

Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM
Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica - PMPIT

Sabrina Miqueletti dos Santos

Filmes ativos comestíveis elaborados com óleos essenciais aplicados em maçãs
minimamente processadas

Uberaba - MG

2016

Sabrina Miqueletti dos Santos

Filmes ativos comestíveis elaborados com óleos essenciais aplicados em maçãs
minimamente processadas

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, área de concentração “Desenvolvimento e Aplicação de Bioprocessos na Indústria”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Inovação Tecnológica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Hitomi Okura

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Granato Malpass

Uberaba – MG

2016

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

S238f Santos, Sabrina Miqueletti dos
Filmes ativos comestíveis elaborados com óleos essenciais aplicados em maçãs minimamente processadas / Sabrina Miqueletti dos Santos. -- 2016.
59 f. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2016
Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Granato Malpass

1. Essências e óleos essenciais. 2. Frutas. 3. Canela. 4. Maçã. I. Okura, Mônica Hitomi. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 665.52/.54

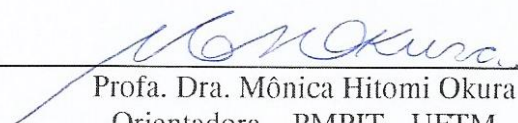
SABRINA MIQUELETTI DOS SANTOS

FILMES ATIVOS COMESTÍVEIS ELABORADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS APLICADOS EM MAÇÃS MINIMAMENTE PROCESSADAS


Trabalho de conclusão apresentado ao
Programa de Mestrado Profissional em
Inovação Tecnológica da Universidade
Federal do Triângulo Mineiro, como requisito
para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 30 de março de 2016


Banca Examinadora:



Prof. Dra. Mônica Hitomi Okura
Orientadora – PMPIT - UFTM



Prof. Dra. Carolina Rodrigues da Fonseca
Membro Titular – UFTM



Prof. Dr. Foued Salmen Espindola
Membro titular – UFU

AGRADECIMENTOS

À Deus pela força e amparo nos momentos de dificuldades e por ser a luz do meu caminho.

Aos meus pais, Antonio e Arlete, pelo carinho, paciência, incentivo e por sempre acreditarem em minha capacidade.

Às minhas orientadoras, Mônica e Ana Claudia, que acreditaram em meu potencial e por estarem sempre dispostas a ajudar. Vocês foram e são minhas referências profissionais e pessoais, e como sempre mais do que orientadoras, vocês foram conselheiras, mães e amigas.

Aos docentes Geoffroy e Lúcia Scatena pelo auxílio em algumas análises e na parte estatística do trabalho.

Aos demais docentes do programa que de alguma forma contribuíram para minha formação profissional.

Ao Jairo, pelo apoio incondicional em todas as etapas e por sempre acreditar que o melhor ainda está por vir.

Aos amigos no Núcleo de Inovação Tecnológica, pelos momentos compartilhados.

Aos demais amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro pela autorização para uso do colorímetro.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei;
não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar.
Mesmo as críticas nos auxiliam muito”

Francisco Cândido Xavier

RESUMO

A necessidade de uma alimentação saudável aliada ao ritmo de vida acelerado tem sido responsáveis pelo aumento na demanda por produtos minimamente processados, como as frutas, que proporcionam ao consumidor um produto conveniente, prático e que mantém as características bem próximas do produto fresco. Apesar de tudo, o processamento mínimo torna as frutas mais perecíveis. Assim, o objetivo deste trabalho foi a elaboração de filmes ativos comestíveis a base de alginato de sódio com óleos essenciais de canela e de noz-moscada e a aplicação destes em maçãs minimamente processadas. A fim de verificar a real eficácia dos filmes, as amostras de maçã foram contaminadas com *Escherichia coli* e *Penicillium commune*, separadamente. Primeiramente, encontrou-se a concentração inibitória mínima dos óleos frente a cada microrganismo e após foram realizados quatro tratamentos: Maçã controle (MC1), Maçã com filme de alginato (MC2), Maçã com filme de alginato e óleo essencial de canela (MOC) e Maçã com filme de alginato e óleo essencial de noz-moscada (MONm). As análises realizadas foram: Microscopia dos filmes, cor e avaliação microbiológica. As concentrações inibitórias mínimas encontradas foram: 1,32 mg.mL⁻¹ para o óleo essencial de canela e 2,30 mg.mL⁻¹ para o óleo essencial de noz-moscada, frente a ambos microrganismos. A espessura de todos os filmes foram de 120 µm e eles apresentaram-se homogêneos, cobrindo toda a superfície da fruta e com boa adesão. Ao longo dos cinco e nove dias de armazenamento, nos tratamentos MOC e MONm houve redução significativa da contagem de *Escherichia coli* e *Penicillium commune*, quando comparados com o tratamento MC1. Quanto ao escurecimento enzimático, houve redução significativa do índice nos tratamentos MC2, MOC e MONm, quando comparados com o tratamento MC1. Portanto, de acordo com o apresentado, comprova-se que a utilização de filmes ativos comestíveis à base de alginato de sódio incorporado de óleos essenciais de canela e de noz-moscada em maçãs minimamente processadas foi bastante satisfatória quando comparado às maçãs sem o filme.

Palavras-chave: Revestimentos comestíveis. Frutas. Canela. Noz-moscada.

ABSTRACT

The need for a healthy diet combined with the fast rate of life have been responsible for the increase in demand for fresh-cut products, such as fruits, which provide consumers with a convenient product, practical and keeps very close characteristics of the fresh product. After all, the fresh-cut fruits are more perishable. The goal of this study was the development of active edible coating of sodium alginate-based with essential oils of cinnamon and nutmeg and its application in fresh-cut apples. In order to determine the true efficacy of the coating, the apple samples were contaminated separately with *Escherichia coli* and *Penicillium commune*. First, the minimum inhibitory concentration of oils against each microorganism was found and after it was performed four treatments: Apple control (MC1), Apple with alginate coating (MC2), Apple with alginate coating and cinnamon oil (MOC) and apple with alginate coating and nutmeg oil (MONm). The analyzes were: Microscopy of coating, color and microbiological. The minimum inhibitory concentrations were: 1.32 mg.mL⁻¹ for cinnamon oil and 2.30 mg.mL⁻¹ for nutmeg oil, against both microorganisms. The thickness of all coatings were 120 µm and they were homogenous, covering all surface of the fruit, presenting good adhesion. During the days of storage, in the MOC and MONm treatments presented significant reduction of the counts of *Escherichia coli* and *Penicillium commune*, compared to MC1 treatment. As for enzymatic browning, the MC2, MOC and MONm treatments there were a significant reduction in the rate when compared to MC1 treatment. Therefore, according to the results, the use of active edible coating of sodium alginate-based with essential oils of cinnamon and nutmeg in fresh-cut apples was quite satisfactory when compared to apples without coatings.

Keywords: Edible coating. Fruits. Cinnamon. Nutmeg.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura dos monômeros constituintes e um segmento de cadeia do alginato.....	22
Figura 2 - Formação da rede de gel de alginato com cadeias homopoliméricas unidas através dos íons cálcio.....	23
Figura 3 - Estrutura química do Cinamaldeído.....	26
Figura 4 - Estruturas químicas dos isômeros ópticos do Pineno.....	28
Figura 5 - Exemplo da utilização da placa de microdiluição com as concentrações de cada óleo.....	31
Figura 6 - Sanitização, inoculação dos microrganismos e aplicação dos filmes nas maçãs.....	32
Figura 7 - Secagem dos filmes e acondicionamento.....	33
Figura 8 - Fluxograma de elaboração das amostras de maçã.....	34
Figura 9 - Representação das coordenadas L*, a* e b* do espaço de cor L*a*b* através de sólido colorido.....	36
Figura 10 - Placas de microdiluição apresentando a CIM de cada microrganismo.....	37
Figura 11 - Micrografias das amostras de maçã contendo os filmes de alginato reticulados com íons Ca ²⁺ , com destaque para as espessuras dos filmes mensuradas a partir de seção transversal das amostras.....	39
Figura 12 - Gráfico comparativo entre as contagens de <i>Escherichia coli</i> de cada tratamento ao longo dos cinco dias de armazenamento.....	41
Figura 13 - Gráfico comparativo entre as contagens de <i>Penicillium commune</i> de cada tratamento ao longo dos nove dias de armazenamento.....	44
Figura 14 - Aspecto visual das amostras dos tratamentos para análise do <i>Penicillium commune</i> no 5º dia de armazenamento.....	45
Figura 15 - Gráfico comparativo entre os Índices de Escurecimento dos tratamentos ao longo dos cinco dias de armazenamento.....	46
Figura 16 - Aspecto visual das amostras de maçã utilizadas na análise de cor no quinto dia de armazenamento.....	48

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Concentrações mínimas inibitórias (CIM) dos óleos de canela e noz-moscada frente à <i>Escherichia coli</i> e <i>Penicillium commune</i>	37
Tabela 2 - Comparação entre as médias das contagens de <i>Escherichia coli</i> , em log UFC.g ⁻¹ , de cada um dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.....	58
Tabela 3 - Comparação entre as médias das contagens de <i>Penicillium commune</i> , em log UFC.g ⁻¹ , de cada um dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.....	59
Tabela 4 - Comparação entre as médias do Índice de Escurecimento dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.....	60
Quadro 1 - Especificações técnicas do óleo essencial de <i>Cinnamomum cassia</i>	29
Quadro 2 - Especificações técnicas do óleo essencial <i>Myristica fragans</i>	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 FRUTAS E HORTALIÇAS MINIMAMENTE PROCESSADAS	16
3.1.1 Maçã	17
3.2 EMBALAGENS ATIVAS	19
3.2.1. Embalagens antimicrobianas	19
3.2.1.1 <i>Filmes antimicrobianos</i>	20
3.2.1.1.1 Alginato de sódio	21
3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS	24
3.3.1 <i>Cinnamomum cassia</i> (Canela cássia)	25
3.3.2 <i>Myristica fragrans</i> (Noz-moscada)	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 MICRORGANISMOS	29
4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS DA CANELA E NOZ-MOSCADA	29
4.3 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	30
4.4 ELABORAÇÃO DOS FILMES ATIVOS E APLICAÇÃO EM MAÇÃS MINIMAMENTE PROCESSADAS	32
4.5 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DOS FILMES ATIVOS NAS MAÇÃS	34
4.6. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	34
4.6.1. <i>Escherichia coli</i> – Plaqueamento em profundidade (<i>Pour plate</i>)	35
4.6.2 <i>Penicillium commune</i> – Plaqueamento em superfície (<i>Spread plate</i>)	35
4.7 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO	35
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	37
5.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DOS FILMES ATIVOS NAS MAÇÃS	39
5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	41
5.3.1 <i>Escherichia coli</i>	41

5.3.2 <i>Penicillium commune</i>	43
5.4 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO.....	46
6 CONCLUSÕES	49
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXO A	58
ANEXO B	59
ANEXO C	60

1 INTRODUÇÃO

Alimentação equilibrada aliada ao ritmo de vida acelerado tem sido um grande desafio da população, levando a um aumento na demanda por produtos fáceis de preparar, prontos para consumir, que permitem a economia de tempo e esforço dos consumidores, como produtos em pequenas porções, embalagens de fácil abertura, fechamento e descarte, com destaque para produtos com o preparo em forno de micro-ondas.

Com isso, surge também a preocupação com o bem-estar do ser humano, proporcionando o aparecimento de alimentos convenientes e práticos, mas saudáveis, tais como bebidas à base de frutas, frutas minimamente processadas, biscoitos com cereais, *snacks* de vegetais, iogurtes, entre outros. Segundo pesquisa encomendada pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP), realizada nas nove principais regiões metropolitanas do Brasil, a tendência de consumir produtos convenientes e práticos representa 34% dos consumidores, sendo as principais prioridades na hora da compra. De maneira geral, tais consumidores confiam na qualidade desses produtos e afirmaram que aumentariam o consumo se os preços fossem mais atraentes (IBOPE, 2010).

Neste contexto, foram introduzidas as frutas e hortaliças minimamente processadas, as quais passam por operações de descascamento, corte, sanitização, centrifugação e acondicionamento em embalagens apropriadas. Elas surgiram para proporcionar ao consumidor um produto conveniente, prático e que mantém as características bem próximas ao produto fresco (GOMES et al., 2005; SEBRAE, 2008).

Como as frutas e hortaliças são fundamentais na alimentação, o consumo dos minimamente processados tem aumentado, conquistando cada vez mais a preferência do consumidor. Mesmo com todas as vantagens citadas, o processamento mínimo de frutas, verduras e hortaliças possui certas limitações que dificultam sua comercialização. No geral, estes produtos são mais perecíveis devido às operações de descascamento e corte, pois logo após o tecido vegetal ser cortado e exposto ao oxigênio, as enzimas oxidativas começam a agir, provocando o escurecimento enzimático (SILVA et al., 2011; PIZATO et al., 2013).

Além disso, após a colheita, os sistemas biológicos das frutas, hortaliças e vegetais mantêm-se ativos, liberando gases e umidade na atmosfera dentro da

embalagem, favorecendo o crescimento de microrganismos deteriorantes (ANYADIKE, 2010).

Com o propósito de evitar o escurecimento e a contaminação dos minimamente processados podem ser utilizadas embalagens ativas que basicamente imitam a barreira natural cuticular e atuam como carreadores de compostos antimicrobianos, antioxidantes, entre outros, estendendo a vida útil dos produtos (SILVA et al., 2011; ANYADIKE, 2010; LUVIELMO; LAMAS, 2012).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo a elaboração de filmes ativos comestíveis à base de alginato de sódio incorporados de óleos essenciais e a aplicação destes em maçãs minimamente processadas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso dos óleos essenciais de canela e de noz-moscada, incorporados em filme comestível à base de alginato de sódio, visando o prolongamento da vida útil e a inocuidade de maçãs minimamente processadas durante o armazenamento refrigerado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Encontrar a concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais de canela e noz-moscada, pela técnica de microdiluição em caldo, contra *Escherichia coli* e *Penicillium commune*;
- Elaborar os filmes à base de alginato de sódio contendo os óleos essenciais de canela e de noz-moscada, aplicando-os em maçãs minimamente processadas, contaminadas com os microrganismos acima citados;
- Analisar a microscopia do filme na maçã, o escurecimento enzimático e o crescimento microbiológico nas amostras durante cinco dias (*E. coli*) e nove dias (*P. commune*) de armazenamento refrigerado.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FRUTAS E HORTALIÇAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Guia Alimentar Brasileiro recomendam o consumo de 400 g de frutas, legumes e verduras por dia. No entanto, menos de 10% da população brasileira consome esta quantidade. Cerca de 90% dos homens consomem apenas 4,9 g/dia de frutas, verduras e legumes, enquanto 90% das mulheres consomem 7,4 g/dia (IBGE, 2011).

Esse consumo muito aquém do recomendado deve-se principalmente à falta de hábito, sabor não agradável, tempo disponível para preparo e consumo, e também a elevada perecibilidade destes alimentos (SILVA, 2011). Com o intuito de proporcionar ao consumidor um produto conveniente, prático e que mantém as características bem próximas do produto fresco, surgiram as frutas e hortaliças minimamente processadas (MP) que, por definição, são aquelas que passam por operações de descascamento, corte, sanitização, centrifugação e acondicionamento em embalagens apropriadas que garantam suas qualidades sensoriais, nutricionais e microbiológicas até a venda ao consumidor final (GOMES et al., 2005; SEBRAE, 2008).

Segundo Cenci (2011), para manter a qualidade, segurança e vida útil dos MP, alguns fatores são determinantes, como o escurecimento enzimático, a deterioração microbiana, a descoloração da superfície, a senescência causada pelo etileno e respiração do produto e a perda de valor nutricional.

As etapas do processamento mínimo causam injúrias nas células vegetais levando a um aumento da taxa metabólica, ocasionando todos os problemas citados. O escurecimento enzimático acontece quando o tecido vegetal, rico em enzimas oxidativas, é exposto ao oxigênio, mesmo em temperaturas baixas e curto espaço de tempo (CENCI, 2011; SILVA et al., 2011; PIZATO et al., 2013).

Já o crescimento microbiológico causa sérias alterações como odores e sabores indesejáveis, alteração da cor e textura do vegetal, além de representar risco ao consumidor. A descoloração da superfície ocorre por problemas no corte, na centrifugação e pela desidratação do produto. A senescência ocorre principalmente em vegetais folhosos, produtos que respiram muito e são sensíveis ao etileno (CENCI, 2011).

Além da conveniência e praticidade, os minimamente processados reduzem de maneira significativa as perdas pós-colheita, já que através do emprego de tecnologias e processos adequados, os produtos que não atendem às exigências do mercado consumidor são transformados em alimentos aptos para o consumo (SANTOS; SILVA, 2010). O período chamado pós-colheita, que é aquele que se estende da colheita até o consumo do produto, é caracterizado por grandes perdas por deteriorações, visto que os produtos agrícolas mantêm ativos os processos biológicos vitais e combinado ao alto teor de água em sua composição, os tornam altamente perecíveis (RINALDI, 2011).

Estatísticas mundiais das perdas pós-colheita nos países em desenvolvimento são alarmantes. Estima-se que estas são superiores a 15% e algumas vezes alcançam 80% (CENCI et al., 1997). No Brasil, estima-se que ocorram perdas de até 40% das frutas e hortaliças produzidas (RINALDI, 2011). As causas dessas perdas têm origem microbiológica ou são devidas à manipulação e acondicionamento inadequados, sazonalidade ou armazenamento insuficiente (FRANCO; LANDGRAF, 2001).

Apesar de todas as desvantagens da comercialização dos MP, o consumo dos mesmos está em constante ascensão, já que o ritmo de vida dos consumidores não permite a demora no preparo de refeições. Eles entram no mercado oferecendo alimentos frescos, saudáveis e muitas vezes prontos para o consumo (SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

3.1.1 Maçã

A macieira é um híbrido complexo pertencente à família *Rosaceae*, subfamília *Pomoideae*, gênero *Malus* e espécie *Malus domestica*. Nesta família existem outras espécies frutíferas conhecidas, como a pereira, o pessegueiro, a ameixeira, a cerejeira, entre outras (FIORAVANÇO, 2013). Por ser uma árvore típica de clima frio, ou seja, para o seu melhor desenvolvimento, floração e frutificação ela exige determinadas condições climáticas, a região Sul é responsável por cerca de 99% da produção nacional (FIORAVANÇO, 2013; IBGE, 2014).

A maçã é uma das frutas mais produzidas no Brasil. Segundo dados da Produção Agrícola Municipal, o Brasil produziu em 2014, 1.378.617 toneladas de maçã (IBGE, 2014). O consumo alimentar médio de maçã é de 11,6 g/dia e o consumidor brasileiro prefere maçãs de tamanho médio, sabor doce, com baixa

acidez, firmes, suculentas, crocantes e com casca vermelha, características estas que são encontradas nas variedades “Gala” e “Fuji” (IBGE, 2011; DENARDI et al., 2013).

Grande parte da safra colhida durante os primeiros meses do ano é armazenada em câmaras frias, garantindo o abastecimento ao longo de todo o ano. A variedade “Gala” é colhida em fevereiro e armazenada até dezembro, enquanto a variedade “Fuji”, colhida em abril, é armazenada até fevereiro do ano seguinte, graças às tecnologias empregadas como armazenamento em câmaras frias, atmosfera de gases controlada, entre outras (FAGUNDES, 2009; BRASIL, 2013).

Cerca de 80% das maçãs produzidas no Brasil é destinada ao consumo *in natura* e os 20% restantes são usados na fabricação de derivados, como sucos, sidra, vinagre, geleia, compota, purês, chips, maçã desidratada, polpa para alimentos infantis, doces, iogurtes, entre outros (FIORAVANÇO; SILVEIRA, 2013).

Segundo Antonioli e Alves (2013), as causas das perdas pós-colheita de maçãs são podridões, distúrbios fisiológicos e danos mecânicos por impacto. Já das doenças típicas de pós-colheita, o mofo-azul (*Penicillium expansum*) é a mais importante, seguido do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), podridão-marrom (*Alternaria alternata*) e podridão-de-rhizopus (*Rhizopus sp.*).

Os danos mecânicos por impacto causam a deterioração da polpa, que adquire aspecto corticoso e tonalidades escurecidas por causa da atividade de enzimas oxidativas. Além disso, os danos mecânicos aceleram o metabolismo do fruto, antecipando a senescência e reduzindo a vida útil pós-colheita (ANTONIOILLI; ALVES, 2013).

Como mencionado anteriormente, a conveniência e a praticidade levam os consumidores a demandar produtos prontos para o consumo, mas que não percam as qualidades nutricionais e sensoriais, surgindo então as maçãs minimamente processadas (PAGANI et al., 2012). A principal dificuldade na comercialização de maçãs minimamente processadas é o escurecimento enzimático, seguido de perda de umidade, perda de textura e crescimento microbiano. O escurecimento ocorre logo após o tecido vegetal ser cortado, descompartmentando os substratos e enzimas oxidativas, e expondo os tecidos ao oxigênio (SILVA et al., 2011; PIZATO et al., 2013). Além disso, após a colheita, os sistemas biológicos das frutas, hortaliças e vegetais mantêm-se ativos, liberando gases e umidade na atmosfera

dentro da embalagem, favorecendo o crescimento de microrganismos deteriorantes (ANYADIKE, 2010).

O controle dos processos fisiológicos é a chave para conservação dos MP e isso pode ser feito pela embalagem, pois determinando a atmosfera ao redor do produto, pode-se retardar o metabolismo do mesmo e assim preservá-lo. Para isso, são utilizadas embalagens ativas e/ou com atmosfera modificada, combinadas com refrigeração e outras barreiras ao crescimento microbiano introduzidas durante o processamento (SARANTÓPOULOS, 2011; SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

3.2 EMBALAGENS ATIVAS

As embalagens ativas, também chamadas de *smart packages*, além das funções básicas de toda embalagem, atuam sobre o alimento visando o aumento de sua vida útil e a segurança microbiológica. O princípio ativo pode estar associado às características de cada polímero ou provir de aditivos incorporados. Como exemplo tem-se embalagens com absorvedores de oxigênio, de CO₂, de etileno, absorvedores/controladores de umidade, emissores de etanol, de CO₂, de SO₂, de aromas, filmes antimicrobianos, antioxidantes, entre outros (SARANTÓPOULOS; DANTAS, 2012; SILVA et al., 2011; ANYADIKE, 2010; LUVIELMO; LAMAS, 2012).

Este grupo de embalagens subdivide-se em dois: embalagens que absorvem compostos prejudiciais ao produto e aquelas que liberam compostos que melhoram as propriedades e/ou aumentam a vida útil do produto (SARANTÓPOULOS; DANTAS, 2012).

3.2.1. Embalagens antimicrobianas

As embalagens antimicrobianas possuem o intuito de potencializar as funções da embalagem convencional, ou seja, garantir a segurança do alimento, mantendo sua qualidade e, conseqüentemente, estendendo a sua vida útil. Também podem ser classificadas em dois tipos: aquelas em que o agente antimicrobiano migra para a superfície do alimento e aquelas em que a própria embalagem é efetiva no controle do crescimento microbiano (SARANTÓPOULOS; DANTAS, 2012).

Dentre aquelas que liberam compostos estão os filmes antimicrobianos, nos quais são incorporados compostos capazes de inibir o crescimento de microrganismos através da liberação controlada. Vários compostos sintéticos, naturais e probióticos têm sido incorporados em filmes, a exemplo dos ácidos e

ésteres orgânicos, das enzimas, bacteriocinas, extratos naturais de plantas, óleos essenciais de especiarias e ervas, íons metálicos e gases (ANYADIKE, 2010; TURBIANI; KIECKBUSCH; GIMENES, 2011; (SARANTÓPOULOS; DANTAS, 2012).

Atualmente, o foco dos estudos com embalagens antimicrobianas são os mecanismos de ação dos agentes antimicrobianos, a cinética de liberação e a incorporação dos mesmos nos polímeros. Além disso, é necessário atentar-se para o atendimento da legislação quanto ao contato da substância com o alimento, as doses a serem utilizadas, efeitos adversos sobre o produto, sobre a saúde do consumidor e sobre o meio ambiente.

3.2.1.1 Filmes antimicrobianos

Filmes são embalagens de fina espessura, preparados a partir de moléculas biológicas, que são utilizados para envolver produtos, protegendo-os e aumentando sua vida útil. Como mencionado anteriormente, podem carrear substâncias antimicrobianas e antioxidantes, sendo denominados filmes ativos (UGALDE, 2014).

Para a elaboração dos filmes são utilizados polissacarídeos, proteínas, lipídios ou uma combinação destes compostos, permitindo a exploração das características funcionais de cada classe. Para melhorar a flexibilidade, força e resistência dos filmes faz-se o uso de plastificantes, como o glicerol e o sorbitol (LUVIELMO; LAMAS, 2012). Filmes obtidos a partir das matérias-primas citadas são econômicos, biodegradáveis e podem ser consumidos em conjunto com o produto (UGALDE, 2014).

Nos minimamente processados, o propósito dos filmes é basicamente imitar a barreira natural cuticular, nos casos onde ela foi removida pelas etapas do processamento. Além disso, modificam a atmosfera interna do alimento, através da formação de uma barreira a gases e vapor de água, retardando a mudança de cor, reduzindo a perda de umidade e melhorando a aparência do produto (SILVA et al., 2011; ANYADIKE, 2010).

Revestimentos à base de goma xantana foram eficientes na conservação do mamão “Formosa” minimamente processado, propiciando redução da perda de massa e manutenção da luminosidade (CORTEZ-VEGA et al., 2013). De acordo com os resultados obtidos por Serpa et al. (2014), revestimentos à base de fécula de mandioca preparados com água de cravo e canela aplicados em mangas “Palmer” foram eficientes na redução de fitopatógenos durante o armazenamento.

Resultados obtidos por Assis e Britto (2011) mostram que revestimentos sem aditivos e a base de quitosana foram bem-sucedidos na proteção de maçãs minimamente processadas contra a contaminação por fungos. Filmes de quitosana elaborados por Avila-Sosa et al. (2012) com incorporação de óleo de orégano e canela inibiram o crescimento de *Aspergillus niger* e *Penicillium digitatum*, podendo ser aplicados em alimentos visando a manutenção da qualidade dos mesmos.

Em revestimentos testados por Mehyar et al. (2011), a incorporação de sorbato de potássio em filmes à base de amido de ervilha e goma *guar* melhorou a atividade antifúngica contra fungos deteriorantes de maçãs, pepinos e tomates, durante armazenamento refrigerado.

3.2.1.1.1 Alginato de sódio

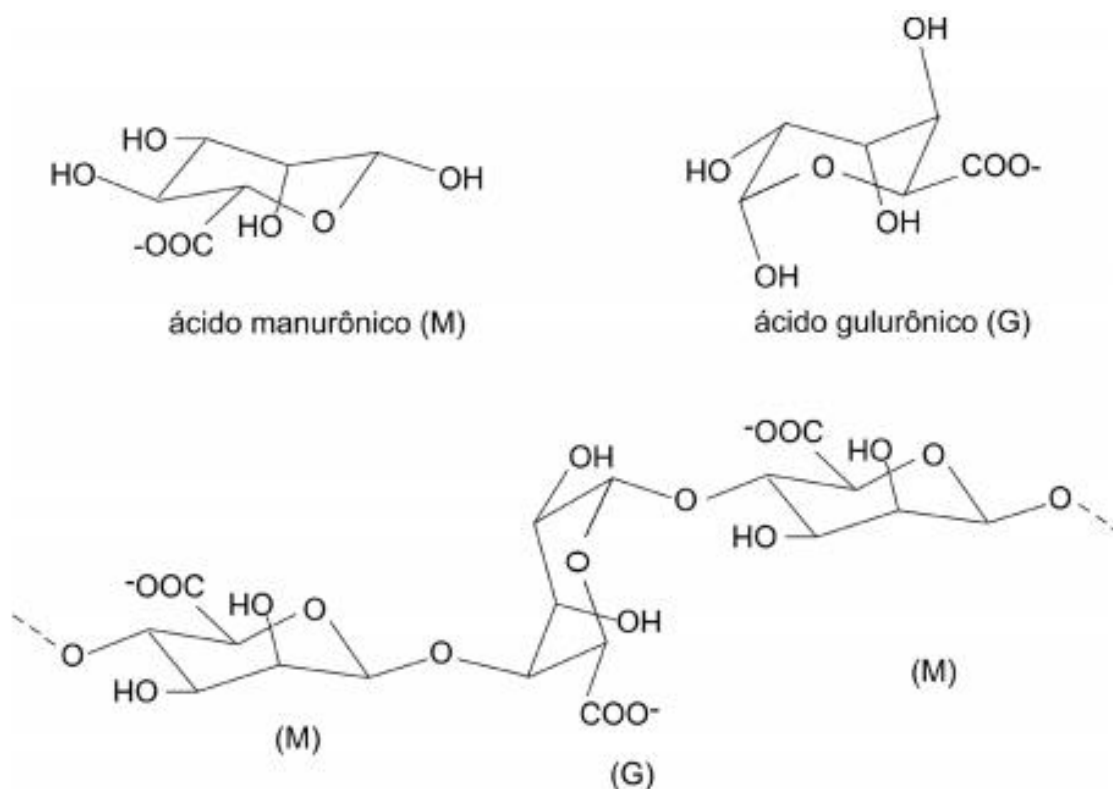
O alginato de sódio é um dos polissacarídeos utilizados na elaboração de filmes, visto que possui boa barreira a O₂ e CO₂, sendo eficiente para diminuir a respiração e o processo de amadurecimento de frutas e hortaliças (AZEREDO et al., 2011).

O alginato utilizado atualmente é extraído de algas marrons coletadas em regiões costeiras no mar, no entanto, ocorre uma exploração não controlada das mesmas. Como alternativa, tem-se a utilização de microrganismos dos gêneros *Pseudomonas* (*P. florencens*, *P. mendocina* e *P. putida*) e *Azotobacter*. Sob condições controladas e utilizando substratos de qualidade constante obtêm-se o alginato com as características semelhantes ao extraído das algas (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2013).

Este é um copolímero linear constituído de ácidos α -L-gulurônicos (G) e β -D-manurônicos (M) que se agrupam em blocos sequenciais através de ligações glicosídicas entre os carbonos C1 e C4 (Figura 1). As propriedades físicas e químicas da molécula de alginato são determinadas de acordo com a proporção, distribuição e comprimento dos blocos (BRESSEL, 2007).

Alginatos que formam géis mais rígidos e resistentes possuem maiores concentrações de blocos G. Embora os blocos M também formem ligações intermoleculares, estas são menos efetivas do que as formadas pelos blocos G (TEIXEIRA, 2011).

Figura 1 - Estrutura dos monômeros constituintes e um segmento de cadeia do alginato.



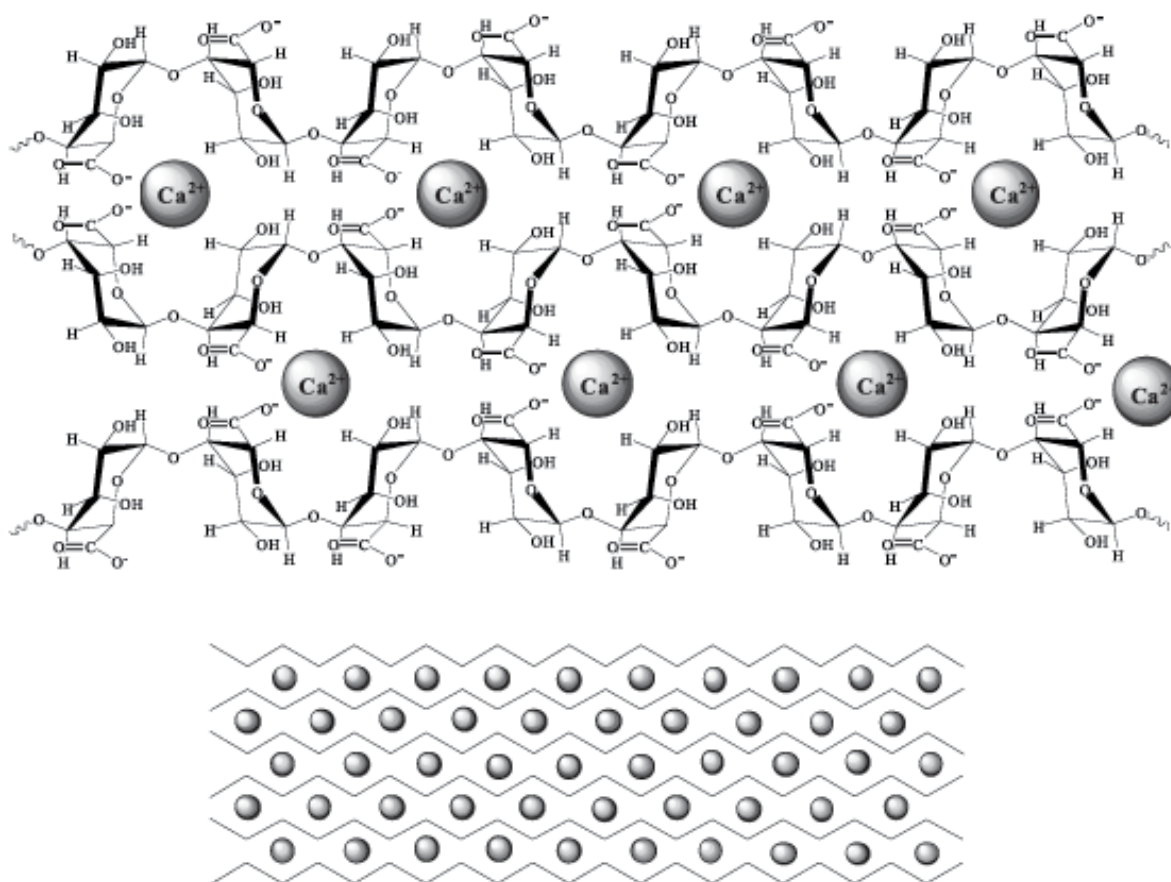
Fonte: Azeredo et al., 2011.

O alginato é amplamente utilizado na indústria de alimentos, em função de suas características de espessante, estabilizante de emulsões e de espuma, agente de encapsulação, agente de geleificação, agente de formação de filmes e de fibras sintéticas (MÜLLER; SANTOS; BRIGUDO, 2011). Como exemplo, são utilizados em sorvetes, produtos lácteos e misturas para bolos, estabilizante de espuma em cervejas, estabilizante de suspensões em sucos, entre outros (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2013).

Para ocorrer a formação do gel é necessária a presença de um cátion divalente (Ca^{2+} , Mg^{2+}). Com isso, os blocos G do alginato se alinham lado a lado formando uma rede tridimensional que acomoda o cátion em seu interior, gerando uma estrutura chamada “egg-box” (caixa de ovos), como mostrado na Figura 2.

Fontes et al. (2008) e Pagani et al. (2012) salientaram que o uso de películas comestíveis, como por exemplo as de alginato de sódio, em maçãs minimamente processadas resultou em um retardo na degradação natural, com menores índices de escurecimento e sem alteração da cor natural.

Figura 2 - Formação da rede de gel de alginato com cadeias homopoliméricas unidas através dos íons cálcio.



Fonte: Adaptado de Kawaguti e Sato (2008).

Um estudo realizado por Groppo et al. (2009) em laranjas minimamente processadas tratadas com alginato de sódio e cloreto de cálcio, ressaltou a boa aceitação por parte dos provadores, que justificaram o interesse de compra pela praticidade que o produto oferece, por ser bastante atraente e pela facilidade de consumo.

Frutos de amora-preta minimamente processados, revestidos com alginato de sódio, apresentaram aceitação sensorial e características físicas e químicas semelhantes aos frutos *in natura* segundo estudo realizado por Meneghel et al. (2008).

Sipahi et al. (2013) estudaram melancias minimamente processadas com filmes multicamadas à base de alginato e relataram que as amostras revestidas tinham a textura preservada e significativamente menor perda de peso. Além disso, o sabor das amostras revestidas foi aceitável sensorialmente até o 13º dia de

armazenamento, enquanto as amostras sem revestimento já mostravam sinais de deterioração.

Além dos minimamente processados, filmes à base de alginato são utilizados na pós-colheita de frutos, a fim de manter a qualidade e diminuir perdas. Isto foi relatado por Chiabrando e Giacalone (2015), em estudo com cerejas revestidas com filme de alginato. Os resultados demonstraram que o tratamento retarda a perda de peso, o amolecimento e alterações de cor dos frutos na pós-colheita.

O mesmo foi relatado por Maftoonazad et al. (2008) que observaram um aumento no período de armazenamento de pêssegos revestidos com alginato. Amostras sem revestimentos eram armazenadas por, no máximo, 15 dias, enquanto as com revestimento foram estendidas para 21 dias.

3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Dentre os compostos incorporados nos filmes alimentícios, destacam-se os óleos essenciais que, por definição, são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico como destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado (BRASIL, 2007).

Reconhecidos e utilizados na preservação de alimentos há muitos séculos, os óleos essenciais extraídos de plantas e especiarias são utilizados até hoje pela medicina alternativa na Índia. Os primeiros estudos datam de 1880, onde o uso do óleo de canela foi eficiente contra esporos do *Bacillus anthracis* (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

Vários estudos comprovam a atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra os principais patógenos causadores de doenças de origem alimentar, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

Óleos essenciais além de serem considerados os mais importantes agentes antimicrobianos naturais, também possuem atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, conferindo outros benefícios para a saúde dos consumidores (GUTIERREZ et al., 2009).

Os filmes de alginato de sódio com diversos óleos essenciais produzidos por Liakos et al. (2014) mostraram-se estáveis sob diferentes umidades (20-75%) e

inibiram o crescimento bacteriano e fúngico. Óleos de canela, erva-cidreira e hortelã-pimenta foram eficazes contra a *Escherichia coli*.

Gutierrez et al. (2009) mostraram que a utilização de óleo essencial de orégano na lavagem de cenouras minimamente processadas é uma alternativa natural que não altera as qualidades sensoriais e contribui para a conservação do produto.

A principal vantagem da incorporação de óleos essenciais em matrizes poliméricas é que a taxa de difusão do agente antimicrobiano é constante, mantendo desse modo as altas concentrações de compostos ativos na superfície do produto, onde a contaminação é prevalente, por períodos de tempo prolongados. Com isso, o processo torna-se mais eficaz em reduzir os níveis de microrganismos do que quando aplicado diretamente na superfície do produto através de uma solução de pulverização (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Os resultados obtidos por Azarakhsh et al. (2014) mostraram que o revestimento à base de alginato com 0,3 % de óleo de erva-cidreira prolongou a vida útil e manteve a qualidade de abacaxis minimamente processados.

Estudos realizados com melão minimamente processado mostraram que o uso de revestimentos à base de alginato incorporados com óleo de palmarosa melhorou a vida útil e reduziu a contaminação de *Salmonella enteritidis*, sendo uma alternativa promissora para a conservação deste produto (RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2008a).

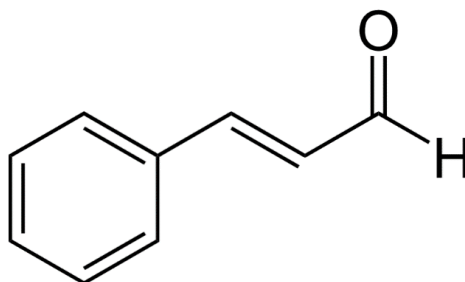
3.3.1 *Cinnamomum cassia* (Canela cássia)

A canela cássia, também conhecida como canela-da-China, é a mais antiga das especiarias usada desde a Antiguidade. Cultivada nas províncias do sudoeste da China, era considerada um item a ser presenteado. A canela, como especiaria, são cascas de árvores perenes pertencentes à família *Lauraceae*, de cor marrom avermelhada que se enrolaram ao secar (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014; PINTO, 2015).

Atualmente, o maior volume de comercialização é na forma em pó e os maiores setores de consumo são o de panificação e da confeitaria. O óleo é extraído das folhas, casca e talo através de destilação por arraste a vapor, sendo o principal constituinte, o cinamaldeído (aldeído cinâmico) com teor superior a 80% (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014).

O cinamaldeído (Figura 3), cujo nome oficial (2E) 3-fenil-prop-3-enal, é amplamente utilizado como aromatizante tanto em alimentos, quanto em cosméticos. O óleo amarelo viscoso, levemente solúvel em água (densidade = 1,05 g/mL), possui vários estudos sobre seus efeitos inseticidas, bactericidas e fungicidas (WAISE, 2012).

Figura 3 - Estrutura química do Cinamaldeído.



Fonte: Galhardo (2015).

Em estudo apresentado por Chang et al. (2013), a composição do óleo essencial de canela cássia foi: 43,06% de ácido cis-2-metoxicinâmico, 42,37% de cinamaldeído, 5,11% de o-metoxicinamaldeído, 2,05% de 1,2-dimetoxi-4-(3-metoxi-1-propenil) benzeno, 1,83% de acetato de cinamilo e outros compostos (1,25 a 0,16%).

Segundo Laviniki (2013), o óleo de canela possui efeito inibitório em aproximadamente 81% das 44 amostras de *Salmonella enterica* testadas. Kocevski et al. (2013) salienta que óleo essencial de canela cássia, mesmo aplicado em baixa concentração (75 ppm), possui forte efeito inibidor contra espécies de *Aspergillus* testadas.

Os resultados apresentados por Huang et al. (2014) indicaram que o óleo essencial de *Cinnamomum cassia* possui atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*. Os pesquisadores ressaltam ainda que, apesar dos resultados promissores da aplicação do óleo essencial como conservante natural, é necessário um estudo mais aprofundado sobre o mecanismo de ação, os efeitos toxicológicos e sensoriais.

Revestimentos estudados por Lu et al. (2010) à base de alginato adicionados de canela foram eficientes em manter a qualidade de filés de peixe *Northern snakehead* durante todo armazenamento.

Uma das explicações para a atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela cássia é exposta por Di Pasqua et al. (2006) em estudo microscópico de danos na superfície celular de bactérias. O estudo revela que o cinamaldeído age sobre a membrana da célula, alterando seu perfil lipídico, penetrando na célula e causando sua morte.

3.3.2 *Myristica fragrans* (Noz-moscada)

A noz-moscada foi trazida pelos árabes para o Ocidente e tornou-se uma das especiarias mais caras e procuradas. Sua árvore é uma planta perene cujo fruto é dividido em duas especiarias: a noz-moscada (amêndoa) e a *mace* (cobertura da amêndoa). Pela sua versatilidade, é utilizada tanto em pratos doces como em salgados e seu sabor lembra uma mistura de pimenta-do-reino com canela (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014; JUKIĆ; POLITEO; MILOŠ, 2006).

A noz-moscada contém 25% a 40% de óleos fixos (não voláteis) e 6 a 15% de óleos essenciais (voláteis). O óleo essencial possui 61% a 88% de hidrocarbonetos monoterpênicos (principalmente α - e β -pineno e sabineno), 5% a 15% de monoterpenos oxigenados e 2% a 18% de ésteres aromáticos, principalmente a miristicina (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014).

Estudo realizado por Singh et al. (2005) mostrou que os principais componentes do óleo essencial de noz-moscada são sabineno (20,22%), terpinen-4-ol (12,08%), α -pineno (9,7%) e β -pineno (5,56%). Ainda neste estudo, concluiu-se que o óleo exibiu atividade antimicrobiana contra as espécies de *Aspegillus*, *Fusarium* e *Penicillium* testadas.

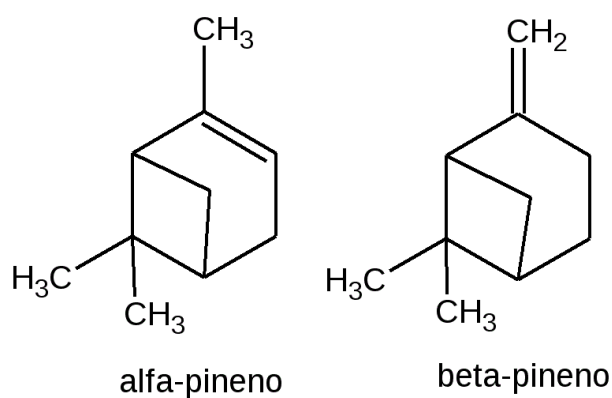
Os componentes encontrados no óleo de noz-moscada extraído por Jukić, Politeo e Miloš (2006) foram terpenos, álcoois de terpeno e éteres fenólicos. Os hidrocarbonetos monoterpenos, β -pineno (23,9%), α -pineno (17,2%) e limoneno (7,5%), constituíram a principal fração de óleo. A miristicina (16,2%), safrol (3,9%) e eugenol de metilo (1,8%) foram os principais éteres fenólicos encontrados.

O pineno ($C_{10}H_{16}$) é um terpeno bicíclico encontrado em óleos essenciais que apresenta dois isômeros ópticos ativos, alfa e beta-pineno (FIG. 4). Segundo Leite et al. (2007), fitoquímicos como o alfa e beta-pineno e o eugenol possuem atividade antimicrobiana devido a mecanismos como coagulação da membrana plasmática, quebra do fluxo de elétrons, desequilíbrio do transporte ativo, entre outros. Acredita-

se que esses mecanismos ocorram simultaneamente, sendo alguns deles ativados em consequência de outros.

Narasimhan e Dhake (2006) isolaram os compostos trimiristina, ácido mirístico e miristicina da noz-moscada e testaram contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Os resultados mostraram que todos os compostos isolados apresentaram atividade antibacteriana contra os microrganismos testados, podendo estes serem utilizados no desenvolvimento de novos conservantes alimentares.

Figura 4 - Estruturas químicas dos isômeros ópticos do Pineno.



Fonte: Adaptado de Muñoz (2008).

De acordo com os resultados obtidos por Omoruyi e Emefo (2012), o óleo essencial de noz-moscada teve efeito contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus cereus*.

A adição de óleo de noz-moscada em salsichas cozidas foi estudada por Šojić et al. (2015). Eles observaram que após 60 dias de armazenamento, o número total de bactérias aeróbias mesófilas nos dois tratamentos testados (10 e 20 ppm de óleo essencial de noz-moscada) era significativamente menor em comparação com o controle.

A partir de todo conteúdo apresentado, verifica-se o grande potencial da utilização dos óleos essenciais em filmes elaborados com polímeros, por exemplo o alginato de sódio, e a aplicação dos mesmos em frutas minimamente processadas, com intuito de prolongar sua vida útil e manter a inocuidade microbiológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MICRORGANISMOS

As cepas de referência utilizadas foram: *Escherichia coli* (ATCC 35218) e *Penicillium commune* (INCQS 40062). A cepa bacteriana foi reativada em ágar Müeller Hinton (Kasvi K25-610033) e incubada a 37°C por 20 horas e a cepa fúngica em ágar Malt extract (BD Difco 211220) e incubada a 25°C por cinco dias.

Para a condução do estudo, utilizou-se como inóculo, suspensões bacterianas preparadas através do método de suspensão direta, no qual quatro colônias foram suspensas em solução salina estéril e ajustadas com o padrão 0,5 da escala McFarland em espectrofotômetro (Bioespectro SP22) a 625 nm (NCCLS, 2003a). Com este procedimento obtém-se um inóculo com aproximadamente $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mililitro.

Para o inóculo fúngico, suspensões fúngicas foram preparadas de acordo com as normas CLSI (2008), na qual a densidade da suspensão foi ajustada em espectrofotômetro (Bioespectro SP22) a 520 nm até atingir uma transmitância de 70 a 72%, obtendo-se um inóculo com aproximadamente 4×10^6 UFC.mL⁻¹.

4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS DA CANELA E NOZ-MOSCADA

Os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum Cassia*) e noz-moscada (*Myristica fragrans*) foram adquiridos da empresa FERQUIMA® Ind. e Com. Ltda. A empresa forneceu as especificações técnicas dos óleos essenciais utilizados, através dos laudos técnicos apresentados nos Quadros 1 e 2.

Quadro 1 - Especificações técnicas do óleo essencial de *Cinnamomum cassia*.

	Especificações
CAS Number	84961-46-6
Aparência	Líquido
Cor	Marron
Impurezas	Isento
Odor	Característico
Densidade (20°C)	1,045 – 1,065 g/mL
Índice de Refração (20°C)	1,595 – 1,615
Principais Componentes (aprox.)	Aldeido cinâmico (81%) Cumarina (3%) Benzaldeído (3%) Álcool cinâmico (3%) Estireno (3%)

Fonte: FERQUIMA® Ind. E Com. LTDA.

Quadro 2 - Especificações técnicas do óleo essencial *Myristica fragans*.

Especificações	
CAS Number	8008-45-5
Aparência	Líquido Límpido
Cor	Amarelo a Verde
Impurezas	Isento
Odor	Característico
Densidade (20°C)	0,890 – 0,920 g/mL
Índice de Refração (20°C)	1,475 – 1,495
Principais Componentes (aprox.)	α -pineno (20%) Sabineno (14%) β -pineno (14%) Miristicina (11%) Terpineno-4-ol (6%)

Fonte: FERQUIMA® Ind. E Com. LTDA.

4.3 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

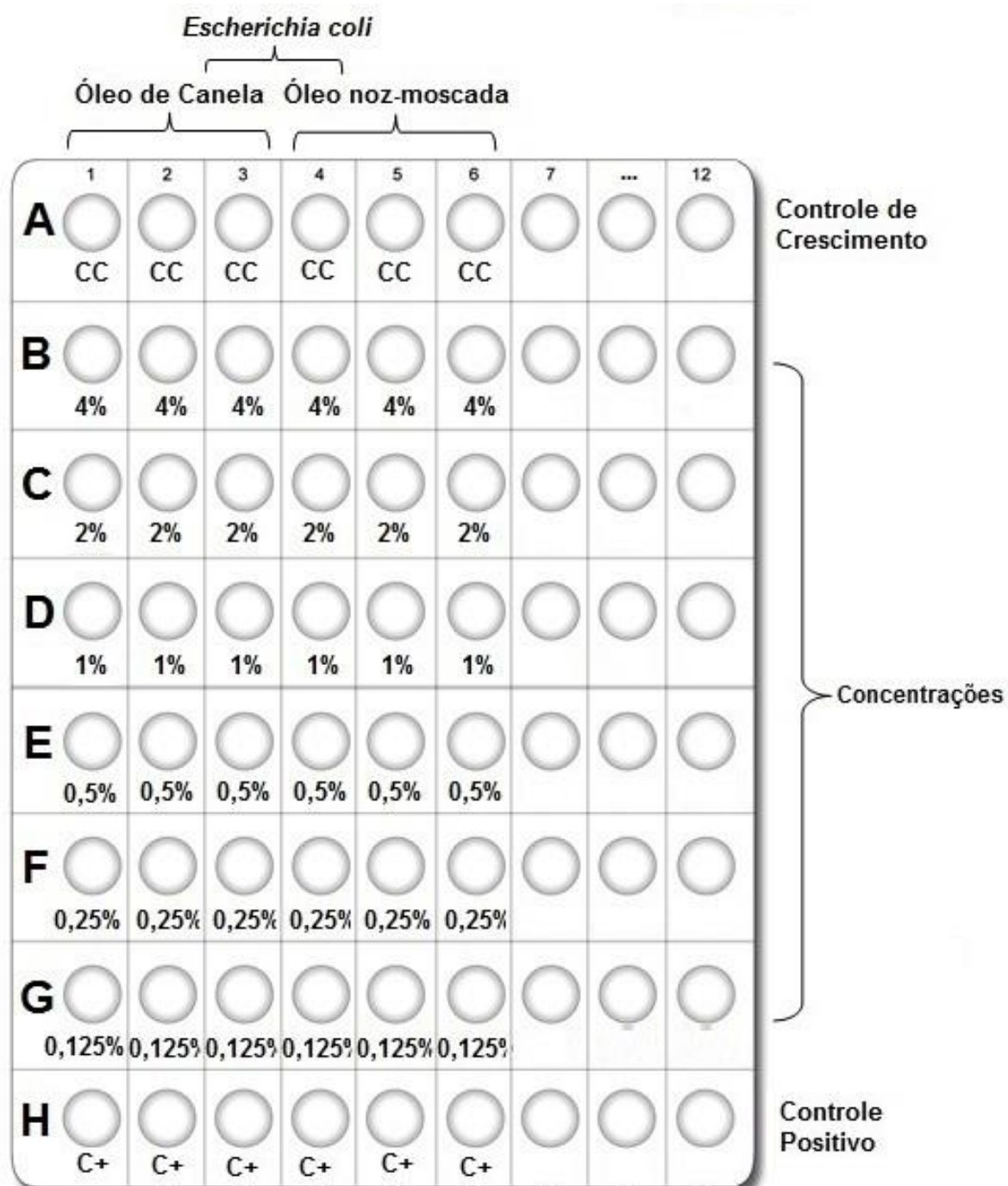
A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada em placas de microdiluição com 96 poços dispostos em 12 colunas e 8 linhas. Primeiramente, uma solução-padrão inicial dos óleos essenciais com concentração de 8% foi preparada utilizando 0,4 mL do óleo essencial, 0,05 mL de Tween 80 e 4,2 mL de água destilada estéril.

Na placa de microdiluição foram testadas, para cada microrganismo, seis diluições de acordo com o apresentado na Figura 5. Em cada um dos poços da placa foram adicionados 100 μ L do caldo Müeller Hinton (bactéria) ou 100 μ L do caldo Sabouraut-Dextrose (fungo). Em seguida foram adicionados 100 μ L da solução-padrão inicial de cada óleo na segunda linha (B) e as concentrações subsequentes foram obtidas através da diluição seriada, resultando em concentrações de 4% (linha B) até 0,125% (linha G). Ao fim, nos poços da linha G foram dispensados 100 μ L do conteúdo, para que o volume se igualasse aos demais (CAVALCANTI; ALMEIDA; PADILHA, 2011; NCCLS, 2003b).

Os poços da linha A foram utilizados como controle de crescimento, não sendo adicionado o óleo essencial e os poços da linha H como controle positivo (Clorexidina 2%). Ao fim, foram adicionados em todos os poços, 10 μ L da suspensão bacteriana ou fúngica e as placas com as bactérias foram incubadas a 37°C por 48 horas e as com os fungos a 25°C por cinco dias. A CIM foi a menor concentração que inibiu completamente o crescimento, ou seja, na qual não se observou turvação

no meio ou precipitado fúngico no poço correspondente (NCCLS, 2003b). Os testes foram realizados em triplicata, conforme mostrado na Figura 5.

Figura 5 - Exemplo da utilização da placa de microdiluição com as concentrações de cada óleo.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

4.4 ELABORAÇÃO DOS FILMES ATIVOS E APLICAÇÃO EM MAÇÃS MINIMAMENTE PROCESSADAS

As maçãs da variedade “Gala” foram adquiridas em um supermercado da cidade de Uberaba-MG e as mesmas foram sanitizadas por imersão em hipoclorito de sódio (300 ppm/15 minutos) e secas em papel absorvente.

Após a sanitização, as maçãs foram cortadas em fatias com o auxílio de uma faca estéril e para garantir a real eficiência do filme ativo, estas foram contaminadas com cada um dos microrganismos em questão, separadamente, através de imersão em inóculo com concentração de 10^5 UFC.ml⁻¹ por 15 minutos.

Os filmes ativos foram elaborados, de acordo com Azarakhsh et al. (2014), com 1,29% (m/v) de alginato de sódio (Vetec V003384) dissolvido em água destilada, sob aquecimento (70°C) com agitação mecânica (Fisatom 711), até que a mistura se tornasse clara. Logo após, adicionou-se 1,16% (m/v) do agente plastificante glicerol (Química Nuclear) e os óleos essenciais foram incorporados à mistura de acordo com a concentração mínima inibitória encontrada anteriormente.

Figura 6 - Sanitização, inoculação dos microrganismos e aplicação dos filmes nas maçãs.



a. Sanitização das maçãs em hipoclorito de sódio; b. Inoculação dos microrganismos nas amostras; c. Aplicação do filme nas amostras.

Fonte: da Autora (2016).

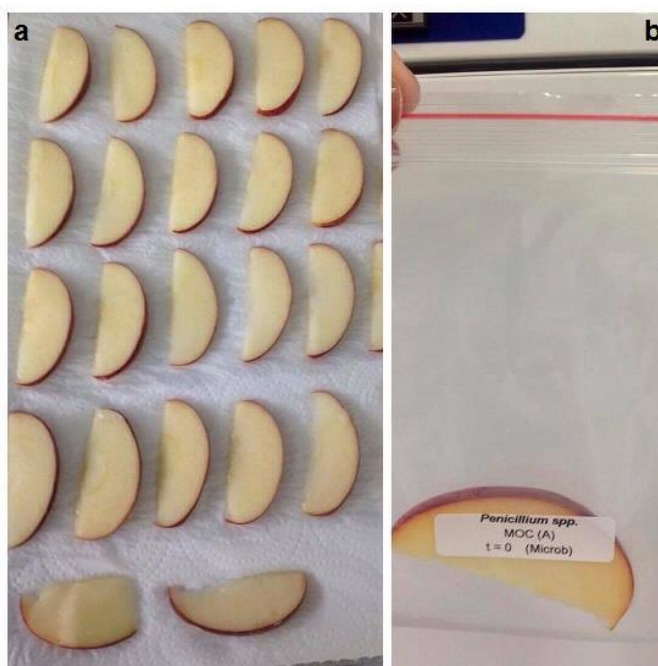
Rapidamente após a contaminação, as maçãs foram centrifugadas para retirar o excesso do inóculo em centrifuga manual e mergulhadas nas formulações à base de alginato durante dois minutos (FIG. 6 c). Foram realizados quatro tratamentos:

- Maçã contaminada (MC1);
- Maçã contaminada + Alginato + Glicerol (MC2);
- Maçã contaminada + Alginato + Glicerol + Óleo de canela (MOC).
- Maçã contaminada + Alginato + Glicerol + Óleo de noz-moscada (MONm).

Retirado o excesso da formulação do filme, as fatias foram submersas em solução com 2% (m/v) de cloreto de cálcio (Alphatec 20870), 1% (m/v) de ácido ascórbico (Vetec 200) e 1% (m/v) ácido cítrico (Dinâmica 1260-1) durante mais dois minutos para que ocorresse a formação do filme.

Após a secagem do revestimento à temperatura ambiente, as fatias foram embaladas em sacos plásticos atóxicos estéreis com fechamento hermético e armazenadas sob refrigeração (3°C) durante cinco (*E. coli*) e nove dias (*P. commune*) de análise conforme apresentado na Figura 7.

Figura 7 - Secagem dos filmes e acondicionamento.

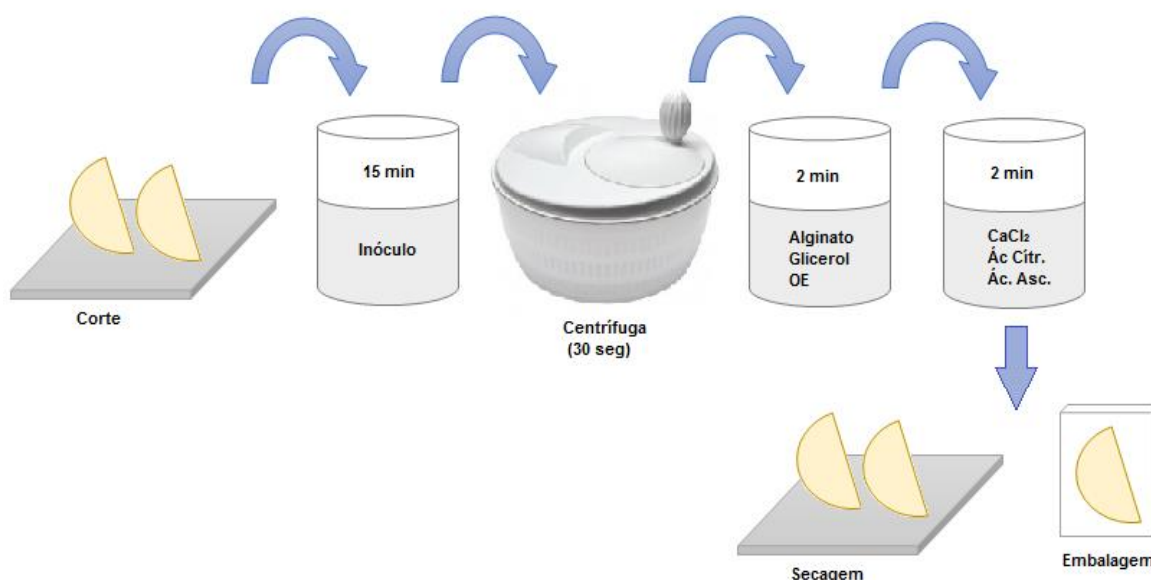


a. Secagem dos filmes a temperatura ambiente; b. Armazenamento em sacos plásticos com fechamento hermético.

Fonte: da Autora (2016).

Para melhor entendimento, a Figura 8 ilustra o fluxograma de elaboração das maçãs contendo os filmes.

Figura 8 - Fluxograma de elaboração das amostras de maçã.



Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

4.5 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DOS FILMES ATIVOS NAS MAÇÃS

Para observar a uniformidade dos filmes e a aderência dos mesmos à superfície da fruta foram realizadas análises microscópicas através de secções transversais nas amostras de maçãs. Todas elas foram monitoradas usando um microscópio digital Leica (Modelo MZ8, Leica AG, Heerbrugg, Suíça) acoplado a um computador e uma câmera. Foram realizadas medidas da espessura dos filmes aleatoriamente em diferentes secções das frutas analisadas.

4.6. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos do Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, localizado no Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

As análises de *Escherichia coli* foram realizadas nos tempos zero, um, dois, três e quatro dias após a preparação das amostras e de *Penicillium commune* nos tempos cinco, sete e nove dias após a preparação das amostras.

4.6.1. *Escherichia coli* – Plaqueamento em profundidade (*Pour plate*)

Um grama da amostra foi adicionado em nove mililitros de solução salina 0,1%, homogeneizando e prosseguindo-se com a diluição seriada até 10^{-4} . Logo após, um mL de cada diluição foi inoculado em placas de Petri estéreis e vazias, vertendo-se 20 mL de meio Eosina Azul de Metileno (Merck 1.01347) fundido.

Homogeneizou-se o meio com o inóculo através de movimentos na forma de oito (8) e, após a solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas (SILVA et al., 2007).

4.6.2 *Penicillium commune* – Plaqueamento em superfície (*Spread plate*)

Um grama da amostra foi adicionado em nove mililitros de solução salina 0,1%, homogeneizando e prosseguindo-se com a diluição seriada até 10^{-4} . Logo após, 0,1 mililitro de cada diluição foi semeado em placas de Petri contendo ágar Malt Extract (BD Difco 211220), o qual foi espalhado com uma alça de Drigalski. Em seguida as placas foram incubadas a 25°C por cinco dias (SILVA et al., 2007).

4.7 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

As análises de cor foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro localizado em Uberaba-MG. As amostras foram preparadas de acordo com o descrito no item 4.4, excluindo-se a parte da imersão no inóculo, visto que neste caso não foi necessária a contaminação.

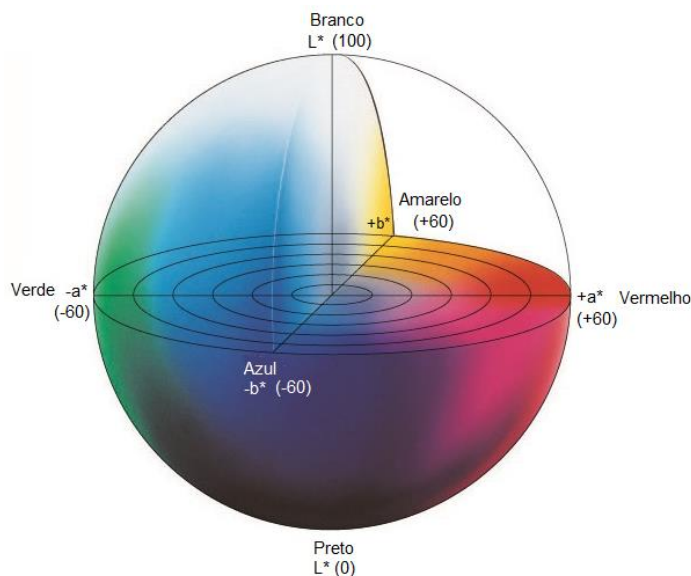
O sistema de cor utilizado foi o $L^* a^* b^*$, que é um espaço de cor criado a partir da teoria de cores opostas. Conforme apresentado na Figura 9, o L^* indica a luminosidade e o a^* e b^* são as coordenadas cromáticas:

- L^* : Luminosidade com variação de 0 (preto) a 100 (branco).
- a^* : coordenada vermelho/verde com variação de +60 (vermelho) a -60 (verde).
- b^* : coordenada amarelo/azul com variação de +60 (amarelo) e -60 (azul).

Um instrumento de medição faz a quantificação destes atributos de cor apresentando as informações em termos numéricos. Para isto, utilizou-se um colorímetro Konica Minolta CR-400, previamente calibrado com placa de calibração

do branco CR-A43 e ajustado para o sistema $L^* a^* b^*$. Foram realizadas três leituras diretas em cada amostra.

Figura 9 – Representação das coordenadas L^* , a^* e b^* do espaço de cor $L^*a^*b^*$ através de sólido colorido.



Fonte: Adaptado de Konica Minolta (2013).

A partir dos valores dos parâmetros obtidos pelo colorímetro, o Índice de Escurecimento (IE) foi calculado segundo a Equação (1) descrita por Palou et al. (1999):

$$IE = \frac{[100(X - 0,31)]}{0,172} \quad \text{onde} \quad X = \frac{(a^* + 1,75L^*)}{(5,645L^* + a^* - 3,02b^*)} \quad (1)$$

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 5, sendo quatro tratamentos (MC1, MC2, MOC e MONm) e cinco períodos de avaliação (0, 1, 2, 3 e 4 dias) para a *Escherichia coli* e Escurecimento enzimático e esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro tratamentos (MC1, MC2, MOC e MONm) e três períodos de avaliação (5, 7 e 9 dias) para o *Penicillium commune*.

Todas as análises foram realizadas em três repetições e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação múltipla de médias, utilizando-se o programa Statistica®10.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

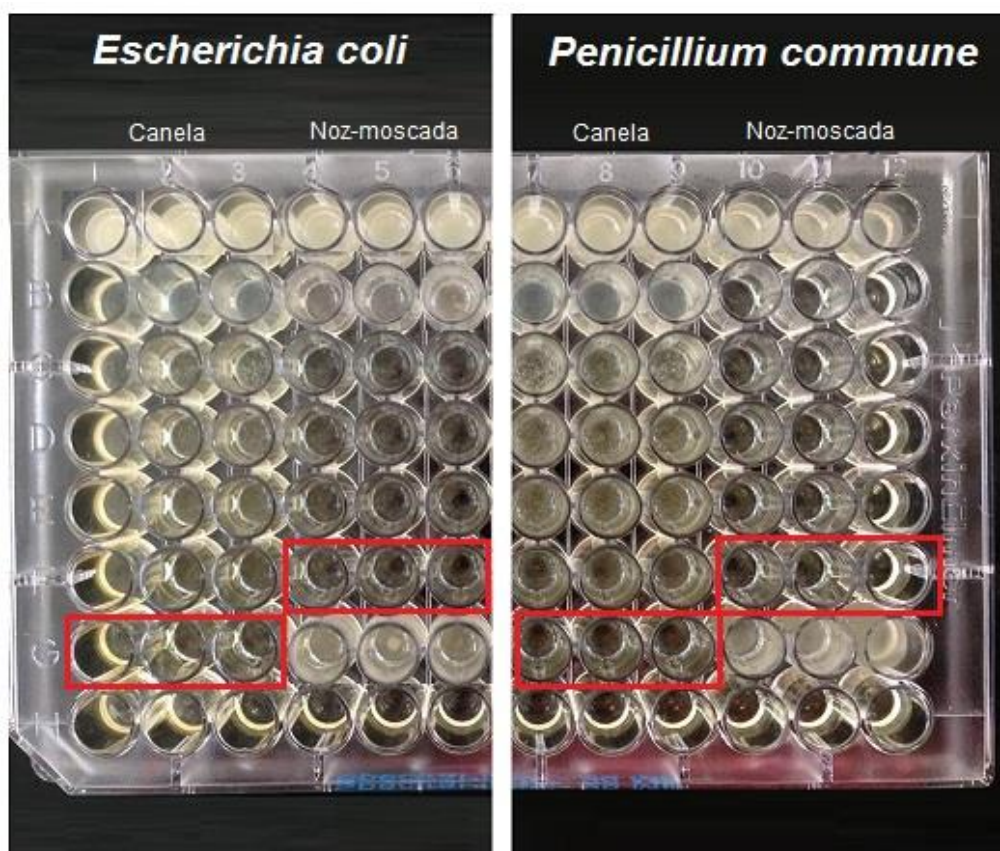
Os valores da Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais frente a *Escherichia coli* e *Penicillium commune* variaram de 4 a 0,125% para o óleo de canela e de 4 a 0,25% para o óleo de noz-moscada. Os valores estão apresentados na Tabela 1 e observados em destaque na Figura 10.

Tabela 1 - Concentrações mínimas inibitórias (CIM) dos óleos de canela e noz-moscada frente à *Escherichia coli* e *Penicillium commune*.

	Óleo de Canela	Óleo de Noz-moscada
<i>Escherichia coli</i>	1,32 mg.mL ⁻¹ (0,125%)	2,30 mg.mL ⁻¹ (0,25%)
<i>Penicillium commune</i>		

Fonte: Elaborada pela Autora (2016).

Figura 10 - Placas de microdiluição apresentando a CIM de cada microrganismo.



Fonte: da Autora (2016).

Huang et al. (2014) em estudo com óleo de *Cinnamomum cassia* obtiveram valores de CIM iguais a 10 mg.mL⁻¹ contra *Escherichia coli*. Já Probst (2012)

encontrou valores de 0,23 mg.mL⁻¹ de CIM para o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* contra o mesmo microrganismo.

Souza et al. (2013) encontraram valores de CIM de 2% para o óleo de canela contra o *Penicillium commune* em estudo com filmes à base de fécula de mandioca. Liu et al. (2014) em estudo com óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) encontraram valores de CIM de 0,125 mg.mL⁻¹ contra *Penicillium sp.*

Piaru et al. (2012) em estudo com o óleo essencial de *Myristica fragrans*, encontraram valores de CIM de um mg.mL⁻¹ contra *Escherichia coli*. Já Malti et al. (2008) e Omoruyi e Emefo (2012) utilizando o mesmo óleo encontraram valores de CIM de 9,4 mg.mL⁻¹ e 25 mg.mL⁻¹, respectivamente, contra a mesma bactéria.

A variação entre os resultados encontrados na literatura e os deste trabalho deve-se principalmente, à composição química dos óleos essenciais, visto que a quantidade dos componentes interfere diretamente no seu potencial antimicrobiano. Por sua vez, a composição química é influenciada por fatores como método de extração, partes da planta utilizadas, sazonalidade, condições ambientais, entre outros (PROBST, 2012).

Além disso, esta diferença também pode ser explicada pela origem das linhagens dos microrganismos utilizados. Alguns estudos utilizam microrganismos isolados de ambiente hospitalar e estes possuem mecanismos de resistência a antimicrobianos que não são encontrados nas cepas de referência. Com isso, a CIM para estes microrganismos tende a ser menor do que para aqueles.

De maneira geral, os resultados encontrados neste estudo foram menores quando comparados aos da literatura, sendo um ponto positivo, pois quanto menor é a CIM, mais o óleo essencial é eficiente em pequenas quantidades.

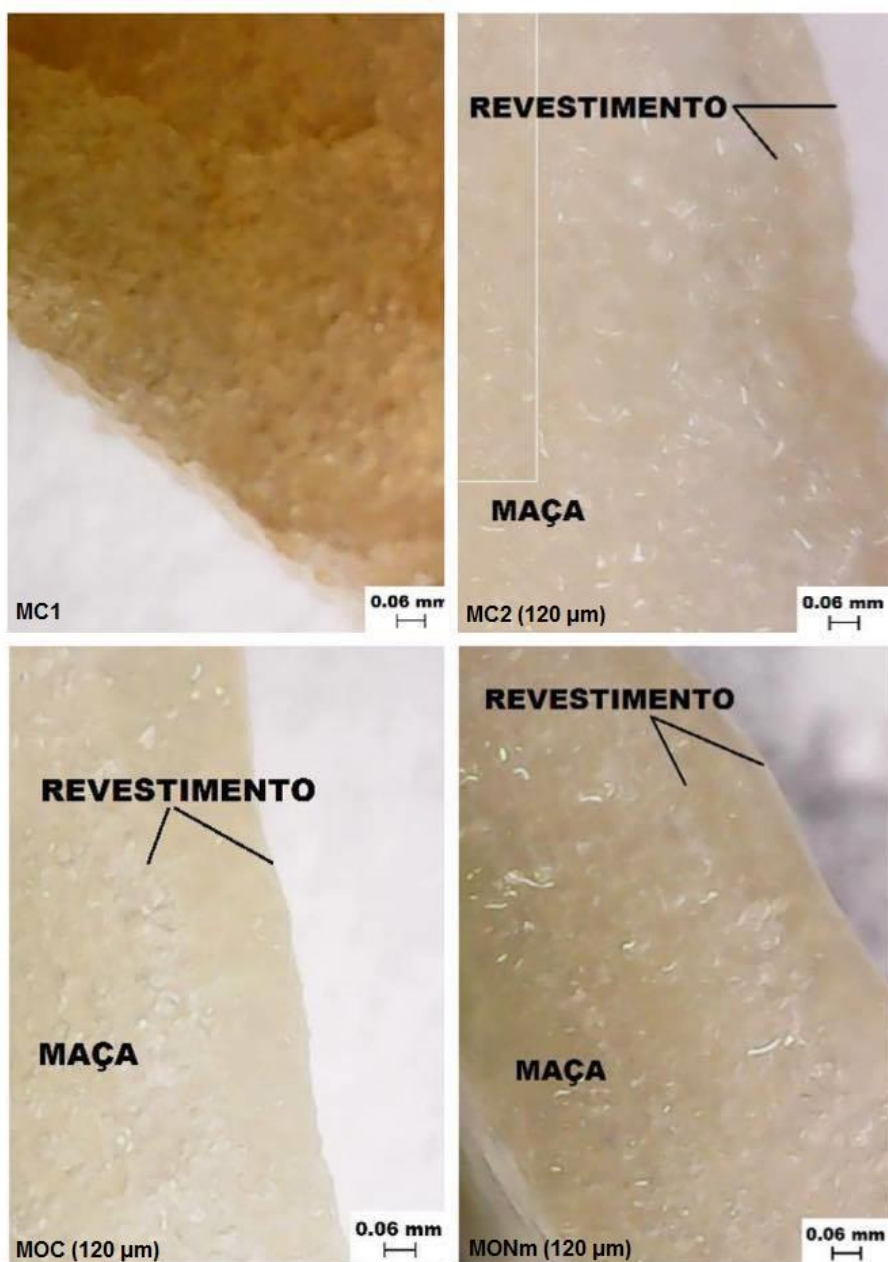
Devido ao referencial teórico ser escasso de informações sobre o óleo essencial de noz-moscada e canela cássia frente aos microrganismos testados, utilizou-se como comparação, estudos com características próximas ao executado.

Conforme mencionado anteriormente, para adicionar os óleos essenciais nos filmes utilizou-se como base a CIM de cada óleo frente aos microrganismos estudados. Então, para garantir uma melhor eficiência dos óleos essenciais como agentes antimicrobianos, utilizou-se a concentração de 0,15% (1,58 mg.mL⁻¹) para o óleo de canela e 0,30% (2,71 mg.mL⁻¹) para o óleo de noz-moscada, valores um pouco maiores que a CIM de cada um.

5.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DOS FILMES ATIVOS NAS MAÇÃS

Através das micrografias apresentadas na Figura 11, pode-se observar que todos os filmes analisados foram homogêneos, cobrindo toda a superfície da fruta, sem falhas e também apresentaram boa adesão à superfície da mesma.

Figura 11 - Micrografias das amostras de maçã contendo os filmes de alginato reticulados com íons Ca^{2+} , com destaque para as espessuras dos filmes mensuradas a partir de seção transversal das amostras.



Legenda: **(MC1)** maçã controle, **(MC2)** maçã com filme de alginato, **(MOC)** maçã com filme de alginato e óleo de canela e **(MONm)** maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.
Fonte: da Autora (2016).

A espessura dos filmes determinada a partir das micrografias, apresentou valores de 120 μm , tanto para o filme de alginato (MC2), quanto para os filmes contendo os óleos essenciais de canela (MOC) e de noz-moscada (MONm).

Como a espessura é um parâmetro que depende de outros fatores, como o tipo e concentração do polissacarídeo, tipo de processo de elaboração do filme, tempo de imersão e secagem, mecanismo de geleificação do polissacarídeo, tipo de superfície a ser coberta pelo filme, entre outros, na literatura são encontrados diversos valores para filmes biodegradáveis (DICK, 2014).

Rojas-Graü et al. (2007) avaliaram o uso de recobrimento comestíveis de alginato e de goma *gellan* em pedaços de maçãs e obtiveram espessura de 132 μm e 155 μm , respectivamente, sendo estes resultados semelhantes ao encontrado neste estudo.

Sipahi et al. (2013) estudaram filmes multicamadas à base de diferentes formulações de alginato em melancias minimamente processadas. Os autores relataram que houve variação da espessura dos filmes de acordo com as concentrações de alginato utilizadas. Em filmes com 0,5%, 1% e 2% de alginato na formulação as espessuras apresentadas foram de 132 μm , 180 μm e 412 μm .

Filmes elaborados com alginato e goma *gellan* aplicados em mamão papaia minimamente processado foram estudados por Tapia et al. (2008). Eles obtiveram valores de espessura de 136 μm e 160 μm para alginato e goma *gellan*, respectivamente, e estes resultados foram semelhantes ao encontrado neste trabalho.

Tapia et al. (2008) salientaram ainda que em frutas minimamente processadas, as forças adesivas são aumentadas, devido à porosidade da superfície do fruto, bem como para a capacidade do filme de penetrar os poros intersticiais da superfície. Por isso, filmes à base de alginato são considerados uma boa opção para cobrir tais frutas, uma vez que ocorre a adesão à superfície através do *cross-linking* entre alginato, cálcio e a pectina presente na mesma.

Conforme mencionado anteriormente, o tipo de polissacarídeo também influencia na espessura dos filmes. Garcia et al. (1998) em estudo com morangos, obtiveram espessura entre 40 e 50 μm para filmes à base de amido. Rodriguez (2004) obteve uma espessura de 116 μm para revestimentos a base de goma *gellan* em pedaços de melão.

A partir do que foi observado, a espessura do filme é um parâmetro importante, pois quanto maior seu valor, melhor será barreira aos gases e ao vapor d'água, evitando o escurecimento e a perda de umidade. Porém, um filme muito espesso não seria agradável ao paladar do consumidor.

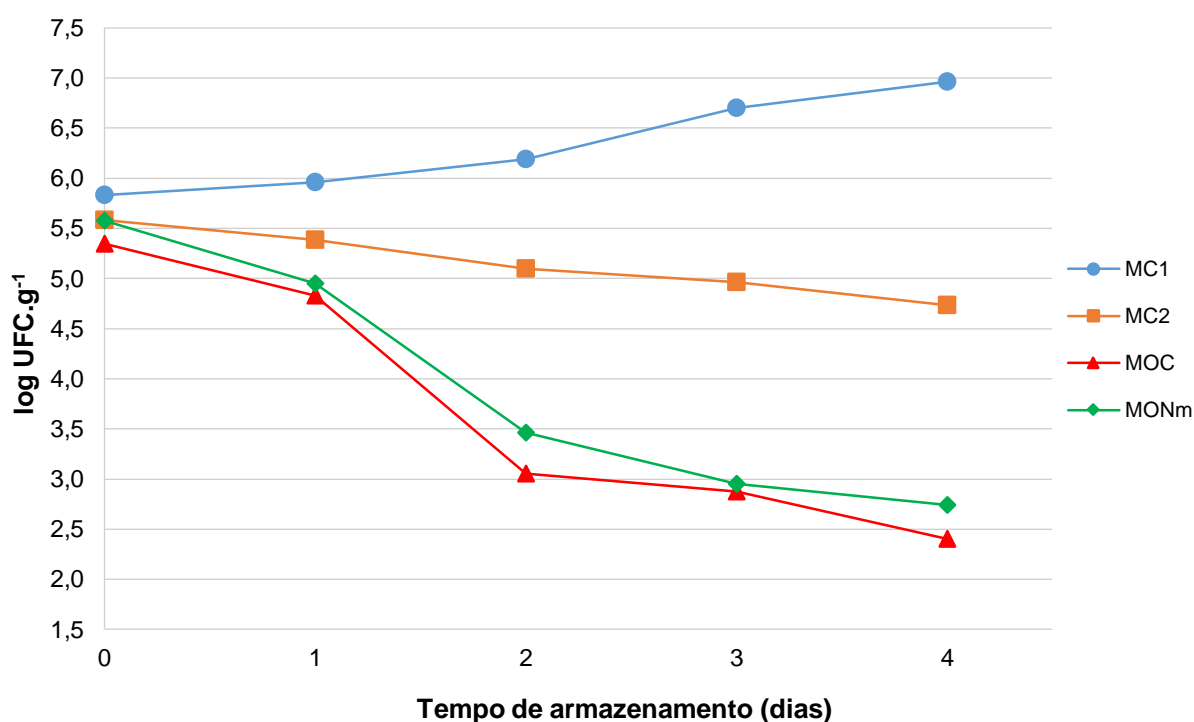
Com isso, os filmes utilizados neste trabalho apresentaram boa espessura, sendo eficientes na barreira aos gases e vapor d'água e acredita-se que seriam minimamente percebidos pelo paladar humano.

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

5.3.1 *Escherichia coli*

Os valores obtidos para as médias das contagens de *Escherichia coli* dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento estão apresentadas comparativamente na Figura 12.

Figura 12 - Gráfico comparativo entre as contagens de *Escherichia coli* de cada tratamento ao longo dos cinco dias de armazenamento.



Legenda: **(MC1)** maçã controle, **(MC2)** maçã com filme de alginato, **(MOC)** maçã com filme de alginato e óleo de canela e **(MONm)** maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2 (Anexo A) e o observado na Figura 12 verifica-se que ao longo dos cinco dias de armazenamento, os

tratamentos MC2, MOC e MONm apresentaram redução significativa da contagem de *Escherichia coli* inoculada, sendo esta redução mais expressiva (três ciclos *log*) nos tratamentos em que foram utilizados os óleos essenciais na composição do filme. Em comparação, tem-se o tratamento MC1, que sem nenhum filme, teve a contagem aumentada quase dois ciclos *log*.

No tratamento MC2, mesmo sem os óleos essenciais em sua composição, houve uma redução significativa, devido à utilização do ácido ascórbico e ácido cítrico na fase de formação do filme, juntamente com o cloreto de cálcio. Tais ácidos orgânicos possuem atividade antimicrobiana que contribuíram para diminuir a concentração de microrganismos nas amostras.

Quanto a comparação entre os tratamentos, observou-se que eles se diferenciaram significativamente ao longo dos cinco dias de armazenamento. O tratamento MC1 foi diferente dos demais em todos os dias de análise. Os tratamentos MONm e MOC não foram diferentes no tempo zero e três dias e o tratamento MC2 não diferiu de MONm no tempo zero.

De acordo com o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001), frutas frescas, *in natura*, preparadas (descascadas, selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto devem possuir contagem máxima de coliformes à 45°C de 5×10^2 UFC/g.

Tressler et al. (2009) em estudo com legumes e hortaliças minimamente processados observaram que 12,7% das 126 amostras analisadas apresentaram contaminação por *Salmonella sp.* Já Ravelli e Novaes (2006) após análise de 50 amostras de legumes e hortaliças minimamente processados de cinco marcas comercializadas, observaram contagem de 10^7 a 10^8 UFC/g de bactérias mesófilas. Salientaram ainda que 13 amostras apresentaram contagem de coliformes à 45°C acima do permitido pela legislação e três amostras apresentaram contaminação por *Salmonella sp.*

Com isso, observou-se que mesmo passando por etapas de lavagem e sanitização, os minimamente processados ainda apresentam elevadas contagens de microrganismos deteriorantes e patogênicos devido a falhas no processamento. Vanetti (2002) ressalta que a contaminação dos minimamente processados inicia-se na fase de produção e continua durante a colheita, manuseio, transporte e

processamento. Se não houverem medidas de controle dos pontos críticos durante o processamento, este alimento contaminado facilmente chegará até o consumidor.

A utilização dos filmes incorporados com os óleos essenciais de canela e de noz-moscada, neste estudo, reduziu a contaminação inoculada (10^5 UFC/g) de *Escherichia coli* para níveis aceitáveis pela legislação brasileira, a partir do 4º dia de armazenamento.

Sendo assim, o uso destes filmes como barreira adicional em conjunto com as etapas de lavagem e sanitização realizadas de maneira correta, ocasionará um aumento da vida útil e segurança microbiológica dos minimamente processados.

Diversos estudos sobre o uso dos óleos essenciais em filmes ativos apresentam resultados semelhantes ao encontrado por este trabalho.

Raybaudi-Massilia et al. (2008a) realizaram estudo com filmes à base de alginato, incorporados de óleos essenciais, em melões minimamente processados contaminados com *Salmonella enteritidis*. Eles relataram que com o uso dos filmes houve uma redução de quatro ciclos *log* quando comparada a contagem inicial inoculada. Salientaram ainda que melões sem o filme apresentaram vida útil de 3,6 dias, enquanto que aqueles com filmes incorporados de óleos essenciais, tiveram sua vida útil aumentada para 13,1 dias.

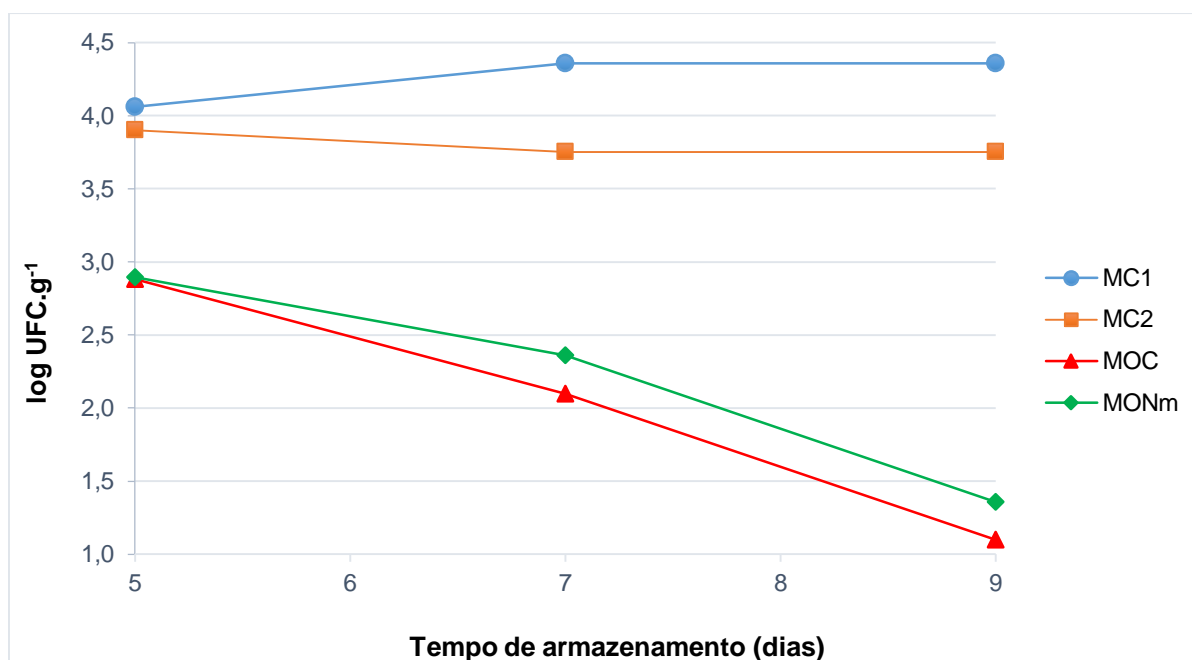
Em maçãs minimamente processadas encobertas com filmes à base de alginato com óleos essenciais de *lemongrass* e orégano, estudadas por Rojas-Graü et al. (2007), não foram detectadas unidades formadoras de colônias durante os 21 dias de armazenamento, enquanto que nas maçãs sem os filmes houve um aumento de 5,5 ciclos *log* de contagem total.

Filmes à base de alginato com óleo de canela aplicado em maçãs minimamente processadas inibiram a microbiota nativa durante 30 dias e reduziram a contagem *Escherichia coli* em quatro ciclos *log* na primeira semana de armazenamento, segundo estudo realizado por Raybaudi-Massilia et al. (2008b).

5.3.2 *Penicillium commune*

Os valores obtidos para as médias das contagens de *Penicillium commune* dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento estão apresentadas comparativamente na Figura 13.

Figura 13 - Gráfico comparativo entre as contagens de *Penicillium commune* de cada tratamento ao longo dos nove dias de armazenamento.



Legenda: **(MC1)** maçã controle, **(MC2)** maçã com filme de alginato, **(MOC)** maçã com filme de alginato e óleo de canela e **(MONm)** maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3 (Anexo B) observa-se que ao longo dos nove dias de armazenamento, os tratamentos MOC e MONm apresentaram redução significativa da contagem de *Penicillium commune*, diminuindo um ciclo *log* ao longo do tempo e diminuindo três ciclos *log* quando comparados com o tratamento MC1.

Conforme mencionado anteriormente, no tratamento MC2 novamente houve uma redução significativa da contagem quando comparado ao tratamento MC1, devido à utilização do ácido ascórbico e ácido cítrico na fase de formação do filme.

Na legislação brasileira, não há padrões microbiológicos para bolores e leveduras em frutas, mas de acordo com a Figura 14, observa-se que a contagem de 10^4 encontrada no tratamento MC1, apesar de baixa, acelerou a degradação do produto quando comparada aos outros tratamentos.

Ravelli e Novaes (2006) após análise de 50 amostras de legumes e hortaliças minimamente processados de cinco marcas comercializadas, observaram contagem de 10^4 a 10^8 UFC/g de fungos. Já Bruno et al. (2005) a partir de 30 amostras de hortaliças, tubérculos e frutas minimamente processadas encontraram contagem

total de bolores e leveduras variando de 10^2 a 10^6 UFC/g para as hortaliças minimamente processadas e de 10^2 a 10^5 UFC/g para frutas minimamente processadas.

Figura 14 – Aspecto visual das amostras dos tratamentos para análise do *Penicillium commune* no 5º dia de armazenamento.



a. Maçã controle; b. Maçã com filme de alginato; c. Maçã com filme de alginato e óleo de canela; d. Maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.

Fonte: da Autora (2016).

Novamente, observa-se as condições higiênico-sanitárias insuficientes no processamento mínimo de frutas, legumes e hortaliças, ressaltando a importância da utilização dos filmes incorporados dos óleos essenciais, como barreira adicional contra o crescimento microbiano. Outros autores em estudos com óleos essenciais encontraram valores semelhantes

A incorporação de óleo essencial de *lemongrass* na formulação de filmes à base de alginato em abacaxis minimamente processados, reduziu de forma

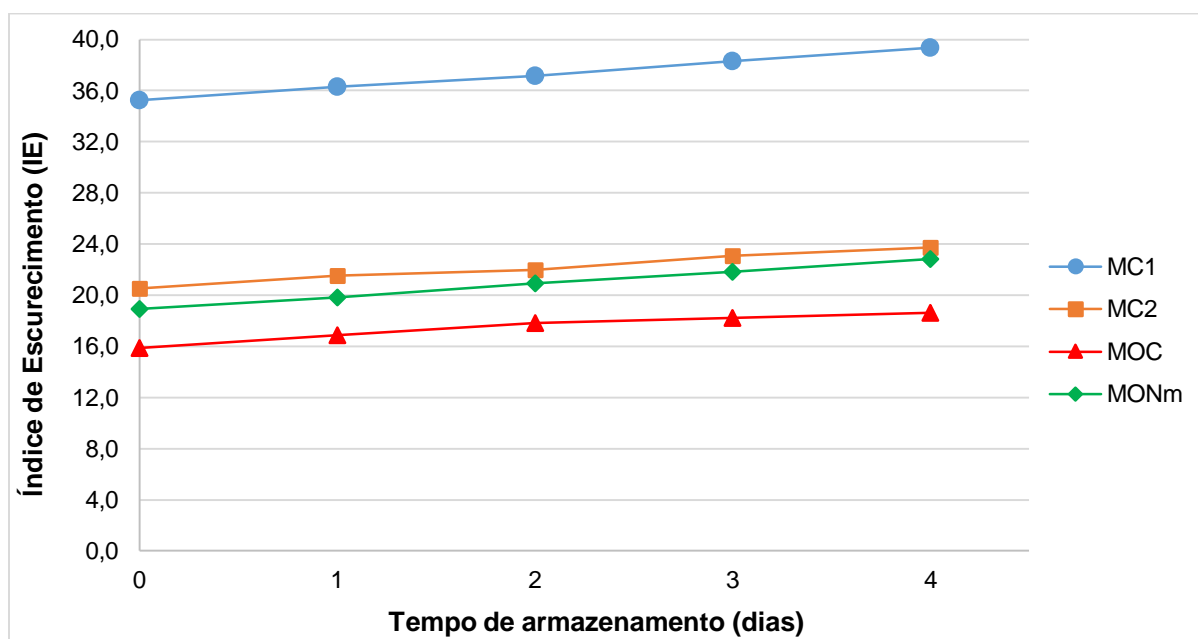
significativa a contagem total de bolores e leveduras durante a armazenagem, aumentando a vida útil de 8 para 16 dias de armazenamento (AZARAKHSH et al., 2014).

Em filmes à base de fécula de mandioca incorporados com óleo essencial de canela, estudados por Souza et al. (2013), observou-se que mesmo na concentração mínima aplicada (0,4%), o filme foi eficaz contra o *Penicillium commune*. O estudo realizado por Min e Krochta (2005), mostrou que filmes a base de *whey protein* incorporados de lactoferrina inibiram o crescimento de *Penicillium commune*.

5.4 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

Os valores obtidos para as médias do Índice de Escurecimento (IE) dos tratamentos ao longo dos cinco dias de armazenamento estão apresentados comparativamente na Figura 15.

Figura 15 - Gráfico comparativo entre os Índices de Escurecimento dos tratamentos ao longo dos cinco dias de armazenamento.



Legenda: **(MC1)** maçã controle, **(MC2)** maçã com filme de alginato, **(MOC)** maçã com filme de alginato e óleo de canela e **(MONm)** maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4 (Anexo C) verifica-se que houve redução significativa na velocidade de escurecimento dos tratamentos MC2, MOC e MONm, quando comparados com o tratamento MC1. Além disso, os

tratamentos MOC e MONm apresentaram menores IE quando comparados com o tratamento MC2, devido a presença de compostos com atividade antioxidante nos óleos essenciais.

Além dos compostos antioxidantes dos óleos essenciais, a presença dos ácidos ascórbico e cítrico nas formulações também contribuiu para diminuir o IE das amostras contendo os filmes. Outro ponto observado é que os filmes estudados diminuíram a velocidade da reação de escurecimento, já que o escurecimento não pode ser totalmente paralisado. Isto pode ser observado na Figura 15, através da ascendência das linhas durante os cinco dias de análises.

Para fins de comparação, os valores do IE dos tratamentos MC1 (sem filme) e MC2 (filme de alginato) no quinto dia e último dia de análise foram de 39,34 e 23,73, respectivamente. Fontes et al. (2008) relatou que, ao longo de 13 dias de armazenamento, maçãs sem filme apresentaram IE de 69,8 enquanto as maçãs com filme de alginato apresentaram IE de 50,8. De acordo com resultados obtidos por Seifert et al. (2015), amostras de maçãs minimamente processadas encobertas com filme de alginato obtiveram valores de IE de 50,60 após nove dias de armazenamento.

Conforme mencionado anteriormente, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas hermeticamente fechadas, o que contribuiu para aumentar a barreira ao oxigênio, obtendo-se valores de IE menores que os da literatura. Além disso, neste estudo as amostras foram analisadas até o quinto dia de armazenamento, enquanto que os valores comparados da literatura foram de nove e 13 dias.

Os compostos antioxidantes presentes nos óleos essenciais de canela e de noz-moscada contribuíram substancialmente na diminuição da velocidade da reação de escurecimento enzimático, através de sua liberação constante na superfície do produto. Alguns autores da literatura também relataram o uso de substâncias antioxidantes, incorporadas em filmes, contra o escurecimento enzimático.

Rojas-Graü et al. (2007) observaram um aumento no escurecimento em todas as amostras de maçã estudadas, exceto naquelas que continham filme com óleo essencial de *lemongrass* e vanilina, que se mantiveram constantes ao longo dos dias de análise.

A adição de ácido ascórbico e ácido cítrico em filmes elaborados por McHugh e Senesi (2000) preservou a cor de maçãs minimamente processadas durante 12

dias de armazenamento refrigerado. O mesmo foi observado por Lee et al. (2003), que relataram que maçãs com filmes contendo ácido ascórbico e cítrico, mantiveram a cor original durante o armazenamento, sem alterações nas propriedades sensoriais.

Oms-Oliu et al. (2008) observaram que a incorporação de N-acetilcisteína e glutatona em filmes à base de alginato e goma *gellan* foi eficaz contra o escurecimento enzimático de peras minimamente processadas por duas semanas.

A Figura 16 apresenta o comparativo das amostras utilizadas na análise de cor no quinto dia de armazenamento.

Figura 16 – Aspecto visual das amostras de maçã utilizadas na análise de cor no quinto dia de armazenamento.



a. Maçã controle; b. Maçã com filme de alginato; c. Maçã com filme de alginato e óleo de canela; d. Maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada.

Fonte: da Autora (2016).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos por este estudo demonstram a eficácia do filme à base de alginato de sódio como um transportador de compostos antimicrobianos e antioxidantes naturais. A utilização dos filmes com 0,15% de óleo de canela e 0,30% de óleo de noz-moscada reduziu as contagens de *Escherichia coli* e *Penicillium commune*, inicialmente inoculadas nas maçãs minimamente processadas durante o período de armazenamento refrigerado.

Além disso, a combinação dos compostos antioxidantes presentes nos óleos essenciais com a barreira física proporcionada pelo filme diminuiu a velocidade de escurecimento enzimático, contribuindo para um melhor aspecto visual das maçãs.

Assim, o uso de filmes à base de polissacarídeos incorporados de óleos essenciais torna-se um tratamento alternativo promissor para frutas minimamente processadas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADITIVOS E INGREDIENTES. Condimentos e especiarias: Ingredientes que enriquecem os alimentos. **Revista Aditivos e Ingredientes**. São Paulo: Editora Insumos, n. 109, p. 33-45, 2014. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/682.pdf>. Acesso em 28 fev. 2016.
- ANYADIKE, N. Inovações em materiais flexíveis. In: _____. **Embalagens flexíveis**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. Cap. 4. p. 47-58.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique. **Polymer International**, v. 60, p.932–936, 2011.
- ANTONIOLLI, L. R.; ALVES, S. A. M. Colheita e Pós-Colheita. In: FIORAVANÇO, J. C.; SANTOS, R. S. S. **Maçã: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2013. Cap. 17. p. 188-198.
- AVILA-SOSA, R.; PALOU, E.; MUNGUÍA, M. T. J.; NEVÁREZ-MOORILLÓN, G. V.; CRUZ, A. R. N.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, p.66–72, 2012.
- 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 Technology**, v. 88, p. 1-7, 2014.
- AZEREDO, H. M. C.; MAGALHÃES, U. S.; OLIVEIRA, S. A.; BRITO, E. S.; RIBEIRO, H. L. Filmes comestíveis de alginato e goma de cajueiro. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Comunicado Técnico 168**. Fortaleza, 2011.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. Resolução RDC nº 2, de 15 de Janeiro de 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cenário da cadeia produtiva da maçã. **Informativo nº 54**. Ano 6, v. 54, mar./2013.
- BRESSEL, T. A. B. **Sistema gerador de microcápsulas de alginato**. 2007. 70 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- BRUNO, L. M.; QUEIROZ, A. A. M.; ANDRADE, A. P. C.; VASCONCELOS, N. M.; BORGES, M. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 75-84, 2005.

CAVALCANTI, Y. W.; ALMEIDA, L. F. D.; PADILHA, W. W. N. Atividade antifúngica de três óleos essenciais sobre cepas de *Candida*. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 20, n. 52, 2011.

CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças. In: _____. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria, 2011. Cap. 1. p. 09-18.

CENCI, S. A.; SOARES, A. G.; FREIRE JUNIOR, M. **Manual de perdas pós-colheita em frutos e hortaliças**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1997. 29p.

CHANG, C-T.; CHANG, W-L.; HSU, J-C.; SHIH, Y.; CHOU, S-T. Chemical composition and tyrosinase inhibitory activity of *Cinnamomun cassia* essential oil. **Botanical Studies An International Journal**, 54:10, p. 1-10, 2013.

CHIABRANDO, V.; GIACALONE, G. Effects of alginate edible coating on quality and antioxidant properties in sweet cherry during postharvest storage. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 2, p 173-180, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. **M38-A2**. v. 28, n. 16, 2008.

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIOTROWICZ, I. B. B.; PRENTICE, C.; BORGES, C. D. Conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1753-1764, jul./ago. 2013.

DENARDI, F.; KVITSCHAL, M. V.; FIORAVANÇO, J. C.; OLIVEIRA, P. R. D. Variedades. In: FIORAVANÇO, J. C.; SANTOS, R. S. S. **Maçã: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2013. Cap. 4. p. 36-50.

DICK, M. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir da semente e da mucilagem de Chia (*Salvia hispanica* L.)**. 2014. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

DI PASQUA, R.; HOSKINS, N.; BETTS, G.; MAURIELLO, G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2745-2749, 2006.

FAGUNDES, C. **Estudo cinético do processamento mínimo de maçã (*Malus domestica* B.) var. Gala**: Influência da temperatura na taxa respiratória e nos parâmetros físico-químicos e sensoriais. 2009. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

FIORAVANÇO, J. C. Botânica. In: FIORAVANÇO, J. C.; SANTOS, R. S. S. **Maçã: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2013. Cap. 2. p. 17-23.

FIORAVANÇO, J. C.; SILVEIRA, S. V. Generalidades. In: FIORAVANÇO, J. C.; SANTOS, R. S. S. **Maçã: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2013. Cap. 1. p. 11-16.

FONTES, L. C. B.; SARMENTO, S. B. S.; SPOTO, M. H. F.; DIAS, C. T. S. Conservação de maçã minimamente processada com o uso de películas comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 872-880, out./dez. 2008.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Os alginatos e suas múltiplas aplicações. **Food Ingredients Brasil**, São Paulo: Editora Insumos, n. 26, p. 34-38, 2013. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/340.pdf>>. Acesso em 28 fev. 2016.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Agentes antimicrobianos químicos e naturais. **Food Ingredients Brasil**. São Paulo: Editora Insumos, n. 15, p. 36-42, 2010. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf>>. Acesso em 28 fev. 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 192 p.

GALHARDO, K. **Canela: História e propriedades**. 2015. Disponível em: <http://quimicacozinha.blogspot.com.br/2015_06_01_archive.html>. Acesso em 21 abr. 2016.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria ananassa*) quality and stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3758–3767, 1998.

GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F.; CENCI, S. A. **Hortalças minimamente processadas**. Brasília: Embrapa, 2005. 34 p.

GROPPO, V. D.; SPOTO, M. H. F.; GALLO, C. R.; SARMENTO, S. B. S. Efeito do cloreto de cálcio e da película de alginato de sódio na conservação de laranja 'Pera' minimamente processada. **Ciênc. Tecn. Alim.**, v. 29, n. 1, p. 107-113, 2009.

GUTIERREZ, J.; BOURKE, P.; LONCHAMP, J.; BARRY-RYAN, C. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 10, p. 195-202, 2009.

HUANG, D. F.; XU, J. -G.; LIU, J. -X.; ZHANG, H.; HU, Q. P. Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria. **Microbiology**, v. 83, n. 4, p. 357-365. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 150 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola municipal**: Culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. 95 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE OPINIÃO PÚBLICA E ESTATÍSTICA. O perfil do consumo de alimentos no Brasil. In: FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO, INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo, 2010. cap. 4, p. 49-61.

JUKIĆ, M.; POLITEO, O.; MILOŠ, M. Chemical composition and antioxidant effect of free volatile aglycones from nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) compared to its essential oil. **Croatica Chemica Acta**, v. 79, n. 2, p. 209-214. 2006.

KAWAGUTI, H. Y.; SATO, H. H. Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 134-143, 2008.

KOCEVSKI, D.; DU, M.; KAN, J.; JING, C.; LAČANIN, I.; PAVLOVIĆ, H. Antifungal effect of *Allium tuerosum*, *Cinnamomum cassia*, and *Pogostemon cablin* essential oils and their componentes against population of *Aspergillus* species. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5, p. 731-737. 2013.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L*a*b***. 2013. Disponível em: <<http://sensing.konicaminolta.com.br/newsletter-archive/archive/Nov13CA.html>>. Acesso em 04 abr. 2016.

LAVINIKI, V. **Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de canela da china (Cinnamomun cassia), orégano (Origanum vulgare), pimenta negra (Piper nigrum) e tomilho (Thumus vulgaris) branco frente às amostras de Salmonella enterica isoladas de aves**. 2013. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

LEE, J. Y.; PARK, H. J.; LEE, C. Y.; CHOI, W. Y. Extending shelflife of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 36, p. 323-329, 2003.

LEITE, A. M.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; DINIZ, M. F. F. M.; TRAJANO, V. N.; MEDEIROS, I. A. Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 121-126, 2007.

LIAKOS, I.; RIZZELLO, L.; SCURR, D. J.; POMPA, P. P.; BAYER, I. S.; ATHANASSIOU, A. All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 463, p. 137-145, 2014.

LIU, J.; SUI, G.; HE, Y.; LIU, D.; YAN, J.; LIU, S.; QIN, W. Prolonging Storage Time of Baby Ginger by Using a Sand-Based Storage Medium and Essential Oil Treatment. **Journal of food Science**, v. 79, n. 4, p. M593 -M599, 2014.

LU, F.; DING, Y.; YE, X.; LIU, D. Cinnamon and nisin in alginate-calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 1331-1335, 2010.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8-15, 2012.

MAFTOONAZAD, N.; RAMASWAMY, H. S.; MARCOTTE, M. Shelf-life extension of peaches through sodium alginate and methyl cellulose edible coatings. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 6, p. 951-957, 2008.

MALTI, J. E.; BOURHIM, N.; AMAROUCH, H. Toxicity and antibacterial effect of mace of *Myristica fragrans* used in moroccan gastronomy: biochemical and histological impact. **Journal of Food Safety**, v. 28, p. 422–441, 2008.

McHUGH, T. H.; SENESI, E. Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 480-485, 2000.

MEHYAR, G. F.; AL-QADIRI, H. M.; ABU-BLAN, H. A.; SWANSON, B. G. Antifungal effectiveness of potassium sorbate incorporated in edible coatings against spoilage molds of apples, cucumbers, and tomatoes during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, p. M210-M217, 2011.

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.

MIN, S.; KROCHTA, J. M. Inhibition of *Penicillium commune* by edible whey protein films incorporating lactoferrin, lactoferrin hydrolysate, and lactoperoxidase systems. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 2, p. M87-M94, 2005.

MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGUDO, R. V. Produção de alginato por microrganismos. **Revista Polímeros**, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2011.

MUÑOZ, W. R. **Síntesis y reactividad de alcanos, alquenos y alquinos**. 2008. Disponível em: <<http://m.exam-10.com/himiya/5330/index.html?page=2>>. Acesso em: 21 abr. 2016.

NARASIMHAN, B.; DHAKE, A. S. Antibacterial principles from *Myristica fragrans* seeds. **Journal of Medicinal Food**, v. 9, n. 3, p.395-399, 2006.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão. **Norma M2-A8**, 8 ed. v. 23, n. 1. 2003a.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico. **Norma M7-A6**, 6 ed. v. 23, n. 2. 2003b.

OMORUYI, I. M.; EMEFO, O. T. In vitro evaluation of the antibiogramic activities of the seeds of *Myristica fragrans* on food borne pathogens. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 253-258, 2012.

OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 87-94, 2008.

PAGANI, A. A. C.; ARAGÃO, C. T.; MORAIS, A. B. L.; MACHADO, C. T.; SILVA, G. F. Efeito da biopelícula de alginato de sódio em maçã minimamente processada. **Revista GEINTEC**, São Cristóvão, v. 2, n. 5, p. 436-444. 2012.

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

PIARU, S. P.; MAHMUD, R.; PERUMAL, S. Determination of antibacterial activity of essential oil of *Myristica fragrans* Houtt. using tetrazolium microplate assay and its cytotoxic activity against vero cell line. **International Journal of Pharmacology**, v. 8, n. 6, p. 572-576, 2012.

PINTO, A. C. **O país da canela, Orellana, Pizarro e a química dos produtos naturais brasileira**. Disponível em: < http://www.iflora.iq.ufrj.br/hist_interessantes/canela.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2015.

PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W. R.; PRENTICE-HERNANDES, C.; BORGES, C. D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs 'Royal Gala' minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 253-264, jan./fev.2013.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleo essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. 112 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

RAVELLI, M. N.; NOVAES, A. P. T. Análise Microbiológica de Hortaliças Minimamente Processadas e Comercializadas no Município de Piracicaba, SP. In: MOSTRA ACADÊMICA UNIMEP, 4, 2006, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: UNIMEP, 2006. Disponível em: <<http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/4mostra/pdfs/21.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2016.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. **International Journal of Food Microbiology**, v.121, n. 3, p. 313-327, 2008a.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; ROJAS-GRAU, M. A.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative study on essential oils incorporated into an alginate-based edible coating to assure the safety and quality of fresh-cut Fuji apples. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 6, p. 1150-1161, 2008b.

RINALDI, M. M. **Perdas pós-colheita devem ser consideradas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/306/>>. Acesso em: 03 set. 2015.

RODRIGUEZ, F. J. **Desarrollo de una cobertura comestible para cilindros de melon (*Cucumis melo* L.) com minimo proceso**. Licenciante Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 2004.

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

ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; RODRIGUEZ, F. J.; CARMONA, A. J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydroc.**, v. 21, n. 1, p.118–127, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Use of essential oils in bioactive edible coatings. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2011.

SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Revisão: Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2012.

SANTOS, M. C. A.; SILVA, T. **Avaliação do mercado de frutas e hortaliças embaladas, minimamente processadas, orgânicas e desidratadas na capital de Minas Gerais**. Contagem: CEASAMINAS/MG, 2010. 113 p.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. Embalagem. In: CENCI, S. A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. Cap. 4. p. 59-70.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; DANTAS, T. B. H. Qualidade e novas tecnologias. In: **BRASIL Pack Trends 2020**. Campinas: ITAL, 2012. cap. 6, p. 139-169.

SEBRAE. **Hortaliças minimamente processadas**. Relatório Completo. Série Estudos de Mercado SEBRAE/ESPM, 2008. 40 p.

SEIFERT, M.; RIBEIRO, J. A.; CANTILLANO, R. F. F.; NORA, L. Avaliação da cor em maçã (*Malus domestica* Borkh.) cv. fuji, minimamente processada, tratada com diferentes coberturas comestíveis. In: IX SIMPÓSIO DE ALIMENTOS, 9., 2015, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: UPF, 2015. p. 1-6.

SERPA, M. F. P.; CASTRICINI, A.; MITSUBUZI, G. P.; MARTINS, R. N.; BATISTA, M. F.; ALMEIDA, T. H. Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 61, n.6, p. 975-982, nov/dez, 2014.

SILVA, C. L. **Consumo de frutas e hortaliças e conceito de alimentação saudável em adultos de Brasília**. 2011. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

SILVA, E. O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, L. T. **Processamento mínimo de produtos hortifrutícolas**. Fortaleza: Embrapa, 2011. 71 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SINGH, G.; MARIMUTHU, P.; HELUANI, C. S.; CATALAN, C. Antimicrobial and antioxidante potentials of essential oil and acetone extract of *Myristica fragrans* Houtt. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 2, p. 141-148, 2005.

SIPAHI, R. E.; CASTELL-PEREZ, M. E.; MOREIRA, R. G.; CASTILLO, A. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 09-15, 2013.

SOUZA, A. C.; GOTO, G. E. O.; MAINARDI, J. A.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **Food Science and Technology**, v. 54, p. 346-352, 2013.

ŠOJIĆ, B.; TOMOVIĆ, V.; KOCIĆ-TANACKOV, S.; ŠKALJAC, S.; IKONIĆ, P.; DŽINIĆ, N.; ŽIVKOVIĆ, N.; JOKANOVIĆ, M.; TASIĆ, T.; KRAVIĆ, S. Effect of nutmeg (*Myristica fragrans*) essential oil on the oxidative and microbial stability of cooked sausage during refrigerated storage. **Food Control**, v. 54, p. 282-286, 2015.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAU, M. A.; CARMONAC, 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**, v. 22, p. 1493-1503, 2008.

TEIXEIRA, V. F. T. **Estudo da obtenção de biocatalizadores com matrizes de alginato de cálcio visando à produção de biodiesel**. 2011. 88 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2011.

TRESSELER, J. F. M.; FIGUEIREDO, E. A. T.; FIGUEIREDO, R. W.; MACHADO, T. F.; DELFINO, C. M.; SOUSA, P. H. M. Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p.1722-1727, 2009

TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G.; GIMENES, M. L. Liberação de benzoato de cálcio de filmes de alginato de sódio reticulados com íons cálcio. **Revista Polímeros**, v. 21, n. 3, p. 175-181, 2011.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 168 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.

VANETTI, M. C. D. Aspectos microbiológicos de produtos minimamente processados. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PÓS-COLHEITA E PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS. 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA HORTALIÇAS, 2002. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br/novidade/eventos/semipos/texto11.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2016.

ANEXO A

Tabela 2 - Comparação entre as médias das contagens de *Escherichia coli*, em log UFC.g⁻¹, de cada um dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	1	2	3	4
	Média da contagem de <i>Escherichia coli</i> ± Desvio-Padrão (log UFC.g ⁻¹)				
MC1	5,834 ± 0,020 ^{aE}	5,962 ± 0,010 ^{aD}	6,191 ± 0,072 ^{aC}	6,699 ± 0,017 ^{aB}	6,959 ± 0,010 ^{aA}
MC2	5,581 ± 0,055 ^{bA}	5,384 ± 0,056 ^{bB}	5,097 ± 0,089 ^{bC}	4,963 ± 0,031 ^{bC}	4,734 ± 0,028 ^{bD}
MONm	5,579 ± 0,034 ^{bcA}	4,952 ± 0,015 ^{cB}	3,462 ± 0,082 ^{cC}	2,951 ± 0,040 ^{cD}	2,739 ± 0,032 ^{cE}
MOC	5,348 ± 0,029 ^{cA}	4,832 ± 0,019 ^{dB}	3,052 ± 0,058 ^{dC}	2,876 ± 0,056 ^{cD}	2,406 ± 0,068 ^{dE}

Legenda: (**MC1**) maçã controle, (**MC2**) maçã com filme de alginato, (**MONm**) maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada e (**MOC**) maçã com filme de alginato e óleo de canela.

Observações: Médias com letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos, médias com letras maiúsculas distintas na linha indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

ANEXO B

Tabela 3 - Comparação entre as médias das contagens de *Penicillium commune*, em log UFC.g⁻¹, de cada um dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.

Tratamento	Tempo de Armazenamento (dias)		
	5	7	9
	Média da contagem de <i>Penicillium commune</i> ± Desvio-Padrão (log UFC.g ⁻¹)		
MC1	4,059 ± 0,102 ^{aB}	4,360 ± 0,102 ^{aB}	4,360 ± 0,102 ^{aA}
MC2	3,901 ± 0,055 ^{aA}	3,752 ± 0,046 ^{bB}	3,752 ± 0,046 ^{bB}
MONm	2,896 ± 0,102 ^{bA}	2,360 ± 0,102 ^{cB}	1,360 ± 0,102 ^{cC}
MOC	2,884 ± 0,033 ^{bA}	2,100 ± 0,174 ^{cB}	1,100 ± 0,174 ^{cC}

Legenda: (**MC1**) maçã controle, (**MC2**) maçã com filme de alginato, (**MONm**) maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada e (**MOC**) maçã com filme de alginato e óleo de canela.

Observações: Médias com letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos, médias com letras maiúsculas distintas na linha indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).

ANEXO C

Tabela 4 - Comparação entre as médias do Índice de Escurecimento dos tratamentos e dos tempos de armazenamento.

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	1	2	3	4
Índice de Escurecimento \pm Desvio-Padrão					
MC1	35,233 \pm 0,704 ^{aD}	36,298 \pm 0,530 ^{aC}	37,136 \pm 0,492 ^{aC}	38,319 \pm 0,604 ^{aB}	39,341 \pm 0,873 ^{aA}
MC2	20,549 \pm 0,915 ^{bC}	21,541 \pm 0,867 ^{bBC}	21,977 \pm 0,872 ^{bABC}	23,065 \pm 0,800 ^{bAB}	23,730 \pm 0,825 ^{bA}
MONm	18,903 \pm 0,596 ^{cC}	19,816 \pm 0,601 ^{cC}	20,920 \pm 0,707 ^{bB}	21,842 \pm 0,676 ^{bAB}	22,813 \pm 0,843 ^{bA}
MOC	15,879 \pm 0,582 ^{dC}	16,855 \pm 0,529 ^{dBC}	17,843 \pm 0,368 ^{cAC}	18,235 \pm 0,674 ^{cA}	18,608 \pm 0,591 ^{cA}

Legenda: (**MC1**) maçã controle, (**MC2**) maçã com filme de alginato, (**MONm**) maçã com filme de alginato e óleo de noz-moscada e (**MOC**) maçã com filme de alginato e óleo de canela.

Observações: Médias com letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos, médias com letras maiúsculas distintas na linha indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela Autora (2016).