



**ARIELA BETSY THOMAS**

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA E COMPOSTOS  
BIOATIVOS DE MORANGOS REVESTIDOS  
COM FÉCULA DE MANDIOCA E PRÓPOLIS**

**LAVRAS – MG**

**2016**

**ARIELA BETSY THOMAS**

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E COMPOSTOS  
BIOATIVOS DE MORANGOS REVESTIDOS COM FÉCULA DE  
MANDIOCA E PRÓPOLIS**

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

Orientador

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

**LAVRAS – MG**

**2016**

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

Thomas, Ariela Betsy.

Qualidade físico-química, microbiológica e compostos  
bioativos de morangos revestidos com fécula de mandioca e  
própolis / Ariela Betsy Thomas. – Lavras : UFLA, 2016.

105 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de  
Lavras, 2016.

Orientador(a): Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Bibliografia.

1. Vitamina C. 2. Revestimentos Comestíveis. 3. Pós-colheita.  
4. Taxa Respiratória. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**ARIELA BETSY THOMAS**

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E COMPOSTOS  
BIOATIVOS DE MORANGOS REVESTIDOS COM FÉCULA DE  
MANDIOCA E PRÓPOLIS**

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

APROVADA em 03 de março de 2016.

Dra. Elisângela Elena Nunes de Carvalho      UFLA

Dr. Ângelo Alberico Alvarenga                  EPAMIG

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2016**

*Aos meus queridos pais, Lourdes e Ross,  
que me impulsionam a seguir em frente,*

*DEDICO*

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, por iluminar meu caminho, pela saúde e inspiração para seguir em frente.

Aos meus pais, ao Vinícius, família e amigos, pelo apoio, incentivo e por tornarem essa trajetória mais doce.

Aos amigos e colegas de laboratório, pela ajuda e dedicação nos dias mais difíceis e pelo convívio diário.

Aos professores que tanto me acrescentaram durante essa trajetória, em especial ao meu orientador Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos e suporte financeiro de projetos.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu concluísse esta etapa tão importante da minha formação.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO GERAL

O morango apresenta atributos de qualidade atrativos, além de consideráveis quantidades de compostos fitoquímicos com potenciais benefícios à saúde. Sua vida útil, no entanto, é extremamente curta devido à alta atividade metabólica e alta susceptibilidade à deterioração microbiológica. Visando aumentar sua qualidade pós-colheita utilizando produtos naturais que não alterem suas características sensoriais, o objetivo neste trabalho foi verificar os efeitos da aplicação de um revestimento à base de fécula de mandioca incorporado com própolis nas características de qualidade de morangos armazenados a  $4 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , avaliando-se características físico-químicas e microbiológicas durante 16 dias. Os tratamentos foram fécula de mandioca 3% (CS), fécula de mandioca 3% + extrato de própolis 33% (CS + P33%), fécula de mandioca 3% + extrato de própolis 66% (CS+P66%) e controle (C). Resultados mostram que a fécula de mandioca resultou em frutos com atividade antioxidante superior nos tempos intermediários do armazenamento. Os maiores teores de vitamina C foram observados aos 8 e 12 dias nos frutos revestidos com fécula de mandioca+66% de própolis. Este mesmo tratamento apresentou frutos com menor taxa respiratória aos 12 dias e melhor manutenção da firmeza e de sólidos solúveis. Aos 16 dias, a taxa respiratória de todos os frutos revestidos foi menor que a dos frutos controle e a menor perda de massa foi observada em frutos revestidos com fécula de mandioca e com a combinação fécula de mandioca+33% de própolis. A incorporação de própolis não foi efetiva na preservação da qualidade físico-química dos frutos, porém sua adição reduziu a contagem de fungos filamentosos e leveduras após 12 e 16 dias de armazenamento.

Palavras-chave: Vitamina C. Revestimentos comestíveis. Pós-colheita. Taxa respiratória.

## GENERAL ABSTRACT

The strawberry has very attractive quality attributes, as well as considerable amounts of phytochemical compounds that have potential health benefits. Its shelf life, however, is extremely short due to its high metabolic activity, and high susceptibility to microbial spoilage. In order to increase the strawberry postharvest quality using natural products without altering the strawberry sensory characteristics, the objective of this study was to assess the effects of a cassava starch-based edible coating incorporated with propolis on the quality characteristics of strawberries stored at 4°C and evaluate the physicochemical and microbiological characteristics for 16 days. The treatments were 3% cassava starch (CS), 3% cassava starch + 33% propolis extract (CS + P33%), 3% cassava starch + 66% propolis extract (CS + P66%) and control (C). The results show that the treatment with cassava starch resulted in fruits with higher antioxidant activity in the intermediate storage times. The highest vitamin C levels were observed at 8 and 12 days in fruits coated with cassava starch + 66% propolis. This same treatment resulted in fruits with a lower respiratory rate at 12 days and better maintenance of firmness and soluble solids. At 16 days, the respiratory rate of all coated fruits was lower than that of control fruits and lower mass loss was observed in fruits coated with cassava starch and the combination cassava starch + 33% propolis. The incorporation of propolis was not effective in preservation of the physical and chemical quality of the fruit, but its addition reduced the filamentous fungi and yeast counts after 12 and 16 days of storage.

Keywords: Vitamin C. Edible coatings. Postharvest. Respiratory Rate.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Aspectos gerais da cultura do morangueiro.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Aspectos de qualidade do morango.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3</b>	<b>Compostos fenólicos e atividade antioxidante.....</b>	<b>16</b>
<b>2.4</b>	<b>Antocianinas.....</b>	<b>19</b>
<b>2.5</b>	<b>Vitamina C.....</b>	<b>21</b>
<b>2.6</b>	<b>Aspectos Microbiológicos.....</b>	<b>22</b>
<b>2.7</b>	<b>Conservação Pós-colheita.....</b>	<b>24</b>
<b>2.7.1</b>	<b>Armazenamento Refrigerado.....</b>	<b>25</b>
<b>2.7.2</b>	<b>Revestimentos Comestíveis.....</b>	<b>26</b>
<b>2.7.3</b>	<b>Revestimentos Comestíveis à Base de Amido.....</b>	<b>28</b>
<b>2.7.4</b>	<b>Fécula de Mandioca.....</b>	<b>29</b>
<b>2.7.5</b>	<b>Incorporação de produtos naturais em revestimentos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.7.6</b>	<b>Própolis.....</b>	<b>32</b>
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....</b>	<b>48</b>
	<b>ARTIGO 1 INFLUENCE OF CASSAVA STARCH EDIBLE COATINGS INCORPORATED WITH PROPOLIS ON BIOACTIVE COMPOUNDS IN STRAWBERRIES.....</b>	<b>49</b>
	<b>ARTIGO 2 PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF STRAWBERRIES COATED WITH CASSAVA STARCH AND PROPOLIS.....</b>	<b>82</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção de 43 mil toneladas ao ano, porém possui pouca participação no comércio global do setor devido ao forte consumo interno desses frutos (ANUÁRIO..., 2013).

No mercado mundial, a cultura do morangueiro está em plena expansão, tanto em termos de produção quanto de consumo, sendo que no Brasil a cultura encontra-se difundida em regiões de clima temperado e subtropical. A cultivar Camino Real, desenvolvida em 2001, na Universidade da Califórnia, apresenta alta capacidade produtiva e os frutos são grandes, firmes e de sabor agradável, sendo recomendados tanto para o consumo *in natura* como para industrialização.

Um dos principais problemas na comercialização de frutas é a sua curta vida útil e perda de compostos de interesse nutricional. Frutas e hortaliças continuam a respirar após a colheita, levando à perda da qualidade, que se expressa em perda de textura, do sabor e do frescor natural. Contudo, sua qualidade e vida útil podem ser prolongadas por meio da redução da transferência de gases, controle de etileno e da permeabilidade ao vapor-d'água, da temperatura, da umidade relativa e da luz.

Revestimentos comestíveis são finas camadas de material, aplicadas e formadas diretamente na superfície do produto. Seu uso gera um aprisionamento físico do CO<sub>2</sub> dentro do fruto, levando ao prolongamento do tempo de maturação. Além do controle da respiração, estes revestimentos atuam como uma barreira à perda de umidade e evitam contaminações químicas e microbiológicas.

Biopolímeros como proteínas, polissacarídeos, ceras e resinas são materiais usados no preparo de revestimentos, podendo ser usados sozinhos ou em combinação, além da possibilidade de se incorporar agentes com atividade antimicrobiana, antioxidante, antiescurecimento, entre outros. A fécula de mandioca é um dos mais utilizados por possuir ampla gama de funcionalidades e aplicações, além de um baixo custo. Além disso, ela é de fácil extração em relação aos amidos de outras fontes, apresenta menor taxa de retrogradação, baixa temperatura de gelatinização e estabilidade do gel, o que a torna uma fonte promissora na elaboração de revestimentos e filmes comestíveis.

A busca do mercado por alternativas naturais em tratamentos pós-colheita tem aumentado o interesse por produtos naturais e renováveis que possam ser aplicados como revestimentos comestíveis ou incorporados a estes. Alguns desses compostos, como óleos essenciais, própolis, quitosana e ácidos orgânicos apresentam atividade antimicrobiana e antioxidante e por isso têm sido utilizados em associação com revestimentos comestíveis. A própolis é um derivado resinoso de colmeias que apresenta alta atividade biológica, incluindo atividade antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória e tem sido explorada para aplicação em revestimentos comestíveis.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos dos revestimentos comestíveis à base de fécula de mandioca incorporada com própolis na qualidade físico-química, microbiológica e na manutenção de compostos de interesse nutricional em morangos cv. Camino Real armazenados sob refrigeração.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais da cultura do morangueiro

O morangueiro é uma planta herbácea e perene, pertencente à família das Rosáceas, gênero *Fragaria*. A espécie botânica cultivada atualmente é a *Fragaria ananassa* Duch., que é um híbrido resultante das espécies americanas *Fragaria virginiana*, *Fragaria chiloensis*, e *Fragaria ovalis* (RONQUE, 1998). É uma espécie de clima temperado que apresenta plantas herbáceas, perenes e rasteiras que atingem de 15 a 30 cm de altura, formando pequenas touceiras (SILVA; DIAS; MARO, 2007).

Botanicamente, a parte comestível do morangueiro, popularmente denominada fruto, é, na verdade, um fruto múltiplo originário do receptáculo floral que se torna carnoso e suculento e recebe o nome de morango. O receptáculo floral hipertrofiado é doce, carnoso e suculento, de tamanho e contornos regulares e uniformes, de polpa firme, coloração vermelha e rica em material de reserva (RONQUE, 1998).

O clima mais favorável para produção do morangueiro é o temperado, porém ele pode ser cultivado em diferentes condições de clima e solo, sendo produzido satisfatoriamente em regiões subtropicais. No Brasil, a cultura encontra-se difundida em diversas regiões, onde se produz morango para consumo *in natura* e para a industrialização (ANTUNES; PERES, 2012). No estado de Minas Gerais, o morangueiro foi introduzido no município de Cambuí, por volta de 1958. Hoje, é encontrado na maioria dos municípios do extremo sul do Estado, na região da Mantiqueira, Campos das Vertentes, Barbacena e municípios vizinhos (ANTUNES; DUARTE FILHO, 2005).

As cultivares de morangueiro mais utilizadas no Brasil provêm dos Estados Unidos, destacando-se a ‘Aromas’, ‘Camarosa’, ‘Diamante’, ‘Oso

Grande' e 'Ventana', da Universidade da Califórnia, e 'Dover' e 'Sweet Charlie', da Universidade da Flórida (OLIVEIRA; NINO; SCIVITTARO, 2005). Nos processos de produção e comercialização agrícola, cada vez mais são exigidas características como perdas reduzidas, rapidez, confiabilidade, baixos custos e flexibilidade.

A cultivar Camino Real foi desenvolvida em 2001, na Universidade da Califórnia, e apresenta, segundo Shaw e Larson (2001), alta capacidade de produção com plantas relativamente pequenas e compactas. Os frutos são grandes, firmes, de sabor agradável, com epiderme e polpa vermelha-escuras, sendo recomendados para o mercado *in natura* e industrialização.

Em virtude da sua epiderme delgada, alta porcentagem de água e elevado metabolismo, os frutos do morangueiro são muito delicados e pouco resistentes, apresentando alta perecibilidade, sendo altamente susceptíveis às injúrias mecânicas, desordens fisiológicas, perda de água e apodrecimento (CANTILLANO, 2003). Por isso, a colheita dos frutos é uma das operações mais delicadas e importantes de todo o ciclo da cultura, exigindo muitos cuidados durante o processo. A época de colheita varia de agosto a dezembro em regiões mais frias, como o Sul do Brasil (ANTUNES; DUARTE FILHO, 2005).



Figura 1 Morangos cv. Camino Real

## 2.2 Aspectos de qualidade do morango

O morango pertence ao grupo das frutas não climatéricas, no qual não ocorre amadurecimento após a colheita nem melhoria das características sensoriais (CANTILLANO, 2006; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Por este motivo, o morango deve ser colhido no ponto ótimo de maturação, para que apresente máxima qualidade em termos de aparência, textura, sabor e valor nutricional (HERNÁNDEZ-MUNÓZ et al., 2008).

Os frutos sofrem processos físicos e fisiológicos, como respiração e transpiração, sofrendo mudanças constantes após a colheita, na maioria das vezes de caráter irreversível (CANTILLANO, 2003). Por possuir alta taxa respiratória, o morango é um fruto muito perecível de curta vida pós-colheita. Ainda, as injúrias causadas durante a colheita, transporte e comercialização, aumentam a susceptibilidade ao ataque de microrganismos, provocando perdas nutricionais e econômicas.

O consumidor tem se tornado cada vez mais exigente quanto à qualidade do produto final. Inicialmente buscavam-se frutas com bom tamanho, uniformidade e aparência, entretanto, atualmente, são também valorizados outros atributos de qualidade como sabor, aroma, boa conservação, propriedade funcional, entre outros (MALGARIM et al., 2005).

A caracterização física e química dos frutos é de grande importância quando se quer obter informações sobre a qualidade do produto. Coloração, tamanho, forma, turgescência e ausência de defeitos externos são critérios que o consumidor utiliza para decidir a compra do produto, sendo a aparência decisiva na determinação do seu valor comercial (CHITARRA; CHITARRA, 2005; DOMINGUES, 2000).

A qualidade do morango é avaliada pela aparência, valor nutricional, sabor e odor. A pigmentação dos frutos é um indicador natural de sua maturação, sendo as antocianinas as responsáveis pela coloração característica dos frutos do morangueiro (AABY; SKREDE; WROLSTAD, 2005).

Um dos fatores responsáveis pelo turgor e firmeza dos frutos é o teor de umidade, que se relaciona diretamente com a textura do produto. A membrana citoplasmática e a vacuolar possuem permeabilidade seletiva, permitindo a passagem de pequenas moléculas como a água (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O morango, por não possuir camada superficial protetora contra a perda de água, desidrata facilmente e perde massa fresca, o que pode ter efeito prejudicial na qualidade (CALEGARO; PEZZI; BENDER, 2002).

A firmeza é ainda, um indicativo do estado de amadurecimento e senescência do produto, sendo que frutos mais firmes sugerem uma vida útil pós-colheita mais prolongada (VILAS-BOAS, 2006). A diminuição da firmeza da polpa durante o amadurecimento é função, principalmente, da perda da integridade da parede celular. A degradação dos polímeros que a constituem, como celulose, hemicelulose e pectina, geram alterações na parede celular

levando ao amolecimento da polpa. Além disso, a perda de água por transpiração também pode levar ao amolecimento dos frutos (HOJO et al., 2007).

O sabor é um dos mais importantes aspectos de qualidade exigidos pelo consumidor, sendo condicionado, em parte, pelo balanço açúcar/acidez do fruto (BRACKMANN et al., 2002).

O teor de sólidos solúveis é característica de interesse para frutos comercializados *in natura*, pois o mercado consumidor prefere frutos doces. Os sólidos solúveis são expressos em porcentagem e fornecem um indicativo da quantidade de açúcares existentes no fruto, mas não representa o seu teor exato, pois outras substâncias como vitaminas, compostos fenólicos, pectinas e ácidos orgânicos também se encontram dissolvidas (CHITARRA; ALVES, 2001).

A acidez em produtos hortícolas é atribuída, principalmente, aos ácidos orgânicos que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células, e está relacionada com o estágio de maturação do fruto, com tendência de aumentar no decorrer do desenvolvimento fisiológico e diminuir durante a maturação (CECCHI, 2003; CHITARRA; CHITARRA, 2005). O nível de acidez titulável em morangos varia na faixa de 0,6 e 2,3 % de ácido cítrico, sendo que os morangos com baixa acidez são saborosos e mais agradáveis (CORDENUNSI; NASCIMENTO; LAJOLO, 2003). A relação entre sólidos solúveis e acidez titulável tem sido associada ao estágio de maturação fisiológica dos frutos e seu equilíbrio é responsável em grande parte pelo sabor dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A Tabela 1 demonstra a composição centesimal, mineral e de vitaminas de morango *in natura* de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TABELA..., 2011) e com os da Tabela de Composição Química de Alimentos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2014).

Tabela 1. Composição centesimal, mineral e de vitaminas do morango *in natura*

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	TACO	USDA
Umidade (%)	91,50	90,95
Energia (kcal 100g <sup>-1</sup> )	30,00	32,00
Proteína (g 100g <sup>-1</sup> )	0,90	0,67
Lipídeos (g 100g <sup>-1</sup> )	0,30	0,30
Carboidratos (g 100g <sup>-1</sup> )	6,80	7,68
Fibra Alimentar (g 100g <sup>-1</sup> )	1,70	2,00
Cinzas (g 100g <sup>-1</sup> )	0,50	-
Cálcio (mg 100g <sup>-1</sup> )	11,00	16,00
Magnésio (mg 100g <sup>-1</sup> )	10,00	13,00
Fósforo (mg 100g <sup>-1</sup> )	-	24
Potássio (mg 100g <sup>-1</sup> )	-	153
Vitamina C (mg 100g <sup>-1</sup> )	-	58,8

Fonte: Tabela... (2011) e USDA (2014)

### 2.3 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, metabolizados através da rota do ácido chiquímico e do ácido malônico (Figura 2), utilizando intermediários do metabolismo de carboidratos (DIXON; PAIVA, 1995) ou em resposta a reações de estresse. A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais, enquanto a rota do ácido malônico possui maior relevância no metabolismo de microrganismos e pouca significância no metabolismo de vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2013).

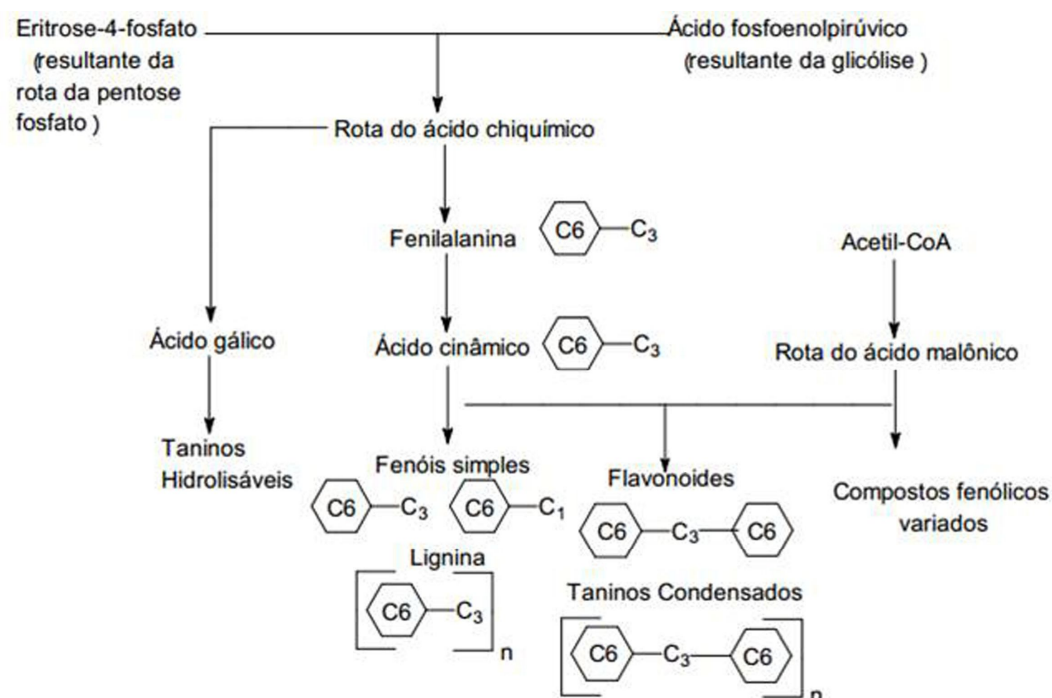


Figura 2 Compostos fenólicos biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico e a da rota do ácido malônico

Fonte: Taiz e Zeiger (2013)

Compostos fenólicos compreendem uma gama de moléculas que possuem uma estrutura polifenólica e moléculas com apenas um anel fenólico (monofenóis). De acordo com o número de anéis fenólicos que possuem e com os elementos estruturais que os unem, os polifenóis podem ser classificados em diversas classes, sendo as principais: flavonoides, ácidos fenólicos, estibenos e lignanas (D'ARCHIVIO et al., 2007).

Entre os principais compostos fenólicos encontrados em morangos podem-se destacar os flavonoides, principalmente as antocianinas (com flavonóis e flavanois contribuindo em menor parte), ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinâmico) e taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos) (BASU et al., 2014; GIAMPIERI et al., 2012).

A proteção conferida por compostos fenólicos a partir de dietas ricas em frutas e vegetais tem sido cada vez mais investigada. Ao contrário das vitaminas, que são essenciais para o bem-estar em curto prazo, estudos têm evidenciado que seu consumo moderado a longo prazo apresenta efeitos favoráveis contra a incidência de cânceres e doenças crônicas (SPENCER; CROZIER, 2012).

A quantidade e o perfil destes fitoquímicos variam em função do tipo, variedade e grau de maturação do vegetal, bem como das condições climáticas e do cultivo (MELO et al., 2008). Diversos estudos têm mostrado que o morango apresenta atividade antioxidante elevada, a qual está relacionada ao seu conteúdo de compostos fenólicos (GASPEROTTI et al., 2015; ZHU et al., 2015).

Compostos fenólicos possuem capacidade antioxidante devido à sua estrutura química e suas propriedades redutoras, que exercem papéis importantes na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais (SOUSA et al., 2007), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os radicais livres são moléculas que podem ser orgânicas, inorgânicas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados. Devido a essa configuração, esses radicais tendem a substituir os elétrons perdidos, reagindo com outras moléculas, causando a oxidação das mesmas (RICE-EVANS, 2004).

De maneira geral, 'antioxidante' pode ser definido como uma família heterogênea de moléculas naturais que, presentes em baixas concentrações comparativamente às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (OLIVEIRA et al., 2009). Essa ação pode ocorrer através de diferentes mecanismos, como por exemplo, pela inativação de radicais livres através da doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que os converte em produtos mais estáveis e também pela ligação de íons metálicos (alteração de valência), o que converte hidroperóxidos em

espécies não radicais, absorvendo a radiação UV ou desativando o oxigênio singlete (SILVA et al., 2010).

A atividade antioxidante pode ser medida através do monitoramento da inibição da oxidação de um substrato sensível. Para determinar um perfil completo da atividade antioxidante diversos testes são necessários, uma vez que as reações de oxidação compreendem uma série de reações e mecanismos. Os métodos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante incluem a capacidade de absorbância do radical oxigênio (ORAC), poder de redução como FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro), poder em sequestrar radicais livres como teste de ABTS (2,2'-azinobis(3-tilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e inibição da peroxidação lipídica como TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico). Esses métodos diferem nos princípios dos testes e nas condições experimentais (NINFALI et al., 2005; SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

A composição em flavonoides do morango é caracterizada pelo alto teor de antocianinas, presença de derivados do ácido elágico e de ácido ascórbico junto à grande aceitação pela população o torna especialmente interessante, uma vez que estes compostos apresentam alto potencial biológico e distribuição limitada.

#### **2.4 Antocianinas**

As antocianinas são um grupo de pigmentos naturais presentes em vegetais e são amplamente distribuídas na natureza, conferindo cores como o vermelho-alaranjado, rosa, vermelho, violeta, azul e roxo de diversas plantas. As principais fontes desses pigmentos na dieta são as frutas vermelhas, uvas tintas, vinho tinto e alguns vegetais como o repolho roxo (SILVA, F. et al., 2007). As

antocianinas são compostos fenólicos que fazem parte do grupo dos flavonoides e são solúveis em água (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Existe uma grande diversidade de antocianinas distribuídas na natureza e as diferenças entre elas estão relacionadas ao número de grupos hidroxil, natureza e número de açúcares ligados à molécula, a posição desse grupo ligado, além do número e natureza de ácidos alifáticos ligados aos açúcares da molécula (KONG et al., 2003). As antocianidinas são a estrutura básica das antocianinas (Figura 3). Quando as antocianidinas estão na forma glicosilada, ou seja, ligadas a um açúcar, elas são chamadas antocianinas. As seis antocianidinas de ocorrência mais comuns em plantas comestíveis são a cianidina (50 %), pelargonidina (12 %), peonidina (12 %), delphinidina (12 %), petunidina (7 %), e a malvidina (7 %) (KONG et al., 2003). A grande variedade de antocianinas encontrada na natureza as fazem um grupo muito complexo e de grande interesse.

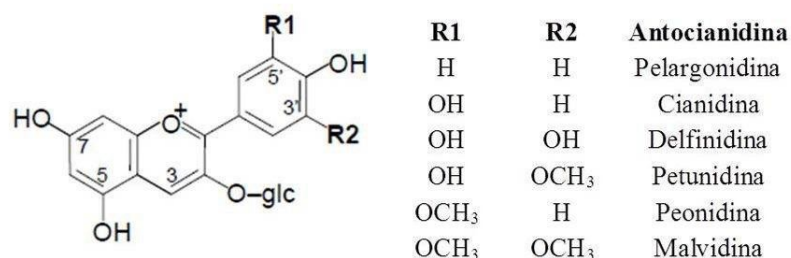


Figura 3 Estruturas das antocianidinas mais comuns em alimentos de origem vegetal  
Fonte: adaptado de Pascual-Teresa, Moreno e García-Vigueira (2010)

A estabilidade das antocianinas é afetada por diversos fatores como pH, temperatura de armazenamento, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, presença de enzimas, flavonoides, proteínas e íons metálicos (REIN, 2005). Na sua forma isolada é altamente instável, por isso normalmente estão presentes no vacúolo das células associadas a açúcares, o que promove uma

maior estabilidade. O açúcar mais comum é a glicose, mas ramnose, xilose e galactose também são encontradas em antocianinas (PASCUAL-TERESA; MORENO; GARCÍA-VIGUERA, 2010).

As antocianinas apresentam elevada atividade antioxidante e diversos estudos sugerem que esses compostos possuem efeito protetor contra doenças degenerativas e crônicas (KONG et al., 2003). Nas plantas, as antocianinas atuam como atrativo para insetos polinizadores que promovem a dispersão de sementes (LOPES et al., 2007).

A propriedade antioxidante das antocianinas vem sendo estudada por diversos pesquisadores, face à sua presença em um significativo número de alimentos de origem vegetal e pela diversidade de sua estrutura química (CHIOU et al., 2014; FLORES et al., 2014). Em morangos, as antocianinas são os polifenóis mais conhecidos e estudados, sendo considerados os mais importantes quantitativamente (BUCHWEITZ et al., 2013). Mais de 25 pigmentos antocianínicos foram descritos em morangos, sendo a pelargonidina-3-glicosídeo a mais significativa, seguida da pelargonidina-3-rutiosídeo e cianidina-3-glicosídeo (SILVA, F. et al., 2007).

De acordo com a determinação do teor de antocianinas por HPLC em 5 variedades de morangos realizada por Silva, F. et al. (2007) a concentração desses compostos varia de 20 a 60 mg 100g<sup>-1</sup> com a pelargonidina-3-glicosídeo representando 77-90% das antocianinas nos extratos.

## **2.5 Vitamina C**

A vitamina C tornou-se popular em virtude do seu papel como antioxidante, com potencial de oferecer proteção contra algumas doenças e contra os aspectos degenerativos do envelhecimento. O ácido ascórbico ou ácido L-ascórbico, como é também conhecido, é uma lactona proveniente da glicose

ou outros carboidratos simples (KAYS, 1991). É um antioxidante hidrossolúvel encontrado nos tecidos vegetais na forma reduzida como ácido ascórbico, ou na forma oxidada como ácido deidroascórbico (CORDENUNSI et al., 2002).

Assim como os compostos fenólicos, o teor de vitamina C dos frutos é determinado por fatores como espécie, variedade, clima, maturação, tempo de armazenamento, entre outras condições (HAKALA et al., 2003). Ao longo do armazenamento e maturação de muitos frutos, o teor de vitamina C tende a diminuir, devido à atuação da enzima, ácido ascórbico oxidase (SILVA et al., 2012).

## 2.6 Aspectos microbiológicos

Uma das características naturais do morango é ser muito perecível e por isso sua comercialização e disponibilidade se tornam restritas, uma vez que a senescência e as doenças pós-colheita deterioram rapidamente o produto, levando a perdas consideráveis (REIS et al., 2008). Os fungos dos gêneros *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Phomopsis* e *Rhizopus* são os principais responsáveis por essa rápida deterioração (FORTES, 2005).

Açúcares são os principais componentes solúveis em frutos de morango sadios, que apresentam também alta umidade e acidez, sendo por isso altamente susceptível ao ataque de microrganismos patogênicos e deterioradores (CORDENUNSI et al., 2002). O tempo pelo qual frutas macias frescas, tais como morango, podem ser estocadas em temperaturas acima do congelamento é limitado, principalmente devido a danos causados por fungos (DOMINGUES, 2000).

Muitas doenças estão associadas a morangos em condições de campo e pós-colheita, sendo que uma das principais é o mofo-cinzento, causada pelo fungo *Botrytis cinerea*. Essa doença se manifesta sobre os frutos na forma de

uma massa de micélios de cor cinza, que é disseminada com maior intensidade após os períodos de chuvas que antecedem a colheita (BALBINO, 2004). A contaminação causada por este microrganismo e por outros fungos é particularmente séria, uma vez que leva a perdas durante o armazenamento e a uma desvalorização do produto (BRACKMANN et al., 2002).

Além das doenças propriamente ditas, frutas e hortaliças apresentam microbiota que provém do ambiente, esta influenciada pela estrutura da planta, técnicas de cultivo, transporte e armazenamento (PACHECO et al., 2002). Conseqüentemente, a microbiota encontrada após a colheita pode ser constituída por microrganismos que podem ou não ser patogênicos para o homem, mas que reduzem significativamente a qualidade e a vida útil pós-colheita do produto.

Esses microrganismos são chamados de indicadores, que segundo Franco e Landgraf (1996), são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante a produção ou armazenamento. Microrganismos indicadores podem ser mesófilos, psicrotróficos e termófilos, bolores e leveduras, assim como coliformes totais e termotolerantes e enterobactérias.

Fungicidas e conservantes sintéticos são o principal meio de controle de doenças e deterioração em frutas e hortaliças. No entanto, o uso desses compostos tem sido cada vez mais restrito devido ao potencial carcinogênico, toxicidade residual, longos períodos de degradação, além da poluição ambiental. (UNNIKRISHNAN; NATH, 2002). Com isso, o uso de produtos biológicos como extratos vegetais e outros compostos com propriedades antimicrobianas e funcionais vem se destacando como uma das técnicas mais utilizadas para o controle de patógenos e prolongamento da vida útil pós-colheita.

## 2.7 Conservação pós-colheita

As grandes perdas de frutas e hortaliças que ocorrem após a colheita no Brasil são um fato alarmante e correspondem às perdas ocorridas no momento da colheita no campo, acumuladas até chegar ao consumidor final. A manipulação inadequada dos produtos, a falta de infraestrutura no transporte e armazenamento, além da colheita em estágio de maturação inadequado e falta de conhecimento sobre os processos fisiológicos dos frutos são alguns dos fatores responsáveis pelo alto nível de perdas pós-colheita no Brasil.

O ponto ideal de colheita, redução da temperatura, manutenção da higiene, emprego de condições ideais no beneficiamento, utilização de umidade relativa apropriada e verificação da embalagem mais adequada são pontos fundamentais para o sucesso do armazenamento de frutas e hortaliças (LUENGO; CALBO, 2001).

Uma série de alterações químicas e físicas que ocorrem durante o armazenamento é responsável pela senescência e morte dos tecidos. Essas mudanças acontecem por que os frutos são produtos que depois de colhidos continuam vivos e com metabolismo ativo (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para que as reações bioquímicas que levam essas alterações pós-colheita acontecerem, o fruto necessita da energia que provém do processo de respiração. Assim, pode-se considerar como alternativa o controle dos fatores que controlam esse processo, de modo a encontrar maneiras de retardá-los (ARTÉS, 2000). O armazenamento em baixas temperaturas, controle da umidade relativa (UR) e da composição da atmosfera são alguns dos fatores que podem ser alterados, na tentativa de retardar os processos metabólicos após a colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005), sendo que muitas vezes a associação entre mais de um método torna a conservação muito mais eficiente.

Sabe-se que nenhum método de conservação pós-colheita é capaz de melhorar a qualidade de frutos, porém se mostram eficazes na sua manutenção. Portanto, deve-se atentar para os cuidados ao longo de toda a cadeia de produção para que o produto chegue ao consumidor com a maior qualidade possível.

### **2.7.1 Armazenamento refrigerado**

A temperatura de armazenamento e a umidade relativa são o fator mais importante no armazenamento pós-colheita, uma vez que regulam as taxas de todos os processos fisiológicos e bioquímicos associados. Com o desenvolvimento das técnicas analíticas e surgimento da preocupação com a segurança alimentar, o foco das pesquisas foi ampliado, saindo apenas da preocupação com a aparência para a qualidade e a segurança do produto (PAULL, 1999).

Sem o armazenamento a frio, a qualidade dos produtos decai rapidamente após a colheita devido à produção do calor vital e liberação de CO<sub>2</sub> decorrentes da respiração (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Além disso, o crescimento de microrganismos é significativamente reduzido a baixas temperaturas, o que contribui para uma melhor conservação do produto.

Segundo Tashtoush (2000), a temperatura ótima de armazenamento para produtos agrícolas deve ser ligeiramente superior ao ponto de congelamento do produto e deve permanecer constante para que se alcancem bons resultados. No entanto, frutas e vegetais armazenados em baixas temperaturas superiores ao ponto de congelamento são susceptíveis às injúrias como o *chilling*, que leva à perda da qualidade comercial (PROMYOU; KETSA; DOORN, 2008).

Além do controle da temperatura no armazenamento a frio, o controle da umidade relativa se faz necessário, uma vez que em valores abaixo dos requeridos pelo produto há perda de umidade, tornando-os inadequados para

comercialização e em valores muito acima do recomendado (acima de 98%) há desenvolvimento excessivo de microrganismos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Apesar da perda de massa que ocorre devido à evaporação da água no armazenamento a baixas temperaturas, a refrigeração é reconhecida como um processo eficiente na extensão da vida útil pós-colheita de morangos frescos (CORDENUNSI; NASCIMENTO; LAJOLO, 2003). A temperatura ótima recomendada para o armazenamento de morangos deve ser entre 0 °C e 1 °C, com umidade relativa (UR) de 90-95%. Tais condições resultam em uma vida útil de 5 a 7 dias segundo Chitarra e Chitarra (2005). Cordenunsi, Nascimento e Lajolo (2003) relatam que a temperatura de 0 °C é considerada a melhor para o armazenamento dos morangos, porque reduz as mudanças na qualidade.

Contudo, mesmo sendo a refrigeração a ferramenta principal para manter a qualidade dos frutos, muitas vezes, é insuficiente e precisa ser associada a outros métodos, como por exemplo, a irradiação, atmosferas modificada e controlada (AWAD, 1993) uso de agentes químicos e/ou incorporação de substâncias naturais e revestimentos comestíveis.

### **2.7.2 Revestimentos comestíveis**

Revestimentos comestíveis são finas camadas de material comestível aplicadas ao alimento, envolvendo o mesmo, que desempenham importante papel na sua preservação (MCHUGH, 2000). A diferença entre revestimentos e filmes comestíveis reside no fato de que os revestimentos são aplicados na forma líquida sobre o alimento, normalmente através de imersão ou aspersão na solução filmogênica, que pode ser uma matriz de carboidratos, proteínas, lipídeos ou uma combinação desses componentes. Filmes comestíveis são

moldados em forma de folhas, que posteriormente são utilizadas como embalagem para o produto (FALGUERA et al., 2011).

Nos últimos anos, o interesse pela aplicação de revestimentos comestíveis em alimentos altamente perecíveis tem aumentado devido às vantagens que esse tipo de método de conservação apresenta, como descrito em uma série de estudos (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012; ORIANI et al., 2014; ROJAS-GRAÜ et al., 2012).

Os revestimentos comestíveis podem atuar como uma embalagem alternativa, apresentando vantagens em relação às sintéticas, uma vez que são produzidas a partir de materiais comestíveis de fontes naturais. Além disso, os revestimentos são bons carreadores de ingredientes ativos como antioxidantes, sabores, compostos bioativos e antimicrobianos (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

Um bom revestimento deve dar ao fruto o brilho, a aparência atrativa e reduzir a perda de peso, por meio da redução da respiração normal dos frutos, sem provocar condições de anaerobiose (BALDWIN; HAGENMAIER; BAI, 2012). Além disso, estudos demonstram que revestimentos são capazes de proteger os produtos de danos mecânicos e contaminação microbológica, promovendo manutenção da boa aparência e evitando perda excessiva de voláteis desejáveis (PAVLATH; ORTS, 2009).

Formulações de filmes e revestimentos comestíveis devem incluir pelo menos um componente capaz de formar uma matriz adequada, contínua e coesa (FAKHOURI et al., 2009), podendo ser usados lipídeos, proteínas, carboidratos, plasticizantes, surfactantes, aditivos e solventes (AHMAD et al., 2012; ANDREUCETTI et al., 2011).

Exemplos de materiais usados como plasticizantes são o glicerol e o sorbitol, que são adicionados para melhorar as propriedades de biopolímeros, além de conferir brilho ao produto. No entanto, segundo Cerqueira et al. (2012)

a adição de plasticizantes estimula a perda de umidade, possivelmente devido à extensão excessiva que provoca na matriz polimérica, quebrando as interações polímero-polímero, resultando na redução da propriedade de barreira. A adição de lipídeos, por sua vez, pode reduzir a permeabilidade ao vapor de água, no entanto, afeta a transparência da cobertura e pode provocar sabores residuais indesejáveis (FAKHOURI et al., 2007). Logo, a formulação do revestimento deve ser compatível com o objetivo que se quer alcançar, bem como com as características do produto a ser revestido.

### **2.7.3 Revestimentos à base de amido**

O amido tem sido objeto de estudo de muitas pesquisas, por ser o mais importante e mais abundante polissacarídeo na natureza e exibir, entre outras, propriedades formadoras de filmes e grande aplicação na indústria alimentícia (CHANG; KARIM; SEOW, 2006; GARCIA et al., 2010; MALI et al., 2005).

Devido ao seu baixo custo, abundância, biodegradabilidade, comestibilidade e fácil manipulação, o amido se destaca como uma alternativa viável para produção de filmes e revestimentos comestíveis, tanto por pequenos produtores quanto por grandes empresas (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2005).

O amido é formado por dois tipos de polímeros de glicose que apresentam estruturas e funcionalidades diferentes: a amilose, caracterizada por ser um polímero linear com unidades de D-glicose unidas por ligações  $\alpha$ -(1-4) e a amilopectina, um polímero altamente ramificado, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações  $\alpha$ -(1-4) e as ramificações em  $\alpha$ -(1-6) (ELLIS et al., 1998). Estas duas frações se apresentam em proporções que variam entre os amidos procedentes de diferentes espécies vegetais, e mesmo entre amidos

provenientes da mesma espécie variam de acordo com o grau de maturação das plantas (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

A obtenção dos biofilmes de amido baseia-se no processo de gelatinização com posterior retrogradação (SILVA, W. et al., 2007). O amido quando geleificado possui a propriedade de formar géis, e esses quando desidratados originam películas rígidas, transparentes e resistentes (OLIVEIRA; CEREDA, 1999). A temperatura de gelatinização varia de acordo com a fonte de amido, sendo que para a fécula de mandioca a mesma pode variar de 50 °C a 80 °C (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

O processo de gelatinização ocorre quando o grânulo de amido é aquecido em excesso de água (>60%). No intervalo de temperatura específica para amidos de diferentes origens, as ligações de hidrogênio mais fracas entre as cadeias de amilose e amilopectina são rompidas e os grânulos de amido nessas regiões começam a intumescer e formar soluções consideravelmente viscosas (BOBBIO; BOBBIO, 2003; SMITH, 1999). Com a redução da temperatura após a gelatinização, as moléculas de amilose, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que sejam formadas pontes de hidrogênio entre os polímeros adjacentes, caracterizando a retrogradação. Este processo favorece a formação de uma estrutura mais ordenada, que, sob condições favoráveis, pode formar uma estrutura novamente cristalina (BOBBIO; BOBBIO, 2003; SOEST et al., 1996).

Os revestimentos de amido aplicados às frutas e vegetais não são barreiras fortes ao vapor de água devido à sua natureza hidrofílica, porém reduzem a taxa respiratória e a troca de gases devido à sua permeabilidade seletiva ao O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (NÍSPEROS-CARRIEDO; BALDWIN; SHAW, 1991).

#### **2.7.4 Fécula de mandioca**

A mandioca, uma das principais fontes de amido utilizado industrialmente, é cultivada ao longo de todo território brasileiro e de outros países tropicais e se destaca como uma fonte barata e abundante de amido (MATSUI et al., 2004).

Assim como a mandioca, a fécula de mandioca pode ser produzida e adquirida a baixo custo, sendo um dos polissacarídeos mais abundantes no Brasil. Sua composição nativa constitui-se de 87,6 % de amido, 14,9 % de umidade, 0,5% de fibras e 0,2% de matéria-graxa, açúcares, cinzas e proteínas, e possui pH de 5,6 (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008). A constituição do amido de mandioca gira em torno de 17-20 % de amilose e 80-83 % de amilopectina (DEFLOOR; DEHING; DELCOUR, 1998).

Segundo Moorthy (2004) a fécula de mandioca é de fácil extração em relação aos amidos de outras fontes. Outros autores destacam ainda a menor taxa de retrogradação (MALI et al., 2004), maior clareza de pasta, baixa temperatura de gelatinização e estabilidade do gel como vantagens da fécula de mandioca em relação aos amidos de outras fontes, o que a torna uma fonte promissora na elaboração de revestimentos e filmes comestíveis, como relatado por diversos autores (OJEDA; SGROPPO; ZARITZKY, 2014; SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010).

Além disso, a fécula de mandioca é um ótimo material para revestimentos comestíveis devido à capacidade de reduzir as taxas de respiração e perda de água (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012). Os revestimentos comestíveis produzidos a partir desse tipo de amido são baratos, inodoros, incolores, não possuem sabor, são atóxicos e biodegradáveis, além de apresentarem barreira ao oxigênio (PARETA; EDIRISINGHE, 2006).

Glicerol e sorbitol são plasticizantes compatíveis com o amido, que podem atuar melhorando a flexibilidade e prevenindo rachaduras, porém foi

demonstrado por Souza et al. (2012) que a presença desses plasticizantes afeta negativamente as propriedades de barreira dos revestimentos.

Henrique e Cereda (1999) relataram que o uso de coberturas de fécula de mandioca nas concentrações de 1 %, 2 % e 3 % em morangos foi eficiente na minimização da perda de massa e aumento de 5 vezes na vida útil do fruto. Garcia et al. (2012) demonstraram que a utilização da fécula de mandioca (3%) para revestimento de morangos, minimamente processados, é capaz de reduzir perda de massa, perda de propriedades mecânicas e a taxa de respiração dos frutos quando armazenados por 15 dias a 5 °C.

### **2.7.5 Incorporação de produtos naturais em revestimentos**

Sabe-se que é comum a incorporação de diversos compostos nos revestimentos comestíveis aplicados em alimentos. Além dos aditivos utilizados para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira, outra gama de ingredientes que podem ser adicionados são os antioxidantes, agentes antimicrobianos e antiescurecimento, entre outros (ROJAS-GRAÜ; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2009).

Ingredientes sintéticos são comumente utilizados para reduzir ou eliminar o desenvolvimento de microrganismos nas mais diversas aplicações alimentícias (JAY, 2005). Porém, devido ao aumento da consciência dos consumidores quanto aos possíveis riscos a que estão sujeitos com o uso desses ingredientes, a redução do seu uso é uma tendência.

Entre os compostos comumente utilizados em revestimentos comestíveis, se destacam os óleos essenciais, álcoois orgânicos e compostos aromáticos, que são biologicamente ativos (AYALA-ZAVALA et al., 2008). El-Badawy, Baiea e Eman (2012) em estudo com cítricos, utilizando aplicação de ceras comerciais incorporadas com própolis, obtiveram boa conservação dos

frutos com os tratamentos estudados. Ali, Wei e Mustafa (2014) avaliaram a aplicação de extrato etanólico de própolis em pimentões, observando redução da incidência de doenças e retenção da umidade do produto. A aplicação de compostos naturais em morangos, no entanto, ainda não é muito explorada.

A aplicação desses produtos naturais ainda não está totalmente difundida, uma vez que afetam sensorialmente o produto, reduzindo ou até impedindo a sua aceitabilidade, devido ao forte odor e sabor que são transmitidos ao alimento (SILVA-WEISS et al., 2013).

### **2.7.6 Própolis**

A própolis é um material complexo, constituído por uma mistura de diversas resinas vegetais, que são coletadas por abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.), a partir de várias partes da planta (KATIRCIOGLU; MERCAN, 2006). A definição de própolis segundo o MAPA (BRASIL, 2001) é um produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto.

A própolis possui uma composição complexa, podendo variar em função de fatores como a flora da região, estações do ano e características genéticas das abelhas (SOUSA et al., 2007). Possui um odor característico e coloração que varia do marrom-escuro a uma tonalidade esverdeada até o marrom-avermelhado, dependendo do tipo e idade (BURDOCK, 1998). Análises químicas demonstram presença de pelo menos 300 constituintes na própolis (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002), sendo composta por cerca de 50 % de resina, 30 % de cera, 1 % de óleos essenciais e aromáticos, 5 % de pólen e 5 % de outros compostos orgânicos (BURDOCK, 1998).

Entre esses compostos orgânicos encontram-se compostos fenólicos, flavonoides em todas as suas formas, terpenos, esteroides, aldeídos e álcoois (RUSSO; LONGO; VANELLA, 2002). Muito conhecida por sua ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e imunomodulatória, acredita-se que a alta concentração de flavonoides, junto aos ácidos fenólicos e ésteres, é responsável por conferir essas propriedades ao produto (BIANCHINI; BEBENDO, 1998; GONZÁLEZ; ORZÁES, 1997).

Segundo Bianchini e Bebendo (1998), a presença de vários princípios ativos tornam a própolis eficiente no controle de bactérias, com efeito altamente inibitório sobre determinados gêneros, tais como *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Mycobacterium*. Outros autores relatam efeito inibitório da própolis contra fungos como *Aspergillus niger*, *Candida albicans* and *Botrytis cinerea* (MIRZOEVA; GRISHANIN; CALDER, 1997; SCAZZOCCHIO et al., 2006).

Além dos efeitos antimicrobianos, a própolis, assim como outros produtos provenientes de colmeias (mel, geleia real) possui propriedades funcionais por apresentar atividade antioxidante (VIUDA-MARTOS et al., 2008). Silva et al. (2006) relataram que extratos comerciais de própolis apresentam habilidade de sequestrar radical livre DPPH e que essa atividade está correlacionada com o conteúdo de fenólicos e de flavonoides.

Extratos etanólicos, hidro-alcóolicos e aquosos da própolis têm sido utilizados e estudados em diferentes situações, por exemplo, como agentes antimicrobianos (ZAHID et al., 2013), antioxidantes (NAGAI et al., 2003), entre outras aplicações. O extrato mais comumente utilizado é o hidroalcoólico, que na legislação brasileira é denominado Extrato de Própolis e definido como sendo o produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis em álcool neutro (grau alimentício), por processo tecnológico adequado (BRASIL, 2001). Ainda segundo Brasil (2001), os extratos de própolis devem conter no mínimo 11 % de extrato seco. O método de extração de própolis mais utilizado

emprega o álcool etílico hidratado como solvente, uma vez que a própolis apresenta baixa solubilidade em água, em razão das características apolares da maior parte das substâncias que a compõem. O sabor residual do solvente, reações adversas em decorrência do álcool e a restrição da venda desse tipo de produto em alguns países, no entanto, são fatores limitantes do extrato hidroalcoólico de própolis (KONISHI et al., 2004).

A própolis verde é um produto tipicamente brasileiro, que tem como principais fontes vegetais o alecrim-do-campo e popular vassourinha (*Baccharis dracunculifolia*). É produzida nas regiões do Cerrado nos estados de Minas Gerais e noroeste do estado de São Paulo e apresenta grande aceitação internacional (LIMA, 2006; PARK et al., 2004).

Özdemir et al. (2010) testaram diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis na manutenção da qualidade de toranjas ‘Star Ruby’ durante o armazenamento e observaram que a concentração de 5 % do extrato etanólico foi capaz de manter a qualidade do fruto por 5 meses, reduzindo a deterioração por fungos e a perda de massa.

Zahid et al. (2013) conseguiram retardar o amadurecimento de pitayas e aumentar a biossíntese de componentes nutricionais, como flavonoides e antioxidantes totais, com aplicação de extrato etanólico de própolis a 0,5 %. Guedes (2003) avaliou a estabilização das antocianinas da polpa de acerola por complexação com flavonoides e verificou que a perda de cor dos pigmentos antocianínicos foi reduzida pela adição de extrato de própolis. Um trabalho recente mostrou que a incorporação de própolis (5 %) em um revestimento comestível de goma arábica foi capaz de manter a qualidade de pimentas chilli (ALI et al., 2014).

Apesar da grande quantidade de trabalhos envolvendo a aplicação de própolis na melhora da qualidade e extensão da vida útil pós-colheita de alimentos, a investigação dessa aplicação em combinação com revestimentos

comestíveis ainda é pouco explorada e poucos são os que investigam essa aplicação em morangos.

### **3 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

No contexto atual, cada vez mais o consumidor tem buscado produtos com maior qualidade, praticidade e que apresentem algum tipo de apelo saudável e de proteção ambiental, enquanto produtores e distribuidores procuram alternativas para ampliar o período de comercialização dos frutos e prolongar sua vida útil após a colheita, preferencialmente a baixo custo. O morango é um fruto que apresenta grande aceitação pelo consumidor, porém por ser extremamente sensível e apresentar grandes perdas ao longo da cadeia produtiva, sua comercialização muitas vezes enfrenta dificuldades. Diante disto, é notável a importância da investigação de tecnologias alternativas às usadas atualmente, de forma a aproximar as necessidades e desejos do consumidor às estratégias do produtor, para que a cadeia produtiva do morango seja cada vez mais eficiente e que os produtos oferecidos ao consumidor apresentem cada vez mais qualidade.

## REFERÊNCIAS

- AABY, K.; SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E. Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 10, p. 4032-404, Oct. 2005.
- AHMAD, M. et al. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 189-199, 2012.
- ALI, A. et al. Efficacy of propolis and cinnamon oil coating in controlling post-harvest anthracnose and quality of chilli (*Capsicum annuum* L.) during cold storage. **Food and Bioprocess Technology**, Chicago, v. 7, n. 9, p. 2742-2748, 2014.
- ALI, A.; WEI, Y. Z.; MUSTAFA, M. A. Exploiting propolis as an antimicrobial edible coating to control post-harvest anthracnose of bell pepper. **Packaging Technology and Science**, New York, v. 28, n. 2, p. 173-179, 2014.
- ANDREUCETTI, C. et al. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 103, n. 2, p. 129-136, 2011.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. **Importância do cultivo**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2005. (Sistema de Produção, 5). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/index.htm>>. Acesso em: 21 ago. 2014.
- ANTUNES, L. E. C.; PERES, N. A. Strawberry production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, Madrid, v. 13, n. 1, p. 156-161, 2012.
- ANUÁRIO brasileiro de fruticultura 2013. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2013. 140 p.
- ARTÉS, F. **Aplicación del frío a los alimentos**. Madrid: Mundi, 2000. 200 p.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruits and vegetables. **Stewart Postharvest Review**, London, v. 4, n. 3, p. 1-9, 2008.
- BALBINO, J. M. de S. **Tecnologias para produção, colheita e pós-colheita de morangueiros**. Vitória: Incaper, 2004. 76 p.
- BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. **Edible coatings and films to improve food quality**. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC, 2012. 460 p.
- BASU, A. et al. Strawberry as a functional food: an evidence-based review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 54, n. 6, p. 790-806, 2014.
- BIACHINI, L.; BEBENDO, I. P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. **Sociedade Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p. 149-152, 1998.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003. 240 p.
- BRACKMANN, A. et al. Efeito da temperatura de armazenamento sobre a qualidade do morango cultivar ‘*Oso Grande*’. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 1, p. 77-78, jan./abr. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 149, p. 18, 3 ago. 2001. Seção 1.
- BUCHWEITZ, M. et al. Stabilisation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) anthocyanins by different pectins. **Food Chemistry**, London, v. 141, n. 3, p. 2998-3006, 2013.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.
- CALEGARO, J. M.; PEZZI, E.; BENDER, R. J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1049-1055, ago. 2002.

CAMPOS, C. A.; GERSCHENSON, L. N.; FLORES, S. K. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. **Food and Bioprocess Technology**, Chicago, v. 4, n. 6, p. 849-875, 2011.

CANTILLANO, R. F. F. (Ed.). **Morango: pós-colheita**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado; Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2003. 28 p. (Frutas do Brasil, 42).

CANTILLANO, R. F. F. Fisiologia e manejo na colheita e pós-colheita de morangos. In: CARVALHO, S. P. de (Coord.). **Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico**. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. p. 97-105.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 2003. 208 p.

CERQUEIRA, M. A. et al. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 175-184, 2012.

CHANG, Y. P.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 20, n. 1, p. 1-8, 2006.

CHIOU, A. et al. Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena ). **Food Chemistry**, London, v. 146, n. 1, p. 157-165, 2014.

CHITARRA, A. B.; ALVES, R. E. **Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais**. Fortaleza: FRUTAL, 2001. 436 p. Apostila.

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

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch: carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 59-67, 2012.

CORDENUNSI, B. R. et al. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Chicago, v. 50, n. 9, p. 2581-2586, 2002.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. **Food Chemistry**, London, v. 83, n. 2, p. 167-173, 2003.

D'ARCHIVIO, M. et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell Istituto Superiore di Sanità**, Rome, v. 43, n. 4, p. 348-361, 2007.

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physico-chemical properties of cassava starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 50, n. 2/3, p. 58-64, 1998.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 7, p. 1085-1097, 1995.

DOMINGUES, D. M. **Efeito da radiação gama e embalagem na conservação de morangos 'Toyonoka' armazenados sob refrigeração**. 2000. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2000.

DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildford, v. 17, n. 5, p. 336-341, 2005.

EL-BADAWY, H. E. M.; BAIEA, M. H. M.; EMAN, A. Efficacy of propolis and wax coatings in improving fruit quality of "Washington" navel orange under cold storage 1. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Ma'an, v. 8, n. 5, p. 420-428, 2012.

ELLIS, R. P. et al. Starch production and industrial use: review. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 77, n. 3, p. 289-311, 1998.

FAKHOURI, F. M. et al. Effect of fatty acid addition on the properties of biopolymer films based on lipophilic maize starch and gelatin. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 61, n. 9, p. 528-536, 2009.

FAKHOURI, F. M. et al. Films and edible coatings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of Crimson grapes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 368-375, 2007.

FALGUERA, V. et al. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science Technology**, Cambridge, v. 22, n. 6, p. 292-303, 2011.

FLORES, F. P. et al. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. **Food Chemistry**, London, v. 153, n. 1, p. 272-278, 2014.

FORTES, J. F. **Sistema de produção do morango: doenças do morangueiro**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2005. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap07.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

GARCIA, L. C. et al. Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. **Packaging Technology Science**, New York, v. 25, n. 7, p. 413-425, 2012.

GARCIA, L. C. et al. Selection of an edible starch coating for minimally processed strawberry. **Food and Bioprocess Technology**, Chicago, v. 3, n. 6, p. 834-842, 2010.

GASPEROTTI, M. et al. Overall dietary polyphenol intake in a bowl of strawberries: the influence of *Fragaria* spp. in nutritional studies. **Journal of Functional Foods**, New York, v. 18, p. 1057-1069, 2015.

GIAMPIERI, F. et al. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**, London, v. 28, n. 1, p. 9-19, 2012.

GONZÁLEZ, R. E.; ORZÁEZ, V. M. T. Aplicaciones más importantes del propóleos. **Offarm**, Barcelona, v. 16, n. 9, p. 67-70, 1997.

GUEDES, M. C. Estabilização das antocianinas da acerola por complexação com flavonóides da própolis. **Revista Científica do IMAPES**, Sorocaba, v. 1, n. 1, p. 52-55, 2003.

HAKALA, M. et al. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 16, n. 1, p. 67-80, 2003.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, C. M. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morango (*Fragaria Ananassa Duch*) cv IAC Campinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 231-233, 1999.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HERNÁNDEZ-MUNÓZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, London, v. 110, n. 3, p. 428-435, 2008.

HOJO, E. T. D. et al. Uso de películas de fécula de mandioca e PVC na conservação pós-colheita de pimentão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 184-190, jan./fev. 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.

KATIRCIOGLU, H.; MERCAN, M. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different region. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 11, p. 1151-1153, 2006.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Avi Book, 1991. 532 p.

KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 64, n. 5, p. 923-933, 2003.

KONISHI, S. et al. Análise da influência de agentes solubilizantes na atividade antimicrobiana de extratos de própolis e de uma formulação de spray hidroalcoólico. **Mensagem Doce**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 22-25, 2004.

LIMA, M. G. **A produção de própolis no Brasil**. São João da Boa Vista: São Sebastião, 2006. 120 p.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2001. 241 p.

MALGARIM, M. B. et al. Modificação da atmosfera na qualidade pós-colheita de ameixas cv. reubennel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 27, n. 3, p. 373-378, 2005.

MALI, S. et al. Relationship among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 26, p. 7720-7725, 2004.

MALI, S. et al. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, n. 3, p. 283-289, 2005.

MATSUI, K. N. et al. Cassava bagasse-kraft paper composites: analysis of influence of impregnation with starch acetate on tensile strength and water absorption properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 55, n. 3, p. 237-243, 2004.

MCHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Nahrung**, Berlin, v. 44, n. 3, p. 148-151, 2000.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, abr./jun. 2008.

MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of própolis and its components, the effect on growth membrane potential, and mobility of bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 152, p. 239-246, 1997.

MOORTHY, S. N. Tropical sources of starch. In: ELIASSON, A. C. (Ed.). **Starch in food: structure, function and applications**. Boca Raton: CRC, 2004. p. 321-359.

NAGAI, T. et al. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**, London, v. 80, n. 1, p. 29-33, 2003.

NINFALI, P. et al. Antioxidant capacity of vegetable, spices, dressing relevant to nutrition. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 93, n. 2, p. 257-266, 2005.

NÍSPEROS-CARRIEDO, M. O.; BALDWIN, E. A.; SHAW, P. E. Development of an edible coating for extending postharvest life of selected fruits and vegetables. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Lake Alfred, v. 104, n. 1, p. 122-125, 1991.

OJEDA, G. A.; SGROPPO, S. C.; ZARITZKY, N. E. Application of edible coatings in minimally processed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.) to prevent enzymatic browning. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 49, n. 3, p. 876-883, 2014.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, maio/jun. 2009.

OLIVEIRA, M. A.; CEREDA, M. P. Efeito da película de mandioca na conservação de goiabas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 2, n. 1/2, p. 97-102, 1999.

OLIVEIRA, R. P.; NINO, A. F. P.; SCIVITTARO, W. B. Mudanças certificadas de morangueiro: maior produção e melhor qualidade da fruta. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 655, p. 35-38, 2005.

ORIANI, V. B. et al. Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 79, n. 2, p. 189-194, 2014.

ÖZDEMİR, A. E. et al. The effects of ethanol-dissolved propolis on the storage of grapefruit cv. Star Ruby. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 34, n. 2, p. 155-162, 2010.

PACHECO, M. A. S. R. et al. Condições higiênicas-sanitárias de verduras e legumes comercializados no CEAGESP de Sorocaba, SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 101, p. 50-55, out. 2002.

PARETA, R.; EDIRISINGHE, M. J. A novel method for the preparation of starch films and coatings. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 63, n. 3, p. 425-431, 2006.

PARK, Y. K. et al. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 5, p. 1100-1103, 2004.

PASCUAL-TERESA, S.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Flavonols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence.

**International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 11, n. 4, p. 1679-703, 2010.

PAULL, R. E. Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 263-277, 1999.

PAVLATH, A. E.; ORTS, W. Edible films and coatings: why, what, and how? In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. (Ed.). **Edible films and coatings for food applications**. New York: Springer, 2009. p. 1-23.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. de. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PROMYOU, S.; KETSA, S.; DOORN, W. G. van. Hot water treatment delay cold-induced banana peel blackening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 1, p. 132-138, 2008.

REIN, M. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins**. Helsinki: University of Helsinki, 2005. 14 p.

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.

RICE-EVANS, C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 36, n. 7, p. 827-828, 2004.

ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Edible films and coatings. In: GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. (Ed.). **Decontamination of fresh and minimally processed produce**. Ames: Wiley-Blackwell, 2012. p. 247-267.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 20, n. 10, p. 438-447, 2009.

- RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro: revisão e prática**. Curitiba: EMATER, 1998. 206 p.
- RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic aci phenethyl ester and galengin. **Fitoterapia**, Milano, v. 73, n. 1, p. 21-29, 2002.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.
- SCAZZOCCHIO, F. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiological Research**, Jena, v. 161, n. 4, p. 327-333, 2006.
- SHAW, D.; LARSON, K. **The camino real strawberry cultivar**. Washington: United States Patent Declaration and Description, 2001. Disponível em: <[http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/strawberry/Website\\_Camino\\_Real\\_description\\_final2.pdf](http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/strawberry/Website_Camino_Real_description_final2.pdf)>. Acesso em: 8 jun. 2014.
- 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, D. F. P. da et al. Amadurecimento de manga 'Ubá' com etileno e carbureto de cálcio na pós-colheita. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 213-220, fev. 2012.
- SILVA, F. L. da et al. Anthocyanin pigments in strawberry. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 40, n. 2, p. 374-382, 2007.
- SILVA, J. F. M. et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 3, p. 431-435, 2006.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- SILVA, W. A. et al. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 154-163, jan./fev. 2007.

SILVA-WEISS, A. et al. Natural additives in bioactive edible films and coatings: functionality and applications in foods. **Food Engineering Reviews**, Dordrecht, v. 5, n. 4, p. 200-216, 2013.

SMITH, A. Starch-based foods. In: ROSENTHAL, A. J. (Ed.). **Food texture: measurement and perception**. Gaithersburg: Aspen, 1999. chap. 6.

SOEST, J. J. G. van et al. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 11-22, 1996.

SOUSA, C. M. D. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, J. P. B. et al. Perfis físico-químico e cromatográficos de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.

SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In: PASSOS, M. L.; RIBEIRO, C. P. (Ed.). **Innovation in food engineering: new techniques and products**. Boca Raton: CRC, 2010. p. 511-537.

SOUZA, A. C. et al. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 46, n. 1, p. 110-117, 2012.

SPENCER, J. P. E.; CROZIER, A. (Ed.). **Flavonoids and related compounds: bioavailability and function**. Boca Raton: CRC, 2012. 471 p.

TABELA brasileira de composição de alimentos. 4. ed. Campinas: UNICAMP, 2011. 161 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TASHTOUSH, B. Natural losses from vegetables and fruit in products in cold storage. **Food Control**, Guildford, v. 11, n. 6, p. 465-470, 2000.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **National nutrient database for standard reference, release 27**. Washington, 2014. Disponível em:

<<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2430?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=strawberry>>. Acesso em: 30 ago. 2014.

UNNIKRISHNAN, V.; NATH, B. S. Hazardous chemicals in foods. **Indian Journal of Dairy and Bioscience**, New Delhi, v. 11, n. 1, p. 155-158, 2002.

VILAS-BOAS, E. V. de B. **Qualidade de alimentos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE/DCA, 2006. 68 p.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 9, p. R117-R124, 2008.

ZAHID, N. et al. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 69-72, 2013.

ZHU, Q. et al. In vitro bioactivities and phytochemical profile of (*Fragaria* × *ananassa* var. *Amaou*). **Journal of Functional Foods**, New York, v. 13, n. 1, p. 38-49, 2015.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1 - INFLUENCE OF CASSAVA STARCH EDIBLE COATINGS  
INCORPORATED WITH PROPOLIS ON BIOACTIVE COMPOUNDS  
IN STRAWBERRIES**

Artigo aceito para publicação na revista Ciência e Agrotecnologia - ISSN: 1981-1829, sendo apresentado segundo normas de publicação da mesma.

<sup>1\*</sup>Ariela Betsy Thomas, <sup>2</sup>Rita de Cássia Mirela Resende Nassur, <sup>1</sup>Ana Carolina Vilas Boas, <sup>1</sup>Luiz Carlos de Oliveira Lima

<sup>1</sup> Department of Food Science, Federal University of Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brazil.

<sup>2</sup> Embrapa Semiárido - BR 428, Km 152 – Zona Rural – Caixa Postal 23 – Petrolina, PE – Brasil – 56302-970.

\* Corresponding author. Tel.: +55 35 99178-5855

E-mail adress: arielabbt@gmail.com

**ABSTRACT:** Strawberry is a fruit appreciated throughout the world due to its attractive quality attributes and stands out due to its high phenolic compound content, which positively contribute to biological properties of nutritional interest. The objective of this study was to evaluate the effect of cassava starch coatings incorporated with propolis combinations on the phytochemical content and the maintenance and increase of the strawberry antioxidant activity. The treatments were 3 % cassava starch (CS), 3 % cassava starch + 33 % ethanolic propolis extract (CS + P33 %), 3 % cassava starch + 66 % ethanolic propolis extract (CS + P66 %) and control (C). The fruits were stored at  $4^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  and  $90 \% \pm 0.5 \% \text{RH}$  for 16 days, making up a completely randomized design with 4 treatments and 5 time evaluations. Vitamin C, phenolic compound, anthocyanin, and antioxidant activity levels were evaluated through two methods. The coating with 66 % of propolis promoted higher Vitamin C content than fruits submitted to the other treatments at 8 and 12 days of storage. For antioxidant activity, fruits treated with CS maintained a higher FRS percentage (free radical scavenging) at all time evaluations. Control fruits presented higher anthocyanin content at the last evaluation time when the highest antioxidant capacity, by the ABTS method (2,2'-azino-bis(3-

ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)), was observed in fruits with CS and CS + P66% treatments. There was an increase tendency of the phenolic content during storage in all evaluated fruits. The propolis concentrations used, however, were not sufficient to increase or maintain the antioxidant capacity and phenolic contents of strawberries.

**INDEX TERMS:** edible coatings, phytochemicals; antioxidant; *Fragaria ananassa*.

**RESUMO:** O morango é um fruto muito apreciado em todo o mundo por apresentar atributos de qualidade atrativos para o consumidor e destaca-se por seu alto conteúdo de compostos fenólicos, contribuindo positivamente para propriedades biológicas de interesse nutricional. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de combinações do revestimento de fécula de mandioca incorporado com própolis sob o conteúdo de fitoquímicos e na manutenção e incremento da atividade antioxidante de morangos. Os tratamentos utilizados foram fécula de mandioca 3 % (CS), fécula de mandioca 3% + extrato etanólico de própolis 33 % (CS + P33 %), fécula de mandioca 3 % + extrato etanólico de própolis 66 % (CS+P66 %) e controle (C), sendo os frutos armazenados a  $4^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  e UR 90 %  $\pm 0.5\%$  por 16 dias, perfazendo um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 5 tempos de avaliação. Avaliaram-se teores de vitamina C, compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante, por dois métodos. O revestimento com 66% de própolis promoveu maior conteúdo de Vitamina C que os frutos submetidos à outros tratamentos aos 8 e 12 dias. Para a atividade antioxidante, frutos tratados com CS mantiveram maior % SRL (sequestro de radicais livres) em todos os tempos de avaliação. Frutos controle apresentaram maior teor de antocianinas no

último tempo de avaliação, quando a maior capacidade antioxidante pelo método ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi observada em frutos com os tratamentos CS e CS + P66 %. Observou-se uma tendência ao aumento do teor de compostos fenólicos durante o armazenamento em todos os frutos avaliados. As concentrações de própolis utilizadas, no entanto, não foram suficientes para incrementar ou manter a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos dos morangos.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** revestimentos comestíveis, fitoquímicos, antioxidante, *Fragaria ananassa*

## INTRODUCTION

The strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) belongs to the Rosaceae family and is one of the most consumed and currently investigated non-climacteric fruits, having appearance, firmness, flavor and antioxidant content as its principal quality attributes (Vandendriessche et al., 2012). Like other small fruits, the strawberry is a great source of bioactive compounds, including polyphenols such as anthocyanins, phenolic acids, flavonols and tannins as well as vitamin C (Szajdek; Borowska, 2008; Oszmianski; Wojdyło, 2009), which are often correlated with the high antioxidant capacity of the fruit (Pinto et al., 2010). Anthocyanins, responsible for the red color, are quantitatively the most important phenolic compounds found in strawberry (Silva et al., 2007). Antioxidant compounds have the ability to donate electrons to the free radicals, reducing them to more stable and non-reactive species (Brewer, 2011; Podsdek, 2007), which protects the material against oxidative processes that modify cell membranes and biomolecules (Pokorný, 2007).

The attempt to reduce losses and maintain the fresh fruit quality for longer periods is one of the priorities of strawberry growers around

the world. Edible coatings prepared from biopolymers consist of thin layers of edible material applied to foods that play an important role in their preservation and appearance (McHugh, 2000), acting as a barrier to different agents such as water vapor and some gases. Interest in the application of such treatments is becoming more popular due to the environmental protection feature and potential use in the food industry (Zahid et al., 2012). These materials also allow the addition of active compounds in their formulation, which may increase functional properties in order to enable them as potential alternatives in food preservation (Sánchez-González et al., 2011).

Propolis is a resinous substance collected by honeybees from various plant parts (Katircioglu; Mercan, 2006). Due to its composition rich in flavonoids and phenolic acids (Bankova, 2000), propolis has high biological activity, including antioxidant, antibiotic, anti-inflammatory and antifungal activities (Scazzocchio et al., 2006). Zahid et al. (2013) were able to delay ripening in pitayas and increase the biosynthesis of nutritional components such as antioxidants and total flavonoids with the application of 0.5 % propolis ethanolic extract.

Although there are some studies involving the application of propolis to improve quality and extend postharvest life of food, the use of this product, in combination with edible coatings, is still underexplored. In addition, reports about this subject have not been found for strawberries. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of cassava starch coatings incorporated with propolis on the content of phytochemicals of nutritional interest and on the antioxidant activity of strawberries stored under refrigeration for 16 days.

## **MATERIAL AND METHODS**

Strawberries of the Camino Real cultivar grown in the city of Itutinga, MG, Brazil, were used. The cultivation area is located at 910 m of altitude, latitude 21°18'45"S and longitude 44°41'15" W, with a climate characterized as humid temperate with dry winter and temperate summer. The average annual precipitation in the area is approximately 1400 mm, with minimum and maximum values of 900 mm and 2100 mm respectively and an average annual temperature between 19 and 20 °C (Minas Gerais, 2008). The fruits were harvested by hand at their point of commercial maturity (90 % red), with an average weight of 36 grams,

being selected based on appearance and absence of injuries and diseases. They were then taken to the Fruit and Vegetable Postharvest Laboratory of the Federal University of Lavras, where the field heat was removed (pre-cooling) and the fruits were washed and sanitized with sodium dichloroisocyanurate (Hidrosan®) 100 mg L<sup>-1</sup> for 10 minutes.

The edible coatings were prepared at a concentration of 3% cassava starch by adding 30 g of starch in 1 L of distilled water (Henrique; Cereda, 1999). The solutions were heated in a water bath under constant stirring until reaching 70 °C, which is the gelatinization temperature of cassava starch. The solutions were then naturally cooled until 25 °C. The propolis incorporation in the coating solutions was carried out by adding commercial ethanolic extract of propolis at concentrations of 33 % and 66 %, relative to the total starch, while stirring until total homogenization. This process was conducted after the solutions were cooled. The propolis extract used had a 30 % concentration and 11 % minimum dry matter.

The fruits were randomly divided into four groups, one control (C) and three treatments: 3% cassava starch (CS), 3 % cassava starch + 33 % propolis (CS + P33 %) and 3 % cassava starch + 66 % propolis (CS + P66

%). The fruits under investigation were dipped in the treatments for 30 seconds and the control fruits were immersed only in distilled water. All fruits were naturally dried at room temperature on a wire mesh with 0.5 inch openings. After drying, they were then placed in polypropylene trays with perforated lids, each tray containing about 150 g of fruit, representing a repetition. Each treatment consisted of three repetitions and from day 0 (twelve hours later) the fruits were analyzed every 4 days over a period of 16 days. The quantification of the vitamin C levels was performed by colorimetry, using 2,4-dinitrophenylhydrazine and results expressed in mg of ascorbic acid per 100 g of pulp according to Strohecker and Henning (1967). The total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, wherein 0.5 mL of extract from each sample were added to tubes containing 2.5 mL of 10 % Folin-Ciocalteu solution. The results were expressed in mg of gallic acid equivalents per 100 grams of the fruit ( $\text{mg GAE } 100\text{g}^{-1}$ ) (Waterhouse, 2002). The total anthocyanin contents were determined using the pH differential method proposed by Giusti and Wrolstad (2001). This method expresses the monomeric anthocyanin content, calculated as cyanidin-3-glucoside (Molecular Weight = 449.2). The results were expressed as

milligrams of cyaniding 3-glucoside equivalents per 100 g of fresh weight. The determination of the total antioxidant activity was carried out by the DPPH and ABTS<sup>·+</sup> methods. For the DPPH assay the methodology adopted was based on the capture of the DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), which produces a decrease in absorbance at 515 nm (Rufino et al., 2007a). Based on this methodology, the EC<sub>50</sub> parameter, which indicates the amount of antioxidant required to reduce 50 % of the initial DPPH concentration, and the percent of free radical scavenging (% FRS) were calculated. The two representations are useful when analyzed together, providing a broader view of the antioxidant capacity of fruits. The other method used to evaluate the antioxidant activity is based on the ability of antioxidants to capture the ABTS<sup>·+</sup> radical (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), and the results expressed as  $\mu\text{M TEAC g}^{-1}$  of fruit (Rufino et al., 2007b).

The Sisvar software (Ferreira, 2011) was used for statistical analysis of the variables. The variance analysis was conducted through the F test, to verify the difference among the treatments. The averages of the treatments, when significant, were compared, by the Scott-Knott test, to 5 % of probability. When a significant difference in the interaction

among the factors was found, regression analysis was carried out. The results were also submitted to principal component analysis (PCA) and were preprocessed by auto scaling before the analysis using the Chemoface software (1.4) (Nunes et al., 2012).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Vitamin C is considered an important nutritional component in strawberries and may present variations in content among cultivars and as a function of environmental conditions (Pineli et al., 2011). The average vitamin C content found in 'Camino Real' strawberries in the present study ( $71.95 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ) was higher than that reported by Pineli et al. (2011) ( $46.58 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ). The same previously cited authors observed a vitamin C content of  $31.45 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  fruit in the Osogrande cultivar and Cordenunsi, Nascimento and Lajolo (2003) reported levels of 62 and 44  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  fruit of cultivars Campineiro and Dover, respectively, demonstrating the high level of this nutrient in the Camino Real cultivar.

The vitamin C content in the strawberries was affected by the interaction between storage time and the different coatings (Figure 1). There was a tendency towards an increase in the levels during storage for

fruits of all treatments, those coated with CS + P66 % presenting a higher content than fruits submitted to the other treatments at 8 and 12 days, while at those same evaluation times, the non-coated fruits had the lowest levels. At the end of the storage time, however, there was no difference among treatments, indicating that the use of the coatings tested was not effective in the maintenance of vitamin C levels in 'Camino Real' strawberries. The vitamin C content increase in the fruit can be associated with the water loss during storage, resulting in the concentration of the solids present therein. According to Chiumarelli and Hubinger (2012), cassava starch-based coatings can assist in reducing water loss, but when relating the increased vitamin C content during storage to the high water loss, it is found that the use of the coating was not effective for this purpose. Some studies report, unlike that observed in the present study, that there is ascorbic acid reduction in stored fruit (Bender et al., 2010; Calegari; Pezzi; Bender, 2002; Cardoso et al. 2012; Cordenunsi; Nascimento; Lajolo, 2003) and other authors state that the use of different edible coatings can help reduce these losses (Atres et al., 2010; Gol; Patel; Rao, 2013; Wang and Gao, 2013), by promoting gas permeability

reduction, thus reducing the respiration rate and consequently the oxidative reactions responsible for ascorbic acid degradation.

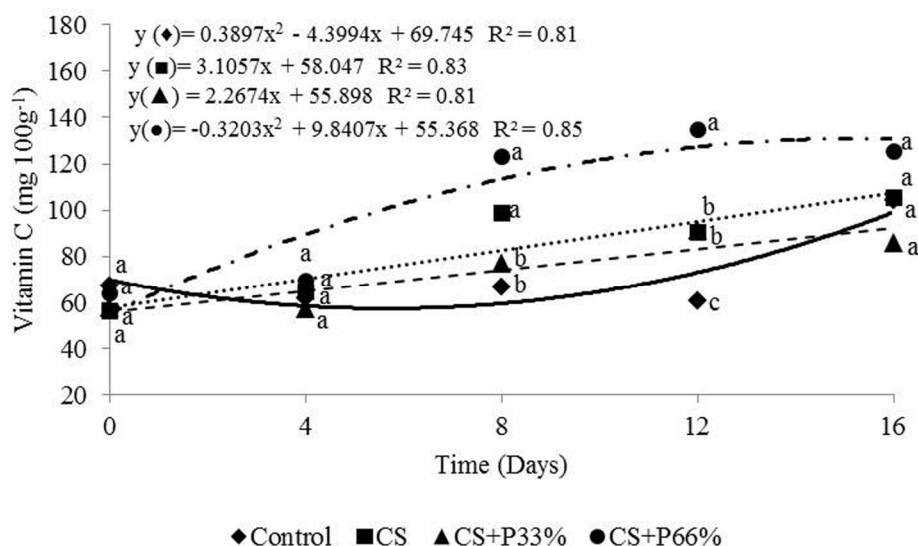


Figure 1. Effect of edible coatings on the Vitamin C levels of 'Camino Real' strawberries stored for 16 days under refrigeration. CS = cassava starch; CS + P33% = cassava starch + 33% of propolis; CS + P66% = cassava starch + 66 % of propolis. Averages followed by the same letter within each time, do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

Phenolic compounds, together with compounds such as vitamin C, are responsible for the total antioxidant activity of food and act by preventing free radicals formation, which positively contributes to human health (Romero et al., 2009; Van De Velde et al., 2013). The total

phenolic compounds were simultaneously affected by the treatments and the storage time, the three coated fruit groups showing very similar behavior, differing from the control at 0, 4 and 12 days (Figure 2). At 8 days, the highest phenolic compound content ( $332.72 \text{ mg EAG g}^{-1}$ ), was observed in the fruits coated with CS but at the end of the experimental period there was no difference among treatments in relation to this variable, indicating that after 16 days of cold storage the edible coatings tested herein were not effective to differentiate the coated fruits from those uncoated, as to the phenolic compound content. A similar result was observed by Duan et al (2011), when testing different coatings on fresh blueberries stored for 12 days. It was expected that edible coatings could act reducing the oxygen permeability (Chiumarelli; Hubinger, 2012) and thus prevent the oxidation of phenolics and that the added propolis could increase the content of total phenolic compounds.

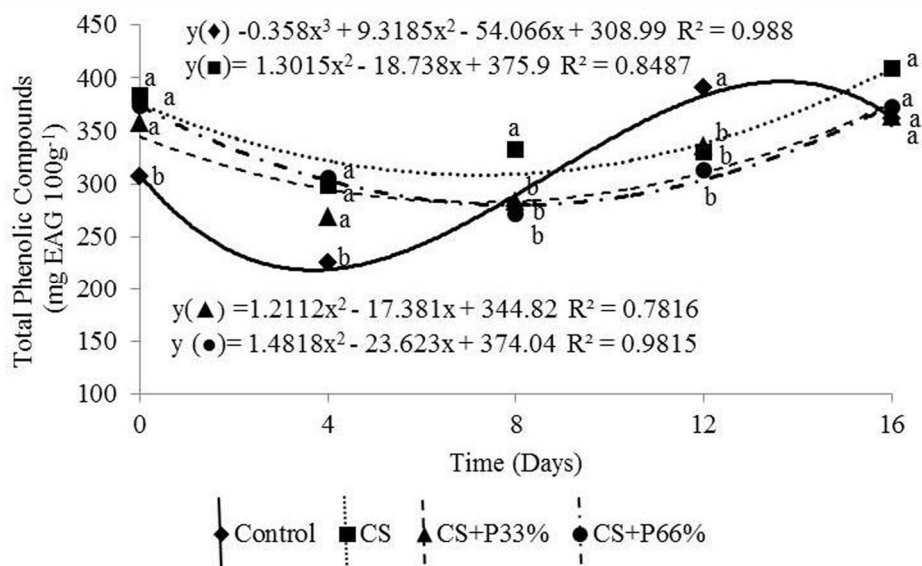


Figure 2. Effect of edible coatings on the Total Phenolic Compounds levels of 'Camino Real' strawberries stored for 16 days under refrigeration. CS = cassava starch; CS + P33% = cassava starch + 33 % of propolis; CS + P66 % = cassava starch + 66 % of propolis. Averages followed by the same letter within each time, do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

Overall, there was no great variation in phenolic content in the fruit during storage, and this is consistent with the study of Kevers et al. (2007), who found that in a wide variety of fruits, including strawberries, there was no reduction of these compounds during storage. Since at the end of the experimental time the treatments did not differ from the control in the present study, one can infer that the cassava starch based matrix used does not harm the maintenance of these compounds in the fruits, it

being a good alternative if its benefit in maintaining other quality attributes is proven. We expected an increase in the phenolic content in the strawberries coated with cassava starch incorporated with propolis, since it is rich in these compounds (Teixeira et al., 2010). Possibly, the concentration of propolis used was not sufficient to significantly increase the phenolic content. Such a result makes it difficult to exploit the use of propolis for coatings, since at higher concentrations, its addition may significantly change the flavor of the fruit, causing consumer rejection.

As observed in Figure 3, there was variation in the anthocyanin content among the different treatments during storage. At time 0 the fruits treated with CS + P66 % showed the highest levels, but there was a decrease over time, and from the 8th day this treatment showed the lowest anthocyanin level by the end of storage, showing that CS + P66 % was ineffective in maintaining anthocyanin content in stored strawberry fruit. Despite the variation undergone during the storage, at the end of 16 days the control fruit presented higher content compared to the coated fruit, a result similar to that reported by Garcia et al (2012), who, when using a cassava starch based coating (3 %) on minimally processed strawberry, observed higher anthocyanin levels in uncoated fruits after 15 days.

Similarly, Gol, Patel and Rao (2013) reported that strawberries coated with carboxymethyl cellulose and hydroxymethyl cellulose in combination with chitosan showed lower anthocyanin content than the uncoated fruit when stored for 12 days at 11 °C. Since polysaccharide based coatings have low oxygen permeability, coated fruits typically exhibit a reduced respiratory rate (Chiumarelli et al., 2010), therefore, the high anthocyanin content in the uncoated fruit may be associated with increased pigment synthesis, which is a possible result of a higher respiration rate. It is known that fruits rich in phenolic compounds, particularly anthocyanins, usually have the highest antioxidant capacity (Günduz; Ozdemir, 2014). The ‘Camino Real’ cultivar had an average of 54.66 mg 100 g<sup>-1</sup> of anthocyanins, a quantity higher than that found by Pineli (2011) in fruits of the same cultivar (29.29 mg 100 g<sup>-1</sup>) and Jin et al (2011) in the cultivars ‘Earliglow’ (40 mg 100g<sup>-1</sup>) and ‘Allstar’ (20 mg 100 g<sup>-1</sup>) stored at 5 °C. The variation in the content found between the same cultivar as well as among other cultivars can be attributed to climatic and environmental differences of the locations where the fruits were produced, storage and the ripening stage at harvest (Crecente-Campo et al., 2012).

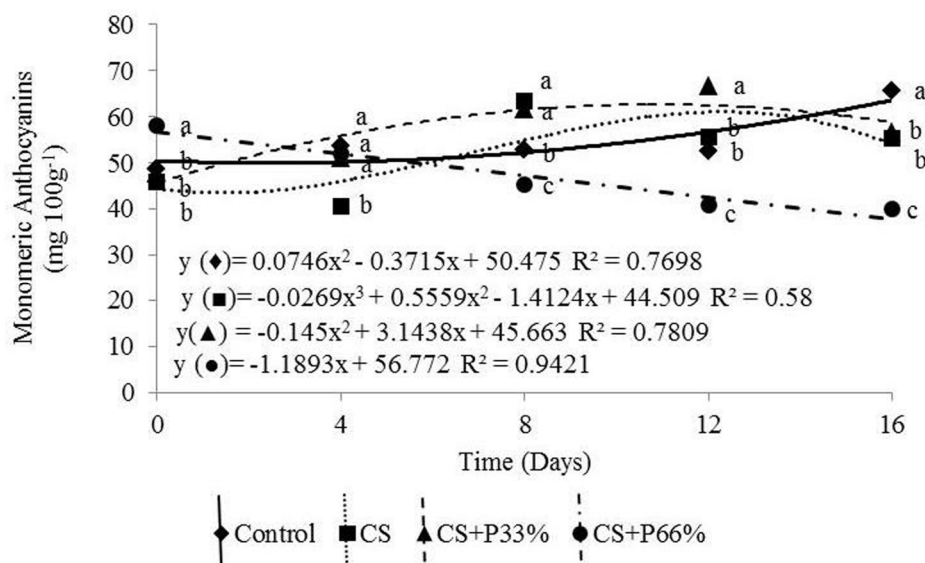


Figure 3. Monomeric Anthocyanins of ‘Camino Real’ strawberries stored for 16 days under refrigeration. CS = cassava starch; CS + P33 % = cassava starch + 33 % of propolis; CS + P66 % = cassava starch + 66 % of propolis. Averages followed by the same letter within each time do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

The total antioxidant capacity of strawberries determined by the DPPH and ABTS reduction methods was statistically affected by the interaction between the treatment and storage time. Comparing the % FRS at the beginning and end of storage, there was no reduction of capacity, as can be seen in Figure 4A. At 4 and 8 days, the fruits coated with CS and those uncoated showed a higher percentage of free radical scavenging (% FRS), while at these same evaluation times the treatments with propolis (CS + P33 % and CS + P66 %) had a reduction in the %

FRS. At 8 days when the % FRS of fruit coated with CS appeared superior to the others, the phenolic content in fruits of this fruit group was also higher, showing a possible direct relationship between the variables at this evaluation time. Silva et al. (2006) reported that commercial propolis extracts have DPPH free radical sequestering ability and that this activity is correlated with the phenolics and flavonoid contents. At the end of the storage time there was no difference in antioxidant activity of fruits from the different treatments, however the CS-coated fruit maintained a higher % FRS during storage. Wang and Gao (2013) report that the sequestering capacity of free radicals in strawberries coated with chitosan was superior to that of the uncoated fruit at the end of 9 days of storage at 5 °C. It can be inferred that the incorporation of propolis, aiming to increase the antioxidant activity in strawberries, was not effective at the concentrations used.

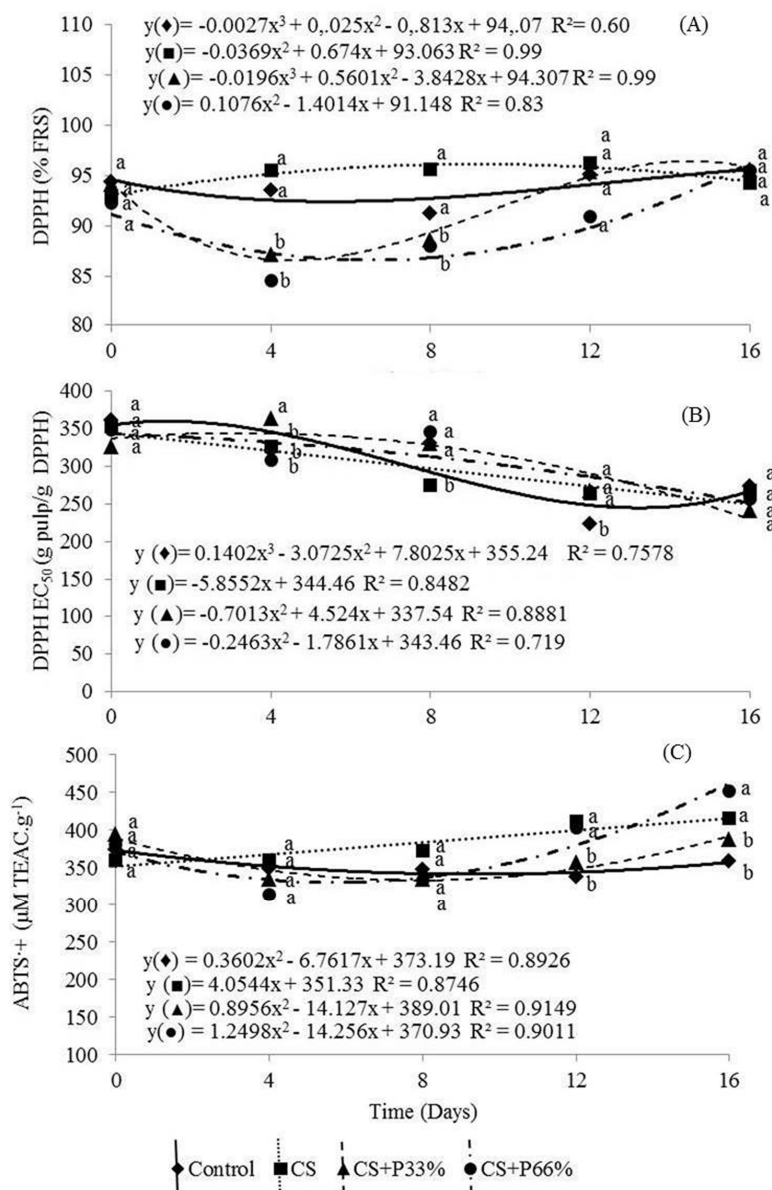


Figure 4. Effects of edible coatings on the antioxidant activity by the DPPH method - %FRS (A) and EC<sub>50</sub> index (B) - and by the ABTS method (C) of 'Camino Real' strawberries stored for 16 days under refrigeration. CS = cassava starch; CS + P33 % = cassava starch + 33 % of propolis; CS + P66 % = cassava starch + 66 % of propolis. Averages

followed by the same letter within each time, do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

We observed an  $EC_{50}$  reduction tendency in the treatments evaluated, which means the capacity to reduce free radicals had improved over the storage period (Figure 4B). Although at the end of 16 days all the contents of fruit from the evaluated treatments showed to be statistically similar, at 4 days of storage, the fruit treatment with CS + P33 % presented higher  $EC_{50}$  index values, while fruits of the CS-only treatment, at eight days, showed better capacity to reduce the DPPH radical.

As the  $EC_{50}$  index reduced, there was a tendency towards an increase in the antioxidant activity detected by the ABTS method (Figure 4C). The opposite behavior of these variables is consistent, since the lower the  $EC_{50}$  index, the better the sample performance in sequestering the DPPH radical, i.e., higher sample antioxidant activity. Therefore, the combined analysis of antioxidant activity by two methods allows us to conclude that there was a slight increase in the antioxidant capacity of the fruit throughout the 16 days. Furthermore, when analyzing the phenolic compounds graph profile (Figure 2), there is an increase in the phenolics as well as the antioxidant activity with the ABTS method, consistent with the information reported by Gunduz et al. (2014), who claim that there is

a strong relationship between total phenolics, anthocyanins and the antioxidant capacity of strawberries. From the 12th day until the last evaluation time, control samples and those coated with CS + P33 %, which had already displayed a lower antioxidant capacity throughout the experimental period, differed statistically from the others, presenting lower values and indicating that the addition of propolis was not a determining factor in the growth and maintenance of this variable in ‘Camino Real’ strawberries. According to work by Robles-Sánchez et al. (2013), alginate-based coating with added ascorbic acid is effective in maintaining and increasing the antioxidant activity of mangos, evaluated by the ABTS and DPPH methods, suggesting the need for further studies on the use of propolis as an antioxidant agent, as well as tests to obtain the best doses for its application in strawberries.

The principal component analysis is shown in Figure 5, encompassing all variables evaluated herein, for fruits evaluated at five cold storage times. The figure contains the scores, which show that the first two principal components explain 66.08 % of the total variability present in the data set, and the weights, that reveal the relationship among

the samples based on the bioactive compounds quantified during storage of the coated strawberries.

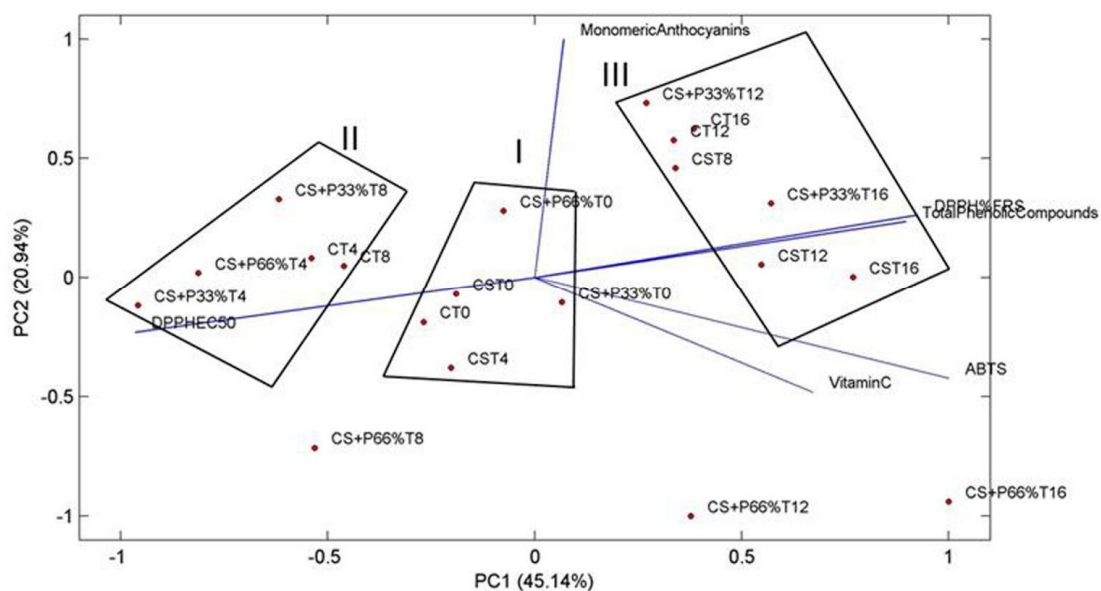


Figure 5. Principal component analysis (PCA). C=control; CS=cassava starch; CS + P33 %= cassava starch + 33% propolis; CS + P66 %= cassava starch + 66 % propolis; T0= 0 days; T4 = 4 days; T8 = 8 days; T12 = 12 days; T16 = 16 days.

Principal component analysis allowed to group the samples into three main groups demonstrating the similarities and differences, verifying a distinction among samples predominantly by storage time rather than the coatings used on the fruits. It can also be noted that samples at intermediate times differed from each other in a more

pronounced way. Some samples did not fit into either group, presenting characteristics that stood out individually.

The vectors that represent the variables have practically the same distance in relation to Point 0, indicating that the weights of these variables were not sufficiently different so that the samples could be located at different points in a quadrant. Furthermore, it is possible to observe that most of the compounds of interest are located on the positive X quadrant, the sample Group III being the most positively correlated with these compounds of interest. The DPPH variables ( $EC_{50}$  and FRS %) were located at the ends of the X axis, which is consistent with the negative correlation that exists between what they represent.

It can be seen that the storage time was the determining factor in the characterization of the Group I samples. The sample of Time 4, which grouped with the Time 0 sample, was that coated with CS, which may indicate that these fruits are characterized by the same properties of fruits of the different treatments evaluated at Time 0, showing the effectiveness of this treatment during the first days as to the levels of the compounds evaluated herein. The sample CS + P33T4 (Group II), which is close to the  $EC_{50}$  variable, was that which resulted in fruit with higher values for

this variable. Other samples, such as fruits treated with CS + P33%T8 and CST8, presented a higher anthocyanin content, positioning in the Y+ quadrants.

Group III stood out compared to the others because of the total phenolic compound content and antioxidant activity by the DPPH method. These two variables are positively correlated and influenced samples equally.

The sample CS + P66 %, as well as CS, after 16 days of storage, approached the antioxidant variable by the ABTS method for presenting the highest activity at this time, as shown in Figure 4C.

## **CONCLUSIONS**

The coating with 66% of propolis promoted higher Vitamin C content than fruits submitted to the other treatments at 8 and 12 days of storage. The coatings tested herein were not efficient to maintain the anthocyanin content in 'Camino Real' strawberries. Treatment with CS resulted in fruit with a higher and more constant capacity for free radical scavenging at the intermediate storage times. The addition of propolis, at the concentrations used, was not sufficient to maintain or increase the

antioxidant capacity and phenolic content of strawberries during cold storage, showing the need to investigate other concentrations or products for which such addition is feasible and effective.

## REFERENCES

ATRESS, A.S.H. et al. Improving strawberry fruit storability by edible coating as a carrier of thymol or calcium chloride. **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**. 2(3):88–97, 2010.

BANKOVA, V.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**. 31(1):3–15, 2000.

BENDER, R. J. et al. Armazenagem de morangos cv. Camarosa e cv. Verão em atmosfera modificada. **Acta Scientiarum Agronomy**. 32(2):285–292, 2010.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 10(4):221–247, 2011.

CALEGARO, J. M.; PEZZI, E.; BENDER, R. J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 37(8):1-6, 2002.

CARDOSO, L. M. et al. Qualidade pós-colheita de morangos cv. ‘diamante’ tratados com cloreto de cálcio associado a hipoclorito de sódio. **Alimentos e Nutrição**. 23(4):583-588, 2012.

CHIUMARELLI, M. et al. Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut “Tommy Atkins” mango. **Journal of Food Science**. 75(5):E297-E304, 2010.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch – Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**. 28(1):59–67, 2012.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. **Food Chemistry**. 83(2):167–173, 2003.

CRECENTE-CAMPO, J. et al. Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria×ananassa* Duch, cv Selva). **Journal of Food Composition and Analysis**. 28(1):23–30, 2012.

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**. 59(1):71–79, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. 35(6):1039-1042, 2011.

GARCIA, L. C. et al. Effect of Antimicrobial Starch Edible Coating on Shelf-Life of Fresh Strawberries. **Packaging Technology and Science**. 25(7):413–425, 2012.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E.

**Current protocols in food analytical chemistry.** New York: J. Wiley, p. 1- 13, 2001.

GOL, N. B.; PATEL, P. R.; RAO, T. V. R. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and Technology**, 85(1):185–195, 2013.

GÜNDÜZ, K.; OZDEMIR, E. The effects of genotype and growing conditions on antioxidant capacity, phenolic compounds, organic acid and individual sugars of strawberry. **Food chemistry**. 155(1):298–303, 2014.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morango (*Fragaria Ananassa Duch*) cv IAC Campinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. [online]. 19(2):231-233, 1999.

JIN, P. et al. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. **Food Chemistry**. 124(1):262–270, 2011.

KATIRCIOGLU, H.; MERCAN, M. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different region. **African Journal of Biotechnology**. 5(11):1151-1153, 2006.

KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; et al. Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 55(21):8596–8603, 2007.

MCHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Food/Nahrung**. 44(3):148-151, 2000.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Zoneamento ecológico-econômico do Estado de Minas Gerais - ZEE-MG. Belo Horizonte, 2008. Available in: <[http://www.zee.mg.gov.br/pdf/componentes\\_geofisico\\_biotico/4clima.pdf](http://www.zee.mg.gov.br/pdf/componentes_geofisico_biotico/4clima.pdf)>. Access in: June, 09, 2015.

NUNES, C. A. et al. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. 23(11):2003-2010, 2012.

OSZMIANSKI, J., WOJDYLO, A. Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. **European Food Research**. 228(4):623-631, 2009.

PINELI, L. L. O. et al. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. **Journal of Food Composition and Analysis**. 24(1):11-16, 2011.

PINTO, M. S. et al. Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) using in vitro models. **Journal of Medicinal Food**. 13(5):1027-1035, 2010.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science and Technology**. 40(1):1-11, 2007.

POKORNÝ, J. Antioxidants in Food Preservation. In: RAHMAN, M. S. **Handbook of Food Preservation**. New York: CRC Press, 2007. p. 259-286.

ROBLES-SÁNCHEZ, R. M. et al. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. **LWT - Food Science and Technology**. 50(1):240–246, 2013.

ROMERO, I. et al. Influence of the stage of ripeness on phenolic metabolism and antioxidant activity in table grapes exposed to different CO<sub>2</sub> treatments. **Postharvest Biology and Technology**, 54(2):118–121, 2009.

RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa, 4p. (Comunicado técnico, 127), 2007a.

RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup>**. Fortaleza: Embrapa, 4p. (Comunicado técnico, 128), 2007b.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Effect of Hydroxypropylmethylcellulose and Chitosan Coatings with and Without Bergamot Essential Oil on Quality and Safety of Cold-Stored Grapes. **Postharvest Biology and Technology**. 60(1):57-63, 2011.

SCAZZOCCHIO, F. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiology Research**. 161(4):327–333, 2006.

SILVA F. L. et al. Anthocyanin pigments in strawberry. **LWT - Food Science and Technology**. 40(2):374–82, 2007.

SILVA, J. F. M. et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**. 99(3):431–435, 2006.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

SZAJDEK, A.; BOROWSKA, E. J. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. **Plant foods for human nutrition**. 63(4):147–56, 2008.

TEIXEIRA, W. et al. Seasonal Variation , Chemical Composition and Antioxidant activity of Brazilian Propolis Samples. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 7(3):307–315, 2010.

VAN DE VELDE, F. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of Camarosa and Selva strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Foods**. 2(2):120–131, 2013.

VANDENDRIESSCHE, T. et al. Effect of ripening and inter-cultivar differences on strawberry quality. **LWT - Food Science and Technology**. 52(1):52–70, 2012.

WANG, S. Y.; GAO, H. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **LWT - Food Science and Technology**. 52(2):71–79, 2013.

WATERHOUSE, A.L. Polyphenolics: Determination of total phenolics in **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2002. p. 1111-1118.

ZAHID, N. et al. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**. 79(1):69–72, 2013.

ZAHID, N. et al. Potential of chitosan-loaded nanoemulsions to control diferente Colletotrichum spp. and maintain quality of tropical fruit during cold storage. **Journal of Applied Microbiology**. 113(4):925–939, 2012.

**ARTIGO 2 - PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL  
QUALITY OF STRAWBERRIES COATED WITH CASSAVA  
STARCH AND PROPOLIS**

Artigo submetido à revista Acta Scientiarum Technology - ISSN: 1807-8664,  
sendo apresentado segundo normas de publicação dessa revista.

Ariela Betsy Thomas<sup>(1)</sup>, Luisa Freire<sup>(1)</sup>, Rafaella Araújo Zambaldi Lima<sup>(1)</sup>, Luis  
Roberto Batista<sup>(1)</sup> and Luiz Carlos de Oliveira Lima<sup>(1)</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Cx. P. 3037. CEP 37200-000 –  
Lavras – MG - Brasil.

\* Corresponding author. Tel.: +55 35 99178-5855;  
E-mail adress: arielabbt@gmail.com

**ABSTRACT** - The use of edible coatings incorporated with antimicrobial agents has been studied as a technology to maintain the quality and extend the shelf life of fruits. The aim of this study was to evaluate the physical-chemical and microbiological quality of strawberries coated with cassava starch with and without propolis incorporation. The treatments were: 3% cassava starch (CS), 3% cassava starch + 33% propolis ethanolic extract (CS + P33 %), 3% cassava starch + 66% propolis ethanolic extract (CS + P66 %) and control (C), and the fruits was stored at  $4^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  and 90 % RH for 16 days, making up a completely randomized design with 4 treatments and 5 evaluation times. Color parameters, soluble solids, pH, titratable acidity, firmness, mass loss and respiratory rate were evaluated, besides the determination of the fruit microbiological quality. The lowest respiratory rate, highest firmness and best soluble solids maintenance were observed in the fruits coated with CS + P66%, whereas the lowest mass loss was obtained with the CS treatments and CS + P33 %. The incorporation of propolis is not significant in controlling the physical-chemical parameters, but reduces filamentous fungi and yeast counts after 12 and 16 days of storage.

**Keywords:** *Fragaria ananassa*; postharvest; storage; edible coating.

**RESUMO** - A utilização de revestimentos comestíveis adicionados de agentes antimicrobianos tem sido investigada como tecnologia para manter a qualidade e estender a vida útil de frutos. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de morangos revestidos com fécula de mandioca com e sem a incorporação de própolis. Os tratamentos utilizados foram fécula de mandioca 3% (CS), fécula de mandioca 3% + extrato etanólico de própolis 33 % (CS + P33 %), fécula de mandioca 3% + extrato etanólico de própolis 66% (CS + P66 %) e controle (C), sendo os frutos armazenados a  $4^{\circ}\text{C}\pm 0,5$  e UR90% por 16 dias, perfazendo um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 5 tempos de avaliação. Foram avaliados parâmetros de cor, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, firmeza, perda de massa, taxa respiratória, além da determinação da qualidade microbiológica dos frutos. A menor taxa respiratória, maior firmeza e melhor manutenção de sólidos solúveis foram observadas nos frutos revestidos com CS + P66 %, enquanto a menor perda de massa foi obtida com os tratamentos CS e CS + P33 %. A incorporação de própolis não é significativa no controle dos parâmetros físico químicos, porém reduz as contagens de fungos filamentosos e leveduras aos 12 e 16 dias de armazenamento.

**Palavras-Chave:** *Fragaria ananassa*; pós-colheita; armazenamento; revestimento comestível.

## INTRODUCTION

Strawberries have a very short shelf life due to their high susceptibility to mechanical damage, excessive texture loss, physiological disorders (Vu, Hollingsworth, Leroux & Lacroix, 2011), and deterioration by fungi, especially *Botrytis cinerea*, which causes the so-called gray mold (Balbino, 2004). In addition to these factors, changes in color, firmness and quality attributes restrict the marketing of the fruit. The development of coatings from polysaccharides, to extend the shelf life of fruits and vegetables has been highlighted due to the selective permeability of these polymers to O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> (Ribeiro, Vicente, Teixeira & Miranda, 2007), which can reduce the respiration rate of the fruit and consequently slow its metabolism. Cassava starch is an abundant and inexpensive polysaccharide in Brazil, which has good film forming properties, no taste or odor and does not alter the product appearance (Chiumarelli, Pereira, Ferrari, Sarantópoulos & Hubinger, 2010). Studies have proven that coating fruits with this material can delay fruit ripening and extend its shelf life (Garcia, Pereira, Sarantópoulos & Hubinger, 2012; Aquino, Blank & Aquino Santana, 2015), but does not confer antifungal and antimicrobial properties. Currently consumers have preferred food produced in a sustainable manner, with high quality and longer shelf life, without the use of synthetic preservatives. Thus, the use of natural products to control physiological processes and microbial contamination of fruits has grown (Lin & Zhao, 2007). Propolis, produced by honeybees, is a resinous substance whose main constituents are flavonoids, phenolic compounds and esters, waxes, vitamins and

essential oils (Juliano, Pala & Cossu, 2007), conferring antioxidant, anti-inflammatory and antifungal activity (Bianchini & Bebendo, 1998). The inhibitory power of propolis against *Botrytis cinerea* fungus has even been reported (Scazzocchio, D'Auria, Alessandrini, & Pantanella, 2006). One of the limitations of its use in foods is low solubility in water and another is its quite pronounced taste. Nevertheless, its application in fruits, alone or in combination, has been investigated and shown positive effects, as reported by Özdemir, Çandır, Kaplankiran, & Soylu (2010), who observed effectiveness in the application of propolis ethanolic extract (5 %) against fungi in grapefruit and Zahid, Ali, Siddiqui, & Maqbool (2013), who immersed dragonfruit in propolis ethanolic extract (0.5 %) and noted a shelf life increase without quality attributes loss. The use of starch-based coatings in combination with propolis extract, however, is not well explored, and there have been no reports of this combination on strawberries. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of cassava starch-based coatings, with and without propolis ethanolic extract, on the postharvest and microbiological quality of "Camino Real" strawberries stored for 16 days at 4 °C.

## MATERIAL AND METHODS

Strawberries of the 'Camino Real' cultivar grown in the city of Itutinga, MG, Brazil, were used. The cultivation area is located at 910 m of altitude, latitude 21°18'45"S and longitude 44°41'15" W, with a climate characterized as humid temperate with dry winter and temperate summer with an annual temperature average ranging between 19 and 20

°C (Minas Gerais, 2008). The fruits were harvested by hand in August 2014 at their point of commercial maturity (90% red), with an average weight of  $36 \pm 5.9$  g, being selected based on appearance and absence of injuries and diseases. They were then taken to the Fruit and Vegetable Postharvest Laboratory of the Federal University of Lavras, where the field heat was removed (pre-cooling) and the fruits were washed and sanitized with sodium dichloroisocyanurate (Hidrosan®)  $100 \text{ mg L}^{-1}$  for 10 minutes. The edible coatings were prepared at a concentration of 3 % cassava starch by adding 30 g of starch in 1 liter of distilled water (Henrique & Cereda, 1999). The solutions were heated in a water bath under constant stirring until reaching  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , which is the gelatinization temperature of cassava starch. The solutions were then naturally cooled until  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . The propolis incorporation in the coating solutions was carried out by adding commercial ethanolic extract of propolis at concentrations of 33 % and 66 %, relative to the total starch, while stirring until total homogenization. This process was conducted after the solutions were cooled. The propolis extract used had a 30 % concentration and 11 % minimum dry matter. The fruits were randomly divided into four groups, one control (C) and three treatments: 3 % cassava starch (CS), 3 % cassava starch + 33 % propolis (CS + P33 %) and 3 % cassava starch + 66 % propolis (CS + P66 %). The fruits under investigation were dipped in the treatments for 30 seconds and the control fruits were immersed only in distilled water. All fruits were naturally dried at room temperature on a wire mesh with half-inch openings. After drying, they were then placed in polypropylene trays with perforated lids, each tray containing about 150 g of fruit, representing a repetition. Each

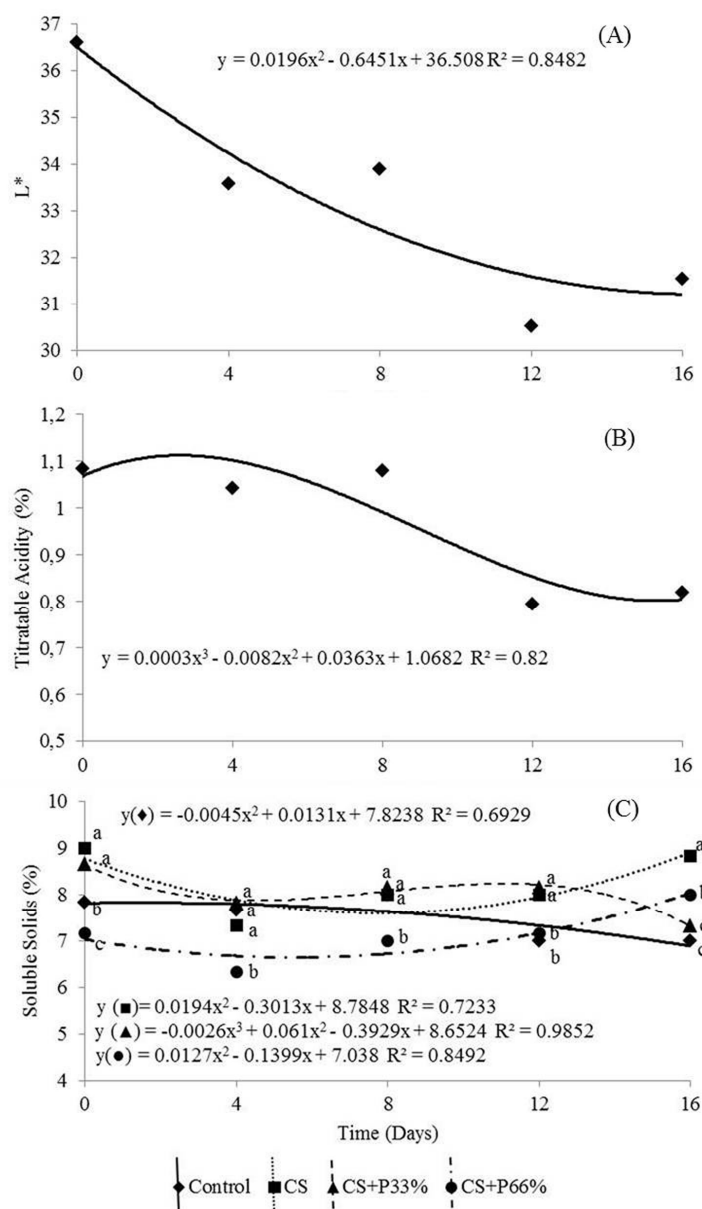
treatment consisted of three repetitions and from day 0 the fruits were analyzed every 4 days over a period of 16 days.

The accumulated mass loss was calculated according to the mass variation of the repetitions, by weighing on a semi-analytical balance, with 0.01 g precision, the results being expressed as a percentage (%). Firmness was determined with the aid of a penetrometer Fruit Hardness Tester- Model PTR-300 with a 5 mm probe, performing measures directly on the side of the fruits, with the results expressed in Newtons (N). The external color was measured with the aid of a Minolta CR-400 model colorimeter in the CIE L\*a\*b mode at two points of each fruit, using 10 fruits per repetition. To determine the pH, soluble solids and titratable acidity, a homogenate consisting of 5 g fruit and 45mL of distilled water was prepared. The determination of the acidity was performed with the organza filtered homogenate using titration with 0.1 N NaOH, according to the technique recommended by AOAC (2012) and the result expressed in grams of citric acid per 100 g of pulp. The pH of the filtrate was determined with a Tecnal Tec-3MP digital potentiometer (AOAC, 2012). The soluble solids were determined on an ATAGO PAL-1 digital refractometer, with automatic temperature compensation and expressed as percentage of soluble solids (%). For respiratory activity analysis, the fruits were placed in 250 mL flasks, which were sealed and kept for 1 hour at the same storage temperature. The CO<sub>2</sub> concentration was determined directly in the flask with the aid of a PBI Dansensor gas analyzer model 9900 and the results expressed as mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. The microbiological analyses were performed with portions of 25 g, aseptically weighed and then homogenized with 225 mL of 0.1% peptone

water. The homogenization was done in a Stomacher type homogenizer. Appropriate decimal dilutions were prepared and aliquots of these dilutions were transferred to specific culture media to determine each microorganism group according to Morton (2001). Each dilution was plated in triplicate. The standard mesophilic aerobic count was performed by the surface-spreading technique, inoculating a 0.1 mL aliquot of the dilutions on plate count agar (PCA) with incubation at  $37 \pm 0.5$  °C for 24 - 48 hours. The psychrotrophic bacteria count was performed using the surface-spreading technique, inoculating 0.1 mL of the dilutions on plate count agar (PCA), with incubation at 7 °C for 10 days. The standard filamentous fungi and yeasts counts were performed by the surface-spreading technique, inoculating 0.1 mL of the dilutions on DRBC (Dichloran Rose Bengal plus  $0.1 \text{ g L}^{-1}$  Chloramphenicol) medium, with incubation at 25 °C for 7 days. After the respective incubation periods, a colony count was performed and the results were expressed as colony forming units per gram ( $\text{CFU g}^{-1}$ ). Coliforms were determined by the MPN (Most Probable Number) technique in Lauryl Sulfate Tryptose (LST) broth in the presumptive test with incubation at 35 °C for 24 - 48 hours, Brilliant Green Bile Broth (BGBB) to confirm total coliforms and E. coli broth (EC Broth), to confirm coliforms at 45 °C. The Sisvar software (Ferreira, 2011) was used for statistical analysis of the variables. The variance analysis was conducted through the F test, to verify the difference among the treatments. The averages of the treatments, when significant, were compared, by the Scott-Knott test, to 5 % of probability. When significant difference in the interaction among the factors was found, regression analysis was carried out.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Color changes in fresh fruits are a good maturity indicator and were not influenced significantly by the applied coatings. The color results indicate a reduction tendency in the lightness values ( $L^*$ ) (Figure 1A) during storage. The reduction of the variable indicates fruit darkening, which can be related to an increase in anthocyanin synthesis, or phenolic compounds oxidation, which results in dark-colored products. Ribeiro et al. (2007) did not observe significant changes in lightness during storage of 'Camarosa' strawberries coated with carrageenan, starch and chitosan.

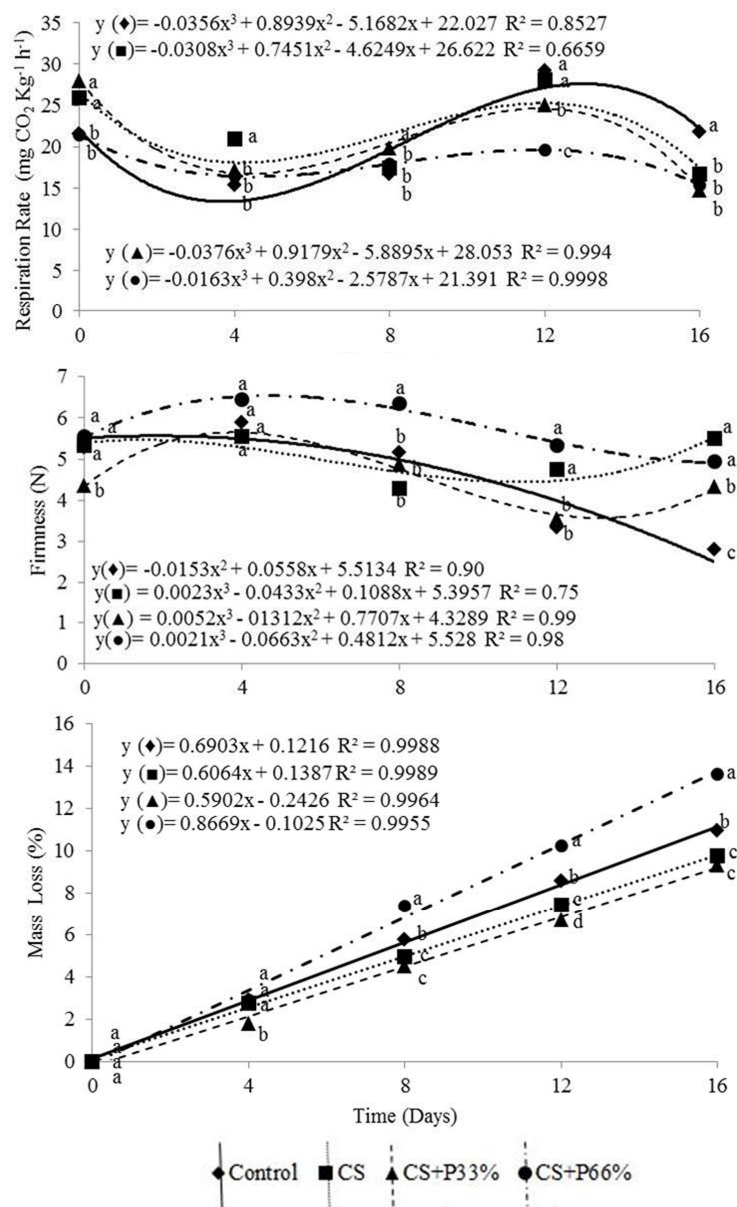


**Figure 1.** Color parameters L\* (A), Titratable Acidity (B) and Soluble Solids (C) of Camino Real strawberries coated with cassava starch and propolis stored for 16 days at 4 °C. CS = cassava starch; CS + P33 % =

cassava starch + 33 % of propolis; CS + P66 % = cassava starch + 66 % of propolis. Averages followed by the same letter within each time do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

The  $a^*$  component, which represents the color variation between green and red, and the chromaticity showed no statistical difference in this study, with mean values of  $33.23 \pm 2.67$  and  $25.63 \pm 2.31$  respectively. The average pH value was  $3.60 \pm 0.13$  and was not affected by storage time or by the treatments. The acidity was not affected by the coatings, varying only as a function of storage time (Figure 1B). A similar result was also obtained by Garcia et al (2012) in a study with cassava starch coating (3 %) in strawberries, in which no effect of the coating on this variable was observed. These authors, however, observed no change over time, which differs from the present study, in which a 24 % reduction of acidity is observed at the end of 16 days. This variable is directly related to the amount of organic acids present in the fruit, a reduction in these levels being expected as a result of metabolic changes in the fruit or due to the use of such acids in the respiratory process (Maftoonazad, Ramaswamy & Marcotte, 2008). The soluble solids (SS) was affected by the interaction between treatment and storage time (Figure 1C). Treatment with CS + P66 % had lower SS content up to 12 days when it presented a small increase, becoming inferior only to those fruits coated with CS at 16 days. This increase may be related to a higher water loss in the fruits of this treatment, leading to the solids accumulation. The control fruits presented the second lowest SS content on day 0, with a downward tendency until the end of the storage, when

the cumulative SS loss was 10.64 % for this treatment. This result may be associated with the increased respiratory rate observed in these fruits at 16 days, since sugars are often used as substrates in the respiratory process. In this case, the use of coatings with CS and CS + P66 % may have been effective in maintaining SS during the 16 days of storage, since such material can act reducing respiratory activity (Campos, Gerschenson & Flores, 2011). The fruit respiration was affected by the interaction between storage time and the different coatings. On the first day of storage, the fruits coated with CS and CS + P33 % had the highest respiration rate. For all treatments, there was a reduction from the first to the fourth day (Figure 2A) and from thereon, there was an increase up to 12 days followed by a reduction at the last experimental time.



**Figure 2.** Respiration Rate (A), Firmness (B) and Mass Loss (C) of Camino Real strawberries coated with cassava starch and propolis stored for 16 days at 4 °C. CS = cassava starch; CS + P33 % = cassava starch +

33 % of propolis; CS + P66 % = cassava starch + 66 % of propolis. Averages followed by the same letter within each time do not differ among themselves by the Scott-Knott test at 5 %.

The high respiratory activity on the first day of storage may have occurred as a result of handling, transportation and packaging of the fruits, as these operations cause stress in plant tissues, which favors increased respiration (Garcia et al., 2012). From the time when these fruits reach equilibrium at low temperatures, the metabolism is reduced and consequently the respiration decreases. The biggest difference between treatments occurred at 12 days when there was an increase in respiration of all fruit groups except those coated with CS + P66 %. These fruits, along with the control fruits, had the lowest respiration at day 0; however the control fruits presented an increase at 12 days, while those coated with CS + P66 % remained with lower values. At the end of 16 days the higher respiratory rate was observed in the control fruits while the coated fruits showed no difference among themselves. According to Ribeiro et al. (2007), starch coatings have a high cohesion coefficient, resulting in a strong attraction between the polymer molecules, forming a material with a high barrier to gases. This barrier modifies the atmosphere around the fruit, reducing the gas exchange between the tissue and the environment, thus reducing the respiration rate of coated fruits. Several studies using cassava starch based coatings, alone or in combination with other materials and additives, resulted in reduced respiratory rates in fruits (Chiumarelli et al, 2010; Garcia et al, 2012;. Oriani, Molina, Chiumarelli, Pastore, & Hubinger, 2014). Regarding the firmness, there was a

significant interaction between treatments and storage time. A beneficial effect of all the coatings in maintaining the firmness (Figure 2B) was observed, since at the end of 16 days, the control fruits showed lower values, differing from the others, and a higher cumulative reduction relative to day 0 (47.15 %). The group coated with CS + P66 % showed greater firmness at eight days, with an accumulated firmness loss of 11 % at the end of storage. At 16 days, the higher firmness was observed in the fruits covered with CS and CS + P66 %. The application of coatings on the surface of the fruits can delay the firmness loss, since they promote a respiration and metabolic activity reduction. The results observed in this study are consistent with those reported by Garcia et al. (2012), who reported lower firmness loss in minimally processed strawberries coated with 3 % cassava starch. Strawberries are highly susceptible to rapid mass loss, which results in wilting of the fruit and weakening of the tissue. All fruits showed continuous mass loss during the storage period, and the highest value was observed in the fruits covered with CS + P66 %, from 8 days (Figure 2C). Since the mass loss is directly related to the firmness loss, such a result is not consistent, since these fruits were those that maintained the highest firmness throughout the 16 days. Therefore, this disparity may have occurred because of the variability between fruit used in the different analyzes. The control fruits, in turn, had the second highest mass loss from the 8th day, with higher values than those coated with CS and CS+P33 %, which is consistent with lesser firmness presented. Although the polysaccharide-based coatings are not good water vapor barriers, in this work the film formed by cassava starch was sufficient to reduce the mass loss compared to the control fruits. Some

studies have reported that the addition of ethanolic propolis extract in the matrix of the coating can increase the water vapor barrier (Pastor, Sánchez-González, Cháfer, Chiralt & González-Martínez, 2010; Bodini, Sobral, Favaro-Trindade & Carvalho, 2013), however, it was not possible to make the same deduction from the firmness and mass loss results in this work. Furthermore, Pastor et al. (2011), testing coatings based on hydroxypropyl methylcellulose incorporated with propolis, also observed a positive effect of the coating on reducing water loss without influence of the addition of propolis.

Total and thermotolerant coliforms were not detected in any of the analyzed samples, including the uncoated, during the strawberry storage. This result is in accordance with the Resolution RDC No. 12 of ANVISA (Brazilian National Health Surveillance Agency) (Brasil, 2001), which sets a limit of  $2 \times 10^3$  MPN  $g^{-1}$  of thermotolerant coliforms for *in natura* fresh fruit. This result indicates that the handling and the sanitary conditions were satisfactory for all processing stages, from harvesting to storage. Mesophilic and psychrotrophic bacteria were found in some of the experimental times and in some treatments randomly, yet the counts were extremely low, never exceeding  $10^3$  CFU  $g^{-1}$  (Table 1).

**Table 1. Total filamentous fungi and yeast, and mesophilic and psychrotrophic microorganisms count (CFU g<sup>-1</sup>) in strawberries coated with cassava starch and propolis, stored at 4°C for 16 days**

Time (days)	Treatments	Mesophilic	Psychrotrophics	Fungi and yeasts
<b>0</b>	C	3.7x10 <sup>2</sup>	4.7x10 <sup>2</sup>	1.3x10 <sup>3</sup>
	CS	<10 est. <sup>(1)</sup>	<10 est.	1.4x10 <sup>3</sup>
	CS+P33%	<10 est.	<10 est.	1.6x10 <sup>3</sup>
	CS+P66%	<10 est.	<10 est.	1.3x10 <sup>2</sup>
<b>4</b>	C	<10 est.	<10 est.	9.7x10 <sup>2</sup>
	CS	1.3x10 <sup>2</sup>	<10 est.	<10 est.
	CS+P33%	5.0x10 <sup>2</sup>	1.3x10 <sup>3</sup>	1.7x10 <sup>2</sup>
	CS+P66%	<10 est.	<10 est.	5.7x10 <sup>2</sup>
<b>8</b>	C	6.3x10 <sup>2</sup>	<10 est.	1.0x10 <sup>3</sup>
	CS	<10 est.	<10 est.	4.3x10 <sup>2</sup>
	CS+P33%	1.7x10 <sup>2</sup>	<10 est.	8.3x10 <sup>3</sup>
	CS+P66%	4.7x10 <sup>2</sup>	<10 est.	1.1x10 <sup>3</sup>
<b>12</b>	C	<10 est.	<10 est.	1.2x10 <sup>3</sup>
	CS	<10 est.	3.3x10 <sup>2</sup>	4.0x10 <sup>3</sup>
	CS+P33%	7.3x10 <sup>2</sup>	<10 est.	1.3x10 <sup>2</sup>
	CS+P66%	<10 est.	<10 est.	1.7x10 <sup>2</sup>
<b>16</b>	C	6,0x10 <sup>2</sup>	4,2x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>3</sup>
	FM	<10 est.	2,0x10 <sup>2</sup>	2,2x10 <sup>3</sup>
	P33%	1,0x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>2</sup>	4,0x10 <sup>2</sup>
	P66%	<10 est.	3,7x10 <sup>2</sup>	2,3x10 <sup>2</sup>

(1) <10est. = lower than the detection limit of the method used

Such results were not significant in reducing the microbiological quality of strawberries as recommended by Morton (2001), who indicates

maximum values on the order  $10^5$ - $10^6$  CFU  $g^{-1}$  for frozen vegetables and the like. It is known that refrigeration is capable of controlling the mesophilic growth, but storage at temperatures between 4°C and 7°C allows the development of psychrotrophic bacteria (Silva, Junqueira, & Silveira, 2007). The last evaluation time was the only day on which all treatments showed psychrotrophic growth, the control fruits count being superior to that of the coated fruits. This growth at the end of storage may be due to the fact that these microorganisms have their optimum growing temperature around 20°C (Ray & Bhunia, 2014), so at lower temperatures their growth requires more time, being significantly slower. The incorporation of propolis, however, was not decisive in the reduction of mesophilic and psychrotrophic bacteria count in the fruits. Brazilian legislation does not define standards for this group of microorganisms, as these microorganisms are considered only quality indicators, but it can be said that their presence in high quantities is undesirable because of the sensory quality loss risk, compromised appearance and risk of the presence of pathogenic microorganisms. On the first day of evaluation, differences in filamentous fungi and yeast counts between control and CS and CS + P33 % coated strawberries were not considerable, only those coated with CS + P66 % had 1 log cycle counts lower than the others (Table 1). It is known that storage at low temperatures helps to reduce microbial activity and chemical and enzymatic changes in fruits and vegetables (Brecht et al., 2003). During storage there was no marked increase in microbial counts, since at all times the values were between  $10^2$  and  $10^3$  CFU  $g^{-1}$ , which shows the decisive effect of temperature on maintaining the initial quality of the fruit. It was observed, however, that

from 12 days on, fungal and yeast counts in the propolis incorporated coated fruit was 1 log cycle inferior to the others, which may be indicative that the propolis was effective in inhibiting the development of these microorganisms in strawberries. Some studies have reported the positive effect of incorporating antimicrobial agents in coatings (Vu et al, 2011; Gol, Patel & Rao, 2013) and of propolis applied alone (Bello, Loaiza, Pajón, Restrepo & González, 2012; Ali, Wei & Mustafa, 2014) on the reduction of microbial contamination in different fruits. The investigation of the incorporation of propolis in starch-based coatings and its application in strawberries, however, should be further explored.

### **FINAL CONSIDERATIONS**

The CS + P66 % coating was effective in maintaining the post-harvest quality of strawberries cv. Camino Real, with better maintenance of soluble solids, lower respiration rate at 12 days and higher and more constant firmness values during storage. All coatings promoted reduction of respiration at 16 days and the lowest mass loss was obtained with the CS and CS + P33 % treatments, but the incorporation of propolis was not effective in controlling the physical and chemical parameters. The propolis incorporated coatings reduced the filamentous fungi and yeast counts after 12 and 16 days of storage.

## REFERENCES

Ali, A., Wei, Y. Z., & Mustafa, M. A. (2014). Exploiting Propolis as an Antimicrobial Edible Coating to Control Post-harvest Anthracnose of Bell Pepper. *Packaging Technology and Science*, 28(2), 173–179.

AOAC - Association of official analytical chemists. *Official methods of analysis*. 19<sup>th</sup> ed. Arlington, VA: AOAC, 2012.

Aquino, A. B., Blank, A. F., & Aquino Santana, L. C. L. (2015). Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 171, 108–116.

Balbino, J. M. De S. (2004). *Tecnologias para produção, colheita e pós-colheita de morangueiros*. Vitória, ES: Incaper.

Bello, E. B., Loaiza, M. G., Pajón, C. M. G., Restrepo, D. L. D., & González, J. H. G. (2012). Empleo de un Recubrimiento Formulado con Propóleos para el Manejo Poscosecha de Frutos de Papaya ( *Carica papaya* L . cv . Hawaiana ). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 65(1), 6497–6506.

Bianchini, L., & Bebendo, I. P. (1998). Efeito Antibiótico do Própolis sobre Bactérias Fitopatogênicas. *Sociedade Agrícola*, 55(1), 149–152.

Bodini, R. B., Sobral, P. J. a., Favaro-Trindade, C. S., & Carvalho, R. A. (2013). Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 104–110.

Brasil. Ministério da Saúde. **Resolução RDC n. 12**, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos. Diár

Brecht, J. K., Chau, K. V, Fonseca, S. C., Oli, F. A. R., Sil, F. M., Nunes, M. C. N., & Bender, R. J. (2003). Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 87–101.

Campos, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849–875.

Chiumarelli, M., Pereira, L. M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., & Hubinger, M. D. (2010). Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut “Tommy Atkins” mango. *Journal of Food Science*, 75(5), E297–304.

Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 6, 1039–1042.

Garcia, L. C., Pereira, L. M., Sarantópoulos, C. I. G., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of Antimicrobial Starch Edible Coating on Shelf-Life of Fresh Strawberries. *Packaging Technology Science*, 25, 413–425.

Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185–195.

Henrique, C. M., & Cereda, M. P. (1999). Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morango (*Fragaria Ananassa Duch*) cv IAC Campinas. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*. [online], 19(2), 231–233.

Juliano, C., Pala, C. L., & Cossu, M. (2007). Preparation and characterisation of polymeric films containing propolis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17, 177–181.

Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensice Reviews in Foos Science and Food Safety*, 6, 59–75.

Maftoonazad, N., Ramaswamy, H. S., & Marcotte, M. (2008). Shelf-life extension of peaches through sodium alginate and methyl cellulose edible coatings. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(6), 951–957.

Minas Gerais. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. *Zoneamento ecológico-econômico do Estado de Minas Gerais - ZEE-MG*. Belo Horizonte, 2008.

Morton, R.D. (2001). Aerobic plate count. In: Downes, F. P. ., & Ito, K. *Compendium of methods for the microbiological examinations of foods* (p.63-67). Washington, D.C.: American Public Health Association.

Oriani, V. B., Molina, G., Chiumarelli, M., Pastore, G. M., & Hubinger, M. D. (2014). Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. *Journal of Food Science*, 79(2), 189–194.

Özdemir, A. E., Çandır, E. E., Kaplankiran, M., & Soylu, E. M. (2010). The effects of ethanol-dissolved propolis on the storage of grapefruit cv . Star Ruby. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *34*, 155–162.

Pastor, C., Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2010). Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers*, *82*(4), 1174–1183.

Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, *60*(1), 64–70.

Ray, B., & Bhunia, A. (2014). *Fundamental food microbiology*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis.

Ribeiro, C., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., & Miranda, C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*, *44*(1), 63–70.

Scazzocchio, F., D'Auria, F. D., Alessandrini, D., & Pantanella, F. (2006). Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research*, *161*(4), 327–33.

Silva, N. D., Junqueira, V. C., & Silveira, N.F. (2007). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo, SP: Varela.

Vu, K. D., Hollingsworth, R. G., Leroux, E., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. *Food Research International*, *44*(1), 198–203.

Zahid, N., Ali, A., Siddiqui, Y., & Maqbool, M. (2013). Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 79, 69–72.