



TÁSSIA SILVA TAVARES

**REVESTIMENTO DE QUITOSANA NA
MANUTENÇÃO DA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA DE MORANGOS**

LAVRAS – MG

2015

TÁSSIA SILVA TAVARES

**REVESTIMENTO DE QUITOSANA NA MANUTENÇÃO DA
QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Celeste Maria Patto de Abreu

Coorientador

Dr. Ênio Nazaré de Oliveira Junior

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Tavares, Tássia Silva.

Revestimento de quitosana na manutenção da qualidade
pós-colheita de morangos / Tássia Silva Tavares. – Lavras:
UFLA, 2015.

133 p. : il.

Dissertação(mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador(a): Celeste Maria Patto de Abreu.

Bibliografia.

1. Composição química. 2. Atmosfera modificada. 3.
Refrigeração. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

TÁSSIA SILVA TAVARES

**REVESTIMENTO DE QUITOSANA NA MANUTENÇÃO DA
QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MORANGOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2015.

Dr. Paulo Sérgio Castilho Preté	UFLA
Dr. Luís Roberto Batista	UFLA

Dra. Celeste Maria Patto de Abreu
Orientadora

Dr. Ênio Nazaré de Oliveira Junior
Coorientador

LAVRAS – MG

2015

Ao meu pai Sebastião Paulo (*in memoriam*), pelo exemplo de força e coragem.
Mesmo não estando mais presente fisicamente, todos os ensinamentos
transmitidos foram essenciais em minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, inteligência suprema e causa primária de todas as coisas, pela oportunidade de executar essa tarefa, por ter me dado forças e coragem em todos os momentos da minha vida. Ao meu anjo da guarda pela proteção e companhia constante durante minha trajetória.

Aos meus pais que na simplicidade da vida me estimularam aos estudos orientando a seguir adiante buscando sempre coerência com os meus valores.

As minhas irmãs, irmão, sobrinhos, namorado, amigos, minha querida tia Alzira e a todos os familiares que de alguma forma me apoiaram e torceram pela concretização desse trabalho, entendendo minhas ausências.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Celeste M. Patto de Abreu que me aceitou como sua orientanda. Agradeço pela confiança depositada, comprometimento, contribuição, amizade e exemplo de respeito ao trabalho e às pessoas.

Ao meu coorientador, Dr. Ênio N. de Oliveira Junior pela disponibilidade, contribuição e sugestões para o desenvolvimento deste trabalho.

À banca examinadora desta dissertação, professores: Dr. Paulo Sérgio Castilho Preté, Dr. Luís Roberto Batista e Dra. Denise Alvarenga pelo aceite e sugestões para o enriquecimento desse estudo.

Ao Departamento de Ciências dos Alimentos/UFLA, em especial ao prof. Luís Roberto Batista, por disponibilizar seu laboratório para o desenvolvimento de parte desta pesquisa.

À Luísa Freire pela colaboração durante a realização das análises microbiológicas, e principalmente pela amizade e companheirismo.

À Xulita pela ajuda constante, paciência e amizade durante todo esse tempo.

Às alunas de iniciação científica Marcelle, Tais, Aline e Laís, pela disponibilidade em colaborar durante a realização dos experimentos.

Aos colegas de pós-graduação, em especial àqueles sempre presentes, Claudinha, Estela, Juliana, Pricilla, Mariana e Lucimara. Agradeço pela boa convivência, colaboração e amizade.

À amiga Cristina pelo companheirismo, compreensão e cooperação nas últimas horas da realização desse trabalho.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui.

*“O que sabemos é uma gota;
o que ignoramos é um
oceano”.*

Isaac Newton

RESUMO GERAL

O morango é um dos frutos de grande aceitação pelos consumidores, devido aos seus valores nutricionais e características sensoriais atraentes e é, sem dúvida, um dos produtos agrícolas de grande importância para o Brasil, principalmente para o estado de Minas Gerais. No entanto, possui metabolismo intenso e é extremamente sensível, sendo muito susceptível à perda de água e contaminação por microrganismo, se deteriorando facilmente. Atualmente, ocorre no Brasil grandes perdas pós-colheita de frutos e outros vegetais, seja nas etapas de produção e distribuição ou junto aos consumidores. A refrigeração é uma técnica que minimiza os desperdícios de alimentos, no entanto, não é suficiente para controlar as muitas perdas pós-colheita. A quitosana é um biopolímero natural, biodegradável, atóxico, utilizado em diversas áreas, com grande potencial de utilização como revestimentos comestíveis. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a qualidade de morangos utilizando revestimentos de quitosana (nas concentrações 0,5 e 1,0%) associado à refrigeração. Os parâmetros analisados foram: perda de massa, firmeza, pH, sólidos solúveis, acidez titulável, açúcares totais, redutores e não redutores, ácido ascórbico, pectina total, solúvel e % de solubilização, atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) e avaliação da qualidade microbiológica dos frutos. Os frutos foram adquiridos em um pomar da região de Itutinga-MG. As análises foram realizadas a cada cinco dias, durante vinte dias de armazenamento em condição refrigerada (5°C). Os revestimentos de quitosana (0,5 e 1,0% m/v) mostraram-se promissores na manutenção da qualidade de morangos, uma vez que retardou a perda de massa, diminuição da acidez titulável e vitamina C, o aumento do pH e acréscimos de sólidos solúveis, açúcares totais e redutores. Verificou-se diminuição na firmeza a partir do quinto dia de armazenamento, aumento de pectina total, pectina solúvel, % de solubilização, atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG). O uso de revestimentos de quitosana foi de fundamental importância para manter baixas as contagens de fungos e leveduras. Os resultados foram satisfatórios, indicando que os revestimentos de quitosana retardam o amadurecimento dos frutos, sendo eficazes na manutenção da qualidade de morangos.

Palavras-chave: Composição química. Atmosfera modificada. Refrigeração.

GENERAL ABSTRACT

Strawberry is one of the fruits with great acceptance by consumers due to its nutritional values and attractive sensory characteristics, undoubtedly being one of the agricultural products with great importance in Brazil, especially for the State of Minas Gerais. However, it presents intense metabolism and is extremely sensitive, being highly susceptible to the loss of water and to contamination by microorganisms, easily deteriorating. Currently, high postharvest loss of fruit and other vegetables occurs in Brazil, wither in the production and distribution phase or with the consumers. Refrigeration is a technique that minimizes food waste, however, it is not enough to control the many postharvest losses. Chitosan is a natural, biodegradable and nontoxic biopolymer used in various areas as edible coatings. In this work, we aimed at evaluating the quality of strawberries using chitosan coatings (in the concentrations of 0.5% and 1.0%) associated to refrigeration. The parameters analyzed were: mass loss, firmness, pH, soluble solids, titratable acidity, total sugars, reducing and non-reducing, ascorbic acid, total pectin, soluble and percentage, pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity and evaluation of microbial quality of the fruits. The fruits were acquired from a commercial orchard in the region of Itutinga, Minas Gerais. The analyses were performed every 5 days, during 20 days of storage under refrigeration (5°C). The chitosan coatings (0.5 and 1.0% w/v) were promising in the maintaining the quality of the strawberries, given that it delayed mass loss, reduction of titratable acidity and Vitamin C, increase of pH and of soluble solids and total and reducing sugars. We verified the decrease in firmness from the fifth day of storage, increase in total and soluble pectin, solubilization %, pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity. The use of chitosan coatings was of fundamental importance to maintain low counting of fungi and yeast. The results were satisfactory, indicating that the chitosan coatings delay fruit ripening, being effective in maintaining the quality of strawberries.

Keywords: Chemical composition. Modified atmosphere. Refrigeration.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Objetivo geral.....	14
1.2	Objetivos específicos.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	O morangueiro e seu fruto.....	16
2.2	Amadurecimento	18
2.3	Perdas pós-colheita.....	20
2.4	Aspectos microbiológicos	21
2.4.1	Coliformes totais e termotolerantes	22
2.4.2	<i>Salmonella</i> sp.....	23
2.4.3	Fungos e leveduras	24
2.5	Revestimentos Comestíveis	28
2.6	Quitina e quitosana.....	29
2.6.1	Revestimento de quitosana	32
	REFERÊNCIAS	34
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	41
	ARTIGO 1 Revestimentos de quitosana na manutenção da qualidade de morangos durante o armazenamento refrigerado	41
1	INTRODUÇÃO	43
2	MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1	Matéria-prima.....	47
2.2	Delineamento experimental	47
2.3	Preparo do revestimento	48
2.4	Instalação do experimento e preparo das amostras	48
2.5	Análises estatísticas	49
2.6	Análises físicas e químicas	49
2.6.1	Perda de massa (%).....	49
2.6.2	pH, Acidez titulável (AT) e Sólidos solúveis totais (SST).....	49
2.6.3	Vitamina C	50
2.6.4	Açúcares totais, redutores e não redutores	50
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
3.1	Perda de massa (%).....	51
3.2	pH	53
3.3	Acidez total titulável (ATT).....	55
3.4	Sólidos solúveis totais (SST).....	58
3.5	Açúcares totais, redutores e não redutores	60
3.6	Vitamina C	65
4	CONCLUSÃO	68

	REFERÊNCIAS	70
	ARTIGO 2 Atividade da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em morangos revestidos com quitosana	75
1	INTRODUÇÃO	77
2	MATERIAL E MÉTODOS	81
2.1	Matéria-prima	81
2.2	Delineamento experimental	81
2.3	Preparo do revestimento	82
2.4	Instalação do experimento e preparo das amostras	82
2.5	Análises estatísticas	83
2.6	Firmeza (%)	83
2.7	Pectina total e solúvel	83
2.8	Percentual de solubilização	84
2.9	Atividade da Pectinametilesterase (PME)	84
2.10	Atividade da Poligalacturonase (PG)	84
2.11	Análises estatísticas	85
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	86
3.1	Firmeza (N)	86
3.2	Pectina total (PT), pectina solúvel (PS) e % solubilização	89
3.3	Atividade enzimática da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG)	95
4	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	102
	ARTIGO 3 Qualidade microbiológica de morangos: benefícios da aplicação de revestimento de quitosana	107
1	INTRODUÇÃO	109
2	MATERIAL E MÉTODOS	113
2.1	Preparo e instalação do experimento	113
2.2	Análises microbiológicas	114
2.3	Coliformes totais e termotolerantes	114
2.4	<i>Salmonella</i> sp.	115
2.5	Contagem de aeróbios mesófilos e psicrotróficos	116
2.6	Contagem de Enterobactérias	116
2.7	Quantificação de Fungos Filamentosos e Leveduras	117
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	118
4	CONCLUSÃO	124
	REFERÊNCIAS	126
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	130
	ANEXOS	132

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

As perdas pós-colheita de frutos e outros vegetais são assuntos de extrema importância nos dias atuais, sendo a escassez de alimentos um dos temas mundiais que tem levado a muitas discussões. Sabe-se que o Brasil possui uma extensa área demográfica para a produção de alimentos, no entanto, a deficiência de alguns processos como: transporte e armazenamento adequado na pós-colheita limitam a distribuição de alimentos, gerando grande desperdício. Sendo os frutos de grande importância devido aos seus valores e qualidades nutricionais, deve-se atenção especial à busca de técnicas que visam à manutenção da qualidade desse produto.

Dentre os frutos, o morango é considerado um dos mais importantes, por ser utilizado como matéria prima de formulações de diversos produtos alimentícios e principalmente pela ampla aceitação mundial para consumo *in natura*, o mesmo apresenta características inerentes a sua composição que agradam o consumidor, como a cor, odor, textura macia, sabor levemente acidificado e elevado valor nutricional (CUNHA JUNIOR et al., 2012).

A cultura do morango é um segmento de produção agrícola de extrema importância para a economia mineira, gerando empregos diretos e indiretos, podendo ser cultivada em reduzidas extensões, gerando renda ao pequeno agricultor. O crescente interesse pelo cultivo do morango é devido à elevada rentabilidade da cultura, à aceitação do fruto pelo consumidor e pela diversidade de opções de comercialização e de processamento.

Contudo, morangos são altamente perecíveis, devido a sua estrutura frágil, alta atividade metabólica e sensibilidade à degradação por fungos, que contribuem para uma conservação pós-colheita relativamente curta, dificultando

a sua disponibilidade no mercado de forma *in natura*. Alguns tratamentos, como a refrigeração, têm sido amplamente utilizados para reduzir a deterioração e prolongar a vida útil de frutas e legumes frescos. Além disso, a associação da refrigeração a outras técnicas é uma possível alternativa para a redução das perdas pós-colheita de morangos.

Dentre diversos procedimentos de pós-colheita, o uso de revestimentos tem sido bastante estudado (principalmente à base de polissacarídeos) visando à manutenção da qualidade pós-colheita de frutos, destacando atualmente materiais naturais, biodegradáveis, derivados de animais ou plantas, que possuam propriedade antifúngica ou que induzam à resistência natural das plantas (LUVIELMO; LAMAS, 2012).

Entre os polissacarídeos, a quitosana apresenta inúmeras possibilidades de aplicações na área farmacêutica, agrícola, de cosméticos, medicina e na área de alimentos (PLACKETT, 2011). Este biopolímero tem se destacado principalmente devido as suas propriedades de ação antifúngica, formação de revestimentos semipermeáveis (possibilitando as trocas gasosas realizadas pelo vegetal), ausência de cheiro e sabor desagradáveis, além de não causar reações de toxicidade ao organismo humano (LUVIELMO; LAMAS, 2012).

A quitosana é obtida a partir da quitina, que é um polissacarídeo presente nos crustáceos, insetos e alguns fungos. O camarão representa uma das principais fontes desse biopolímero, e a quitina pode ser adquirida em abundância em rejeitos provenientes do processamento do mesmo (PLACKETT, 2011). Esses rejeitos são oriundos da carcinicultura, atividade de criação de camarão em cativeiro, que anualmente gera toneladas de resíduos, esses quando descartados de forma inadequada poluem o meio ambiente. O reaproveitamento desses resíduos, além de minimizar o impacto ambiental, permite a obtenção de um polissacarídeo que vem sendo cada vez mais destacado devido as suas inúmeras possibilidades de aplicações.

A utilização de revestimentos de quitosana associado a técnicas convencionais de armazenamento pós-colheita, como a refrigeração, é uma alternativa viável na busca do prolongamento da vida útil de morangos. No entanto, tornam-se indispensáveis estudos para aprimorar a elaboração desses revestimentos em relação a alguns fatores importantes, como por exemplo, a concentração de quitosana de modo a manter a qualidade dos frutos na pós-colheita.

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo.

1.1 Objetivo geral

Estudar o efeito do revestimento de quitosana em morangos associado à refrigeração, na pós-colheita, com o objetivo de manter a qualidade dos mesmos por mais tempo de armazenamento.

1.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a influência dos revestimentos de quitosana em duas concentrações (0,5% e 1,0% m/v) sobre alguns parâmetros da qualidade de morangos, tais como, perda de peso, firmeza, sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável, açúcares, pectina, ácido ascórbico e estudar o comportamento da atividade enzimática das enzimas poligalacturonase (PG) e pectinametilesterase (PME);
- b) Avaliar as alterações ocorridas e a eficácia da quitosana em relação às características microbiológicas dos frutos durante o armazenamento;

- c) Avaliar o efeito das diferentes concentrações de quitosana no revestimento de morangos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O morangueiro e seu fruto

O morango é um pseudofruto pertencente à família das rosáceas, gênero *Fragaria* e espécie *Fragaria x ananassa* Duch, constituindo-se de um híbrido obtido na Europa através do cruzamento das espécies selvagens *F. chiloensis* e *F. virginiana*, a primeira originária do Chile e a segunda da América do Norte (BRAHM; OLIVEIRA, 2004; SILVA; DIAS; MARO, 2007).

O morangueiro possui flores hermafroditas e pétalas livres, brancas ou avermelhadas, dispostas ao redor do receptáculo, que após a fecundação dos pistilos dá origem ao “morango”. Dessa forma os morangos são frutos falsos, sobre o qual se encontram os aquênios, que são os verdadeiros frutos. Porém, para fins comerciais é denominado fruto o conjunto formado pelos frutos verdadeiros (pequenos aquênios), vulgarmente denominados “sementes” e receptáculo carnoso (HOFFMANN; BERNARDI, 2006).

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2014), a produção mundial de morangos é de aproximadamente 4,2 milhões de toneladas por ano, sendo os Estados Unidos, Turquia, Espanha, Coréia e Egito os principais produtores. No Brasil a produção foi de 133.000 toneladas em 2013, destacando como maiores produtores os Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul.

Utilizado inicialmente para fins ornamentais e medicinais, atualmente o morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) é cultivado em todo o mundo. No Brasil seu cultivo destaca-se nas regiões de clima temperado e subtropical, sendo principalmente em pequenas propriedades com a utilização da mão-de-obra familiar. No Estado de Minas Gerais, foi introduzido no município de Cambuí, por volta de 1958 (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA

AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2014) e atualmente o cultivo ocorre em expansão nos municípios do Sul do estado, com a produção destinada para consumo *in natura* ou industrializado.

As principais cultivares de morangueiro utilizado no Brasil provém dos Estados Unidos, destacando-se a ‘Aromas’, ‘Camarosa’, ‘Diamante’, ‘Oso Grande’ e ‘Ventana’, ‘Dover’ e ‘Sweet Charlie’. Segundo a literatura, o pequeno número de cultivares disponível tem sido um dos principais obstáculos ao desenvolvimento da cultura do morangueiro, tanto nas regiões ainda não produtivas, quanto naquelas em que já está sendo produzido. Diante disso, novas espécies são introduzidas no país.

A cultivar ‘Camino Real’ é uma das novidades no mercado brasileiro, tendo sido desenvolvida na Universidade da Califórnia, em 2001, e, recentemente, cultivada no Brasil. Os frutos dessa cultivar são de sabor agradável, grandes, firmes, com epiderme e polpa vermelho-escuras, sendo recomendados para o mercado *in natura* e industrial. A produção de morangos cv. ‘Camino Real’ é similar à das cultivares Aromas e Camarosa, porém, a produção é mais tardia e os frutos são maiores e com grande massa, quando comparados com outras cultivares (OLIVEIRA; SCIVITTARO; FINKENAUER, 2008).

Assim, os morangos são mundialmente apreciados, sendo a espécie de maior expressão econômica entre os pequenos frutos vermelhos, se destacando no grupo das pequenas frutas por seu sabor agradável, cor atraente e elevado valor nutricional, constituindo um grande mercado nas principais economias do mundo (MADAIL et al., 2007). Porém, seu período de vida útil é muito curto, assim a comercialização desse fruto *in natura* tem sido limitada, sendo um dos frutos com maiores porcentagens de perdas pós-colheita. Diante disso, métodos de conservação adequados são necessários para minimizar as perdas e estender a vida útil desses frutos (CANER; ADAY; DEMIR, 2008).

O armazenamento adequado é um dos principais fatores para o sucesso na comercialização de frutos tropicais e a refrigeração uma das técnicas amplamente utilizada para aumentar a durabilidade e diminuir as perdas de alguns frutos, retardando o amadurecimento e senescência dos frutos, a fim de reduzir o metabolismo e reduzir a deterioração na pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

2.2 Amadurecimento

O amadurecimento é definido como uma fase final da maturação, sendo considerado um evento importante no ciclo vital dos frutos, pois transforma em produtos atrativos e aptos para o consumo humano. O processo de amadurecimento, uma vez iniciado, conduz os frutos à senescência (envelhecimento e morte dos tecidos), no entanto, pode ser retardado por procedimentos adequados (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Na maioria dos frutos, o melhoramento das características sensoriais, ou seja, sabores e aromas específicos, desenvolve-se em conjunto com o aumento da doçura, com a redução da acidez e da adstringência; sendo o amadurecimento o período de aprimoramento do conjunto desses processos que envolvem desde o último estágio de desenvolvimento até o início da senescência, resultando em características de qualidade para os frutos. Nessa fase, o fruto torna-se mais macio, principalmente pela degradação de compostos da parede celular, resultando também em mudança de cor devido à degradação da clorofila e desenvolvimento acentuado de pigmentos como carotenoides e/ou antocianinas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Após a colheita, a respiração torna-se um dos principais processos fisiológicos que ocorrem nos vegetais, uma vez que não depende mais da absorção de água e minerais efetuados pelas raízes, da condução de nutriente

pelo sistema vascular, nem da atividade fotossintetizante das folhas da planta-mãe. Portanto, as partes do vegetal adquirem vida independente e utilizam, para tal, suas próprias reservas metabólicas acumuladas nas fases de crescimento e de maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Nos morangos o padrão de respiração é não climatérico. De acordo com este modelo de respiração, ocorre uma diminuição gradual na respiração, não ocorrendo amadurecimento após a colheita. Entretanto, alguns fatores são geralmente considerados para a avaliação da qualidade de morangos, como aparência (cor, tamanho, forma, ausência de defeitos), firmeza, sabor (sólidos solúveis, acidez titulável e compostos voláteis), e o valor nutricional (ácido ascórbico e minerais). As concentrações desses parâmetros podem influenciar a sua aceitação perante o consumidor. O teor de ácido ascórbico pode ser utilizado como um índice de qualidade dos alimentos, porque varia no produto de acordo com as condições de cultivo, armazenamento e processamento. A perda progressiva da firmeza ou seu amaciamento ocorre como consequência da maturação, envolvendo mecanismos como a perda de turgor celular, diminuição dos polímeros das paredes celulares, ação de enzimas hidrolíticas e outros mecanismos não enzimáticos (SILVA et al., 2009).

Associadas ao amaciamento dos frutos, algumas enzimas possuem papel importantíssimo em morangos, a pectinametilesterase (EC 3.1.1.11) e a poligalacturonase (EC 3.2.1.15) assumem um dos principais papéis. A pectinametilesterase (PME) promove a desmetilação na posição C₆ de resíduos de ácido metil galacturônico e a poligalacturonase (PG) catalisa a hidrólise de ligações α -1,4 entre dois resíduos adjacentes de ácido galacturônico (RESENDE et al., 2004). De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) a degradação das pectinas parcialmente desmetiladas pela PME, a PG é favorecida para atuar na quebra dos polímeros pécticos em unidades de ácidos galacturônicos que irão compor a pectina solúvel.

Sendo diversas mudanças ocorridas na fase de amadurecimento, algumas podem ser observadas visualmente através das modificações físicas, ou através de análises endógenas, como mudança nos teores de pigmentos, carboidratos, pectinas, etc. Essas modificações parecem estar sincronizadas, no entanto, o amadurecimento não é um estágio fisiológico fixo, pois as mudanças podem variar de um fruto para outro. Além disso, as condições pós-colheita de armazenamento podem influenciar nas características físicas e químicas dos frutos, ocasionando mudanças na qualidade dos frutos. Diante desses fatores a manutenção da qualidade do produto fresco ainda é um grande desafio, sendo aparência, textura e sabor os atributos de qualidade mais importantes para esse fruto (NADIM et al., 2014).

2.3 Perdas pós-colheita

As perdas pós-colheita representam um grande problema, pois geram grandes prejuízos para o produtor e para o próprio país, elevando drasticamente os níveis de desperdícios. Dentre vários fatores que ocasionam o desperdício de alimentos na pós-colheita, a carência dos pequenos produtores em estruturas de manipulação dos alimentos é um dos principais problemas que ocasiona altos índices de perdas. Atualmente no Brasil, o índice de perdas na pós-colheita é elevado, e para mudança desse cenário, é necessário primeiramente detectar os problemas na cadeia de comercialização em busca de atender às exigências de qualidade e minimizar as perdas (RIBEIRO et al., 2014).

Morangos são associados a uma curta vida pós-colheita, que resulta em grandes perdas, ocasionada pela intensa atividade metabólica, susceptibilidade à perda de água e lesões mecânicas, devido a sua textura suave e à falta de uma casca protetora (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2008), sendo também muito

sensível à deterioração associada a fungos, principalmente *Botrytis cinerea*, conhecido como mofo cinzento e *Rhizopus stolonifer* (CAI et al., 2015).

As podridões causadas por fungos manifestam-se no campo, durante o transporte, armazenamento e comercialização dos frutos. A deterioração dos frutos geralmente provocada por esses microrganismos podem depreciar os morangos no aspecto comercial, como também afetar no aspecto de segurança alimentar (EMBRAPA, 2014).

2.4 Aspectos microbiológicos

As doenças de origem alimentar são provocadas por diversos grupos de microrganismos, sendo que as bactérias pela sua diversidade e patogenia têm constituído um grupo importante epidemiologicamente, estando implicadas em dois terços dos surtos de doenças dessa origem. Entre os principais agentes encontram-se as enterobactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. e, os principais agentes de toxinoses alimentares são: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens* e *Bacillus cereus* (ROONEY et al., 2004).

A ANVISA, em 02 de janeiro de 2001, colocou em vigor a RDC n° 12 que regulamenta padrões microbiológicos sanitários em alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001). As condições higiênico-sanitárias precárias e inadequadas na cadeia de produção, distribuição e armazenamento desses alimentos facilitam a contaminação por diferentes gêneros de microrganismos contaminantes, ameaçando a segurança de frutos e outros vegetais.

2.4.1 Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes são divididos em dois grupos: coliformes totais e coliformes termotolerantes, sendo esses pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. A designação para coliformes totais inclui bactérias na forma de bastonetes, não formadores de esporos, gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Mais de 20 espécies encaixam nessa definição, sendo os seguintes gêneros pertencem ao grupo: *Escherichia sp.*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.* (SILVA et al., 2007).

Os coliformes termotolerantes constituem um subgrupo dos coliformes totais, restringem-se às bactérias capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C. Dentre várias espécies pertencentes a esse grupo, encontram-se as bactérias não entéricas, como também bactérias do trato gastrointestinal de humanos e de outros animais endotérmicos (*Escherichia coli*) (SILVA et al., 2007). Pesquisas de coliformes termotolerantes ou de *E. coli* nos alimentos fornecem, com maior segurança, informações sobre as condições sanitárias e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos nos alimentos (FRANK et al., 2011; SILVA JUNIOR, 2005).

A *Escherichia coli* faz partes dos grupos dos coliformes totais e dos coliformes termotolerantes, pois seu habitat natural é o trato gastrointestinal de humano e de animais (endotérmicos), mas pode ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais. Portanto, *Escherichia coli*, apesar de ter seu habitat primário no trato intestinal do homem e de animais, pode ser encontrada nos esterco utilizados na adubação, em outros locais, como o solo e outros vegetais, ocasionando a contaminação do produto (SILVA et al., 2007).

A presença de *E. coli* patogênica em alimentos e água constitui um problema de saúde pública. Por ser um microrganismo muito dinâmico, possui

capacidade de aumentar sua diversidade genética e, sob certas circunstâncias, esse fato pode levar à emergência de novas cepas patogênicas (MALDONADO et al., 2005). As doenças causadas por *E. coli* podem ser limitadas ou podem disseminar pelo organismo. Existem síndromes clínicas resultantes de infecção inerente às cepas patogênicas, dessa bactéria, como por exemplo, infecção do trato urinário e meningite (BORGES, 2010; SILVA; SILVA, 2005).

2.4.2 *Salmonella* sp.

A *Salmonella* sp. é uma enterobactéria que, há mais de um século, tem sido relatada como uma das principais causas de intoxicação alimentar em diversos países (LEE et al., 2015), inclusive no Brasil. As bactérias desse gênero pertencem à família das *Enterobacteriaceae*. Esse gênero é definido como bastonetes gram-negativos não formadores de esporos e anaeróbios facultativos (SILVA et al., 2007). Sendo a maioria dos sorotipos dessas bactérias patogênicas ao homem, porém, apresenta diferenças de sintomatologia em decorrência da variação do mecanismo de patogenicidade, além da idade e resposta imune do hospedeiro (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION- FDA, 2014).

Sendo assim, as cepas de *Salmonella* sp. têm sido o principal alvo das análises em alimentos, sendo normalmente considerado nos ensaios de detecção o seu perfil bioquímico. Em alimentos contaminados por *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* ocorre formação de gás (96% das cepas) e produção de ácido, via fermentação de glicose (100% das cepas). Contudo, não fermentam a lactose, malonato e sacarose (99% das cepas). Além disso, a menor temperatura de crescimento dessas bactérias gira em torno de 5,3°C a 6,8°C, dependendo do sorotipo, e a temperatura ótima de crescimento em torno de 35 e 43°C, com pH ótimo de crescimento entre 7,0 e 7,5, variando entre 3,8 e 9,5, sendo 0,94 a

atividade de água mínima para o crescimento dessa bactéria (SILVA et al., 2007).

O principal habitat natural da *Salmonella* é o trato intestinal de humanos e animais, sendo a água, o solo, as fezes de animais, os insetos e as superfícies de equipamentos e utensílios de fábricas e cozinhas as principais fontes de contaminação. A doença geralmente é contraída através do consumo de alimentos contaminados de origem animal ou vegetal, sendo que, os vegetais contaminados com esterco têm implicado na transmissão de doenças (SILVA et al., 2007).

O gênero *Salmonella* inclui várias espécies e atualmente mais de 2500 sorotipos são relatados, sendo alguns patogênicos para o homem e outros em animais. Dentre os sorotipos mais comuns associados às doenças em humanos, existem três grupos: *S. Typhi*, causador da febre tifoide, *S. Paratyphi* agente etiológico da febre entérica; porém, a manifestação mais comum é a infecção gastrointestinal (salmonelose) causada *S. Enteritidis* (LEE et al., 2015; SHINOHARA et al., 2008).

Salmonelose constitui um dos principais problemas de saúde pública e representa um custo significativo em muitos países, com milhões de casos relatados a cada ano e milhares de óbitos (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2005). Apesar de instruções bem definidas e medidas para prevenir intoxicação alimentar por *Salmonella*, a incidência e severidade de doenças como salmonelose em humanos têm aumentado significativamente (LEE et al., 2015).

2.4.3 Fungos e leveduras

Entre os microrganismos mais importantes temos os fungos, sendo os fungos multicelulares, filamentosos e leveduras não filamentosas, unicelulares e

de forma variada. Os efeitos das leveduras nos alimentos podem ser benéficos ou prejudiciais. As benéficas são usadas na elaboração de vinhos, cervejas, pães e as prejudiciais podem alterar alimentos como, carnes e sucos de frutas (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

Os fungos filamentosos são disseminados no solo, ar e água, sendo frequentemente associados à deterioração de vegetais *in natura*. São considerados indicadores das condições higiênicas de produção e processamento. Sendo diversos gêneros de fungos filamentosos comumente isolados a partir de vegetais, sendo destacado na pós-colheita de morangos dos gêneros *Botrytis*, *Rhizopus* e *Colletotrichum* como causadores das principais doenças que deterioram o fruto tornando-os impróprios para o consumo (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

A doença do mofo cinzento, causada pelo fungo *Botrytis cinerea* se manifesta nos frutos na forma de uma massa de micélios de cor cinza esbranquiçado (Figura 1), sendo disseminada com maior intensidade após períodos de chuvas que antecedem a colheita, devido à umidade (BALBINO, 2006).

O fungo (*Botrytis cinerea*) coloniza as folhas e cálices, e nesses tecidos, inicia a infecção da flor e dos frutos e a produção dos conídios, que são estruturas de disseminação. Trata-se de uma doença bastante comum, que afeta mais de 300 espécies de plantas, podendo afetar os frutos em qualquer estágio de desenvolvimento, provocando o apodrecimento. Infecções iniciais podem se originar de restos de outras plantas contaminadas. O fungo tem uma fase de infecção latente nos frutos, o que faz com que frutos aparentemente sadios na colheita desenvolvam a podridão durante o período de pós-colheita (SANHUEZA et al., 2005). Assim, a podridão causada por *Botrytis* exige a aplicação preventiva de fungicidas desde o período de florescimento, além de

uma maior atenção nos tratos culturais durante a condução da lavoura (HENZ et al., 2008).



Figura 1 O mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*,
Fonte: Henz et al. (2008)

Rhizopus é outro típico fungo de pós-colheita, oportunista na maior parte dos casos, que ataca por meio de ferimentos e aumento da suscetibilidade dos tecidos vegetais no processo de amadurecimento. É bastante encontrado em morangos na pós-colheita. Os frutos infectados por esse fungo ficam sem consistência, sendo posteriormente observado o surgimento de micélios com esporângios e esporângios poros escuros (Figura 2). Essa doença se manifesta principalmente em embalagens que contêm frutos muito maduros, ocorrendo preferencialmente em pós-colheita. Durante o processo de comercialização, raramente aparece na lavoura. É também conhecida como "Podridão Mole", pois o fruto apresenta-se mole e aquoso. Sendo assim, inicialmente quando os frutos

são infectados, apresentam alteração na cor acompanhada de podridão mole aquosa (BALBINO, 2006; SANHUEZA et al., 2005).



Figura 2 A “Podridão Mole”, causada por *Rhizopus*
Fonte: Henz et al. (2008)

A antracnose é outra doença que afeta morangos, é causada por várias espécies do fungo *Colletotrichum*, dentre as quais são citadas *C. fragariae*, *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*. Diante disso, torna-se necessária a utilização de defensivos agrícolas durante a produção de morangos. No entanto, existe uma grande preocupação quanto ao uso excessivo de produtos agroquímicos, sendo que esses colocam em risco a saúde humana. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2014), atualmente a maioria dos defensivos agrícolas são de origem química, existindo um grande interesse do governo federal em fungicidas de origem biológica, tendo esses o seu registro facilitado junto aos órgãos competentes.

Isso ocasiona incessantes buscas por materiais naturais que possuam propriedade antifúngica ou que induzam à resistência natural das plantas para prolongar a vida útil de frutos. Dentre diversos procedimentos pós-colheita, o uso de revestimentos a partir de biopolímeros tem sido amplamente estudado, sendo esses biodegradáveis, derivados de animais ou plantas (LUVIELMO; LAMAS, 2012).

2.5 Revestimentos Comestíveis

Os revestimentos comestíveis geralmente podem ser divididos em proteínas, polissacarídeos, lipídios, e a associação desses com outros compostos. São definidos como camadas finas de material comestível formada sobre uma superfície de alimento como revestimento, tendo como objetivo o de estender o tempo de conservação do alimento, além de proporcionar uma barreira protetora. Possuem uma alta permeabilidade seletiva de gases (O_2 e CO_2) em comparação com embalagens sintéticas convencionais (PLACKETT, 2011). Revestimentos comestíveis podem proporcionar numerosas vantagens sobre embalagem convencional de polímeros não comestível. Eles podem reduzir a complexidade da embalagem de alimentos e, podem contribuir para a redução da poluição do ambiente em virtude da sua natureza biodegradável (LUVIELMO; LAMAS, 2012).

Especificamente em frutos e vegetais, a eficácia do revestimento depende principalmente da seleção do material adequado, o que resulta na composição do gás interno, devido às trocas gasosas que ocorrem. A busca por revestimentos comestíveis que proporcionem melhor efeito na conservação dos alimentos, aumentando a vida útil dos mesmos, tem intensificado as pesquisas científicas (LUVIELMO; LAMAS, 2012). Dentre diversos tipos de revestimentos, a quitosana desperta grande interesse, sendo nos últimos anos

alvo de diversos estudos, na busca de minimizar as elevadas perdas de alimentos.

2.6 Quitina e quitosana

Quitina é um biopolímero, atóxico, biodegradável produzido por fontes naturais renováveis. A quitina compõe o exoesqueleto de crustáceos, como o caranguejo (15-30%) e o camarão (30-40%), também presente nos insetos (5-25%), nas ostras (3-6%), na lula (20-40%) e (10-25%) nos fungos (TASKIN; CANISAĞ; ŞEN, 2014).

Após dois séculos de sua descoberta em fungos e insetos em 1811, a quitina é considerada o segundo polímero mais encontrado na natureza, ficando atrás apenas da celulose. Quitina e celulose apresentam estruturas químicas muito parecidas, contudo, suas propriedades são distintas. Payen, em 1843, descobriu a presença de nitrogênio no C-2 das unidades glicosídicas da quitina, no lugar das hidroxilas observadas na celulose. Já em 1859, o Prof. C. Rouget descobriu que ao se tratar a quitina com solventes alcalinos obtinha-se um derivado solúvel em meio ácido fraco. Esse derivado foi chamado quitosana por Hoppe-Seiler (DIAS et al., 2013; MUZZARELLI et al., 2012; ROBERTS, 2008).

A produção industrial da quitosana ocorreu pela primeira vez no Japão, em 1971. Na década de 80, o Japão já possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana em escala comercial (HIRANO, 1989); além de eleger a quitosana como o material do século XXI, investindo anualmente gigantesca quantidade de recursos financeiros no desenvolvimento científico e no tecnológico associados à quitina e à quitosana. Diante disso, acreditam que em um futuro bem próximo, diversos materiais atualmente em uso vão perder seu lugar para estes biopolímeros. Isso por que quitina, quitosana e derivados estão

sendo investigados e testados para aplicações em diversas áreas, como: agrícola, médica, farmacêutica, alimentícia, ambiental, dentre outras, apresentando excelentes resultados.

Atualmente a quitosana é produzida em escala comercial por processos químicos ou enzimáticos, sendo obtida a partir da desacetilação da quitina. Assim, esses dois biopolímeros (quitina e quitosana) apresentam-se como uma família de copolímeros compostos de N-acetilglicosamina (N-acetil-2-amino-2-deoxi-D-glicopiranoose, GlcNAc) e glicosamina (2-amino-2-deoxi-D-glicopiranoose, GlcN) unidas por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4) (Figura 3). Portanto, diferem quanto à proporção relativa dessas unidades. Na estrutura da quitina predominam unidades de unidades GlcNAc, enquanto na estrutura de quitosana predominam unidades de GlcN (PLACKETT, 2011).

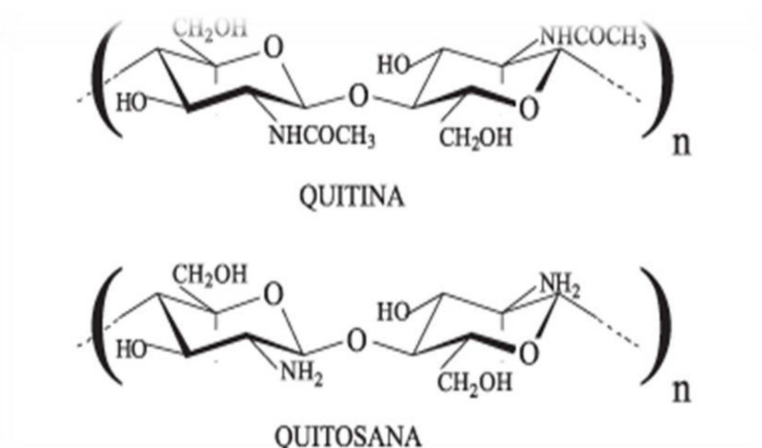


Figura 3 Representação das estruturas primárias de quitina e quitosana, onde n é o grau de polimerização

Fonte: Battisti e Campana-Filho (2008)

A diferença na quantidade relativa dos monômeros é uma das características mais distintivas desses polímeros: o grau de acetilação (GA) ou

de desacetilação (GD). Por GA entende-se a quantidade relativa de grupos acetil (N-acetilglicosamina, GlcNAc) presentes no polímero, e por GD compreende-se a quantidade relativa de grupos amino (glicosaminas, GlcN) presentes. Assim, GA e GD são proporcionalmente inversos (PLACKETT, 2011; TASKIN; CANISAĞ; ŞEN, 2014).

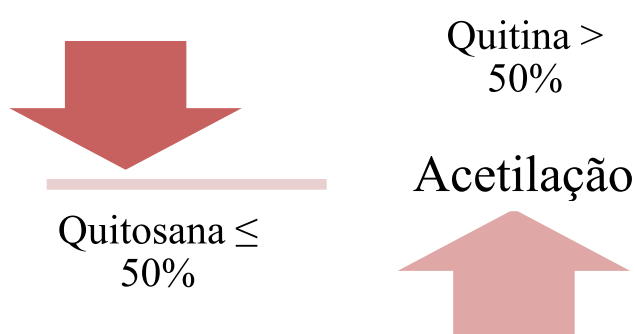


Figura 4 A acetilação dos copolímeros quitina e quitosana

Enquanto a quitina apresenta-se como um produto muito acetilado e insolúvel na maioria de solventes testados, a quitosana possui um grau médio de acetilação em torno de 50%, sendo solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos. A solubilidade da quitosana é atribuída aos grupos aminos disponíveis em sua estrutura, os quais são protonados em meio ácido, resultando em cargas positivas distribuídas ao longo de suas cadeias. Além da quantidade de grupos aminos, a sua distribuição ao longo das cadeias afeta a solubilidade da quitosana (BATTISTI; CAMPANA-FILHO, 2008).

Por se tratar de um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, a quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para usos diversos, sendo nas últimas décadas muito explorada em aplicações industriais e tecnológicas (AZEVEDO et al., 2007). A utilização da quitosana como revestimento comestível despertou o interesse científico nos

últimos anos, devido à possibilidade desse biopolímero contribuir para o prolongamento da vida útil de frutos, diminuindo assim as perdas pós-colheita.

2.6.1 Revestimento de quitosana

Quitosana é um ingrediente comum em alimentos no Japão e utilizado na Europa como imobilizador de gordura, podendo reduzir a taxa de colesterol do organismo humano em 20 a 30% (SEBTI et al., 2005). No Brasil, a quitosana pode ser incorporada em alimentos, recebendo esse produto alegação de propriedade funcional por auxiliar na redução da absorção de gordura e colesterol, quando a quantidade de quitosana fornecida pelo produto for de 3,0 ou 1,5g para alimentos sólidos e líquidos, respectivamente (BRASIL, 2008).

A quitosana possui propriedades físico-químicas particulares, biodegradabilidade em curto espaço de tempo, biocompatibilidade com os tecidos humanos, propriedade antimicrobiana, não toxicidade e, além disso, é utilizada como ingrediente em diversos lugares do mundo. Diante disso é associada ao crescente interesse no desenvolvimento de películas ativas de base biológica a fim de melhorar a conservação de alimentos e reduzir a utilização de fungicidas, apresentando potencial real para aplicações na indústria de alimentos, e atraindo cada vez mais o interesse para sua utilização como revestimentos (AIDER, 2010).

Devido a sua propriedade de formar películas, a quitosana é capaz de formar um revestimento semipermeável em frutos, o que pode modificar a atmosfera interna, bem como a redução da perda de peso, devido à transpiração e melhorar a qualidade global desses produtos (FERNÁNDEZ-SAIZ et al., 2013; ZHANG; QUANTICK, 1998). Também podem atuar como uma barreira mecânica de proteção e como indutor exógeno de respostas de defesa do vegetal

(BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; MENGET et al., 2008), provocando redução na deterioração dos frutos durante o armazenamento.

Dentre as suas excelentes propriedades, a ação antifúngica da quitosana destaca seu potencial para aplicação em frutos e vegetais, visando à manutenção da qualidade microbiológica desses produtos. Segundo Xu et al. (2007) a propriedade antimicrobiana da quitosana varia de acordo com o seu peso molecular, grau de desacetilação e da sensibilidade do microrganismo. Kushwaha, Rai e Singh (2010) relacionam a função antimicrobiana da quitosana à sua molécula carregada positivamente reagindo com as moléculas carregadas negativamente na superfície da célula e alterando a permeabilidade celular com inibição do transporte de compostos através da membrana plasmática dos microrganismos. Também, outros estudos relatam o potencial da quitosana para induzir enzimas de defesa, associada à capacidade de estimular respostas do mecanismo de defesa dos vegetais. Diante disso, nas últimas décadas tem se destacado como fungicida na conservação pós-colheita de frutos (TERRY; JOYCE, 2004; ZHANG; LI; LIU, 2011; ZHANG; QUANTICK, 1998). Todavia, o mecanismo pelo qual a quitosana afeta o desenvolvimento de fungos ainda não foi totalmente elucidado (CHEN et al., 2014).

No entanto, sabe-se que a deterioração de morangos na pós-colheita geralmente é causada por vários fungos, resultando em grandes perdas. Apesar de fungicidas químicos e sintéticos serem os principais meios de controle de doenças pós-colheita de frutos e vegetais, há desvantagens significativas em relação aos produtos naturais, incluindo aumento do custo, perigo no manuseio, preocupação com resíduos de fungicidas presentes nos alimentos, ameaçando a saúde humana e o meio ambiente (DROBY, 2006; SPADARO; GULLINO, 2004).

REFERÊNCIAS

- AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 43, n.6, p.837-842, 2010.
- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v.2, n.3, p.27-34, 2007.
- BALBINO, J. M. D. S. **Tecnologias para produção: colheita e pós-colheita de morangueiro**. 2. ed. Vitória: INCAPER, 2006. 80 p.
- BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.8, p.2014-2019, 2008.
- BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n.2, p. 108-118, 2006.
- BORGES, L. J. **Caracterização de micro-organismos isolados em manipuladores e dietas enterais de dois hospitais públicos de Goiânia**. 2010. 186 p. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
- BRAHM, R. U.; OLIVEIRA, R. P. Potencial de multiplicação in vitro de cultivares de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p.504-510, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento de alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 11 maio 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Regulamenta padrões microbiológicos sanitários em alimentos destinados ao consumo. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 13 jun. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro de produto**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 28 maio 2014.

CAI, Z. et al. Effect of preharvest application of *Hanseniaspora uvarum* on postharvest diseases in strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.100, p. 52-58, Feb. 2015.

CANER, C.; ADAY, M.; DEMIR, M. Extending the quality of fresh strawberries by equilibrium modified atmosphere packaging. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 6, p. 1575-1583, Oct. 2008.

CHEN, J. et al. Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata* and enhancing activity of cherry tomato fruit defense mechanisms. **Crop Protection**, Guildford, v. 56, p. 31-36, Feb. 2014.

CHITARRA, M. I.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

CUNHA JUNIOR, L. C. et al. Armazenamento refrigerado de morango submetido a altas concentrações de CO₂. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 101 n. 4, p. 688-694, out./dez. 2012.

DIAS, K. B. et al. Quitina e quitosana: características, utilizações e perspectivas atuais de produção. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 4, n. 3, p. 184-191, Aug. 2013.

DROBY, S. Improving quality and safety of fresh fruits and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. **Acta Horticultural**, The Hague, n. 709,p.45-52, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema de produção do morango**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/>>. Acesso em: 25 jun. 2014.

FERNÁNDEZ-SAIZ, P. et al. Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. **Food Control**, Guildford,v.34, n.1, p. 61-68, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Agricultural production/strawberry**. Rome, 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 11 jun. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Food borne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook: Salmonella spp**. Disponível em: <<http://www.cfsa.fda.gov/>>. Acesso em: 7jun. 2014.

FRANK, C. et al. Epidemic profile of shiga-toxin-producing Escherichia coli O104:H4 outbreak in Germany. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 365, n. 19, p. 1771-1780, 2011.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2009. 511 p.

HENZ, G. P. et al. **Incidência de doenças de pós-colheita em frutos de morango produzidos no Distrito Federal**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2008. 13 p.

HERNANDEZ-MUNOZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n.2, p. 428-435, 2008.

HIRANO, S. Production and application of chitin and chitosan in Japan. In: SKJAK-BRAEK, G.; ANTHONSESN, T.; SANDFORD, P. (Ed.). **Chitin and chitosan**. London: Elsevier Applied Science, 1989.p. 51-69.

HOFFMANN, A.; BERNARDI, J. **Produção de morangos no sistema semi-hidropônico**. Colombo: EMBRAPA Uva e Vinho,2006.Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/MorangoSemiHidroponico/>>. Acesso em: 11 jun. 2014.

KUSHWAHA, S. K. S.; RAI, A. K.; SINGH, S. Chitosan: a platform for targeted drug delivery. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, Pnackula,v.2, n. 4, p. 2271-2282, Oct./Dec. 2010.

LEE, K. M. et al. Review of Salmonella detection and identification methods: aspects of rapid emergency response and food safety. **Food Control**, Guildford, v.47, p. 264-276,Jan. 2015.

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

MADAIL, J. C. M. et al. **Economia da produção de morango**: estudo de caso de transição para produção integrada. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2007. 24 p.

MALDONADO, Y.et al. Cytotoxicity potential and genotypic characterization of Escherichia coli isolates from environmental and food sources. **Applied Environment Microbiology**, New York, v. 71, n. 4, p. 1890-1898, 2005.

MENG, X. et al. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. **Food Chemistry**, Oxford, v.106, n.2, p.501-508, 2008.

MUZZARELLI, R. A. et al. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: a tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, n.2, p. 995-1012, 2012.

NADIM, Z. et al. Effect of Methylcellulose-based edible coating on strawberry fruit's quality maintenance during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 39, n. 1, p. 80-90, Feb. 2014.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; FINKENAUER, D. Produção de morangueiro da cv. Camino Real em sistema de túnel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.3, p. 681-684, 2008.

PLACKETT, D. V. **Biopolymers: new materials for sustainable films and coatings**. London: Wiley, 2011. 352 p.

RESENDE, J. M. et al. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 206-212, 2004.

RIBEIRO, T. P. et al. Perdas pós-colheita de uva de mesa registradas em casas de embalagem e em mercado distribuidor. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.27, n.1, p. 67-74, 2014.

ROBERTS, G. A. F. Thirty years of progress in chitin and chitosan. **Progress on Chemistry and Application of Chitin**, Varsóvia, v. 13, n. 1, p. 7-15, 2008.

ROONEY, R. M. et al. A review of outbreaks of foodborne disease associated with passenger ships: evidence for risk management. **Public Health Replied**, Washington, v.119, n. 4, p. 427-434, 2004.

SANHUEZA, R. et al. **Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do Nordeste**. Colombo: EMBRAPA Uva e Vinho, 2005.39 p.

SEBTI, I. et al. Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger* contamination. **Journal of Food Science**, Chicago, v.70, n. 2, p. 100-104, 2005.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp. importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciências e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.13, n.5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, A. F.; DIAS, M. S. C.; MARO, L. A. C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 236, p.7-13, 2007.

SILVA, E. D. et al. Caracterização física, química e fisiológica de gabioba (*Campomanesia pubescens*) durante o desenvolvimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n. 4, p.803-809,out./dez. 2009.

SILVA, J. A.; SILVA, W. D. Escherichia coli enteropatogênica (EPEC), ao contrário da Escherichia coli comensal, adere, sinaliza e lesa eritrócitos. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 3, p. 175-196, 2005.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 624 p.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6. ed. São Paulo: Varela, 2005. 623p.

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, n. 2, p. 185-194, 2004.

TAŞKIN, P.; CANISAĞ, H.; ŞEN, M. The effect of degree of deacetylation on the radiation induced degradation of chitosan. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.94, p. 236-239, Jan. 2014.

TERRY, L. A.; JOYCE, D. C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 32, n. 1, p. 1-13, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Drug-resistant Salmonella**. Washington, 2005. Disponível em: <<http://www.who.int>> Acesso em: 7 jun. 2014.

XU, J. et al. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 87, n. 3, p. 220-228, 2007.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 73, n. 6, p. 763-767, 1998.

ZHANG, H.; LI, R.; LIU, W. Effects of chitin and its derivative chitosan on postharvest decay of fruits: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 12, n. 2, p. 917-934, 2011.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 Revestimentos de quitosana na manutenção da qualidade de morangos durante o armazenamento refrigerado

TÁSSIA SILVA TAVARES¹

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orienta o Manual de Normalização da UFLA.

¹ Licenciatura em Química. E-mail: tassiaavares@hotmail.com.

RESUMO

O trabalho determinou alguns parâmetros de qualidade de morangos, com o objetivo de avaliar o uso de revestimentos de quitosana na manutenção de morangos de qualidade pós-colheita durante o armazenamento refrigerado. Os morangos foram colhidos, selecionados, imersos em solução de quitosana, embalados e armazenados a 5°C por vinte dias. O efeito de diferentes concentrações (0,5% e 1,0% m/v) de quitosana sobre os aspectos qualitativos dos frutos foi analisado durante o armazenamento. As avaliações dos seguintes parâmetros foram realizadas a cada 5 dias de armazenamento: perda de peso, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, açúcares totais, açúcares redutores e não redutores e vitamina C. De acordo com as análises estatísticas, houve interação significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento para todos os parâmetros estudados ($p < 0.05$). Foi observado que o armazenamento refrigerado associado aos revestimentos de quitosana foi efetivo na manutenção da qualidade pós-colheita dos morangos, sendo que os revestimentos de quitosana retardaram as mudanças na perda de massa, sólidos solúveis, açúcares totais, açúcares redutores e não redutores, acidez titulável, vitamina C e pH, durante 20 dias de armazenamento. A concentração de quitosana de 1,0% (m/v) foi a mais promissora na manutenção da qualidade conservando os frutos por mais de 10 dias sob refrigeração.

Palavras-chave: Composição química. Atmosfera modificada. Pós-colheita.

1 INTRODUÇÃO

O morango (*Fragaria x ananassa*) é um pseudofruto de sabor e aroma agradável e com elevado valor nutricional, sendo muito bem aceito pelos consumidores. No entanto, morangos são altamente perecíveis, suscetíveis à perda de umidade, lesões e deterioração pós-colheita, além de grande susceptibilidade ao ataque de agentes patogênicos, causadores de podridões, principalmente os fungos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* (FERREIRA et al., 2008). Devido a esses fatores, há uma maior necessidade do uso da refrigeração na pós-colheita de morangos, não somente para contribuir na manutenção da qualidade, como também na diminuição das perdas.

Os métodos normalmente empregados para a conservação de frutos na pós-colheita, ou após alguma etapa mínima de processamento, fazem uso, prioritariamente, da refrigeração associada ou não a embalagens com atmosferas controladas. As condições mais comuns, e de comprovada eficiência, têm por base procedimentos nos quais a temperatura é reduzida logo após a colheita e a uma temperatura apropriada para cada produto é mantida, até a comercialização final (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2003; COSTA; CLEMENTE, 2012). A utilização de baixas temperaturas é essencial para o pré-resfriamento, armazenamento, transporte a longas distâncias e comercialização de morangos. Porém, para um armazenamento prolongado, com manutenção da qualidade, somente a redução da temperatura não é suficiente, sendo necessário associar outras técnicas, para evitar as perdas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Frutos e vegetais são excelentes fontes de vitaminas e outros nutrientes, todavia, apesar de seus elevados valores nutritivos, podem ser fonte de substâncias tóxicas, ou seja, podem conter resíduos de pesticidas. Diante disso, há uma crescente restrição de pesticidas por questões de segurança alimentar e impacto ambiental. Segundo Chen et al. (2011) frutos e legumes apresentam muitas vezes os níveis de resíduos de pesticidas mais altos em comparação com outros grupos de alimentos. Isso é um grande problema, devido ao fato de esses tipos de alimentos serem indispensáveis para uma dieta saudável.

Desta forma, o emprego de revestimentos comestíveis é uma tecnologia alternativa cada vez mais divulgada e avaliada, sendo procedimentos viáveis na busca de aumentar o tempo de vida útil dos frutos. Esses revestimentos não têm como objetivo substituir o uso dos materiais convencionais de embalagens ou mesmo eliminar o emprego da refrigeração, mas sim o de apresentar uma atuação funcional e coadjuvante, contribuindo para a preservação da textura e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas e a perda ou ganho excessivo de água. Diante disso, alguns autores consideram o efeito desses revestimentos similares aos das embalagens, uma vez que promovem alterações na permeação na superfície do vegetal e, por conseguinte, altera a atmosfera interna (PARK, 2005), promovendo assim uma atmosfera modificada ao redor do fruto.

A aplicação dos revestimentos ditos 'comestíveis' ocorre diretamente sobre a superfície dos frutos, configurando membranas delgadas, muitas vezes imperceptíveis a olho nu e com diversas características estruturais, que são dependentes da formulação da solução

filmogênica precursora. Como estes revestimentos passam a fazer parte do alimento a ser consumido, os materiais empregados em sua formação devem ser atóxicos e seguros para o uso em alimentos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA, 2013).

Sendo assim, o uso de compostos naturais ou biodegradáveis, não tóxicos, derivados de animais ou plantas, com ação antifúngica ou que induzam à resistência natural dos vegetais, tem se destacado nos últimos anos (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006), resultando em estudos crescentes que apresentam o uso de revestimentos naturais promissores na pós-colheita de frutos.

Entre diversos compostos naturais investigados atualmente a quitosana tem despertado grande interesse científico. Quitosana é obtida a partir da desacetilização da quitina, polissacarídeo encontrado em abundância na natureza, principalmente em invertebrados marinhos, insetos e alguns fungos, é um polissacarídeo linear constituído por β - (1 \rightarrow 4) -2-amino-2-desoxi- D -glucano (MATHUR; NARANG, 1990). Devido à sua capacidade para formar película e suas propriedades antimicrobianas, a quitosana tem sido amplamente usada na conservação de frutos (GE; LUO, 2005).

Diversos estudos têm investigado a utilização da quitosana na manutenção dos parâmetros de qualidade de frutos (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; VELICKOVA et al., 2013). Também já foi relatada a capacidade da quitosana de controlar doenças em morangos, causadas por microrganismos (EL GHAOUTH et al., 1992). Mais estudos devem ser realizados, sobre o uso desse produto na pós-colheita e a influência sobre a qualidade de morangos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes concentrações de quitosana, aplicada na pós-colheita, sobre as principais características físicas, químicas e bioquímicas de frutos do morangueiro, visando dar suporte aos produtores para uma melhor preparação desse revestimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Camino real foram colhidos nas primeiras horas do dia, em pomar comercial, localizado no município de Itutinga MG, situado a 910m de altitude e nas coordenadas geográficas de 21°18'45" de latitude Sul e 44°41'15" de longitude (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 1959). Após a colheita, os 600 frutos foram transportados em embalagens apropriadas para o Laboratório de Bioquímica, no Departamento de Química, da UFLA, em Lavras-MG. Foram selecionados 360 frutos em relação ao tamanho, estágio de maturação e à ausência de defeitos.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (3x5), sendo os 3 tratamentos: a) Controle (sem revestimento); b) Revestimentos de quitosana 0,5% m/v e c) Revestimentos de quitosana 1,0% m/v; cinco tempos de análises, correspondentes aos dias 0, 5, 10, 15 e 20, com 3 repetições de 8 frutos para cada tratamento.

2.3 Preparo do revestimento

Foi utilizado para o revestimento, quitosana comercial (nome comercial Chitoclear, de massa molar 245 kDa e grau de acetilação 6,3%) adquiridas pela Primex ehf da Islândia. Para o preparo do revestimento, a quitosana foi dissolvida em ácido acético 1%v/v e a solução homogeneizada com mixer (Wallita), a solução foi preparada nas concentrações 0,5% e 1,0% m/v.

2.4 Instalação do experimento e preparo das amostras

Os 360 frutos adquiridos foram selecionados e desinfetados segundo Vargas et al. (2006), por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio 1%, seguida de enxágue por imersão em água destilada. Posteriormente, colocados para secar em temperatura ambiente. Após a secagem os frutos foram separados em três lotes, os quais foram codificados e pendurados em um suporte, sendo que, dois lotes receberam o tratamento por meio da imersão manual dos frutos em soluções dos revestimentos. Após a secagem do revestimento, os frutos foram retirados do suporte, pesados e acondicionados em bandejas de Polietileno Tereftalato (PET), e armazenados a 5°C, em refrigerador BOD, por 20 dias. As análises foram iniciadas logo após a secagem do revestimento (dia zero) e, a cada cinco dias, até o fim do período de armazenamento, o mesmo foi feito para os frutos controle.

2.5 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANAVA), por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2003) e, quando significativas, as médias foram submetidas à análise de regressão polinomial.

2.6 Análises físicas e químicas

2.6.1 Perda de massa (%)

A perda de massa foi determinada a partir do calculado da diferença de peso das unidades experimentais observadas entre o momento da instalação do experimento e cada período de armazenamento, os frutos foram pesados em balança semi analítica (Precision, modelo PR1000) e os resultados expressos em porcentagem (%).

2.6.2 pH, Acidez titulável (AT) e Sólidos solúveis totais (SST)

Após a pesagem, os frutos foram cortados em pedaços, e 5g da amostra foi triturada em politron com 50 ml de água destilada, sendo esse homogeneizado utilizado para determinação do pH, acidez titulável e sólidos solúveis. No suco extraído a partir da homogeneização dos 24frutos por tratamento, foram avaliados, segundo a Association of Official Analytical Chemists- AOAC (2005), o pH (pHmetro digital, marca Marconi), o conteúdo total de sólidos solúveis (°Brix) utilizando-se

um refratômetro digital PR101- ATAGO Company Ltd., Tóquio, Japão e a acidez titulável foi determinada pelo volume de solução de NaOH (0,1N) necessário para a amostra (10mL de suco em 90mL de água destilada) atingir pH 8,1. Os resultados de acidez titulável foram expressos como percentual de ácido cítrico (%).

2.6.3 Vitamina C

Para determinação dos teores de ácido ascórbico, 5g da amostra foi previamente triturada e homogeneizada com 50 ml de ácido oxálico (0,5 %), agitou-se por 15 minutos em agitador orbital-Tecnal e filtrou-se com papel celulósico. Os teores de ácido ascórbico, expressos em mg de ácido ascórbico por 100g da polpa, foram determinados por método colorimétrico (STROHECKER; MAYOR; HENNING, 1967).

2.6.4 Açúcares totais, redutores e não redutores

A extração dos açúcares totais e não redutores foi pelo método Lane- Enyon (AOAC, 2005) e o doseamento segundo a técnica de Somogy adaptada por Nelson et al. (1944), a leitura foi realizada em um espectrofotômetro em esquema computadorizado e os resultados foram expressos em mg de açúcares por 100g da polpa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve interação significativa entre tratamentos e dias de armazenamento para todos os parâmetros estudados ($p < 0,05$). Sendo os resultados apresentados com curvas e equações de regressão.

3.1 Perda de massa (%)

Observa-se na figura 1 que os três tratamentos tiveram o mesmo comportamento durante os dias de armazenamento. Isso ocorreu por serem os morangos muito perecíveis, com atividades fisiológicas intensas na pós-colheita, ocasionando grande perda de água. A perda de água nos frutos do tratamento controle foi mais acentuada em relação aos frutos dos outros dois tratamentos.

Os frutos sem revestimento apresentaram 12,25% de perda de massa no décimo dia do armazenamento. Segundo Malgarim et al. (2014) a perda de massa tolerada comercialmente para morangos é de 6%. Acima desse valor a qualidade dos frutos já fica comprometida (Figura 1). No entanto, os frutos tratados com quitosana (0,5 e 1,0% m/v) apresentaram perda de massa de 4,85 % e 4,96 %, respectivamente, significando que, em relação à perda de massa, o revestimento com quitosana foi eficiente para estender a vida útil do morango até o 10º dia, com ganho de 5 dias na vida útil (ANEXO B).

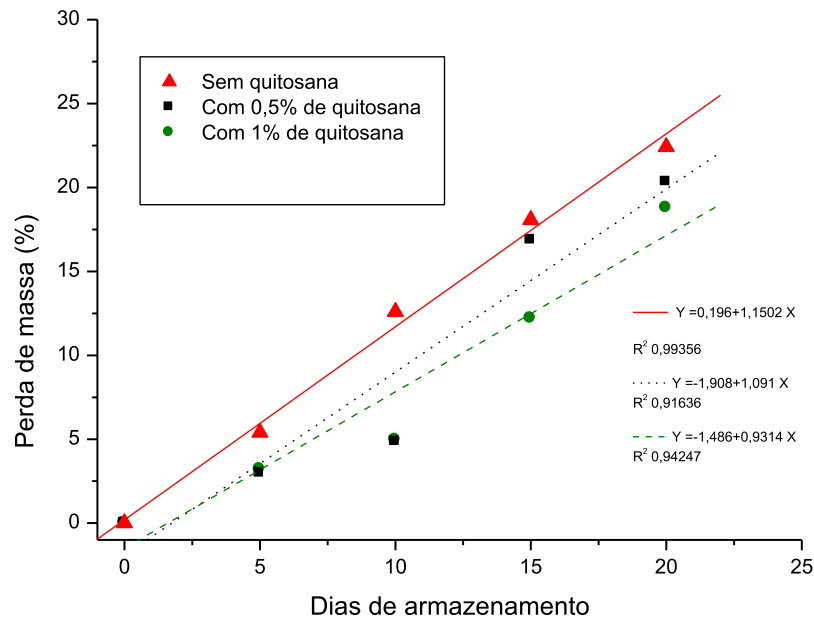


Figura 1 Curvas e equações de regressão de perda de massa de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Isto mostra que a quitosana atuou diminuindo o metabolismo dos frutos pela modificação da atmosfera ao redor do mesmo. Também atuou como uma barreira física, impedindo a excessiva desidratação, com conseqüente murchamento do fruto. Segundo Duan et al. (2011) a migração de água para o meio ambiente é a principal causa de perda de massa durante o armazenamento.

Hernández-Muñoz et al. (2008) observaram menor perda de massa em morangos tratados com revestimentos de quitosana e cálcio, principalmente quando utilizados revestimentos a 1,5% de quitosana. A diferença desse resultado se deve a uma maior concentração de quitosana e associação com o cálcio. Tezotto-Uliana et al. (2014) notaram que a perda de massa de framboesas é influenciada pela concentração de quitosana e o tempo de armazenamento, ocorrendo atraso na perda de massa quando utilizadas concentrações de 1 ou 2% m/v.

O revestimento em frutos contribui para diminuir a perda de massa, mas sua concentração deve ser estabelecida de modo a não impedir totalmente as trocas gasosas, para não criar um ambiente de anaerobiose, o que pode comprometer o sabor do fruto.

3.2 pH

O efeito dos revestimentos de quitosana no pH de morangos pode ser observado na figura 2. Os resultados mostraram que o pH dos frutos aumentou durante todo o período de armazenamento, para os frutos dos três tratamentos, sendo essas diferenças também observadas para esse parâmetro em outros estudos de morangos com revestimentos à base de quitosana (HERNANDEZ-MUÑOZ et al., 2006).

O pH aumenta durante o amadurecimento de frutos, isso pode ser explicado, pois com o aumento no metabolismo dos frutos durante o armazenamento, os ácidos orgânicos são consumidos no processo respiratório. Observando a figura 2, os frutos revestidos com quitosana a 1% apresentaram menores aumentos de pH, indicando que nesses frutos o

metabolismo estava menos acelerado que nos frutos dos outros tratamentos. Podemos inferir que a quitosana a 1% conseguiu diminuir o metabolismo do fruto, estendendo por mais tempo o período de armazenamento.

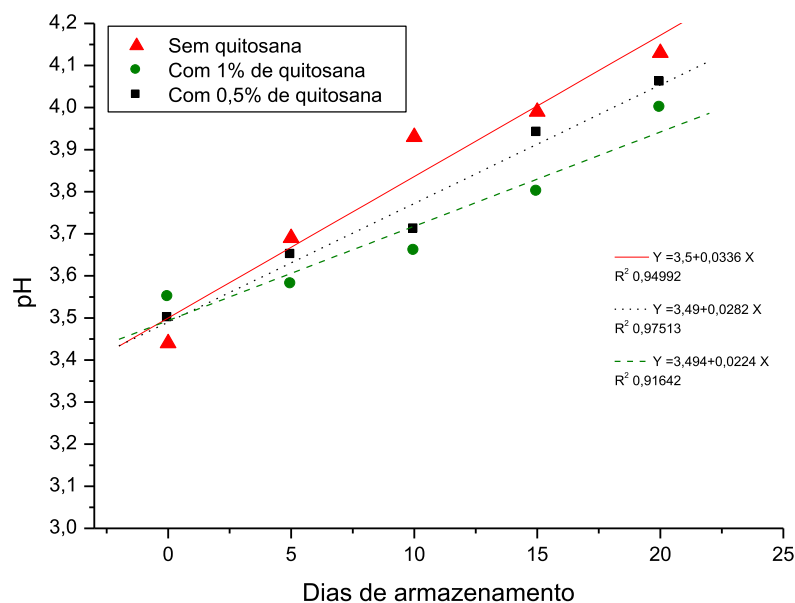


Figura 2 Curvas e equações de regressão do pH de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Cantillano et al. (2008) verificaram pH 3,55 para a cv. Camino real, durante nove dias de armazenamento, valor menor que o observado nesse estudo no 10º dia, pH 3,93 nas amostras controle e pH 3,66 e 3,61 para os frutos revestidos com 0,5 e 1,0% m/v de quitosana, respectivamente, com aumento do pH ao longo do armazenamento.

Perdones et al. (2012) também observaram aumento do pH ao longo do armazenamento de morangos com revestimento à base de quitosana e óleo essencial de limão. Entretanto, nesse estudo notou-se que 1,0% de quitosana reteve bem o aumento do pH dos frutos, o que aponta um possível efeito do revestimento em desacelerar as mudanças do pH de morangos. Também Hernandez-Muñoz et al. (2006) observaram em morangos com e sem revestimento à base de quitosana aumento significativo do pH, ao longo do armazenamento, verificando que a quitosana retardou as alterações do pH dos frutos tratados.

3.3 Acidez total titulável (ATT)

Durante o armazenamento, houve decréscimo nos teores de ATT, nos três tratamentos (Figura 3). Sendo a acidez titulável diretamente relacionada à quantidade de ácidos orgânicos presentes, o que está de acordo com a figura 2. A redução dos ácidos orgânicos ocorre durante o amadurecimento, devido a sua utilização no processo respiratório ou por outras alterações metabólicas do fruto (MAFTOONAZAD et al., 2008).

Os frutos revestidos com 0,5 % e 1% de quitosana apresentaram no quinto dia de armazenamento ATT 0,85 e 0,81(g de ácido cítrico por 100g⁻¹ de polpa) respectivamente, não diferindo entre si ($p < 0,05$), mas ambos diferiram significativamente dos frutos sem quitosana (0,79). No entanto, observaram-se no quinto dia de armazenamento maiores decréscimos de ATT no tratamento com 0,5% de quitosana e nas amostras controle (8,60% e 7,06%, respectivamente), quando comparado com os frutos tratados com 1% de quitosana (6,89%). Sendo a diminuição

da ATT associada ao consumo de ácidos no processo respiratório, em decorrência da maturação, pode-se inferir que os morangos com 1% m/v de quitosana tiveram o processo normal de amadurecimento retardado.

Os valores de ATT encontrados nesse estudo estão de acordo com a literatura, porém, a quantificação desses teores pode ser influenciada por alguns fatores como: condições e tempo de armazenamento, tratamento aplicado e estágio de maturação inicial dos frutos influenciam nos teores de alguns componentes dos frutos.

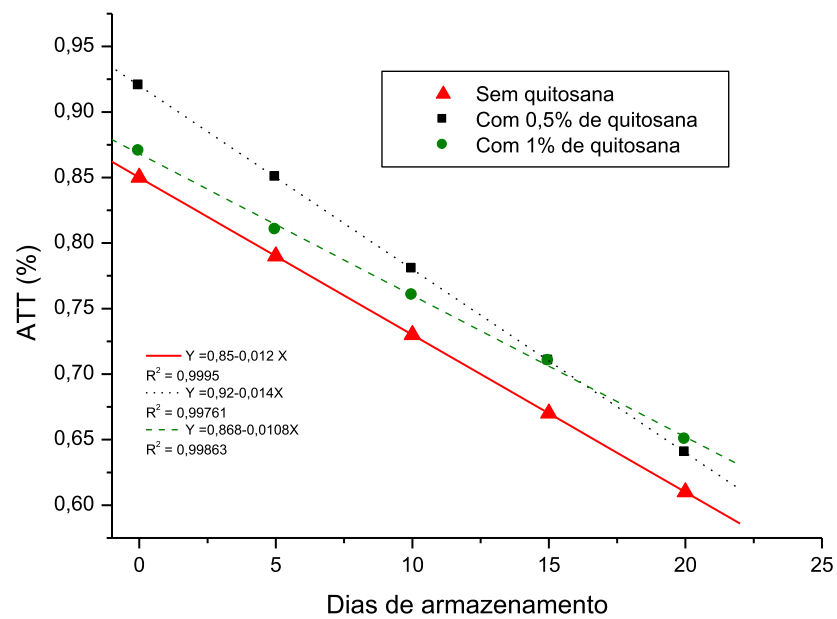


Figura 3 Curvas e equações de regressão de acidez titulável (ATT, g de ácido cítrico por 100g^{-1} de polpa) em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

No entanto, outros estudos avaliaram o efeito da quitosana na acidez titulável de frutos. Souza et al. (2011) verificaram melhor manutenção na ATT em Mangas 'Tommy Atkins' tratadas com quitosana, enquanto Ali et al. (2011) notou menor diminuição de ATT em mamão tratado com concentrações de quitosana superior a 0,5% m/v. Também foi relatado por Bender et al. (2010) que o efeito da atmosfera modificada na queda acentuada da ATT (0,75 a 0,69g de ácido cítrico por 100g⁻¹ de polpa) em morangos. Os revestimentos de quitosana proporcionam mudança na atmosfera interna dos frutos, podendo ser observado que maiores concentrações do revestimento 1% m/v de quitosana resultou na retenção do consumo de ácidos orgânicos durante o amadurecimento de morangos.

A diminuição no metabolismo dos frutos foi mais acentuada nos frutos revestidos com quitosana 1% m/v, onde houve menor queda na ATT (6,89%, 12,64%, 18,39% e 25,29%) nos dias 5, 10, 15 e 20 de armazenamento, respectivamente. Já os frutos revestidos com 0,5% m/v de quitosana e as amostras controle apresentaram decréscimo na ATT ao longo do armazenamento, sendo 16,13%, 23,65%, 31,18% e 7,06%, 14,12%, 21,18%, 28,24% nos dias 5, 10, 15 e 20 de armazenamento, respectivamente. Esses resultados mostram que o revestimento com maior concentração (1% m/v) de quitosana foi eficaz na redução da taxa respiratória e conseqüentemente, atrasou a utilização de ácidos orgânicos nos processos metabólicos. Um menor decréscimo na ATT nos frutos já foi relatado anteriormente em tratamentos com aplicação de revestimentos, em morangos revestidos com amido (GARCIA-VIGUERA; ZAFRILLA;

TOMÁS-BARBERÁN, 1998); e recentemente, morangos com revestimentos de quitosana-cera de abelha (VELICKOVA et al., 2013).

3.4 Sólidos solúveis totais (SST)

Durante o armazenamento observou-se aumento nos teores de sólidos solúveis para todos os tratamentos (Figura 4). Os frutos revestidos com quitosana 1,0% m/v apresentou menor acréscimo de SST (4,77%, 8,39% e 10,84%) durante os dias 5, 10, 15 do armazenamento, respectivamente, quando comparados com aos outros dois tratamentos.

Os sólidos solúveis indicam a quantidade, em gramas, dos sólidos que se encontram dissolvidos no suco ou na polpa dos frutos e sua tendência é aumentar com o avanço da maturação. Além disso, são utilizados como indicativos de maturidade e também determinam a qualidade dos frutos, exercendo importante papel no sabor. Os sólidos solúveis representam conteúdo de açúcares solúvel, ácido orgânico e outros constituintes (HOBSON; GRIERSON, 1993).

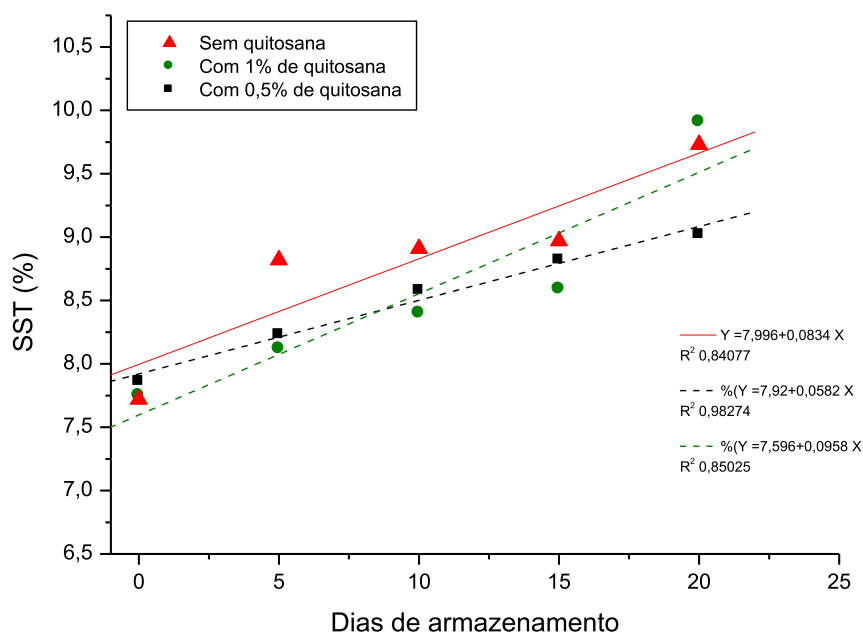


Figura 4 Curvas e equações de regressão de sólidos solúveis totais (SST) em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Os frutos revestidos com 0,5% m/v de quitosana apresentaram acréscimos de SST (4,71%, 9,16% e 12,21% e 14,76%) menores em relação às amostras sem revestimento (14,25%, 15,41%, 16,19% e 26,04%) durante todo o armazenamento. Os resultados (Figura 4) estão de acordo com a literatura, que estabelece no mínimo 7% de SST para morangos, sendo que esses podem estar presentes no fruto na forma livre ou combinada (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Observaram-se no último dia do armazenamento (vigésimo dia) acréscimos consideráveis de SST no tratamento com 1,0% m/v de quitosana (27,87%) e nas amostras controle (26,04%), quando

comparadas com as amostras com 0,5% m/v de quitosana (14,76%). De acordo com os resultados, os revestimentos de quitosana 0,5% e 1% m/v apresentaram eficiência na retenção do aumento de sólidos solúveis.

Os SST geralmente aumentam no transcorrer do processo de maturação dos frutos, seja por biossíntese ou por degradação de polissacarídeos. Portanto, de acordo com os resultados obtidos nesse estudo, os revestimentos de quitosana aplicados aos frutos retardaram a degradação de polissacarídeos, mostrando-se eficazes para reter o aumento de SST.

3.5 Açúcares totais, redutores e não redutores

Durante o armazenamento, ocorreu o acréscimo nos teores de açúcar total em todos os tratamentos (Figura 5). Esse acréscimo pode ser devido à degradação de carboidratos da parede celular com a liberação de açúcares ligados durante o amadurecimento. Os frutos revestidos com 0,5% m/v de quitosana apresentaram aumento nos teores de açúcar total de 3,95%, 6,74%, 12,33% e 18,37%, acréscimos semelhantes aos observados nas amostras com 1% m/v de quitosana (3,55%, 6,16%, 15,64% e 18,48%), sendo esses acréscimos inferiores, quando comparados com as amostras sem revestimento (11,41%, 18,61%, 23,57% e 31,27%), nos dias 5, 10, 15 e 20 do armazenamento, respectivamente.

Pela figura 5 observa-se que a partir do 10º dia os frutos sem revestimento apresentaram maior aumento de açúcares totais quando comparados com os frutos dos outros dois tratamentos. O aumento de

18,61% nos teores de açúcares totais nas amostras sem revestimento (10º dia), foi três vezes superior em relação aos acréscimos observados (6,74 e 6,16%) nos frutos revestidos com 0,5 e 1,0% m/v, respectivamente.

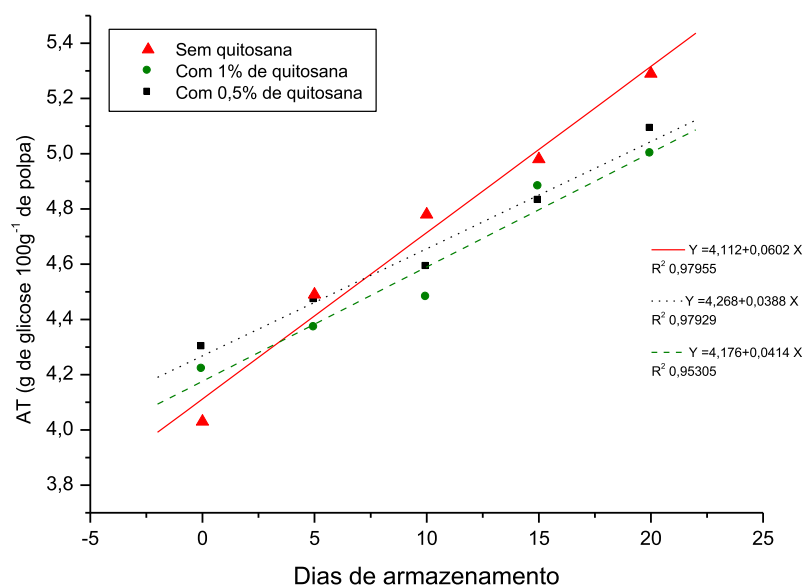


Figura 5 Curvas e equações de regressão de açúcar total (AT) em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Por ser o morango um fruto não climatérico acredita-se que o aumento nos açúcares totais se deve principalmente à degradação da parede celular. Em todos os dias analisados, com exceção do dia da colheita, os frutos controle apresentaram maiores teores de açúcares totais, quando comparados aos frutos revestidos. Isso indica que os frutos sem revestimento entraram em senescência primeiro que os outros dois

tratamentos. A quitosana nas duas concentrações foi eficiente em manter a qualidade dos frutos por mais tempo.

Assim, percebe-se que os menores acréscimos de açúcares em frutos com quitosana podem ter sido ocasionados devido ao atraso na degradação da parede celular, proporcionado pelos revestimentos. Todavia, o aumento de açúcares também pode estar relacionado à perda de água durante o armazenamento, o que pode causar a maior concentração dos mesmos, diante disso, vale lembrar que os frutos sem revestimento estavam mais susceptíveis à perda de água.

Na Figura 6, observa-se o comportamento dos açúcares redutores (AR) nos frutos tratados, ao longo do armazenamento. Os teores de AR aumentaram durante todo o armazenamento, tanto nos frutos revestidos com 0,5% m/v (6,75%, 16,03%, 67,93% e 81,86%) e 1,0% m/v (3,15%, 16,93%, 42,52% e 79,14%) de quitosana, quanto nos frutos controle (17,75%, 32,90%, 71,86% e 94,80%), nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente.

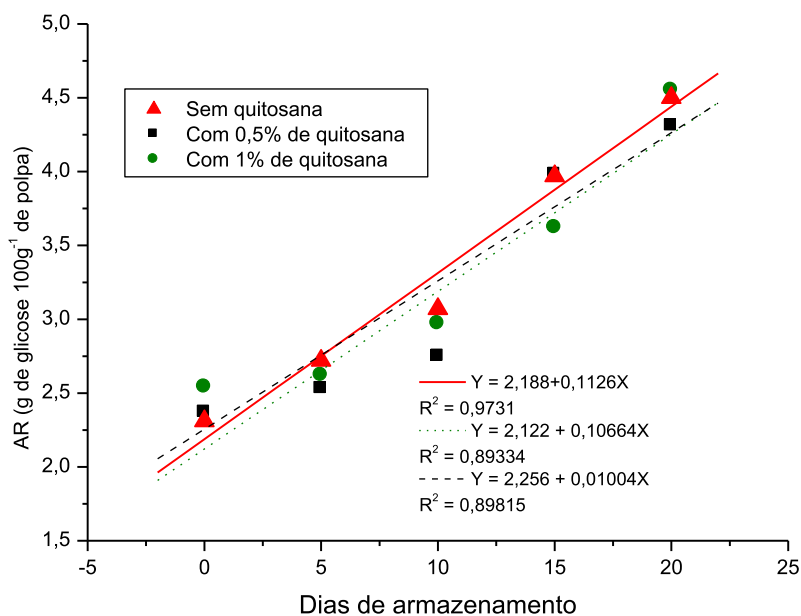


Figura 6 Curvas e equações de regressão de açúcar redutor (AR) em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

O aumento nos teores de açúcares redutores também foi encontrado por Silva et al. (2013), estudando a qualidade de morangos armazenados em temperatura ambiente. Nesse estudo, os maiores teores de AR foram verificados nos frutos sem revestimento, quando comparados aos outros dois tratamentos. Esses maiores acréscimos de açúcares redutores nos frutos sem revestimento indicam que houve maior hidrólise de sacarose (Figura 7) ao longo do armazenamento.

Durante o armazenamento os teores de açúcares não redutores (sacarose) decresceram (Figura 7) em todos os tratamentos. Esse

comportamento já era esperado, uma vez que, durante o amadurecimento a sacarose é hidrolisada a açúcares redutores, o que justifica o aumento dos mesmos (Figura 6).

Ao longo do armazenamento, notou-se decréscimos dos ANR em todos os tratamentos, ocorrendo inicialmente diminuição mais acentuada nas amostras controle (3,93%, 19,10%, 37,64% e 49,44%), em relação aos frutos revestidos com 0,5% (6,73%, 8,29%, 44,04%, 51,30%) e 1,0% m/v de quitosana (4,00%, 8,00%, 46,29%, 66,86%), nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente.

A diminuição dos teores de ANR ocorridos inicialmente nas amostras controle indica que os frutos apresentavam metabolismo mais acelerado, em relação aos frutos com quitosana, podendo ser notado que as mudanças nos teores de ANR ocorreram mais lentamente até o décimo dia de armazenamento nos frutos tratados com quitosana, sendo verificado nesse período decréscimos de 8,29% e 8,00% nas amostras revestidas com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana, respectivamente; sendo esses valores inferiores, quando comparados com 19,10% de diminuição de ANR nas amostras não revestidas.

De acordo com os resultados, nota-se que os revestimentos retiveram as reações do metabolismo dos frutos, ocorrendo menores decréscimos de açúcares não redutores até o décimo dia de armazenamento.

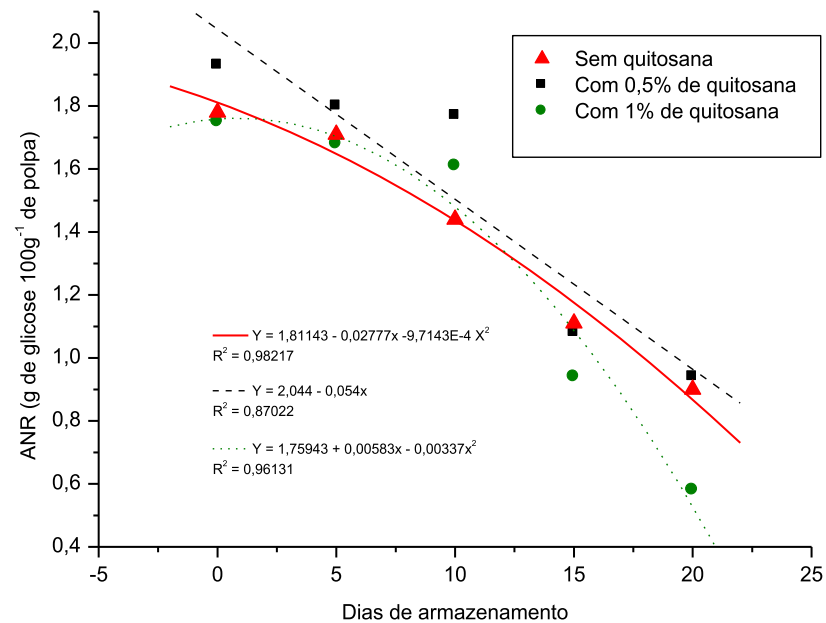


Figura 7 Curvas e equações de regressão de açúcar não redutor (ANR) em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

3.6 Vitamina C

Observou-se perda de vitamina C em todos os tratamentos ao longo do armazenamento (Figura 9). De modo geral, os morangos tratados com revestimentos de quitosana obtiveram menor perda de vitamina C, quando comparados ao controle.

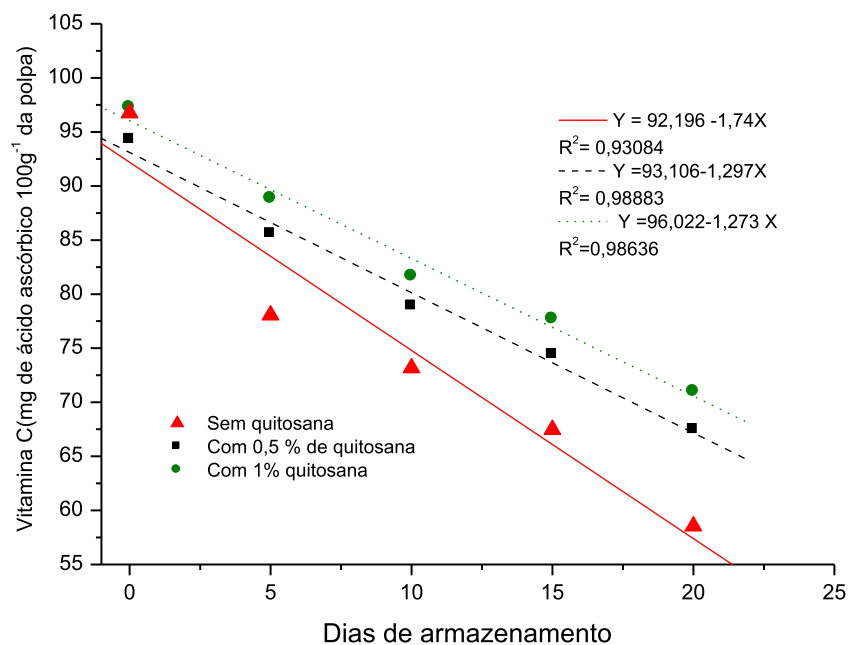


Figura 8 Curvas e equações de regressão de vitamina C em morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Essa redução deve-se à alta atividade pós-colheita da enzima, ácido ascórbico oxidase, que oxida de forma reversível o ácido ascórbico a ácido L-deidroascórbico e que, é rapidamente hidrolisado a ácido 2,3-diceto-L-gulônico, por meio de uma abertura irreversível no anel da lactona, perdendo a atividade vitamínica (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os resultados mostram que a perda de vitamina C foi mais lenta nos frutos tratados com revestimento na concentração 1,0% de quitosana. Isso se deve a uma menor concentração de oxigênio na atmosfera interna

dos frutos. Os teores de vitamina C (mg de ácido ascórbico $\times 100 \text{ g}^{-1}$) encontrados nesse estudo foram 96,75 a 58,54 (controle); 94,31 a 67,47 (0,5% de quitosana) e 97,25 a 70,99 (1,0% de quitosana), nos dias 0 e 20, respectivamente. Os valores observados nos morangos (cv. Camino real) foram superiores aos encontrados por Cardoso et al., (2012) na cv. Diamante (62,5 $\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$) e cv. Camarosa (54,5 $\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$) verificado por Malgarim, Cantillano e Coutinho (2006). No final do armazenamento (dias 15 e 20), foi observada redução de 30,2% a 39,5% de vitamina C nas amostras controle, valores superiores, quando comparado com as amostras 0,5% (21,0% a 28,5%) e 1,0% (20,0%, a 27,0%) de quitosana. A quitosana influenciou positivamente no teor de vitamina C porque reduziu o teor de oxigênio da célula.

4 CONCLUSÃO

A quitosana nas concentrações 0,5 e 1,0% m/v associada à refrigeração foi eficiente em estender a qualidade dos frutos de morangos por mais cinco dias de armazenamento, em relação aos frutos não tratados, sem causar danos e mantendo a qualidade dos frutos.

O revestimento com quitosana 1% m/v foi mais eficiente que o 0,5% m/v. Ambas as concentrações de quitosana apresentaram revestimentos promissores em diminuir o metabolismo dos morangos, atuando como barreira protetora à perda excessiva de água, controlando a respiração dos frutos, dessa forma reteve o amadurecimento dos morangos (ANEXO A e B). Os resultados apontam que os revestimentos de quitosana associados à refrigeração podem ser utilizados para melhorar a qualidade comercial de morangos, possibilitando uma vida útil por até 10 dias.

Chitosan coatings in maintaining strawberry quality during refrigerated storage

ABSTRACT

The study determined a few strawberry quality parameters, with the objective of evaluating the use of chitosan coatings in maintaining the postharvest quality of strawberries during refrigerated storage. The strawberries were harvested, selected, immersed in chitosan solution, packed and stored at 5°C for 20 days. The effect of different chitosan concentrations (0.5% and 1.0% (w/v)) over the qualitative aspects of the fruits was analyzed during storage. The evaluations of the following parameters were performed every 5 days of storage: weight loss, pH, titratable acidity, soluble solids, total sugars, reducing and non-reducing sugars and vitamin C. According to statistical analysis, there was significant interaction between the treatments and time of storage for all studied parameters ($p < 0.05$). We observed that the refrigerated storage associated to chitosan coatings was effective in maintaining postharvest quality of the strawberries, given that the chitosan coatings delayed the changes in weight loss, soluble solids, total sugars, reducing and non-reducing sugars, titratable acidity, vitamin C and pH during 20 days of storage. The chitosan concentration of 1.0% (w/v) was the most promising in maintaining quality, preserving the fruits for more than 10 days under refrigeration.

Keywords: Chemical composition. Modified atmosphere. Postharvest.

REFERÊNCIAS

ALI, A. et al. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 124, n. 2, p. 620-626, 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 18thed. Maryland, 2005. 1094 p.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. et al. **Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas**. Rome: FAO, 2003. 99 p.

BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, London, v.25, n. 2, p.108-118, Feb. 2006.

BENDER, R. J. et al. Armazenagem de morangos cv. Camarosa e cv. Verão em atmosfera modificada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 285-292, 2010.

CANTILLANO, R. F. et al. **Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2008. 29 p.

CARDOSO, L. de M. et al. Qualidade pós-colheita de morangos cv. 'diamante' tratado com cloreto de cálcio associado a hipoclorito de sódio. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 583-588, out./dez. 2012.

CHEN, Y. C. et al. Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. **Food Control**, Guildford, v. 22, n. 7, p. 1114-1120, July 2011.

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

COSTA, J. M. C.; CLEMENTE, E. Refrigeration and cold chain effect on fruit shelf life. In: RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. (Ed.). **Advances in fruit processing technologies**. Boca Raton: CRC, 2012. p. 287-330.

DUAN, J. et al. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 71-79, 2011.

EL GHAOUTH, A. et al. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v.82, n. 4, p.398-402, 1992.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**. Versão 4.2. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.

FERREIRA, M. D. et al. Strawberry fruit resistance to simulated handling. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 65, n. 5, p. 490-495, 2008.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Generally recognized as safe (GRAS)**. Disponível em:
<<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>>.
Acesso em: 5 nov. 2013.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. **Phytochemical Analysis**, Chichester, v. 9, n. 6, p. 274-277, 1998.

GE, H.C.; LUO, D.K. Preparation of carboxymethyl chitosan in aqueous solution under microwave irradiation. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 340, n. 7, p. 1351-1356, 2005.

HERNANDEZ-MUÑOZ, P. et al. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 247-253, 2006.

HERNANDEZ-MUNOZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 2, p. 428-435, 2008.

HOBSON, G.; GRIERSON, D. **Tomato**. Wageningen: Springer Netherlands, 1993. 442 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Enciclopédia dos municípios brasileiros**. Rio de Janeiro, 1959. 670 p.

MAFTOONAZAD, N. et al. Shelf-life extension of peaches through sodium alginate and methyl cellulose edible coatings. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 951-957, 2008.

MALGARIM, M. B.; CANTILLANO, R. F. F.; COUTINHO, E. F. Sistemas e condições de colheita e armazenamento na qualidade de morangos cv. Camarosa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 185-189, ago. 2006.

MALGARIM, M.B.et al. Modificação da atmosfera e resveratrol na qualidade pós-colheita de morangos cv. Camarosa. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 67-70, jan./mar. 2014.

MATHUR, N. K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Education**, Madison, v.67, n.11, p.938-942, 1990.

NELSON, N. et al. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, n. 2, p. 375-379, 1944.

PARK, H. J. Edible coatings for fruits. In: JONGEN, W. W. F. (Ed.). **Fruit and vegetable processing: improving quality**. Boca Raton: CRC, 2005. p. 331-345.

PERDONES, A. et al. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 70, p. 32-41, Aug. 2012.

SILVA, P. A.et al. Quality evaluation of strawberries grown in the region of Lavras, Minas Gerais State. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 777-782, 2013.

SOUZA, M. L. et al. Pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' recobertas com quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n.1, p. 337-343, 2011.

STROHECKER, R.; MAYOR, F.; HENNIG, H. M. **Analysis de vitaminas: métodos comprobados**. 2. ed. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Chitosan applications pre-or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 72-77, June 2014.

VARGAS, M. et al. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 164-171, 2006.

VELICKOVA, E. et al. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*) cv Camarosa under commercial storage conditions. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 52, n. 2, p. 80-92, 2013.

**ARTIGO 2 Atividade da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase
(PG) em morangos revestidos com quitosana**

TÁSSIA SILVA TAVARES²

**Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme
orienta o Manual de Normalização da UFLA.**

² Licenciatura em Química. E-mail: tassiatavares@hotmail.com.

RESUMO

Morangos são altamente susceptíveis à deterioração, sendo assim é indispensável o conhecimento das mudanças fisiológicas que ocorrem durante o amadurecimento, na busca da manutenção da qualidade e do prolongamento da vida útil dos frutos. O uso de revestimentos comestíveis têm se mostrado promissores na busca do aumento do tempo de armazenamento de frutos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças ocorridas na pós- colheita de morangos. Os frutos foram adquiridos em um pomar comercial, na região de Itutinga-MG, selecionados, sanitizados, revestidos com quitosana e armazenados. Os parâmetros avaliados a cada cinco dias (0, 5, 10, 15 e 20 dias) foram: firmeza, pectina total, pectina solúvel e % de solubilização, atividade enzimática da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch) tratados com duas concentrações de revestimentos de quitosana (0,5 e 1,0% m/v), mantidos por vinte dias a 5°C. Houve interação significativa entre tratamentos e dias de armazenamento para todos os parâmetros estudados ($p < 0,05$). Verificou-se diminuição na firmeza a partir do 5º dia de armazenamento, aumento de pectina total, pectina solúvel, % de solubilização, atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG). Ocorreu acréscimo da atividade da PME até o 10º dia para as amostras controle e até o final do armazenamento nos frutos revestidos. As amostras controle apresentaram maior atividade da PG quando comparadas aos frutos revestidos. Os resultados indicam que revestimentos de quitosana retardam o metabolismo de morangos.

Palavras-chave: Morango; Revestimento de quitosana; Poligalacturonase (PG); Pectinametilesterase (PME).

1 INTRODUÇÃO

O morango é muito apreciado pelos consumidores em todo o mundo, devido a suas propriedades organolépticas e seu elevado valor nutricional. É um fruto não climatérico e com vida pós-colheita curta, sendo cultivado em uma grande variedade de climas e, entre as bagas, a sua produção mundial ocupa o segundo lugar, ficando apenas depois das uvas (BODELÓN et al., 2013).

No entanto, morangos são frutos muito perecíveis, sua vida útil é de dois dias em temperatura ambiente (KUMAR et al., 2014), seu intenso metabolismo é um dos principais fatores relacionados às perdas. Além disso, também são susceptíveis a perda de água e lesões mecânicas, devido a sua textura macia e ausência de casca protetora (HERNANDEZ-MUÑOS et al., 2006).

O intenso metabolismo de morangos está associado às diversas reações químicas catalisadas por enzimas, resultando em alterações nos alimentos. Muitas das alterações indesejáveis acontecem nos componentes da parede celular dos frutos, e estão associadas principalmente às substâncias pécticas, um dos componentes mais importantes da parede celular (GOODWIN; MERCER, 1982); pois estão envolvidas no amaciamento dos frutos, o aumento da solubilização de substâncias pécticas na parede celular causa mudanças na firmeza dos frutos e tem sido atribuído à ação das enzimas poligalacturonase (PG) e pectinametilsterase (PME) (SEYMOUR; TAYLOR; TUCKER, 1993). Isso por que as substâncias pécticas derivam dos ácidos poligalacturônicos e ocorrem nas formas de protopectina, ácido pectínico

e ácido pécico, atuando como materiais cimentantes na parede celular (SALUNKHE; BOLIN; REDDY, 1991) e os ácidos poligalacturônicos são os compostos pécticos mais abundantes, formados principalmente por cadeias não ramificadas de resíduos de ácido com ligação α 1,4-D-galacturônico, metil esterificados.

Assim, a enzima PME é conhecida por desesterificar compostos pécticos constituintes da parede celular dos vegetais. A hidrólise de grupos metil-éster, catalisada por essa enzima, produz uma pectina com menor grau de metilação, que sofre clivagem pela PG. Portanto, a desmetilação da pectina resulta em um maior número de grupos carboxílicos, o que pode facilitar a ação da poligalacturonase, que degrada substâncias pécticas, preferivelmente desesterificadas (FRY, 1986). Sendo o efeito sinérgico dessas duas enzimas importantíssimo no processo de amolecimento de frutos durante o estágio de amadurecimento.

Os teores das substâncias pectinas são influenciados pelo grau de maturação dos frutos e o amolecimento está intimamente relacionado com a solubilização e despolimerização da pectina (KURZ; CARLE; SCHIEBER, 2008; ROSLI; CIVELLO; MARTÍNEZ, 2004). De acordo com Liu et al. (2009) substâncias pécticas atuam mantendo as células dos vegetais unidas e a sua degradação resulta em alterações na textura, como o amolecimento dos frutos.

O amolecimento de frutos é um dos principais fatores determinante na pós-colheita. Os mecanismos pelos quais os frutos amolecem durante o armazenamento ainda não são totalmente elucidados. Todavia, sabe-se que o amolecimento ocorre devido à perda de água e

degradação de substâncias durante as modificações químicas da parede celular, além da relação com a despolimerização e solubilização dos polissacarídeos solúveis (CHEN et al., 2011).

Morangos possuem alta taxa de amolecimento associado à perda de qualidade, tornando-se impróprios para o consumo. Nesse sentido, é de extrema importância estudos relacionados às modificações da parede celular dos frutos de morango com o objetivo de manter a qualidade dos mesmos por mais tempo.

Diante dessa necessidade, tem sido bastante investigado o uso de revestimentos comestíveis na manutenção da qualidade de frutos. Entretanto, esses revestimentos não têm como objetivo substituir o uso dos materiais convencionais das embalagens ou mesmo eliminar o armazenamento refrigerado, mas sim o de apresentar uma atuação funcional e coadjuvante, contribuindo para a preservação da firmeza e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água. As mudanças ocasionadas pelos revestimentos em relação à permeação e, por conseguinte, a alteração da atmosfera interna, é por alguns autores associada ao uso de atmosfera modificada (PARK, 2005; TURHAN, 2010).

Assim, devido às suas excelentes propriedades, a quitosana é um polissacarídeo que atualmente vem sendo estudado em diversas áreas, mostrando-se promissora na área de alimentos, sendo muito investigada para utilização na pós-colheita de frutos e vegetais. Esse composto é um biopolímero policatiônico, produzido industrialmente por desacetilação química da quitina, essa é encontrada em abundância em exoesqueletos dos artrópodes, embora possa também ser obtida diretamente a partir das

paredes celulares de algumas plantas e fungos (HERNANDEZ-MUÑOS et al., 2006).

Nos últimos anos, estudos relacionados com a quitosana indicam seu potencial para prolongar o período de armazenamento e controlar a deterioração de frutos, incluindo morangos (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2006; LIN et al., 2011; VARGAS et al., 2006). A larga aplicação desse biopolímero como revestimento comestível deve-se a sua boa biocompatibilidade com os tecidos vivos, não toxicidade, biodegradabilidade, atividade antifúngica e capacidade de formar película (VELICKOVA et al., 2013).

O entendimento da bioquímica do amaciamento de frutos com o amadurecimento associado a técnicas que contribuem na desaceleração do metabolismo dos frutos poderá propiciar informações comerciais importantes, uma vez que mais firmes, os frutos poderão ser comercializados por períodos mais longos. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar as mudanças ocorridas em morangos revestidos com quitosana em diferentes concentrações, observando as alterações associadas à pectina, firmeza e as enzimas pectinametilsterase (PME) e poligalacturonase (PG) durante vinte dias de armazenamento sob refrigeração (5°C).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Camino real foram colhidos nas primeiras horas do dia, em pomar comercial, localizado no município de Itutinga MG, situado a 910m de altitude e nas coordenadas geográficas de 21°18'45" de latitude Sul e 44°41'15" de longitude (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 1959). Após a colheita, os 600 frutos foram transportados em embalagens apropriadas para o Laboratório de Bioquímica, no Departamento de Química, da UFLA, em Lavras-MG. Foram selecionados 360 frutos em relação ao tamanho, estágio de maturação e à ausência de defeitos.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (3x5), sendo os 3 tratamentos: a) Controle (sem revestimento); b) Revestimentos de quitosana 0,5% m/v e c) Revestimentos de quitosana 1,0% m/v; cinco tempos de análises correspondentes aos dias 0, 5, 10, 15 e 20, com 3 repetições de 8 frutos para cada tratamento.

2.3 Preparo do revestimento

Foi utilizado para o revestimento, quitosana comercial (nome comercial Chitoclear, de massa molar 245 kDa e grau de acetilação 6,3%) adquirida pela Primex ehf da Islândia. Para o preparo do revestimento, a quitosana foi dissolvida em ácido acético 1% v/v e a solução homogeneizada com mixer (Wallita) foi preparada nas concentrações 0,5% e 1,0% m/v.

2.4 Instalação do experimento e preparo das amostras

Os 360 frutos adquiridos foram selecionados e desinfetados segundo Vargas et al. (2006), por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio, seguida de enxágue por imersão em água destilada. Posteriormente, colocados para secar em temperatura ambiente. Após a secagem os frutos foram separados em três lotes, os quais foram codificados e pendurados em um suporte, sendo que, dois lotes receberam o tratamento por meio da imersão manual dos frutos em soluções dos revestimentos. Após a secagem do revestimento os frutos foram retirados do suporte, pesados e acondicionados em bandejas de Polietileno Tereftalato (PET), e armazenados a 5°C, em BOD, por 20 dias. As análises foram iniciadas logo após a secagem do revestimento (dia zero) e, a cada cinco dias, até o fim do período de armazenamento, o mesmo foi feito para os frutos controle.

2.5 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANAVA), por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2003) e, quando significativos, as médias foram submetidas à análise de regressão polinomial.

2.6 Firmeza (%)

A firmeza dos frutos foi determinada com o auxílio de um penetrômetro McCormick (modelo FT 327), com sonda de 3mm de diâmetro em 8 frutos por repetição, sendo realizadas duas medições equidistantes por fruto, na zona equatorial. Os resultados estão expressos em Newton (N).

2.7 Pectina total e solúvel

A extração de substâncias pécicas foi realizada seguindo a técnica descrita por Mccready e Mccomb (1952) e determinada por colorimetria por meio da reação de carbazol de acordo com Bitter e Muir (1962) e os resultados foram expressos em mg, de ácido galacturônico por 100g de polpa.

2.8 Percentual de solubilização

A percentagem de solubilização foi calculada a partir de dados de pectina total e solúvel, usando a equação: % de solubilização = (pectina solúvel/pectina total) x 100.

2.9 Atividade da Pectinametilsterase (PME)

Foi determinada segundo a metodologia de Jen e Robinson (1984). O substrato usado foi pectina cítrica 1,0% em NaCl (0,2N pH 7,0) à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada ao extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura de reação com NaOH (0,01N), mantendo o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade de pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades/100g.

2.10 Atividade da Poligalacturonase (PG)

O extrato e a determinação da atividade foram feitos segundo Pressey e Avants (1982). A atividade foi determinada por incubação do extrato com solução de pectina cítrica (0,25%) a 30°C por 3 horas. A reação foi interrompida com banho fervente e os grupos redutores liberados determinados pela técnica de Somogyi, modificada por Nelson et al. (1944), usando glicose anidra como padrão. Uma unidade de

atividade da PG foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de um nanomol (nmol) de grupos redutores por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades/100g.

2.11 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANAVA), por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2003) e as médias dos tratamentos foram realizadas por regressão polinomial.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e dias de armazenamento para todos os parâmetros estudados.

3.1 Firmeza (N)

Os frutos dos três tratamentos apresentaram a mesma firmeza no dia zero (0). No entanto, observou-se alteração da firmeza dos morangos ao longo do armazenamento. Isso já era de se esperar, pois a firmeza dos frutos é afetada principalmente por alterações decorrentes de processos fisiológicos que continuam acontecendo mesmo após a colheita, ocasionando o amolecimento dos frutos (GAYOSSO-GARC et al., 2010).

No entanto, notou-se aumento significativo da firmeza dos frutos, no 5º dia de armazenamento. Isso ocorreu após a mudança de temperatura, tanto para os morangos revestidos como para as amostras controle, sendo o maior aumento (134,43%) observado nos frutos sem revestimento, quando comparados aos tratamentos com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana (60,87% e 48,48%), respectivamente (Figura 1).

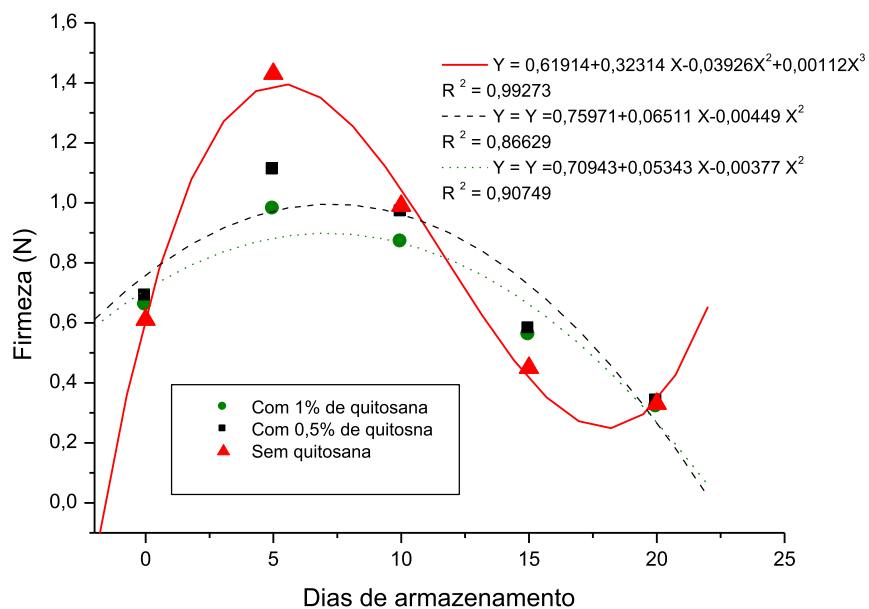


Figura 1 Curvas e equações de regressão de firmeza de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Provavelmente esse aumento brusco da firmeza no quinto dia de armazenamento foi devido ao enrijecimento dos tecidos dos frutos, que pode ter sido ocasionado pela baixa temperatura (5°C) e/ou outras mudanças metabólicas. Esse aumento no quinto dia foi mais acentuado nos frutos sem quitosana, indicando que esses frutos foram mais susceptíveis a baixas temperaturas que os outros dois tratamentos.

Portanto, o menor aumento da firmeza, ou seja, menor ressecamento, observado no quinto dia de armazenamento, provavelmente pode ter sido ocasionado pela eficiência da película formada pelos revestimentos no controle de perda de água que,

consequentemente, diminuiu o ressecamento dos tecidos dos frutos tratados. Velickova et al. (2013) também observaram aumento da firmeza em morangos tratados com revestimentos à base de quitosana associados a cera de abelha; entretanto, verificaram a eficácia dos revestimentos na retenção da firmeza dos frutos.

A partir do décimo dia ocorreu queda na firmeza em todos os tratamentos, sendo menor nos frutos revestidos (ANEXO B). Isso pode ter sido ocasionado devido a um metabolismo mais lento causado pela associação da temperatura e a quitosana. A percentagem em relação à diminuição da firmeza dos frutos revestidos com 0,5% m/v (12,61%, 47,75% e 69,37) e 1,0% m/v de quitosana (11,22%, 42,86% e 67,35%) apresentaram valores inferiores, quando comparados às amostras sem revestimento (30,77%, 68,53% e 76,92%), nos dias 10, 15 e 20, respectivamente. Outros estudos observaram (53,05%) diminuição na firmeza de morangos (0,62 N e 0,29 N) entre o dia zero (0) e o final do armazenamento (dia 6), respectivamente (SILVA et al., 2012).

Verificou-se no último dia (20°) de armazenamento que os frutos apresentaram grande diminuição da firmeza, sendo a mesma em todos os tratamentos. Esta aceleração do amolecimento dos morangos, na fase final de armazenamento, pode ser explicada pelo aumento da atividade metabólica dos frutos, como também pelo rápido crescimento microbiano, o que leva à degradação do fruto.

Os resultados de firmeza desse estudo são consistentes com as investigações relacionadas ao uso de revestimento à base de quitosana associada a ácido oleico (VARGAS et al., 2006), quitosana e cálcio (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2008) e quitosana com cera de abelha

(VELICKOVA et al., 2013), sendo que todas as pesquisas também resultaram na retenção da perda de firmeza de morangos.

Todavia, a diminuição da firmeza está associada ao amadurecimento, com a ação de enzimas degradantes de parede celular, como a poligalacturonase e pectinametilesterase. Os frutos tornam-se amolecidos, ou seja, apresentam menor firmeza e, conseqüentemente, ficam mais frágeis ao transporte e com menor vida útil.

3.2 Pectina total (PT), pectina solúvel (PS) e % solubilização

Durante o período de armazenamento houve alterações na concentração de pectina total (PT) dos frutos (Figura 2), ocorrendo efeito significativo para a interação entre os fatores tratamento x dias de armazenamento ($p < 0,05$).

Observou-se durante o período de armazenamento aumento nos teores de PT, nas amostras controle e nos frutos tratados; entretanto, os morangos revestidos com quitosana apresentaram comportamento diferente de PT e PS em relação às amostras controle (Figura 2 e 3).

O valor médio de PT (mg ácido galacturônico/100g da polpa) observado inicialmente nos frutos revestidos com 0,5% m/v (282,28) e 1,0% m/v de quitosana (269,71) não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$); no entanto, as amostras controle apresentaram no dia 0 de armazenamento menor valor (242,84) de PT, diferindo ($p < 0,05$) dos frutos tratados. Os valores de PT para morangos da cv. Camino real encontrados nesse estudo são inferiores aos valores verificados por Contreras et al. (2007) $530 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Todavia, são próximos dos teores

de PT em morangos da cv. Tudla ($370\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) observados por Silva et al. (2009) estudando qualidade de diferentes cultivares de morangos, armazenados em temperatura ambiente. Segundo os autores, a variação dos teores de PT ocorre em diferentes cultivares de morangos.

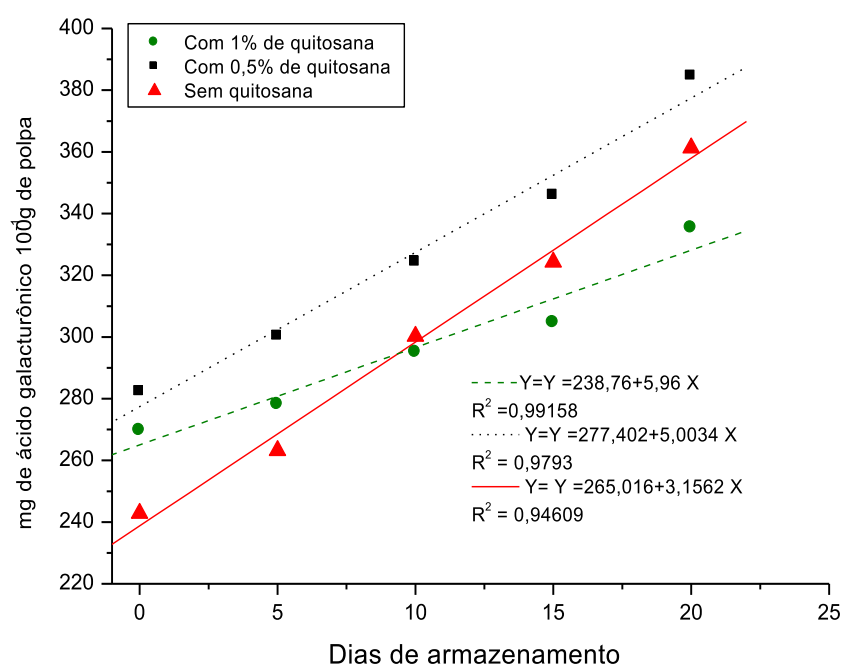


Figura 2 Curvas e equações de regressão de pectina total (PT) de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

No décimo dia de armazenamento os frutos revestidos com quitosana 0,5%*m/v* apresentaram maior PT, em relação aos outros dois tratamentos, com 1,0% de quitosana e sem revestimento ($324,26$; $295,03$ e $300,23\text{mg}$ ácido galacturônico/ 100g da polpa), respectivamente. No

entanto, os acréscimos (%) de PT foram maiores nas amostras controle (8,68%, 24,06%, 33,40% e 49,29%), quando comparados aos frutos revestidos com 0,5% (6,36%, 14,87%, 22,52% e 36,23%) e 1,0% m/v de quitosana (3,13%, 9,40%, 12,97% e 24,33%) nos dias 5,10,15 e 20, respectivamente. Os resultados desses teores estão de acordo com as mudanças ocorridas na firmeza dos frutos após o quinto dia de armazenamento, quando os frutos tratados com quitosana (0,5% e 1,0% m/v) resultaram em menor percentagem na perda de firmeza (Figura 1).

Diante disso, o metabolismo dos frutos com quitosana pode ter sido retardado, uma vez que as substâncias pécticas são os principais componentes químicos dos tecidos e responsáveis pelas mudanças de textura dos frutos. Embora os grupos carboxílicos ácidos se encontrem ligados ao cálcio, formando o pectato de cálcio, que é insolúvel e também designado como protopectina, predominante nos frutos imaturos; com o amadurecimento, por ação enzimática, ocorre liberação do cálcio e a solubilização de protopectina das paredes celulares, há então modificação da textura, que se torna gradualmente macia. Essas transformações ocorrem durante o amadurecimento, como também no armazenamento dos frutos. As pectinas em frutos encontram-se sob diferentes formas, caracterizadas por diferentes solubilidades; assim, a protopectina é uma forma insolúvel em água e que, por hidrólise parcial, produz ácidos pectínicos ou ácidos pécticos, também chamados de pectinas solúveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

De acordo com Oliveira Junior et al. (2004) o aumento de PT também pode estar relacionado à eficiência da metodologia de extração da PT quando o fruto não está totalmente maduro; o que sugere que a

pectina dentro da parede está em uma forma não acessível à pectinase, e a eficiência de extração talvez possa aumentar com o amadurecimento, já que a maioria dos polissacarídeos sofre hidrólise com o avanço do amadurecimento.

Sendo o aumento de pectina total decorrente das transformações fisiológicas que continuam ocorrendo após a colheita, pode ser observado nesse estudo maior acréscimo de PT no décimo e vigésimo dia para os frutos tratados e no controle. Entretanto, os frutos com 1,0% m/v de quitosana tiveram menor percentagem de acréscimo de PT durante todo o período de armazenamento, o que pode caracterizar um metabolismo mais lento desses frutos.

Segundo Goulão e Oliveira (2008) as alterações da parede celular estão associadas ao amolecimento durante o amadurecimento dos frutos e são relacionadas principalmente à solubilização e despolimerização das pectinas; assim, podem ser observadas as tendências de pectina solúvel (PS) durante o armazenamento, sendo o comportamento semelhante para ambos os tratamentos (Figura 3).

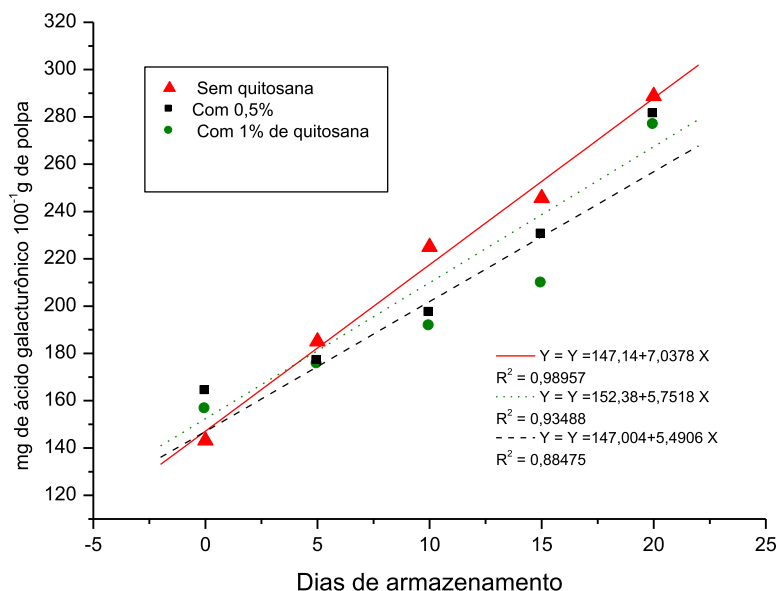


Figura 3 Curvas e equações de regressão de pectina solúvel (PS) de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

As amostras sem revestimento apresentaram maiores teores no aumento de PS (27,90%, 57,21%, 67,00% e 101,23%) em relação aos frutos com 0,5% m/v (7,78%, 20,18%, 40,34% e 71,36%) e 1,0 m/v de quitosana (12,08%, 22,38%, 33,95% e 76,79%). Isso se deve a uma maior atividade das enzimas pectinolíticas (Figuras 5 e 6), podendo também ser observada a perda de firmeza nesses frutos (Figura 1). O aumento nos teores de PS durante o armazenamento dos morangos revestidos e sem revestimento está de acordo com Silva et al. (2009), que verificaram

aumento de PS durante o amadurecimento de morangos, armazenados em temperatura ambiente.

Verificou-se que a maior % de solubilização de ácidos galacturônicos ocorreu nos frutos controle de forma mais acentuada no décimo dia do armazenamento, apresentando% de solubilização (74,99), diferindo ($p < 0,05$) das amostras tratadas com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana (60,77 e 64,92%), respectivamente (Figura 4). Esses resultados estão de acordo com a Figura 1, em que os frutos controle apresentaram maior perda da firmeza, no mesmo período de armazenamento.

Silva et al. (2009) também registraram uma tendência de aumento da percentagem de solubilização de morangos. Outros estudos (OLIVEIRA et al., 2005) relataram aumento na fração solúvel de substâncias pécticas durante o amadurecimento, devido aos processos atribuídos à ação de enzimas pectinolíticas, sendo a solubilização de substâncias pécticas uma tendência natural, durante a maturação dos frutos . Para os frutos controle a maior % de solubilização ocorreu no décimo dia do armazenamento, diferente dos outros dois tratamentos.

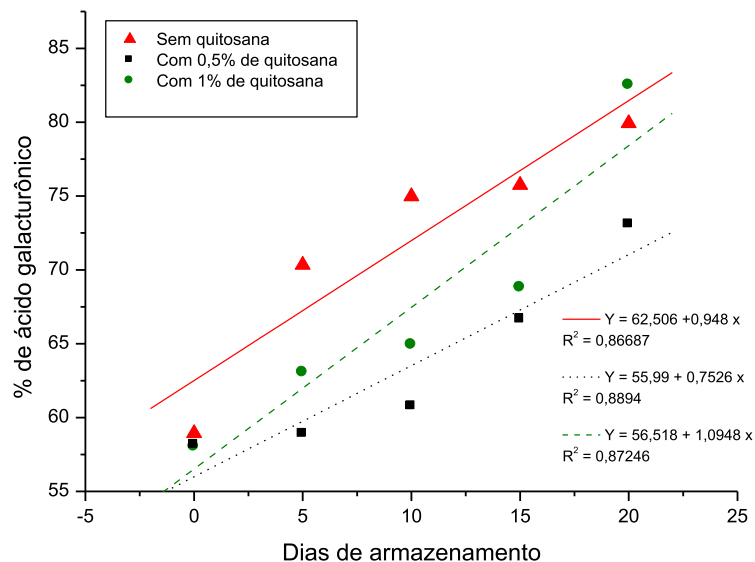


Figura 4 Curvas e equações de regressão de % solubilização de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

3.3 Atividade enzimática da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG)

Foi verificado o acréscimo da atividade das enzimas (PME e PG) em todos os tratamentos ao longo do armazenamento dos morangos (Figuras 5 e 6). Durante todo o armazenamento verificou-se nas amostras com 0,5% m/v de quitosana acréscimos mais baixos de atividade da PME (15,2%, 33,2%, 64,5% e 72,9%), quando comparados com os frutos revestidos com 1,0% m/v (23,8%, 51,6%, 68,4% e 77,9%) e os frutos controle (70,4%, 135,3%, 148,4% e 155,0%). Não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) na atividade enzimática (PME), em

relação aos frutos com quitosana e os frutos controle, no dia zero (0) do armazenamento. Os tratamentos apresentaram atividade da PME ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de 9,19 e 9,61 nos frutos com revestimento 0,5 e 1,0% m/v, respectivamente e 7,67 no controle. Notou-se o acréscimo mais acentuado da atividade da PME nos frutos controle (135,33%), com quitosana 1,0% m/v (51,61%) e 0,5% m/v(64,53%), nos dias 5, 10 e 15, respectivamente (Figura 5).

No último dia (20º dia) de armazenamento não houve diferenças ($p<0,05$) na atividade enzimática (PME) entre os três tratamentos, sendo verificado nesse período 15,89; 17,09 e 19,55 $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ na atividade dessa enzima.

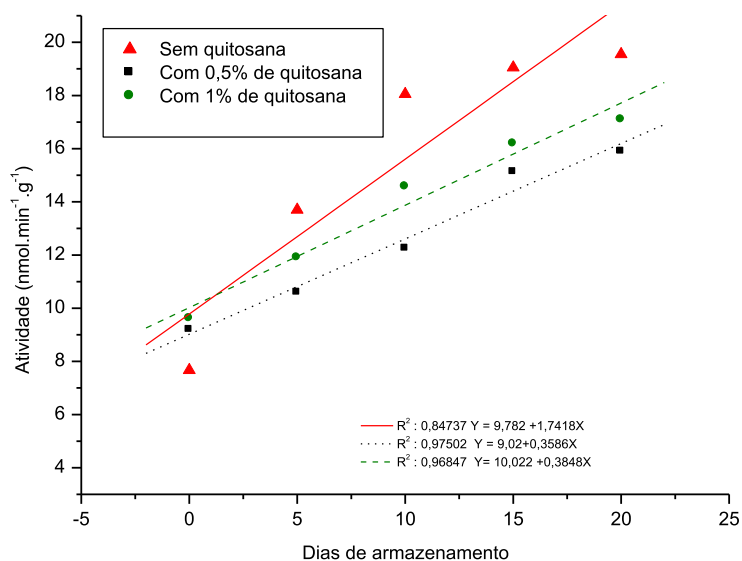


Figura 5 Curvas e equações de regressão da atividade de pectinametilsterase (PME) de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

Outros estudos com frutos tropicais também verificaram aumento da PME durante o armazenamento (LIMA; ALVES; FIGUEIRA, 2006). No entanto, esses os autores relatam que a atividade dessa enzima nem sempre é observada, podendo aumentar, diminuir ou permanecer constante durante a maturação do fruto. Segundo González-Aguilar et al. (2009), estudando mamão minimamente processado revestido com quitosana, a atividade da PME foi 50% maior nas amostras controle. Esse estudo sugere a influência da quitosana na menor atividade da PME, indicando que os revestimentos retardaram o metabolismo dos frutos. Silva et al. (2012) verificaram no sexto dia de armazenamento atividade da PME ($60,22 \text{ nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) em morangos à temperatura ambiente, superior aos observados nesse estudo.

A atividade da enzima poligalacturonase (PG) foi crescente ao longo do armazenamento. No dia zero (0) foi verificada maior atividade da PG nas amostras revestidas com quitosana, quando comparadas com o controle (Figura 6). Durante todo o armazenamento verificaram-se nas amostras sem revestimento maiores acréscimos na atividade da PG (23,33%, 63,28%, 86,24% e 87,33%), quando comparados com os frutos revestidos com 1,0% m/v (10,37%, 43,69%, 51,76% e 58,30%) e 0,5% m/v de quitosana (1,04%, 8,51%, 36,17% e 38,30%), nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente.

Notou-se no 10º dia do armazenamento, acréscimo mais acentuado da atividade da poligalacturonase ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) nos frutos controle (2681) e com 1,0% m/v de quitosana (2812). Posteriormente (15º dia) os frutos com revestimento 0,5% m/v (2880) apresentaram maior

acréscimo na atividade da PG, conforme pode ser observado pela figura 6.

Silva et al. (2009) também observou aumento da atividade enzimática ($13,32$ e $888,50 \text{ nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) da PME e PG em morangos cv. Tudla no quinto dia de armazenamento, respectivamente; além de maior % de solubilização durante o armazenamento de morangos. Já Santana et al. (2008) não observaram atividade da PME em uvas, mas identificaram alta atividade da PG.

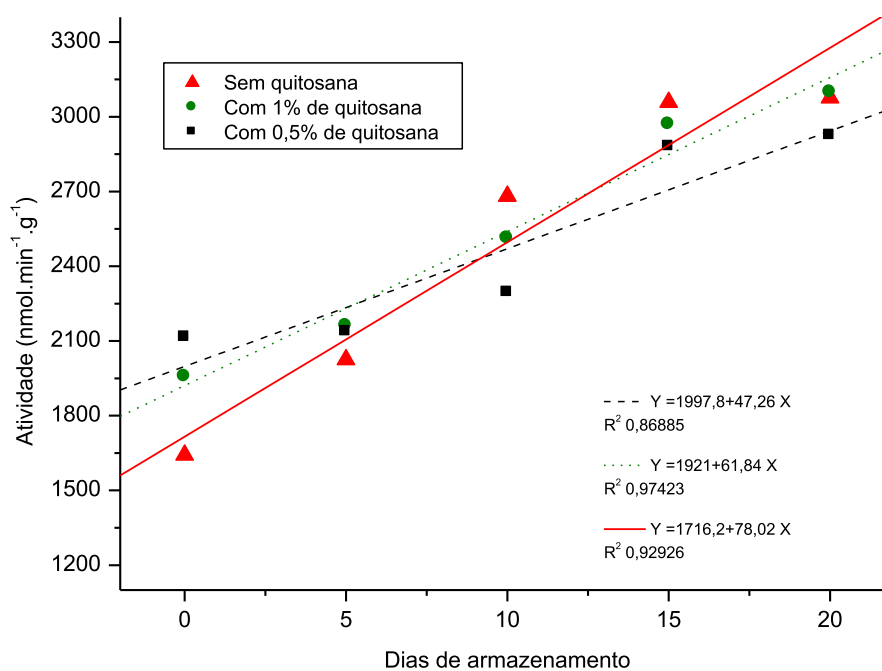


Figura 6 Curvas e equações de regressão da atividade de poligalacturonase (PG) de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias

No final do armazenamento não foi observada diferença significativa na atividade da PG ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) entre os tratamentos ($p < 0,05$). Observou-se no final do armazenamento (20º dia) maior atividade da PG nas amostras sem revestimento (3076,7), quando comparadas aos frutos revestidos com quitosana a 0,5 e 1,0% m/v (2925,0 e 3098,3), respectivamente. Maior atividade da PG ($6240 \text{ nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) foi observada por Silva et al. (2012) em morangos à temperatura ambiente, no último dia de armazenamento (dia 6).

No entanto, em relação à atividade dessas enzimas (PG e PME), a atuação da PG não depende da ação da PME, mas sim de um efeito sinérgico. A hidrólise de grupos metil-éster, catalisada pela PME, produz uma pectina com menor grau de metilação, que sofre clivagem pela PG. Assim, o efeito sinérgico dessas duas enzimas tem um importante papel no processo de amolecimento do fruto, durante o estágio de amadurecimento. A desmetilação da pectina resulta em um maior número de grupos carboxílicos, o que pode facilitar a ação da poligalacturonase, que degrada substâncias pécticas, preferivelmente desesterificadas (FRY, 1986).

4 CONCLUSÃO

Os revestimentos de quitosana nas concentrações 0,5 e 1,0% m/v foram eficazes para retardar o amolecimento dos frutos, uma vez que os morangos apresentaram maior firmeza, menor acréscimo na atividade das enzimas poligalacturonase (PG) e pectinametilesterase (PME), menor teor de pectina solúvel e percentagem de solubilização, quando comparados com frutos não tratados, propiciando assim frutos mais firmes e estendendo a vida útil desses produtos. A partir do décimo dia de armazenamento os frutos controle não tinham mais um bom aspecto e os frutos revestidos com quitosana apresentaram até o décimo quinto dia aspecto favorável à comercialização. Os resultados apontam que os revestimentos de quitosana associados à refrigeração podem ser utilizados para manutenção da firmeza de morangos.

**Activity of pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG)
in strawberries coated with chitosan**

ABSTRACT

Strawberries are highly susceptible to deterioration, therefore, the knowledge on physiological changes that occur during ripening is indispensable in the search for maintaining the quality and prolonging the shelf-life of these fruits. The use of edible coatings have been promising in seeking the increase in fruit storage time. Thus, the objective of this work was to evaluate the changes occurred in the postharvest of strawberries. The fruits were acquired from a commercial orchard in the region of Itutinga, Minas Gerais, Brazil, selected, sanitized, coated with chitosan and stored. The parameters evaluated every 5 days (0, 5, 10, 15 and 20 days) were: firmness, total pectin, soluble pectin and percentage of solubilization, pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch) treated with chitosan coating (0.5% and 1.0% w/v) at 5°C for 20 days. There was significant interaction between the treatments and storage days for all studied parameters ($p < 0.05$). We verified the decrease in firmness from the fifth day of storage, increase of total pectin, soluble pectin, solubilization percentage and pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity. An increase occurred in the activity of PME up until day 10 for the control samples and up until the end of storage for the coated fruits. The control samples presented higher PG activity when compared with coated fruits. The results indicate that chitosan coatings delayed the metabolism of strawberries.

Keywords: Strawberries. Chitosan coatings. Polygalacturonase (PG). Pectin methyl esterase (PME)

REFERÊNCIAS

- BITTER, T.; MUIR, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 4, n. 4, p.330-334, 1962.
- BODELÓN, O. G. et al. Pressurization and cold storage of strawberry purée: colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v.52, n. 2, p.123-130, July 2013.
- BRUMMELL, D. A.; HARPSTER, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, Wageningen, v. 47, n. 1/2, p. 311-340, 2001.
- CHEN, Y. C. et al. Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. **Food Control**, Guildford, v. 22, n. 7, p. 1114-1120, July 2011.
- CHITARRA, M. I.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- CONTRERAS, C. et al. Influence of osmotic pre-treatment and microwave application on properties of air dried strawberry related to structural changes. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 4, p. 499-504, 2007.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar**. Versão 4.2. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.
- FRY, S. C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 37, p. 165-186, 1986.

GAYOSSO-GARC, L. E. et al. Effect of maturity stage of papaya maradol on physiological and biochemical parameters. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, Saint Paul, v. 5, n. 2, p. 194-203, 2010.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. et al. Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 89, n. 1, p. 15-23, 2009.

GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. **Introduction to plant biochemistry**. Oxford: Pergamon, 1982. 667 p.

GOULAO, L. F.; OLIVEIRA, C. M. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 4-25, 2008.

HERNANDEZ-MUÑOZ, P. et al. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 247-253, 2006.

HERNANDEZ-MUNOZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 2, p. 428-435, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.
Enciclopédia dos municípios brasileiros. Rio de Janeiro, 1959. 670 p.

JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, p.1045-1087, 1984.

KUMAR, S. et al. Postharvest changes in antioxidant capacity, enzymatic activity, and microbial profile of strawberry fruits treated with enzymatic and divalent ions. **Food and Bioprocess Technology**, Chicago, v. 7, n. 7, p. 2060-2070, 2014.

KURZ, R. C.; CARLE, A.; SCHIEBER, A. Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 106, n. 1, p. 421-430, 2008.

LIMA, M. A. C. de; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Mudanças relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1707-1713, dez. 2006.

LIN, B. et al. Effect of chitosan coating on respiratory behavior and quality of stored litchi under ambient temperature. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 102, n. 1, p. 94-99, 2011.

LIU, F. H. et al. Effect of calcium treatment on nanostructure of chelate-soluble pectin and physicochemical and textural properties of apricot fruits. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 8, p. 1131-1140, 2009.

MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 24, n. 12, p. 1986-1988, 1952.

NELSON, N. et al. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, n. 2, p. 375-379, 1944.

OLIVEIRA, F. E. da R. **Qualidade de pêssegos ‘Diamante’ (Prunus pérsica (L.) Batsch) submetidos ao 1-metilciclopropeno**. 2005. 68 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

OLIVEIRA JUNIOR, E. N. et al. Alterações pós-colheita da “Fruta-de-Lobo” (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 410-413, 2004.

PARK, H. J. Edible coatings for fruits. In: JONGEN, W. W. F. (Ed.). **Fruit and vegetable processing: improving quality**. Boca Raton: CRC, 2005. p. 331-345.

PRAVENDRA, N. et al. **Fruit ripening: physiology, signalling and genomics**. Boston: CAB International, 2014. 336 p.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 6, n. 1, p. 57-74, 1982.

ROSLI, H. G.; CIVELLO, P. M.; MARTÍNEZ, G. A. Changes in cell wall composition of three *Fragaria x ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 42, n. 10, p. 823-831, 2004.

SALUNKHE, D. K.; BOLIN, H. R.; REDDY, N. R. **Storage processing and nutritional quality of fruits and vegetables: fresh fruits and vegetables**. 2nd ed. Boston: CRC, 1991. v.1, 323 p.

SANTANA, M. T. A. et al. Caracterização físico-química e enzimática de uva " Patrícia" cultivada na região de Primavera do Leste-MT. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 186-190, jan./fev. 2008.

SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman and Hall, 1993. 454 p.

SILVA, P. et al. Modificações nas atividades da poligalacturonase e pectinametilesterase em morangos armazenados a temperatura ambiente. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1953-1958, 2009. Edição especial.

SILVA, P. A. et al. Storage of strawberries (*Fragaria ananassa* L.) cv. 'Oso Grande', subjected to 1-MCP. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 353-358, 2012.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Chitosan applications pre-or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 72-77, May 2014.

TURHAN, K. N. Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits? **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 876, p. 299-305, 2010.

VARGAS, M. et al. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 164-171, Aug. 2006.

VELICKOVA, E. et al. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*) cv Camarosa under commercial storage conditions. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 52, n. 2, p. 80-92, July 2013.

ARTIGO 3 Qualidade microbiológica de morangos: benefícios da aplicação de revestimento de quitosana

TÁSSIA SILVA TAVARES³

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orienta o Manual de Normalização da UFLA.

³ Licenciatura em Química. E-mail: tassiatavares@hotmail.com.

RESUMO

Morangos possuem metabolismo intenso e são extremamente sensíveis, sendo muito susceptíveis à contaminação por microrganismos, assim, facilmente se deterioram. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os aspectos microbiológicos de morangos tratados com diferentes concentrações de revestimentos de quitosana, durante 20 dias sob armazenamento refrigerado. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 3 repetições, constituindo-se dos seguintes tratamentos: a) Controle, imersão em água destilada b) imersão em solução de quitosana 0,5% m/v; c) imersão em solução de quitosana 1,0% m/v. As análises microbiológicas foram avaliadas em 0, 5, 10, 15 e 20 dias. O uso de revestimentos de quitosana foi eficiente para manter a qualidade de morangos pós-colheita por 15 dias de armazenamento. Considerando o último dia de armazenamento, o número de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos e leveduras foi 23 vezes menor, quando comparado ao controle. O uso de revestimentos de quitosana foi de fundamental importância para manter baixas as contagens de fungos e leveduras.

Palavras-chave: Armazenamento. Atmosfera modificada. Fungos.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente os consumidores estão cada vez mais preocupados com a escolha dos alimentos, e os frutos destacam-se como uma das alternativas mais procuradas para compor uma dieta saudável. Apesar de os produtos frescos proporcionarem efeitos benéficos para a saúde, há uma consciência crescente sobre a sua segurança alimentar, em relação aos fatores químicos e microbiológicos (LYNCH; TAUXE; HEDBERG, 2009), visto que são alimentos provenientes do campo e que passam por várias etapas desde a sua produção até seu consumo.

Morangos são frutos atrativos e com grande aceitação comercial, devido as suas características organolépticas e seu elevado valor nutricional. Embora possua excelentes características sensoriais, o morango é muito perecível, com limitada vida pós-colheita, sendo a perda rápida da qualidade desse fruto ocasionada por diversos fatores, como a sua intensa atividade metabólica e a grande suscetibilidade ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e causadores de podridões, principalmente pelos fungos (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2006).

A produção nacional de morangos se expande a cada ano, com predominância do cultivo em pequenas propriedades rurais. Por se tratar de exploração que agrega mão de obra familiar, possui grande importância econômica e social, caracterizando-se em excelente fonte de renda para pequenas propriedades. Porém, a comercialização e a disponibilidade de morangos são restritas, pela rápida deterioração dos frutos causada pela senescência e doenças pós-colheita, que acarretam

perdas consideráveis, tanto nutritivas, quanto econômicas (REIS et al., 2008).

A temperatura é um fator de grande importância na preservação da qualidade de frutos e hortaliças devido à influência que exerce na atividade respiratória e também sobre a velocidade de crescimento microbiano (CHITARRA; CHITARRA, 2005); porém, somente a refrigeração não é suficiente para impedir o desenvolvimento de alguns microrganismos que estão associados às condições higiênico-sanitárias e podem comprometer a segurança do alimento.

Embora a aplicação de fungicidas na pré-colheita seja o método convencional mais utilizado, o uso indiscriminado desses produtos e a não observância dos períodos de carência faz com que estes sejam detectados em concentrações acima do limite máximo permitido pela legislação em alimentos (JARDIM; CALDAS, 2012). Nos alimentos consumidos *in natura*, como o morango, esse problema torna-se mais sério, uma vez que a população é exposta diretamente ao agrotóxico. O morango, cada vez mais, vem se destacando por estar presente nos relatórios do Programa de Análises de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) como um dos alimentos mais contaminados por resíduos de agrotóxicos no Brasil, por vários anos consecutivos (JARDIM; CALDAS, 2012).

A conscientização do uso de compostos químicos potencialmente nocivos para a saúde humana e para o ambiente torna o desenvolvimento de novas estratégias indispensável na busca de alternativas para a redução de produtos agroquímicos em alimentos. Neste contexto, os compostos naturais têm mostrado grande potencial como alternativa aos fungicidas

sintéticos no controle de doenças e manutenção da qualidade de frutos (SHAO et al., 2015).

Os compostos naturais, biodegradáveis, não tóxicos, derivados de animais ou plantas têm-se destacado nos últimos anos. A quitosana é um biopolímero, obtido da desacetilação da quitina, presente em invertebrados marinhos, insetos, fungos e leveduras, possuem efeito fungistático e indutor dos mecanismos de defesa das plantas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; TERRY; JOYCE, 2004). Depois da celulose a quitina é o polissacarídeo mais abundante da natureza, podendo ser adquirida em abundância através da indústria de processamento de animais marinhos, que gera toneladas de resíduos anualmente (BESSA-JUNIOR; GONÇALVES, 2013).

Na indústria alimentícia, a quitosana oferece um amplo espectro de aplicações, tais como: formação de filmes biodegradáveis, recuperação de subprodutos, purificação de água, clarificação de sucos, emulsificante de aromas, agente antioxidante, emulsificante e estabilizante, destacando-se sua eficácia quanto à preservação da qualidade microbiológica do alimento (BORGONGNONI; POLAKIEWICZ; PITOMBO, 2006).

A alta susceptibilidade de morangos ao ataque de microrganismos aponta para o uso de substâncias bioativas, como a quitosana, para controlar doenças pós-colheita, e assim garantir a segurança desse fruto para o consumo; enquanto que as concentrações ideais devem ser investigadas, de forma a não prejudicar outros parâmetros de qualidade do produto.

A presença de microrganismos, como mesófilos (crescem melhor em temperatura ambiente) e psicrotróficos (crescem melhor em baixas

temperaturas) bactérias, bolores e leveduras, além de reduzir a vida útil do fruto, podem transmitir patógenos, o que representa um risco para a saúde dos consumidores (CENCI et al., 2007; SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2007). *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* sp. E *Colletotrichum* spp são os microrganismos que mais comumente acometem morangos. A podridão de morango (bolor cinzento) causada por *Botrytis cinerea* desenvolve em qualquer parte do fruto, mas é principalmente encontrado no cálice do fruto. A antracnose (ponto preto), causada por *Colletotrichum* spp.. desenvolve manchas que ficam marrons ou pretas afetando a maioria das partes da planta, causando severas perdas na produção e qualidade de morangos. A podridão dos frutos causada por *Rhizopus* sp está associada com a presença de lesões nos frutos, mas podem também ocorrer no fruto intácto (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009; SANHUEZA et al., 2005).

Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar os potenciais do revestimento de quitosana em duas concentrações associadas à refrigeração na manutenção da qualidade microbiológica de morangos na pós-colheita, sendo que a busca por tecnologias limpas reflete as preocupações em relação à segurança alimentar e preservação ambiental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo e instalação do experimento

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Camino real foram colhidos nas primeiras horas do dia, em pomar comercial localizado no município de Itutinga MG, situado a 910m de altitude e nas coordenadas geográficas de 21°18'45" de latitude Sul e 44°41'15" de longitude (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 1959). Após a colheita, os frutos foram cuidadosamente transportados para o Laboratório de Bioquímica, no Departamento de Química, da UFLA, em Lavras-MG. Os morangos foram criteriosamente selecionados, em relação ao tamanho, estágio de maturação e à ausência de defeitos.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC) e esquema fatorial (3X5), sendo 3 tratamentos: a) Controle (sem quitosana); b) Revestimento de quitosana 0,5% m/v e c) Revestimento de quitosana 1,0% m/v e 5 tempos de análises, correspondente aos dias 0, 5, 10, 15 e 20, com 3 repetições de 5 frutos para cada tratamento.

O revestimento foi preparado a partir de quitosana comercial (nome comercial Chitoclear, de massa molar 245 kDa e grau de acetilação 6,3%) adquirida da Primex da Islândia. Para o preparo das soluções de revestimento, a quitosana foi dissolvida em ácido acético 1% v/v e a solução homogeneizada com mixer (Wallita), a solução foi preparada nas concentrações 0,5% e 1%, m/v. Os frutos foram selecionados e desinfetados segundo Vargas et al. (2006), por meio de imersão, em

solução de hipoclorito de sódio, seguida de enxágue por imersão em água destilada. Posteriormente, foram separados em três lotes, os quais foram codificados e pendurados em um suporte, sendo que, dois lotes receberam o tratamento por meio da imersão manual dos frutos nas soluções de revestimento de quitosana (0,5 e 1,0% m/v). Após a secagem dos revestimentos, os frutos foram acondicionados em bandejas de Polietileno Tereftalato (PET), e armazenados á 5°C, por 20 dias.

2.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Micotoxinas e Micologia de Alimentos, no Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA, segundo as metodologias propostas pelo International Commission on Microbiological Specification for Foods - ICMS (1983) e Silva, Junqueira e Silveira (2007). As análises foram realizadas com porções de 25g do fruto pesado assepticamente e homogeneizado com 225mL de água peptonada 0,1% esterilizada. A homogeneização foi feita em Stomacher® e diluições de 1:10, 1:100 e 1:1000 foram preparadas e alíquotas dessas diluições foram transferidas para meios específicos para a determinação de cada grupo de microrganismos. Cada diluição foi plaqueada em triplicata.

2.3 Coliformes totais e termotolerantes

Para análise do grupo coliforme foram quantificados utilizando-se a técnica de números mais prováveis (NMP). O teste presuntivo foi

realizado com a inoculação de alíquotas de 1 mL em tubos contendo tubos de Durhan e caldo lauril sulfato triptose (LST) nas diluições 1:10 1:100 e 1:000 em triplicatas. Os tubos foram incubados a 35°C, de 24 a 48 horas. Foram considerados tubos positivos aqueles que apresentarem turvação e formação de gás. Para a confirmação de coliformes totais e termotolerantes, uma calçada de cada tubo suspeito é transferida para tubos de Caldo Verde Brilhante 2% (VB) e Caldo *E. coli* (EC), meios seletivos que contém lactose. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24 às 48h de incubação a 35°C, é considerada confirmativa para a presença de coliformes totais. Crescimento com produção de gás nos tubos de EC, após 24 às 48h de incubação a 45,5°C é considerada confirmativa para a presença de termotolerantes. Os resultados foram expressos em número mais provável por grama (NMP/g).

2.4 *Salmonella* sp.

Para a detecção de *Salmonella* utilizou-se o meio de cultura Rajhans Agar *Salmonella* diferencial modificado. Foi plaqueado 1 mL das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000 em superfície, e as placas incubadas de 24 á 48horas, a 28°C. A presença de *Salmonella* foi identificada pelo crescimento abundante com mudança de cor do meio para vermelho.

2.5 Contagem de aeróbios mesófilos e psicrotróficos

Os microrganismos aeróbios mesófilos foram quantificados pelo método de plaqueamento em superfície, dispensando-se nas placas alíquotas de 0,1 mL das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000. Foi utilizado o meio ágar para contagem padrão (PCA- Plate Count Agar), com as placas sendo incubadas de 24 a 48 horas, a 37°C. Após este período de incubação, foram realizadas as contagens e os resultados expressos em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

Os microrganismos aeróbios psicrotróficos foram quantificados pelo método de plaqueamento em superfície, dispensando-se nas placas alíquotas de 0,1 mL das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000. Foi utilizado o meio ágar para contagem padrão (PCA- Plate Count Agar), com as placas sendo incubadas a 7°C, por 10 dias. Após este período de incubação, foram realizadas as contagens e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

2.6 Contagem de Enterobactérias

Para a detecção de enterobactérias utilizou-se o meio de cultura Violet Red Bile Agar Glucose (VRBG). Foi plaqueado 1 mL das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000 em profundidade com sobrecamada, e as placas serão incubadas de 24 a 48 horas, a 35°C. Em seguida, foi realizada a contagem de colônias típicas.

2.7 Quantificação de Fungos Filamentosos e Leveduras

Os fungos filamentosos e leveduras foram quantificados pelo método de plaqueamento em superfície utilizando o meio DRBC (Dicloran Rosa Bengal acrescido de 0,1 g/L de Cloranfenicol). As placas foram incubadas a 25°C, por 5 a 7 dias. Após este período, foram realizadas as contagens e os resultados expressos em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos, como morangos e produtos frescos similares, *in natura*, selecionados ou não, têm tolerância de 2×10^3 UFC para coliformes a 45°C/g e ausência para *Salmonella* sp./25g. No presente estudo ocorreu ausência de coliformes (35°C e termotolerantes) e *Salmonella* sp., em todos os tratamentos, inclusive o controle.

Os veículos e meios propícios à contaminação de morangos por *Salmonella* e coliformes podem ser a água de irrigação, o solo e a manipulação dos frutos (KEMPKA et al., 2012). Estudos realizados por Yoon et al. (2010) em pós-colheita de morangos apontaram presença de coliformes, e *S. aureus* na maioria das amostras. Esses resultados sugerem uma melhora em relação à segurança desses alimentos em estufas e casas de embalagem, visando a um melhor sistema com boas práticas agrícolas para a produção de morango. No entanto, os resultados do presente estudo, com ausência para coliformes comprovam os cuidados higiênico-sanitários desde o campo e durante o armazenamento e processamento (procedimentos de desinfecção com hipoclorito de sódio), sendo de extrema importância para aquisição de um produto seguro, apresentando baixa contagem microbiana.

Os resultados das contagens de enterobactérias, mesófilos aeróbios e psicrotróficos encontram-se na Tabela 1. As contagens de enterobactérias nas amostras revestidas ocorreu apenas no último dia do

armazenamento, sendo as UFC 5 vezes menor, quando comparadas com o controle.

A presença de mesófilos foi constante nas amostras controle durante todo o armazenamento; contrariamente, foi observado nos morangos tratados com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana, que apresentaram baixa contagem (UFC), sendo observado principalmente no vigésimo dia. Entretanto, o tratamento com 1,0% m/v de quitosana apresentou contagem de mesófilos inferiores, em relação aos outros dois tratamentos. Sabe-se, no entanto, que a refrigeração dos frutos possibilita controlar a multiplicação de aeróbios mesófilos. No entanto, a refrigeração em torno de 4-7°C permite o crescimento de microrganismos psicotróficos, que se multiplicam bem nessas temperaturas (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2007).

Tabela 1 Valores médios de contagens de aeróbios mesófilos e psicrotrófilos em morangos, armazenados, á temperatura refrigerada (5°C), por um período de vinte dias

TRAT.*	DIAS	MESÓFILOS (UFC g ⁻¹)	PSICROTRÓFILOS (UFC g ⁻¹)	ENTEROBACTÉRIAS (UFC g ⁻¹)
C	0	0,10x10 ³	0,4x10 ³	0,01x10 ³
	5	0,13x10 ³	2,0x10 ³	<10 est.
	10	0,23x10 ³	1,8x10 ³	<10 est.
	15	0,03x10 ³	0,3x10 ³	<10 est.
	20	0,17x10 ³	0,4x10 ³	0,16x10 ²
Q05	0	0,03x10 ³	0,2x10 ³	<10 est.
	5	<10 est.	1,1x10 ³	<10 est.
	10	<10 est.	<10 est.	<10 est.
	15	0,03x10 ³	0,1x10 ³	<10 est.
	20	0,10x10 ³	0,03x10 ³	0,03x10 ²
Q10	0	<10 est.	0,03x10 ³	<10 est.
	5	<10 est.	0,03x10 ³	<10 est.
	10	0,03x10 ³	0,03x10 ³	<10 est.
	15	<10 est.	<10 est.	<10 est.
	20	0,07x10 ³	<10 est.	0,03x10 ²

* TRAT (Tratamentos) = C: controle (sem quitosana); Q05: 0,5% m/v de quitosana; Q10: 1,0% m/v de quitosana.

Durante o armazenamento houve maiores contagens de fungos e leveduras nas amostras sem quitosana (133,3 UFC /g de polpa). No entanto, observou-se redução (UFC) de fungos e leveduras nos morangos quando revestidos com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana (Tabela 2), esses tratamentos também reduziram contagens (UFC) de psicrotróficos (Tabela 1). Redução similar em microrganismos psicrotróficos, fungos e leveduras foram observados por Dotto et al. (2008) estudando o uso de quitosana para o recobrimento de mamões papaia, a fim de aumentar a vida de útil dos frutos, pois ela reduziu em até 5 vezes a contaminação de

bolores e leveduras e em 60% a contaminação de mesófilos, aumentando a vida útil dos mamões em 6 dias.

De acordo com os resultados (Tabela 2), não foram percebidas diferenças consideráveis em relação às quantidades de UFC de fungos e leveduras no início do armazenamento (dia 0) entre as amostras controle e os frutos tratados (0,5% e 1,0% m/v de quitosana). Contudo, observou-se no decorrer do armazenamento, contagem (UFC) de fungos e leveduras nos frutos com quitosana 0,5% e 1,0% m/v inferior às amostras controle. Os frutos com 0,5% m/v de quitosana apresentaram UFC 47% menor que as amostras sem quitosana no último dia de armazenamento (20º dia). Nesse mesmo dia observou-se grande inibição do crescimento dos fungos nos frutos com maiores concentrações (1,0% m/v de quitosana), sendo a contagem de fungos e leveduras 23 vezes menor nessas amostras, em relação ao controle.

Tabela 2 Valores médios de contagens de fungos filamentosos e leveduras em morangos, armazenados, á temperatura refrigerada (5°C), por um período de vinte dias

TRATAMENTOS	DIAS	FUNGOS E LEVEDURAS (UFC g ⁻¹)
C	0	0,8x10 ³
	5	3,7x10 ³
	10	5,4x10 ³
	15	133,3x10 ³
	20	56,7x10 ³
Q05	0	0,7x10 ³
	5	1,4x10 ³
	10	3,0x10 ³
	15	43x10 ³
	20	30x10 ³
Q10	0	0,8x10 ³
	5	0,5x10 ³
	10	3,3x10 ³
	15	1,6x10 ³
	20	2,4x10 ³

Tratamentos = C: controle (sem quitosana); Q05: 0,5% m/v de quitosana; Q10: 1,0% m/v de quitosana.

Segundo Xu et al. (2007) a capacidade de a quitosana inibir o crescimento de microrganismos pode variar de acordo com algumas características desse polímero, como peso molecular, grau de desacetilação e concentração, além da sensibilidade do organismo alvo. Alguns autores (KUSHWAHA; RAI; SINGH, 2010) afirmam que a ação antimicrobiana da quitosana é provocada quando a quitosana carregada positivamente reage com as moléculas carregadas negativamente na superfície da célula. No entanto, o mecanismo pelo qual a quitosana afeta o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos ainda não foi totalmente elucidado (CHEN et al., 2014).

A ação antifúngica e antibacteriana de revestimentos de quitosana já foi constatada por diversos autores. Camili et al. (2007) utilizaram a quitosana no recobrimento da uva “Itália”, verificando que esta suprimiu o crescimento de fungos (*Botrytis cinerea*, o mofo cinzento). Chien, Sheu e Yang (2007) relataram a eficiência da quitosana na inibição do crescimento microbiológico em fatias de manga. Esses autores também comprovaram a inibição de crescimento microbiológico e o prolongamento nas características sensoriais de cor e sabor do fruto. Em morangos Ribeiro et al. (2007) obtiveram com o uso de 1% de quitosana a redução da taxa de crescimento de microrganismos.

4 CONCLUSÃO

O uso de revestimentos de quitosana nas concentrações 0,5 e 1% m/v associado à refrigeração mostrou-se eficaz para manutenção da qualidade microbiológica de morangos. Revestimentos com 1,0% de quitosana aumentaram o tempo de vida útil dos frutos, isso por que os revestidos apresentaram grande potencial de inibição no crescimento de fungos quando comparados aos frutos não tratados, contribuindo para a manutenção da vida útil desses produtos.

Microbiological quality of strawberries: benefits of the application of chitosan coatings

ABSTRACT

Strawberries present intense metabolism and are extremely sensitive, being highly susceptible to contamination by microorganisms, thus rapidly deteriorating. This work was conducted with the objective of evaluating the microbiological aspects of strawberries treated with different concentrations of chitosan coating, during 20 days under refrigerated storage. The experiment design used was completely randomized, with three replicates, constituting the following treatments: a) Control, immersion in distilled water; b) immersion in chitosan solution 0.5% w/v; c) immersion in chitosan solution 1.0% w/v. The microbiological analyses were evaluated in 0, 5, 10, 15 and 20 days. The use of chitosan coating was efficient in maintaining the quality of postharvest strawberries for 15 days. Considering the last day of storage, the number of colony-forming units (CFU) of fungi and yeast was 23 times lower when compared to the control. The use of chitosan coating was of fundamental importance to maintain low counts of fungi and yeast.

Keywords: Storage. Modified atmosphere. Fungi.

REFERÊNCIAS

BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.

BESSA-JUNIOR, A.P.; GONÇALVES, A. A. Análises econômica e produtiva da quitosana extraída do exoesqueleto de camarão. **Acta Pesca e Aquicultura**, Sergipe, v. 1, n. 1, p. 13-28, 2013.

BORGONGNONI, C. F.; POLAKIEWICZ, B.; PITOMBO, R. N. D. M. Estabilidade de emulsões de d-limoneno em quitosana modificada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 502-508, jul./set. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Regulamenta padrões microbiológicos sanitários em alimentos destinados ao consumo. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 13 jun. 2014.

CAMILI, E. C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinérea*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 33, n. 3, p. 215-221, 2007.

CENCI, S.A. et al. **Etapas do processamento mínimo do morango**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2007. 4p. (Comunicado Técnico, 110).

CHEN, J. et al. Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata* and enhancing activity of cherry tomato fruit defense mechanisms. **Crop Protection**, Guildford, v. 56, p. 31-36, Feb. 2014.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; YANG, F. H. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 78, n. 1, p. 225-229, 2007.

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

DOTTO, G. L. et al. Uso de quitosana como filme microbiológico para o aumento da vida útil de mamões papaia. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 10., 2008, Rio Grande. **Anais...** Rio Grande: UFRG, 2008. p. 35-38.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: NBL, 2009. 511 p.

HERNANDEZ-MUÑOZ, P. et al. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 247-253, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Enciclopédia dos municípios brasileiros**. Rio de Janeiro, 1959. 670 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods**. 2nd ed. Toronto: University of Toronto, 1983. 436 p.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food-results from 2001 to 2010. **Food Control**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 607-616, 2012.

KEMPKA, A. P. et al. Desenvolvimento de cobertura à base de colágeno parcialmente hidrolisado, manitol e antimicrobianos aplicada em morangos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 53-64, jan./jun. 2012.

KUSHWAHA, S. K. S.; RAI, A. K.; SINGH, S. Chitosan: a platform for targeted drug delivery. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, Pnackkula, v. 2, n. 4, p. 2271-2282, Oct./Dec. 2010.

LYNCH, M. F.; TAUXE, R. V.; HEDBERG, C. W. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 137, n. 3, p. 307-315, 2009.

REIS, K. C. et al. Efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morango cv. Oso Grande. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 196-202, jan./fev. 2008.

RIBEIRO, C. et al. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 63-70, Apr. 2007.

SANHUEZA, R. et al. **Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do Nordeste**. Colombo: EMBRAPA Uva e Vinho, 2005. Disponível em: <<http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fonteshtml/morango/mesaserragaucha/importancia.htm>>. Acesso em: 19 nov. 2014.

SHAO, X. et al. Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 99, p. 37-43, Jan. 2015.

SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C.; SILVEIRA, N. F. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 624 p.

TERRY, L. A.; JOYCE, D. C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 32, n. 1, p. 1-13, 2004.

VARGAS, M. et al. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 164-171, Aug. 2006.

XU, J. et al. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 87, n. 3, p. 220-228, 2007.

YOON, Y. et al. Microbiological assessment in strawberry production and recommendations to establish a Good Agricultural Practice system. **Foodborne Pathogens and Disease**, New Rochelle, v. 7, n. 12, p. 1511-1519, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O morango possui elevado valor nutricional e é muito apreciado pelos consumidores, seu cultivo gera inúmeros benefícios para o produtor, como mão-de-obra familiar e aceitabilidade comercial. Entretanto, esses frutos possuem o metabolismo intenso e por não possuir crosta (casca) protetora são muito sensíveis a lesões mecânicas, além de altamente susceptíveis a contaminação por fungos. Diante disso, morangos são facilmente deteriorados, possuindo assim vida útil curta. A quitosana apresenta um grande potencial como revestimento comestível e, portanto, a utilização de revestimento de quitosana no tratamento pós-colheita de morangos é uma alternativa, podendo ser associado ao tratamento convencional, à refrigeração.

Revestimentos de quitosana são associados à capacidade de proporcionar a modificação da atmosfera interna, alterando assim a composição gasosa disponível aos frutos. Sabe-se também que esses materiais aplicados aos vegetais atuam como barreira a perda excessiva de água. Todavia, as concentrações devem ser pré-estabelecidas de forma a não prejudicar a qualidade dos alimentos.

Diante disso, obteve-se nesse estudo a retenção da perda de massa de morangos quando revestidos com quitosana em concentrações 0,5 e 1,0% m/v. A perda de massa máxima tolerada comercialmente para morangos é de 6%. Contudo, observou-se 12,60% de perda de massa nos frutos controle, o que não é comercialmente aceito, todavia, os frutos revestidos com 0,5 e 1,0% m/v de quitosana apresentaram apenas 4,85 % e 4,96% de perda de massa, respectivamente, estando de acordo com as condições comerciais citadas na literatura.

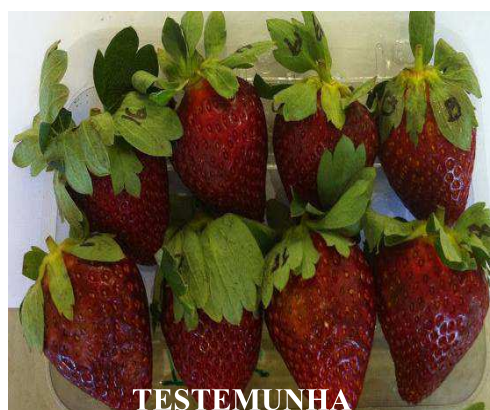
Além de eficazes como barreira protetora, evitando a perda excessiva de água, também pode ser notado que os revestimentos atuaram desacelerando as

alterações metabólicas que normalmente ocorrem durante o armazenamento dos frutos. Também, com sua excelente propriedade antimicrobiana, a quitosana diminuiu consideravelmente a contagem de fungos e leveduras dos frutos revestidos, proporcionando grande benefício em relação à qualidade de morangos.

Por fim, constatou-se no presente estudo a eficiência da quitosana como revestimento nas concentrações 0,5 e 1,0% m/v para aplicação em morangos na pós-colheita, pois os frutos tratados apresentaram menor perda de massa, mudanças fisiológicas desaceleradas e contaminação por microrganismos reduzida. Assim, a quitosana contribuiu na manutenção dos parâmetros de qualidade, proporcionando o aumento da vida de útil de morangos, além de atuar como um agente inibidor do desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deterioradores.

ANEXOS

**ANEXO A – Morangos no 5º dia de armazenamento
(Referente ao ARTIGO 1)**



**ANEXO B – Morangos no 10º dia de armazenamento
(Referente ao ARTIGO 1 E 2)**



TESTEMUNHA



0,5% DE QUITOSANA



1,0% DE QUITOSANA