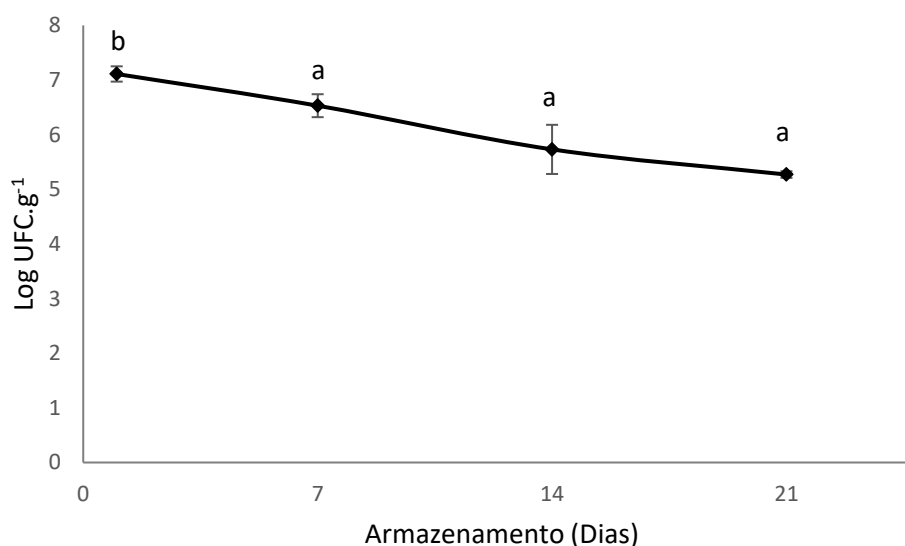
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Análises microbiológicas

5.3.3.1 *Lactobacillus acidophilus* LA3

A contagem de micro-organismos probióticos, na cenoura minimamente processada revestida, apresentou-se na ordem de $1,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, no primeiro dia, logo após o armazenamento de 12 horas sob refrigeração à $8 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ (Figura 27).

Figura 27 - Log UFC de *L. acidophilus*.g⁻¹ de cobertura à base de alginato e água de coco em cenoura minimamente processada pelo tempo de armazenamento



Médias seguidas de mesma letra minúscula não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Até o sétimo dia, a concentração das bactérias probióticas na cenoura minimamente processada com cobertura, estava adequada aos valores fornecidos pela literatura. Segundo Dave e Shah (1997) e Saad (2006), um alimento para promover efeito benéfico no organismo

do hospedeiro, deve apresentar concentrações iguais e maiores que 10^6 UFC.g⁻¹ de bactérias probióticas, valores similares aos recomendados pela FAO/WHO (2002). Durante o armazenamento do sétimo ao vigésimo primeiro dia, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na viabilidade do probiótico, sendo que se constata que, na última semana, a contagem estaria entre 10^5 e 10^6 UFC.g⁻¹ de bactérias probióticas. Comparando cenouras revestidas com coberturas similares, porém, à base de água (Capítulo 3, subitem - 3.3.2.1 *Lactobacillus acidophilus* LA3), no décimo quarto dia não foi mais possível quantificar as células viáveis, em amostras com cobertura à base de alginato de sódio e alginato de sódio mais quitosana, pois as mesmas se encontravam abaixo do fator de diluição plaqueado (diluição 10^{-4}). No presente estudo, os probióticos apresentaram-se na ordem de $7,18 \times 10^5$ UFC.g⁻¹, no mesmo período. Portanto, a adição da água de coco parece ter sido imperativa na viabilidade desses probióticos. Outro detalhe importante é que no Capítulo 3, a análise de viabilidade foi feita apenas da cobertura comestível, e neste Capítulo, da cenoura em rodela com cobertura comestível, portanto, esperava-se maior viabilidade dos probióticos no Capítulo 3.

Prado (2007) ao produzir e patentear bebida à base de água-de-coco fermentada demonstrou que esta matéria-prima pode ser utilizada como substrato para o crescimento de bactérias probióticas, as quais mantiveram viabilidade celular em níveis desejáveis por 28 dias de armazenamento refrigerado. De acordo com Carvalho et al. (2006), a água-de-coco apresenta composição de aminoácidos que se assemelha ao do leite, mas que possui uma quantidade maior de arginina, alanina, cistina e serina.

A variedade de nutrientes na água de coco é favorável ao crescimento e manutenção das bactérias probióticas, pois essas são exigentes, apresentando necessidades nutricionais complexas (OLIVEIRA et al., 2002). De acordo com os pesquisadores Yuliana, Rangga e Rakhmiati (2010) e Lee, Boo e Liu (2013), para as bactérias ácido lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, a composição da água de coco é favorável ao seu crescimento e manutenção.

Em estudos preliminares Silva (2012) ao adicionar *Lactobacillus acidophilus* em diferentes bebidas, verificou que esta bactéria probiótica manteve a mesma viabilidade celular em leite de vaca e água-de-coco durante 15 dias de armazenamento. Após análise sensorial por 60 provadores não treinados a água-de-coco com adição de *L. acidophilus* foi tão aceita quanto à água-de-coco sem adição.

Eventualmente, seria necessário aumentar o número inicial dos *Lactobacillus acidophilus* ativados, para obter maior viabilidade até os 21 dias de armazenamento e para ele se tornar um alimento probiótico. Outra situação seria a incorporação de prebióticos na

cobertura comestível para melhorar a estabilidade dessas estirpes probióticas (ESPITIA et al., 2016), ou adicionar mais açúcares simples (LOURESN-HATTING; VILJOEN, 2001) ou triptona (OSTLIE; HELLAND; NARVHUS, 2003). Apenas tomando cuidado para não adicionar ingredientes que modifiquem as características sensoriais do produto final ou derivados lácteos, que impeçam o consumo desse produto por indivíduos vegetarianos, intolerantes à lactose e pessoas com restrição de colesterol na dieta.

5.3.3.2 Análise dos contaminantes

No presente trabalho, foram realizadas análises para aferir a qualidade microbiológica dos tratamentos utilizando as especificações da legislação e complementando com o estudo de presença de bolores e leveduras, psicrotróficos (Tabela 27) e coliformes totais.

Tabela 27 – Qualidade microbiológica em Log.UFC.g⁻¹ da cenoura minimamente processada segundo o tratamento e tempo de armazenamento.

	Micro-organismo	Esp.*	Tempo (dias)			
			1	7	14	21
C	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-	-
	Psicrotróficos		-	-	1,86 ^{Aa} ± 0,13	2,28 ^{Ba} ± 0,01
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-	-
	Micro-organismo	Esp.*	Tempo (dias)			
			1	7	14	21
T1	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-	-
	Psicrotróficos		-	3,53 ^{Ab} ± 0,40	3,58 ^{Ab} ± 0,32	3,98 ^{Ab} ± 0,79
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-	-
	Micro-organismo	Esp.*	Tempo (dias)			
			1	7	14	21
T2	Coliformes termotolerantes	10 ³ /g	-	-	-	-
	Psicrotróficos		-	1,76 ^{Aa} ± 0,93	4,20 ^{Bb} ± 0,73	4,09 ^{Bb} ± 0,30
	<i>Salmonella spp</i>	Aus/25g	-	-	-	-
	Bolores e Leveduras	-	-	-	-	-

*Especificação ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001.
Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionada de probióticos.

As amostras analisadas apresentaram-se de acordo com os parâmetros determinados pela legislação vigente, a qual controla a inocuidade de frutas e hortaliças. Essa legislação é do grupo 3, item a, da Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), sendo necessário o controle de Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp*.

Foi contabilizada a presença de micro-organismos psicrotróficos em todos os tratamentos analisados, sendo que a partir do sétimo dia de armazenamento as amostras com cobertura comestível já apresentaram contagem. A amostra que continha os *Lactobacillus acidophilus* (T2), provavelmente inibiu a multiplicação dos psicrotróficos para aproximadamente $1,8 \log \text{UFC.g}^{-1}$ em relação à amostra T1. É possível que com a diminuição da viabilidade do micro-organismo probiótico na amostra T2 a partir do 14º dia de armazenameto, tenha ocorrido redução do seu efeito protetor na cenoura minimamente processada, facilitando a proliferação dos psicrotróficos em mais de $2 \log \text{UFC.g}^{-1}$ nos dois últimos períodos de armazenamento da amostra T2.

No entanto, a maior contagem de psicrotróficos não ultrapassou o valor de 10^5UFC.g^{-1} no vigésimo primeiro dia de armazenamento. Conforme Alcântara (2009), para que haja alterações nos alimentos a contagem destes micro-organismos devem atingir o valor de 10^7UFC.ml^{-1} .

Os micro-organismos psicrotróficos se caracterizam por ter capacidade de crescimento a $0 \text{ }^\circ\text{C}$, mas têm como temperatura ótima de crescimento cerca de $30\text{-}35 \text{ }^\circ\text{C}$ (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Desta forma, estão comumente relacionados com a deterioração de vegetais *in natura* ou minimamente processados (LEITE, 2007).

Em relação a contagem de coliformes totais, todas as amostras apresentaram contagem, porém com resultados inferiores a 10^2UFC.g^{-1} . Segundo BERBARI, PASCHOALINO e SILVEIRA (2001) consideram elevadas as contagens de coliformes totais acima de 10^3NMP.g^{-1} , podendo indicar que o processamento foi feito em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

As amostras com coberturas comestíveis (T1 e T2) apresentaram, em média, $1,12 \times 10^1 \text{UFC.g}^{-1}$ de coliformes totais, contagens mais elevadas que da amostra C ($5,5 \text{UFC.g}^{-1}$). Emmanbux e Minnaar (2003) e Avena-Bustillos et al. (1994) reportam que a aplicação de coberturas comestíveis em cenouras minimamente processadas não influenciou significativamente a melhora da qualidade microbiológica do produto, porém de acordo com Lee et al. (2003) e Rojas-Grau et al. (2007) para que uma carga microbiana contaminante seja danosa ao produto, e que o mesmo seja considerado impróprio para o consumo, a contagem mínima necessária é de 10^6UFC.g^{-1} , portanto as amostras apresentaram-se próprias para o consumo até 21 dias de armazenamento à $8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, ressaltando que em nenhum momento houve a presença dos Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp* requisitos exigidos pela legislação vigente.

5.3.2 Seleção dos provadores

Das 90 pessoas que responderam à ficha de seleção (Figura 29), foram aproveitados os dados de apenas 44 julgadores. Este fato ocorreu devido à falta de participação em um ou dois dias de avaliação dos julgadores ou porque assinalaram que não gostam/consomem cenouras. Os provadores foram discentes da Faculdade de Tecnologia em Alimentos (Fatec/Marília), não treinados, de ambos os sexos.

5.3.3 Atributos, Avaliação global e Intenção de compra.

As amostras com coberturas comestíveis obtiveram, nos três dias de avaliação sensorial, as melhores notas para os atributos aparência e cor em relação a amostra controle ($p < 0,05$) (Tabela 28). Sendo que estes atributos são decisivos na aquisição de um produto, pois, segundo Mastromatteo, Conte e Del Nobile (2012) as cenouras minimamente processadas perdem rapidamente a sua cor laranja brilhante, desenvolvendo uma aparência esbranquiçada (“white blush”) na superfície, reduzindo assim a aceitabilidade dos consumidores, durante sua comercialização.

Tabela 28 - Notas (média e desvio padrão) de aceitação dos provadores quanto à aparência, cor, sabor, aroma, textura e avaliação global dos dois tratamentos e da amostra controle.

Atributo	Dia	Tratamentos		
		C	T1	T2
Aparência	1	6,3(2,0) Aa	7,6(1,2) Ba	7,5(1,1) Ba
	7	5,9 (1,9) Aa	7,5 (1,3) Ba	7,7(1,2) Ba
	14	5,4(1,9) Aa	8,0(1,0) Ba	7,9(0,8) Ba
Cor	1	6,2 (1,9) Ab	7,7(0,9) Ba	7,4(1,2) Ba
	7	5,6 (1,7) Aab	7,8(1,1) Ba	7,5(1,1) Ba
	14	5,1(2,1) Aa	8,0(1,0) Ba	7,6(1,1) Ba
Sabor	1	7,6 (1,6) Aa	7,6 (1,5) Aa	7,6 (1,5) Aa
	7	7,3 (1,7) Aa	7,8 (1,0) Aa	7,7 (1,2) Aa
	14	7,2 (1,7) Aa	7,9 (1,0) Ba	7,9 (0,9) Ba
Aroma	1	7,4 (1,5) Aa	7,4 (1,4) Aa	7,1 (1,7) Aa
	7	6,9(1,4) Aa	7,4(1,3) Aa	7,5(1,1) Aa
	14	6,7(1,8) Aa	7,5(1,2) Ba	7,8(1,1) Ba
Textura	1	7,4 (1,7) Aa	7,4(1,6) Aa	7,6(1,6) Aa
	7	7,2 (1,8) Aa	7,9(1,0) Ba	8,0(1,0) Ba
	14	6,6(2,1) Aa	8,0(1,0) Ba	8,0(1,0) Ba
Avaliação	1	7,3 (1,5) Ab	7,6 (1,5) Aa	7,6 (1,2) Aa
	7	6,8(1,4) Aab	7,9(0,9) Ba	7,8(0,9) Ba
	14	6,5(1,7) Aa	7,9(0,8) Ba	7,9(1,3) Ba

M = Média da triplicata; DP = Desvio Padrão.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey

C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

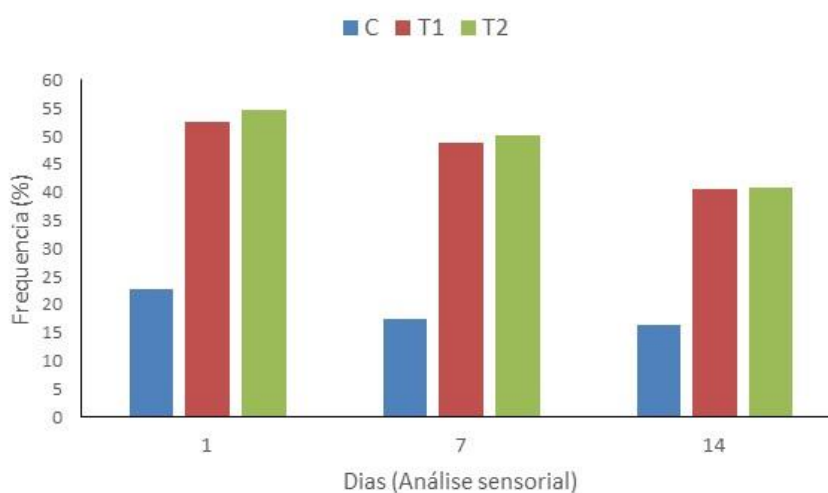
Como já mencionado no Capítulo 3 (subitem - 3.3.1.1 Umidade), as coberturas à base de polissacarídeos podem retardar a perda de água das frutas e hortaliças para atmosfera, pois atuam como agentes sacrificantes, onde a película formada pelo gel perde água antes da desidratação do produto, o que mantém suas características de produto fresco por mais tempo (BOURTOOM, 2008). Já para a amostra sem o revestimento a perda da água iniciou desde o primeiro dia de armazenamento, ocasionando a perda da firmeza e mudança de cor do vegetal, o que conseqüentemente, desvaloriza o produto comercialmente.

A alta umidade da cobertura à base de alginato de sódio e água de coco é resultante do caráter hidrofílico do próprio polissacarídeo, e que após a reticulação com o cloreto de cálcio

forma filmes insolúveis, reduzindo a permeabilidade ao vapor de água (LIMA; ANDREANI; SOLDI, 2007).

Os julgadores, no primeiro dia de análise, consideraram que as amostras T1 e T2 apresentaram aparência artificial (52,5% e 54,5%, respectivamente) (Figura 28) comparado a amostra controle (22,7%), podendo estar associada ao fato da alta retenção de umidade das coberturas e maior concentração de sólidos solúveis provenientes da água de coco, pois alguns julgadores comentaram sobre a formação de um “gel grosso”.

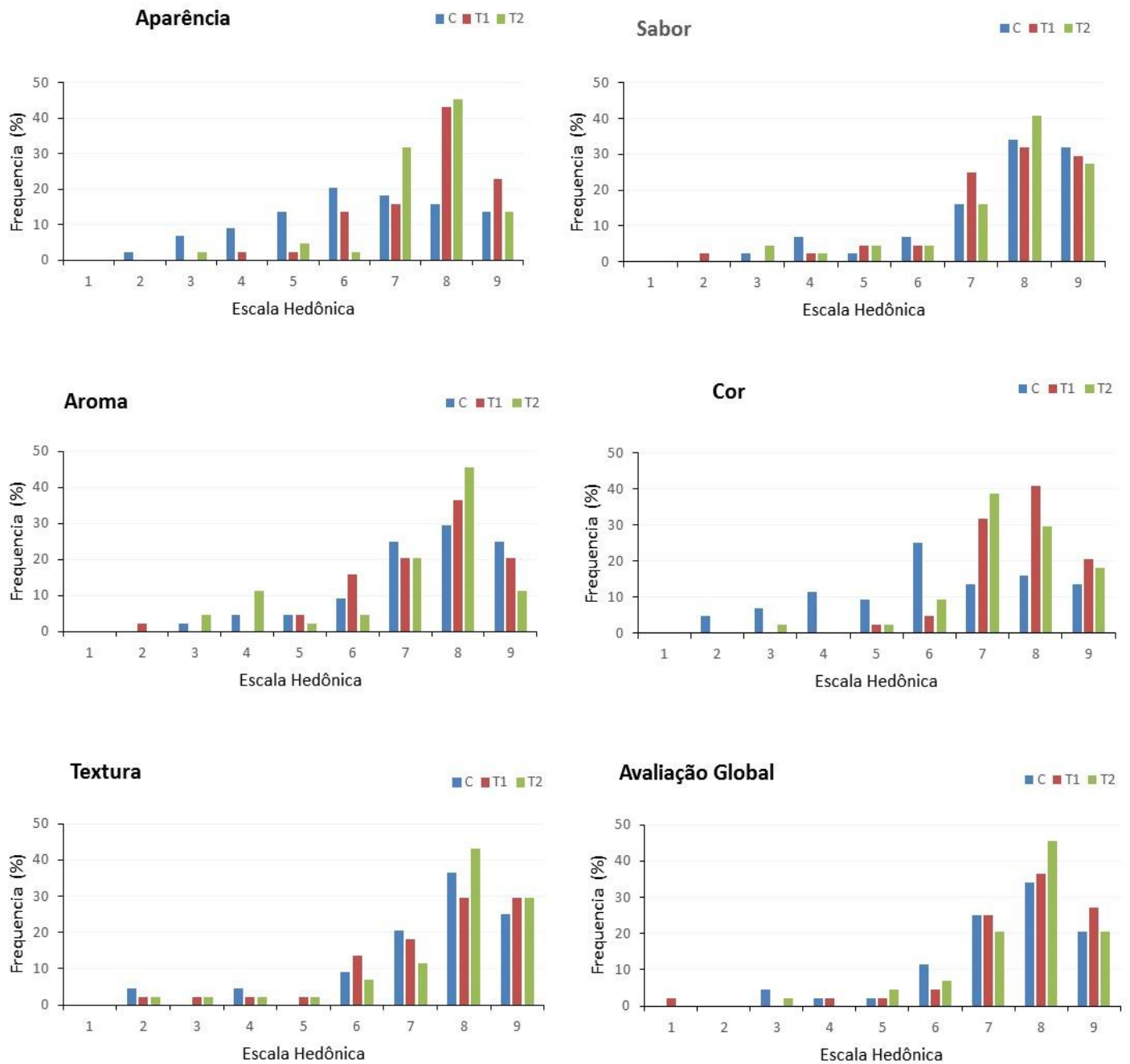
Figura 28 - Distribuição de frequência (%) das respostas positivas dos julgadores, para aparência artificial das amostras no 1º, 7º e 14º dias de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

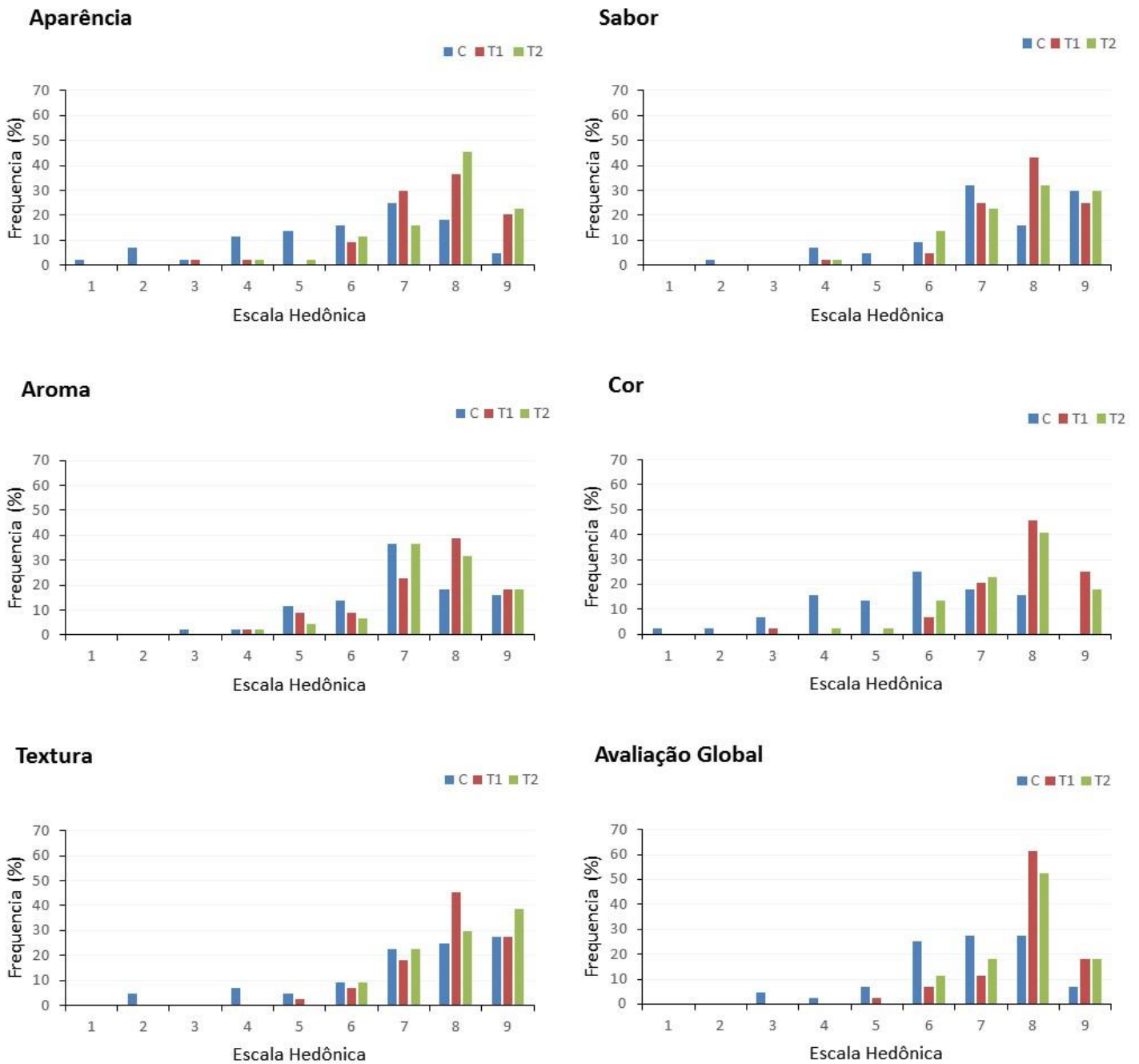
No 14º dia de armazenamento, essas avaliações diminuíram para as amostras com coberturas (40,5% e 41%, T1 e T2, respectivamente), e conseqüentemente a frequência das notas, acima de 5, para a aparência e cor aumentaram (Figuras 29, 30 e 31).

Figura 29 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 1º dia de armazenamento.



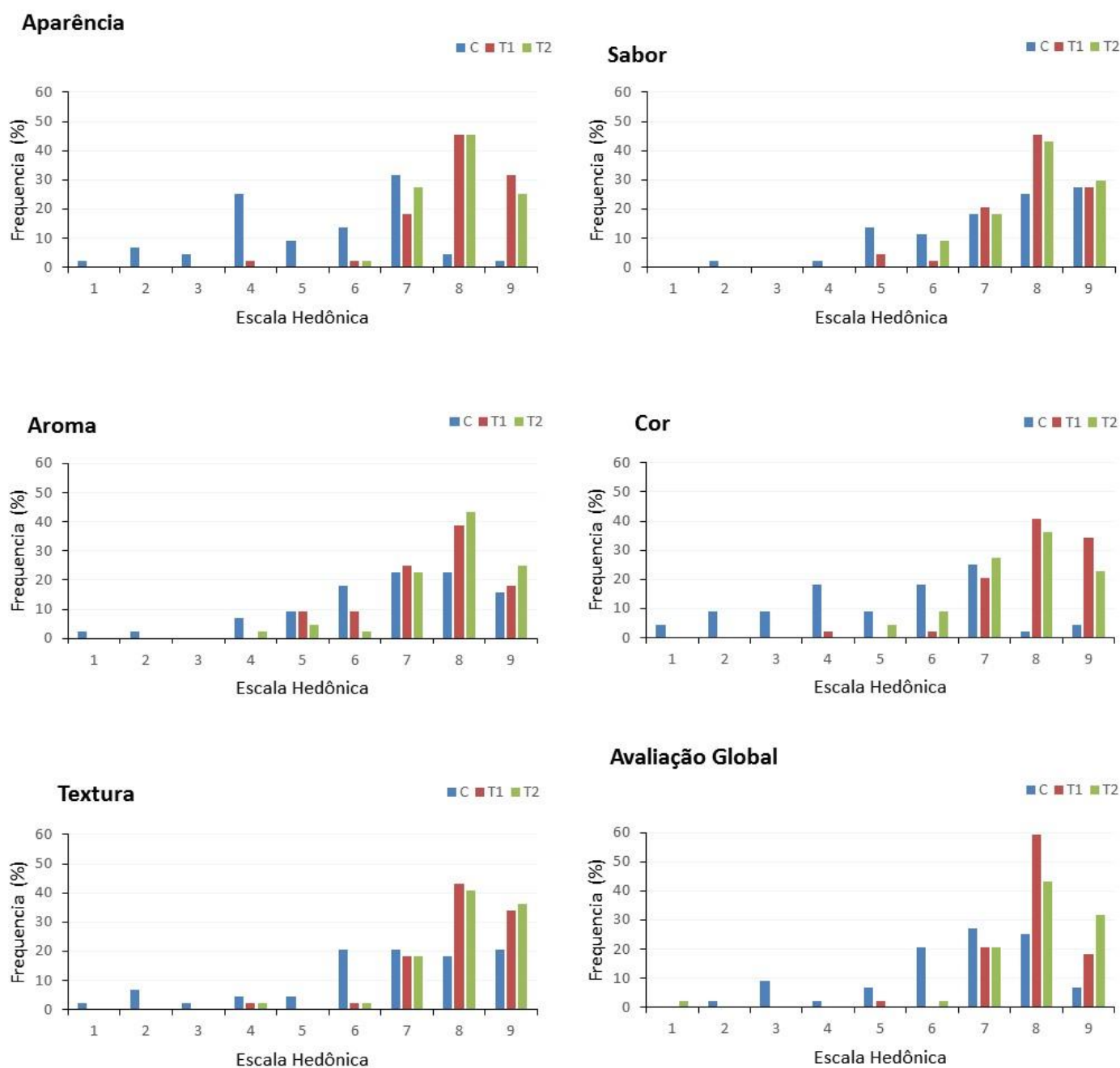
C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

Figura 30 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 7º dia de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

Figura 31 - Distribuição de frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global do 14º dia de armazenamento.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

A adição da água de coco na formulação da cobertura comestível, provavelmente não modificou as características sensoriais da cenoura minimamente processada, principalmente o sabor, pois as notas das três amostras são muito semelhantes (Tabela 28), ocorrendo diferença significativa apenas no 14º dia. A água de coco apresenta um leve dulçor que possivelmente foi integrado ao sabor adocicado da cenoura *in natura*, que contém maior concentração de

açúcares, chegando a representar 34 a 70% da matéria seca das raízes (CHAVES, 2009). Além disso, dependendo do cultivar, a cenoura e a água de coco, possuem pH similares (4,0 a 6,0) e os dois produtos tem o ácido málico como majoritário em sua constituição (PRADO, 2007; GUIMARAES, 2016).

Comparando as duas amostras com revestimentos, constata-se que a adição do probiótico (T2) não modificou as características sensoriais do produto, ou seja, não interferiu na média das notas dos atributos e na avaliação global ($p > 0,05$). E, ao contrário da amostra sem revestimento, as amostras T1 e T2 apresentaram aumento das médias de seus atributos, conforme o tempo de armazenamento avançou.

Martins et al. (2016) não obtiveram diferença estatística na avaliação dos atributos cor, sabor e impressão global na análise sensorial da salada de fruta (abacaxi, goiaba, banana, maçã, manga e mamão) adicionada ou não de *Lactobacillus rhamnosus* HN001, apenas foi verificada diferença das notas ($p < 0,05$) com o tempo de armazenamento (0 a 120 horas à temperatura de 5 °C), ou seja, os probióticos não interferiram nos dois atributos e na impressão global. Assim como Roble et al. (2010) pesquisando a adição dos *Lactobacillus rhamnosus* GG nas fatias de maçãs com duas coberturas: uma de alginato de sódio (1% m/v) e oligofrutose (35% m/v) e outra de alginato de sódio (1% m/v) e inulina (15% m/v) e o controle apenas com os microorganismos probióticos, e perceberam que tanto a adição dos prebióticos quanto dos probióticos não interferiram de modo significativo na aceitabilidade sensorial, que variou de 0 (inaceitável) a 6 (muito aceitável), dos três produtos avaliados por 14 dias à temperatura de 2 a 4 °C.

Com relação a cor das amostras, a perda do laranja brilhante da cenoura *in natura* é devido a desidratação, apresentando um esbranquiçamento na superfície do vegetal.

Analisando as Tabelas 29, 30 e 31 percebe-se que os julgadores apontaram a formação da cor “esbranquiçada” das amostras C desde o primeiro dia de análise, como item que menos gostaram (32%), e nos dias 7 e 14 alcançaram valores maiores (em torno de 43%), e com isso as médias das notas da cor e aparência da amostra C (Tabela 28) diminuíram com o prolongamento do armazenamento.

Tabela 29 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e *Lactobacillus acidophilus* (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 1º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
T1	Textura	26	Textura	26
	Sabor	26	Sabor	9
	Aparência	24	Aparência	12
	Aroma	9	Aroma	15
	Cor	12	Cobertura grossa	6
T2	Textura	32	Textura	21
	Cor	24	Cor	3
	Sabor	35	Sabor	6
	Aroma	9	Aroma	24
	Aparência	31,8	Aparência	6
C	Textura	9	Textura	18
	Sabor	56	Cor (esbranquiçada)	32
	Aparência	18	Aparência	44
	Aroma	12	Sabor	12
			Aroma	6

Tabela 30 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e *Lactobacillus acidophilus* (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 7º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
T1	Textura	38,6	Textura	11,4
	Sabor	31,8	Aroma	9,1
	Aparência	34,1	Aparência	18,2
	Aroma	9,1	Sabor	6,8
			Espessura cobertura	20,5
T2	Textura	31,8	Textura	11,4
	Sabor	43,2	Sabor	15,9
	Aroma	11,4	Aroma	9,1
	Aparência	31,8	Aparência	25
C	Textura	22,7	Textura	9,1
	Sabor	45,5	Cor esbranquiçada	43,2
	Aroma	6,8	Aparência	27,3
	Aparência	6,8	Sabor	4,5
			Aroma	4,5

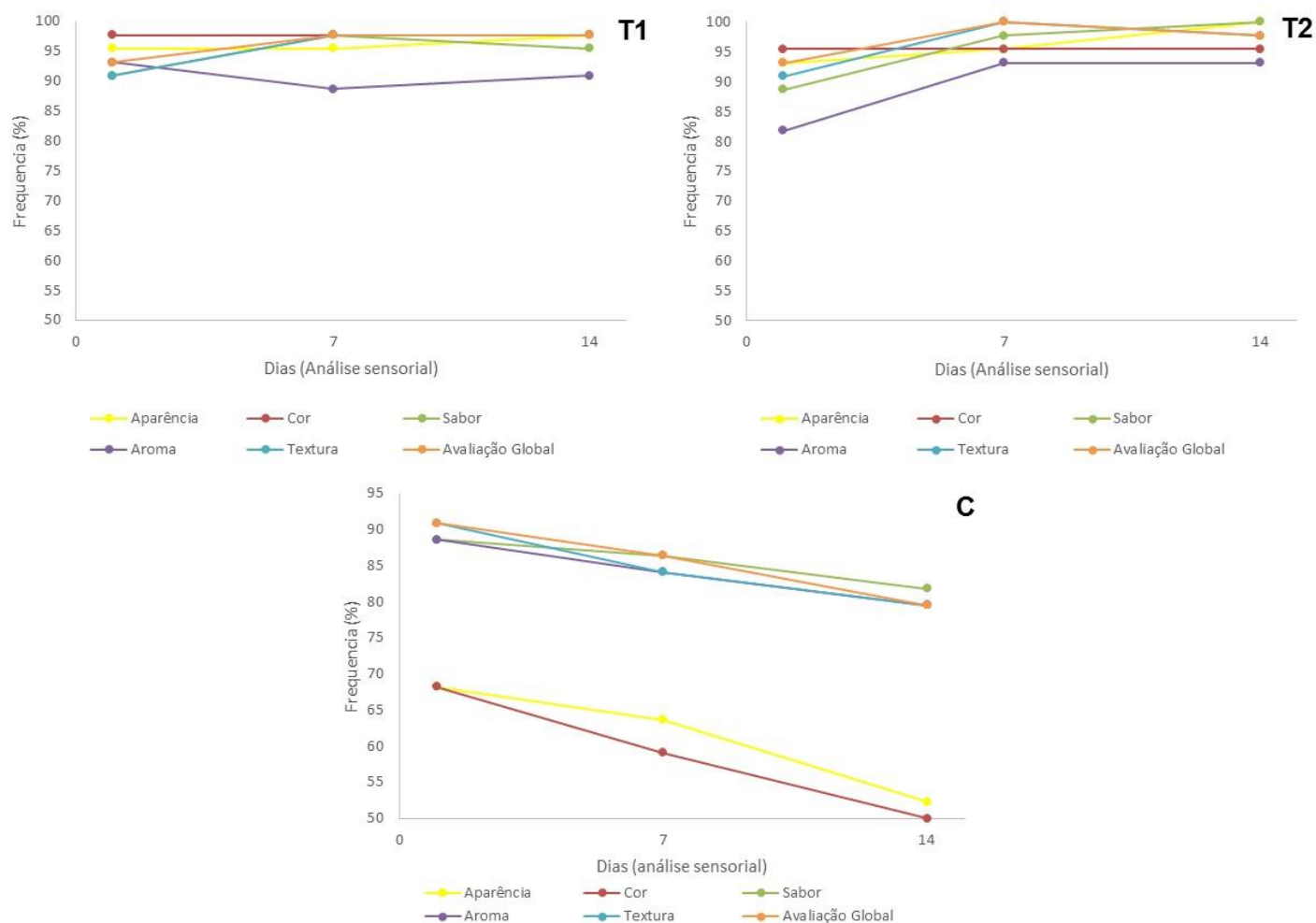
Tabela 31 - Distribuição dos termos mais citados das cenouras minimamente processadas com cobertura (T1) e *Lactobacillus acidophilus* (T2) e sem cobertura (C), entre os itens mais gostou e menos gostou no 14º dia de avaliação.

Amostra	Mais gostou	%	Menos gostou	%
T1	Textura	29,5	Textura	6,8
	Sabor	43,1	Aroma	22,7
	Aparência	34	Aparência	9
	Cor	6,8		
	Textura	29,5	Textura	6,8
T2	Textura	36,3		
	Sabor característico	36,2	Textura	9
	Aroma	15,9	Aroma	9
	Aparência	27,7	Aparência	9
	Textura crocante	11,3		
C	Textura	15,9	Textura murcha	20,3
	Sabor	52,2	Cor esbranquiçada	43,1
	Aparência	6,8	Aparência	36,3
			Sabor	4,5

Os resultados da Tabela 28 e das Figuras 29, 30 e 31, apresentaram entre as amostras com e sem cobertura, sutil diferença para a textura no primeiro dia de análise. Já no segundo e terceiro dia de análise, as notas da amostra sem cobertura (C) caíram e houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras com e sem cobertura. Na Tabela 30, a textura da amostra C foi apontada com 22,7% do “item que mais gostaram”, no sétimo dia, e na Tabela 31, após quatorze dias de armazenamento o valor diminuiu para 15,9%, sendo que para as amostras revestidas, a textura foi citada, em média 34%, do item que os julgadores mais gostaram, nos dois últimos dias de análise sensorial. A queda observada na firmeza das cenouras minimamente processadas pode estar associada à ação de enzimas pectinolíticas, como também pode ser decorrente do aumento na atividade de outras enzimas, como as enzimas glicolíticas (glucanases) que participam da hidrólise da hemicelulose e outros componentes de parede celular que estão presentes em cenouras e podem ser ativados como mecanismo de defesa a um ataque microbiológico e/ou fermento (como o processamento mínimo, por exemplo) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Porém, todas as amostras ao final dos 14 dias de armazenamento, foram consideradas aceitáveis, pois as médias das notas dos julgadores foi maior ou igual a 50%, sendo que amostra controle, no último dia de análise, obteve valores iguais ou muito próximos à 50%, para a aparência (52,3%) e cor (50%) (Figura 32).

Figura 32: Comparação da frequência (%) de respostas para os atributos aparência, sabor, aroma, cor, textura e avaliação global durante os três momentos de avaliação.

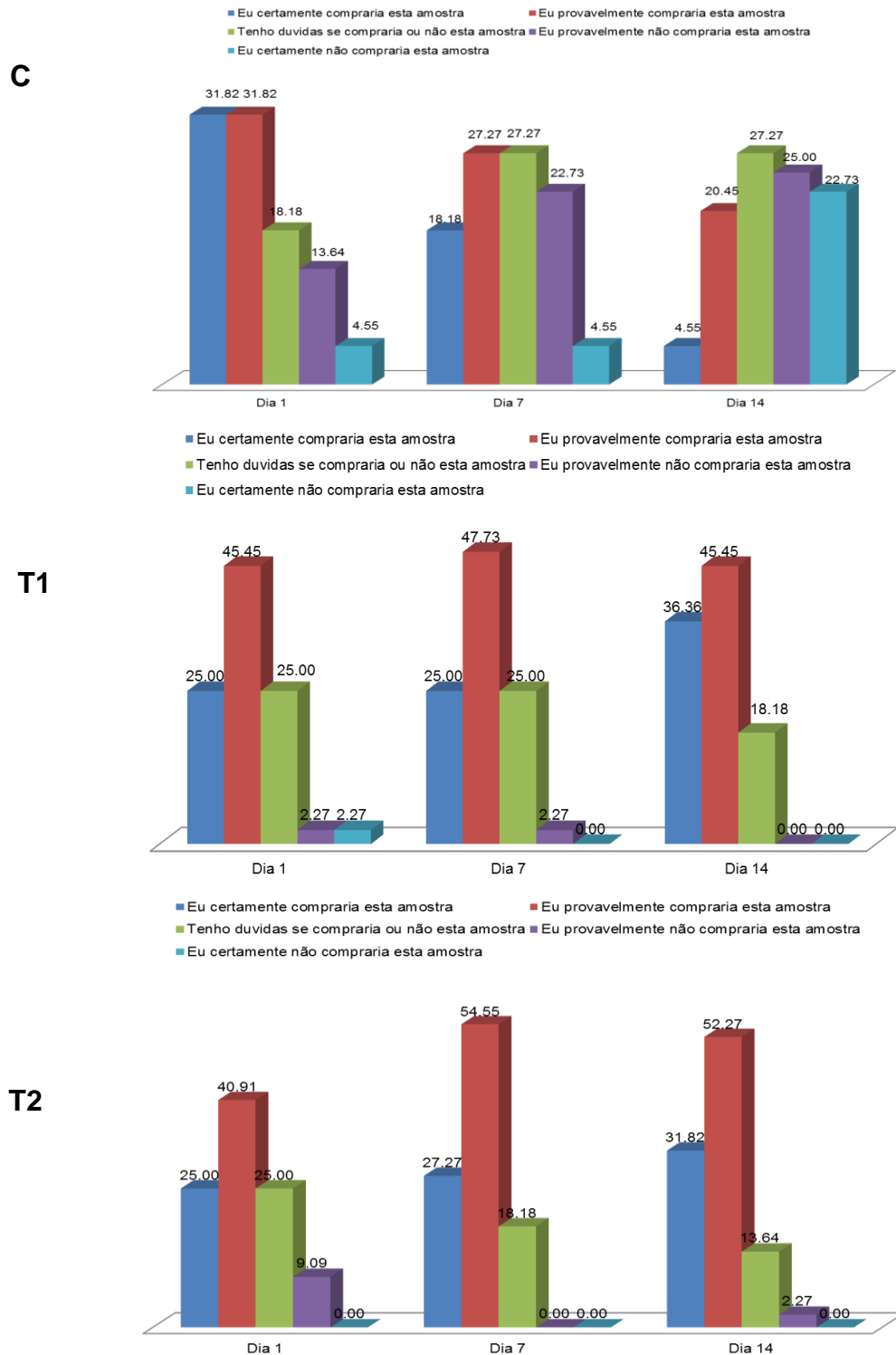


C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico.

Na Figura 33 é apresentada a intenção de compra das amostras C, T1 e T2 nos 1º, 7º e 14º dias de avaliação. As amostras T1 e T2 demonstraram que a aplicação da cobertura favoreceu a manutenção da cor e textura característica da cenoura *in natura*, pois os provadores não alegaram o aparecimento do esbranquiçamento e nem o amolecimento/murchamento até 14º dia de armazenamento.

Analisando o primeiro dia, as intenções de compra apresentaram-se equilibradas, com relação a certamente/provavelmente comprariam, as amostras C, T1 e T2 (63,64%, 70,45%, 65,91%, respectivamente). Do 7º e 14º dias de avaliação, a amostra controle caiu para menos de 50% da intenção de compra, chegando a 25% no último dia, já para as amostras com revestimentos este índice aumentou, chegando a 81,81% para T1 e 84,09% para T2.

Figura 33 - Intenção de compras pelos provadores da cenoura minimamente processada das amostras C, T1 e T2 durante os três momentos de avaliação.



C = Controle. T1 = Cenoura minimamente processada com cobertura. T2 = Cenoura minimamente processada com cobertura adicionado de probiótico

De modo geral, as amostras T1 e T2 não tiveram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas médias das notas dos atributos e da avaliação global, em nenhum dos momentos, e para frequência das notas e intenção de compra houve equilíbrio de valores entre as amostras. A

amostra T1 não obteve votos na intenção de compra provavelmente/certamente não compraria, no sétimo dia, o mesmo ocorreu com a amostra T2, no décimo quarto dia de análise, demonstrando a satisfação dos julgadores com as amostras revestidas mesmo após 14 dias de armazenamento.

5.4 CONCLUSÃO

A amostra adicionada de *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ativados na cobertura comestível finalizou no 21º dia de armazenamento com $1,9 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ de células viáveis. Apesar da queda na ordem de 10^1 UFC.g⁻¹ dos probióticos, ao final dos 21 dias de armazenamento, a cobertura à base de alginato de sódio enriquecida com água de coco demonstrou ser capaz de manter a viabilidade dos micro-organismos probióticos do que as coberturas à base de alginato ou de alginato e quitosana (Capítulo 3).

Provavelmente a partir do 14º dia de armazenamento a contagem de células viáveis dos micro-organismos probióticos não foi suficiente para limitar o crescimento de $2,75 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ de psicotróficos, entretanto os valores dos contaminantes estavam dentro da legislação vigente não oferecendo perigo microbiológico até o 21º dia de armazenamento.

A adição da água de coco e dos micro-organismos probióticos não modificaram as características sensoriais da cenoura minimamente processada, ao contrário, a união dessas substâncias com a cobertura comestível melhorou as características sensoriais da cenoura minimamente processada, o que é verificado pelas melhores médias das notas dos atributos e da intenção de compra das amostras revestidas em relação a amostra controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, M.; KIRMAC, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, London, v.104, p.93 – 99, 2007.

ALCÂNTARA, E. M. **Caracterização física, química e microbiológica de morango, alface e cenoura orgânicos**. 2009. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of A.O.A.C International**, 18 th ed., Arlington, 2005.

ALMEIDA, E. I. B.; RIBEIRO, W. S.; COSTA, L. C.; LUCENA, H. H.; BARBOSA, J. A. Análise da Eficiência de Biofilmes e Filme de PVC sobre o aumento da vida útil Pós-Colheita de Cenoura. **Revista Agropecuária Técnica**, Paraíba, v.32, n.1, 2011.

AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.4, p.319-329, 1994.

AYRES, M.; AYRES Jr. M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p. 197-201, maio/ago., 2001.

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**. Hat Yai, v.15, n. 3, p. 237-248, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 10 de janeiro de 2001.

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. **Estatística Básica**. 7ªed., São Paulo: Saraiva, 2011. 540 p.

CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, V.; GLÓRIA, M. B. A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 20, p.487–500, 1996.

CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, JR G. A. Água-de-coco: propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n.3, p. 437-452, jul./set., 2006.

CHAMPAGNE, C. P.; ROSS, R. P.; SAARELA, M.; HANSEN, K. F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as

concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food microbiology**, Amsterdam, v. 149, p. 185-193, 2011.

CHAVES, D.V. **Metabolismo de carboidratos e de fenóis no armazenamento refrigerado de cenoura**. 2009. 88f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

CONTI-SILVA, A. C.; SILVA, M. M. P.; AREAS, J. A. G. Sensory acceptability of raw and extruded bovine rumen protein in processed meat products. **Meat Science**, Barking, vol. 88, p. 652–656, 2011.

COSTA, C.; CONTE, A.; BUONOCORE, G. G.; LAVORGNA, M.; DEL NOBILE, M. A. Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots. **Food Research International**, Barking, v.48, p. 164-169, 2012.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.7, p.31-41, 1997.

DU PLESSIS, E. M.; DICKS, L. M. T.; VESCOVO, M.; TORRIANI, S.; DELLAGLIO, F. *Lactobacillus acidophilus* and related species: a review. **Annals of Microbiological Enzymology**, Milan, v.46, p. 319-340, 1996.

EMMAMBUX, N. M.; MINNAAR, A. The effect of edible coatings and polymeric packaging films on the quality of minimally processed carrots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 83, p. 1065 – 1071, 2003.

ESPITIA, P. J. P.; BATISTA, R. A.; AZEREDO, H. M. C.; OTONI, C. G. Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. **Food Research International**, Barking, v. 90, p. 42-52, 2016.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf. Ref Type: Internet Communication.

GHIDELLI, C.; MATEOS, M.; ROJAS-ARGUDO, C.; PÉREZ-GAGO, M. B. Novel approaches to control browning of fresh-cut artichoke: Effect of a soy protein-based coating and modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 99, p. 105-113, 2015.

GUIMARÃES, I. C.; MENEZES, E. G. T.; RODRIGUES, L. F.; RODRIGUES, A. C.; MONTEIRO, A. G. D. P.; REIS, K. C.; BOAS, E. V. B. V. Filme comestível à base de amido e micro/nanofibrilas de celulose de cenoura prolonga a vida útil de cenoura minimamente processada. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 34, n. 1, p.85-110, jan./jun. 2016

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs- **Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.**, 4^a Ed. 2002. The International Organization for Standardization, amendment 1: 15/07/2007.

ITO, R.; YAMAMOTO, A.; KODAMA, S.; KATO, K.; YOSHIMURA, Y.; MATSUNAGA, A. A study on the change of enantiomeric purity of catechins in green tea infusion. **Food Chemistry**, London, v. 83, p. 563-568, 2003.

IZUMI, H.; WATADA, A. E.; KO, N. P.; DOUGLAS, W. Controlled atmosphere storage of carrots slices, sticks and shreds. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 165-172, 1996.

JAYALEKSHMY, A.; MATHEW, A. G. Changes in the carbohydrates and proteins of coconut during roasting. **Food Chemistry**, London, v. 37, p.123–134, 1990.

LEE, P. R.; BOO, C. X.; LIU, S. Q. Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 63, p. 1441-1450, 2013.

LEE, J. Y.; PARK, H. J.; LEE, C. Y.; CHOI, W. Y. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agentes. **Food Science and Technology**, London, v. 36, p. 323 – 329, 2003.

LEITE, M. O. **Caracterização da qualidade nutricional, microbiológica, física e de vida útil pós-colheita de alface (*Lactuca sativa* L.) in natura, cultivadas por agricultura natural, hidropônica e método convencional, higienizadas e acondicionadas em atmosfera natural**. 2007. 97f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.

LOURENS-HATTING, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carried food. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 1-17, 2001.

MAGALHÃES, M. P.; GOMES, F. S.; MODESTA, R. C. D.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Conservação de água de coco verde por filtração com membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 72-77, 2005.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; MARTINS, M. L.; JUNIOR, B. R. C. L. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bactéria. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 36, n. 3, jul./set., 2016.

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

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P.; K. ITO (Ed.) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 a Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., Chapter 7, p. 63-67, 2001.

NAYIK, G.; MAJID, I.; KUMAR, V. Developments, in edible films and coatings for the extension of shelf life of fresh fruits. **American Journal of Nutrition and Food Science**. Barking, v. 2, n.1, p.16-20, 2015.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 38, n. 1, jan./mar., 2002.

OLIVEIRA, D. L. P. **Produção e avaliação de micropartículas lipídicas contendo *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium lactis* produzidas por spray chilling**. 2011. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

OSTLIE, H. M.; HELLAND, M. H. J.; NARVHUS, J. A. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 87, p. 17-27, 2003.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, S. A.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 100, p. 1171-1185, 2006.

PERES, C. M.; PERES, C.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; MALCATA, F. X. Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria - With an emphasis on table olives. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v.26, p. 31-42, 2012.

PÉREZ-GAGO, M. B.; SERRA, M.; DEL RÍO, M. A. Color changes of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coating. **Postharvest Biology and Technology**. Amsterdam, v.39, p.84-92, 2006.

PRADO, F. C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de bebida probiótica à base de água de coco**. 2007. 165f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, Barking, v.43, p.1 – 7, 2010.

RESENDE, J. M.; COELHO, A. F. S.; CASTRO, E. C.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; NASCIMENTO, T.; BENEDETTI, B. C. Modificações sensoriais em cenoura minimamente processada e armazenada sob refrigeração. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p. 147-150, jan./mar., 2004.

RIBEIRO, M. C. E.; CHAVES, K. S.; GEBARA, C.; INFANTE, F. N. S.; GROSSO, C. R. F.; GIGANTE, M. L. Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt, **Food Research International**, Barking, v.66, p. 424-431, 2014.

ROBLE, C.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R. T.; ROSS, P. R.; BUTLER, F. Development of potentially symbiotic fresh-cut apple slices. **Journal of Functional Foods**, London, v.2, p. 245-254, 2010.

ROJAS-GRAU, M. A.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; SOLIVA-FORTUNY, R. C.; AVENABUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; MARTIN-BELLOSO, O. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 254-264, 2007.

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42. n.1, jan./mar., 2006.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas, SP: ITAL/CETEA, 213 p., 2001.

SHORI, A. B; BABA, A. S. Survival of *Bifidobacterium bifidum* in cow- and camel- milk yogurts fortified with *Cinnamomum verum* and *Allium sativum*. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, Bahrain, v.18, p.7-11, 2015.

SILVA, E. O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, L. T. **Processamento Mínimo de Produtos Hortifrutícolas**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2011.

SILVA, T. M. S. **Água-de-coco com adição de probióticos *Lactobacillus Acidophilus***. 2012. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em Alimentos, Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha”, Marília, 2012.

SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. M.; MENEZES, M. F. C.; STEFANELLO, F. S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v.18, p. 66-75, maio, 2014.

SONG, H.; YU, W.; LIU, X.; MA, X. Improved probiotic viability in stress environments with post-culture of alginate–chitosan microencapsulated low density cells. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.108, p.10-16, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 848 p.

TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; BANHE, A. A. Comparison of culture media to recover fungi from flour and tropical fruit pulp. **Journal of Food Mycology**, England, v.2, p. 291-302, 1999.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.137, p. 360-374, 2016.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre. Artmed, 2012.

WEEMAES, C. A.; LUDIKHUYZE, I.; VAN DEN BROECK, I.; HENDRICKX, M. E.; TOBBACK, P. P. Activity, electrophoretic characteristics and heat inactivation of polyphenoloxidases from apples, avocados, grapes, pears and plums. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 31, p. 44-49, 1998.

YULIANA, N.; RANGGA, A.; RAKHMIATI. Manufacture of fermented coco milk-drink containing lactic acid bacteria cultures. **African Journal of Food Science**, Nigeria, v. 4, n.9, p. 558 - 562, set. 2010.

CONCLUSÕES GERAIS

As coberturas comestíveis de alginato, com e sem *Lactobacillus acidophilus* liofilizados, preservaram as características da cenoura minimamente processada em comparação com rodela sem cobertura, diminuindo a perda de umidade e minimizando a formação de ácidos.

As coberturas comestíveis de alginato demonstraram ser eficientes como suporte de *Lactobacillus acidophilus* liofilizados LA-14, pois a contagem de células viáveis manteve-se na ordem de $1,3 \times 10^7$ UFC.g⁻¹. Porém, não foram capazes de manter a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* ativados LA-3, que também não se manteve quando quitosana foi misturada ao alginato. Entretanto, quando alginato foi preparado em água de coco essa mesma cepa mostrou viabilidade, provando que o substrato rico em aminoácidos e sais minerais foi eficiente na manutenção dos mesmos.

Medidas de índice de esbranquiçamento em fatias com coberturas de alginato e de alginato + quitosana, com e sem *Lactobacillus acidophilus* ativados, mostraram minimização do esbranquiçamento das superfícies em comparação com amostras sem cobertura.

A incorporação dos *Lactobacillus acidophilus*, liofilizados ou ativados, nas coberturas das cenouras minimamente processadas, não alterou consideravelmente as propriedades físicas e químicas avaliadas, em comparação com as amostras sem a incorporação do micro-organismo na cobertura. Isso é atribuído ao fato do probiótico ser um mesófilo, apresentando baixa atividade metabólica à temperatura de armazenamento. Nas análises de contaminantes do Capítulo II, sua presença na cobertura de alginato provavelmente evitou o crescimento de fungos, que foi detectado nas amostras sem o micro-organismo na cobertura. Também nos Capítulos III e V, os resultados sugerem que a presença do probiótico, causou uma leve inibição no crescimento dos psicrotróficos, quando o mesmo exibia alta concentração de células viáveis.

Com a adição da água de coco na cobertura de alginato de sódio houve a melhora da viabilidade dos *Lactobacillus acidophilus* ativados LA-3, em comparação com as coberturas de alginato e quitosana e apenas alginato de sódio.

Na análise sensorial referente aos atributos de aparência, cor, sabor, aroma, textura e avaliação global, as amostras com coberturas mostraram ter um bom potencial frente ao consumidor, pois tiveram todas suas notas médias superiores as médias atribuídas às amostras sem cobertura. Na avaliação do atributo cor, no Capítulo IV, a amostra controle já não seria mais aceita no sétimo dia de armazenamento, através da nota limite de 4,5.

A adição da água de coco na cobertura comestível não alterou a percepção dos provadores, que continuaram a preferir as amostras com revestimento. Entretanto, ela viabilizou o uso da cultura LA-3, que sobreviveu mais tempo nesse substrato.

Conclui-se que as amostras com cobertura comestível estenderam a vida de prateleira da cenoura minimamente processada por pelo menos 20 dias à temperatura de $8\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, com a manutenção de características de frescor.

CONSIDERAÇÕES FUTURAS

Para iniciar com um número maior de células viáveis dos *Lactobacillus acidophilus* ativados na cobertura comestível de alginato de sódio com água de coco, poderia ser testada uma concentração dos mesmos através do processo de centrifugação dos probióticos.

Outra possibilidade de aumentar o número de cepas dos probióticos é adicionar maior volume de inóculo à cobertura comestível, porém surge o impasse da quantidade adicionada modificar as características sensoriais da cobertura comestível.

Para aumentar a vida de prateleira do produto, mantendo seu frescor, poderiam ser avaliadas outras embalagens através do estudo da taxa respiratória das cenouras minimamente processadas e das subsequentes consequências da modificação da atmosfera dentro da embalagem.

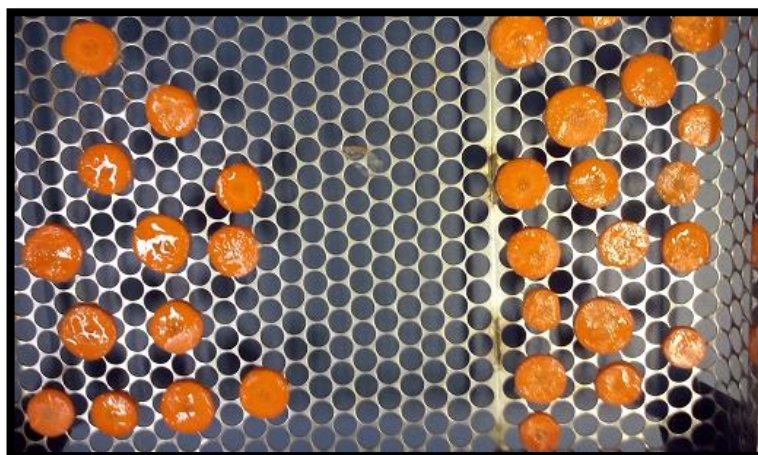
APÊNDICE A – Ensaio preliminares para estabelecimento de formulações de coberturas comestíveis à base de alginato de sódio.

O experimento teve início com um conjunto de testes preliminares, baseados inicialmente em Groppo (2007), Tapia *et al.* (2007), Tapia *et al.* (2008) e Lacey *et al.* (2012), a qual culminou em uma formulação de revestimento comestível à base de alginato de sódio, adequado ao veículo (rodela de cenoura minimamente processada).

O primeiro ensaio da cobertura comestível foi com a formulação de alginato de sódio 2%, glicerol 1,5%, tween 80 0,025%. A inserção do glicerol foi para contribuir com a retenção da umidade da cobertura e conseqüentemente da cenoura em rodela, durante o armazenamento (Gialamas *et al.* 2010). Fundamentado em Groppo (2007) foi feita primeiramente a imersão da cenoura minimamente processada na solução de CaCl_2 2%, por 1 minuto, e depois na solução à base de alginato, por 2 minutos. A partir deste momento, separaram-se em 3 blocos de 12 rodela de cenouras: dois blocos foram levados à estufa de secagem com circulação de ar (especificação), em duas temperaturas diferentes (20 °C e 30 °C) por 6 horas e o outro bloco em refrigerador à 8 °C, pelo mesmo tempo, para desidratação parcial da cobertura.

Os três blocos foram colocados separadamente em telas de aço inoxidáveis suspensas (Figura 34), para promover uma secagem uniforme das amostras. A secagem na estufa não obteve êxito, pois, mesmo antes das 6 horas, era impossível manusear o produto sem perder cobertura, e após as 6 horas, o produto apresentou aparência de desidratado. No refrigerador, as amostras conservaram seu frescor, houve problemas no momento de manusear as cenouras sem que elas perdessem a cobertura, e a tela marcou e/ou grudou à cobertura.

Figura 34: Cenouras em rodela com cobertura comestível à base de alginato de sódio dispostas em tela de aço inoxidável, antes da secagem por 6 horas, em estufa ou refrigeração.



Quando se perde cobertura, ao mesmo tempo, diminui o número de *Lactobacillus acidophilus*. Portanto, para melhorar a adesão da cobertura na cenoura, fez-se a inversão das imersões das soluções. As cenouras minimamente processadas foram mergulhadas na solução à base de alginato de sódio por 2 minutos e depois na solução de cloreto de cálcio por 1 minuto. Uma boa reticulação pode melhorar a proteção dos micro-organismos probióticos na cobertura e facilitar o manuseio do produto.

Houve inserção do óleo de girassol para diminuir a permeabilidade de água através da cobertura e modificações nas concentrações dos ingredientes escolhidos, sendo que a formulação final foi utilizada nos Capítulos II, III e IV.

APÊNDICE B – Ensaio preliminares para estabelecimento de formulações de coberturas comestíveis à base de alginato de sódio e à base de alginato de sódio e quitosana.

O primeiro passo foi a determinação das condições para a solubilização da quitosana, utilizando-se diversas concentrações de ácido acético, o mais utilizado pelos pesquisadores para dissolução (VILLADIEGO, 2004, PRANOTO; RASHIT; SALOKHE, 2005, DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006, DUTTA et al., 2009, SIMÕES et al., 2009). Também foram realizados testes com ácido láctico (CASARIEGO et al., 2008).

A princípio foi preparada uma solução à base de quitosana, sem alginato de sódio. Sua aplicação sobre a cenoura não formou película coesa, devido à sua pegajosidade, apresentava dificuldade em sua manipulação. Como essa película deveria se manter úmida, porém, gelificada, optou-se por misturá-la com alginato de sódio e aplicar o processo de reticulação através de sua imersão em solução com íons cálcio. Primeiramente, uma solução estoque de quitosana foi preparada, dissolvendo-a em ácido acético. Uma solução estoque de alginato de sódio também foi preparada, com adição de glicerol, tween 80 e óleo de girassol. As duas soluções estoque foram misturadas para a formação da cobertura. As rodela de cenoura foram mergulhadas nessa solução e, em seguida, na solução com os íons cálcio (LEE; CHA; PARK, 2004, MORTAZAVIAN et al., 2008, ARZATE-VÁZQUEZ et al., 2012, SOUZA et al., 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARZATE-VÁZQUEZ, I.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; CALDERÓN-DOMÍNQUEZ, G.; TERRES-ROJAS, E.; GARIBAY-FEBLES, V.; MARTINEZ-RIVAS, A.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 289-299, 2012.
- CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, L.; DIAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, p. 1452-1459, 2008.
- DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildford, v.17, p. 336-341, 2006.
- DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1173 – 1182, 2009.
- GIALAMAS, H.; ZINOVIADOU, K. G.; BILIADERIS, C. G.; KOUSTSOUMANIS, K. P. Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of *Lactobacillus sakei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Research International**, Barking, v. 43, p. 2402–2408, 2010.
- GROPPO, V. D. **Laranja ‘Pêra’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck) minimamente processada: efeito de cloreto de cálcio e película de alginato de sódio na fisiologia e conservação.** 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.
- LACEY, A. M. L. de; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-ESTACA, J.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v.16, p. 277-282. 2012.
- LEE, J. S.; CHA, D. S.; PARK, H. J. Survival of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* KFTI 673 in chitosan-coated calcium alginate microparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 7300-7305, 2004.
- MORTAZAVIAN, A. M.; EHSANI, M. R.; AZIZI, A.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, S. M.; SOHRABVANDI, S. Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 63, p. 24–29. 2008.
- PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RASKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 267-272, 2005.
- SIMÕES, A. D. N.; TUDELA, J. A.; ALLENDRE, A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M. I. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance

phytochemicals of carrot sticks. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 364-370, 2009.

SOUZA, M. P.; VAZ, A. F. M.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Effect of an edible nanomultilayer coating by electrostatic self-assembly on the shelf life of fresh-cut mangoes. **Food and Bioprocess Technology**, United States, v. 8, p. 647-654, 2015.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; CAMONA, A.; RODRIGUEZ, F. J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Use of alginate and gellan based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, p. 1493–1503. 2008.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; RODRÍGUEZ, F. J.; RAMÍREZ, J.; CARMONA, A.; MARTIN-BELLOSO, O. Alginate- and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 2, p. 190-196, 2007.

VILLADIEGO, A. M. D. **Desenvolvimento de um revestimento comestível antimicrobiano à base de amido de inhame com quitosana na conservação de cenoura minimamente processada**. 2004. 128 f. Tese (Doutorado em ciência e tecnologia em alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.