

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

Conservação de pinhões minimamente processados por meio de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas

Michele Krüger Vaz Moreira

Pelotas, 2018

Michele Krüger Vaz Moreira

Conservação de pinhões minimamente processados por meio de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges

Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça

Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M835c Moreira, Michele Kruger Vaz

Conservação de pinhões minimamente processados por meio de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas / Michele Kruger Vaz Moreira ; Caroline Dellinghausen Borges, orientadora ; Carla Rosane Barboza Mendonça, Eliezer Ávila Gandra, coorientadoras. — Pelotas, 2018.

111 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Araucaria angustifolia. 2. Óleo essencial de cravo-d-índia. 3. Quitosana. 4. Xantana. I. Borges, Caroline Dellinghausen, orient. II. Mendonça, Carla Rosane Barboza, coorient. III. Gandra, Eliezer Ávila, coorient. IV. Título.

CDD : 641.1

Michele Krüger Vaz Moreira

Conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 27 de julho de 2018.

Banca examinadora:

.....
Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges (Orientador). Doutora em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

.....
Prof^a. Dr^a. Nadia Carbonera. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.

.....
Pesq. Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano. Doutor em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Politécnica de Valência, Espanha.

Dedico este trabalho à minha filha Isabel
que, desde sua chegada, norteia minhas
escolhas e não me deixa desistir.

Agradecimentos

A Deus, por me iluminar e não deixar desistir nos momentos mais difíceis.

Um muito obrigada à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges, por todos os ensinamentos, incentivo e dedicação a este trabalho. Obrigada pelo carinho e espírito de maternidade a mim dispensado.

Agradeço aos meus Coorientadores, Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça e ao Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra, pela disponibilidade e paciência na execução deste trabalho.

Agradeço à Embrapa Agroindústria, em especial ao Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano, por oportunizar a execução de parte do trabalho, na sede Embrapa Clima Temperado - CPACT, em Pelotas.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, pela oportunidade de, mais uma vez, aprimorar meus conhecimentos técnicos.

Aos companheiros de mestrado, por todo apoio e incentivo.

Ao Sr. José Valter Dolzan que, gentilmente, disponibilizou os pinhões para esse estudo. Muito obrigada.

Aos colegas de trabalho da FURG, por apoiar essa caminhada e entender minhas aflições por conciliar trabalho e estudo.

Aos amigos, antigos e novos, que me incentivaram e proporcionaram horas de descontração, deixando mais "leve" esses dois anos de estudo.

Aos meus pais, Og e Clara, por toda educação e amor. Serão sempre meus exemplos de força, determinação e honestidade.

À minha irmã, Elisete, por ser minha parceira desde sempre e à minha sogra, Tânia, por suas orações em prol do meu sucesso.

Agradeço imensamente à minha filha que, muitas vezes, aceitou minha ausência em razão das atividades acadêmicas. Meu esforço é por ti e pra ti.

E, em especial, ao meu esposo Marcos, por todo companheirismo, apoio e amor, nesses quinze anos de convivência. Muito obrigada por me completar e fazer parte de tudo. Minhas conquistas são tuas também.

Resumo

MOREIRA, Michele Krüger Vaz. **Conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas**. 2018. 111f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2018.

O pinhão, semente da *Araucaria angustifolia*, apresenta alto valor energético e nutricional, sendo importante fonte de carboidratos e fibras, além de quantidades significativas de potássio e vitamina C. Embora apresente significativo valor nutricional, seu consumo ainda é pouco expressivo, em função do longo tempo de cocção, por apresentar um difícil descasque, ser susceptível ao processo de brotamento, infestação por larvas e deterioração fúngica. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a conservação de pinhões minimamente processados por meio de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas. Os pinhões foram selecionados, lavados, sanitizados com dicloroisocianurato de sódio (2 g.L^{-1}) por 15 min, enxaguados, descascados, novamente sanitizados, centrifugados e submetidos aos distintos tratamentos: Tratamento A - Controle (pinhões sem tratamento); Tratamento B – Quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0%, glicerol p/v); Tratamento C - Goma xantana (0,5% p/v), óleo essencial de cravo-da-índia (0,2% p/v), Tween 80 (0,1% p/v) e glicerol (1% p/v). Após, foram secos sob ventilação forçada, acondicionados em embalagem de Polietileno Tereftalato (PET) e armazenados a 4 °C, durante 9 dias. Foram realizadas avaliações de perda de massa, acidez total titulável, açúcares redutores, teor de ácido ascórbico, firmeza, cor, deterioração fisiológica, taxa respiratória, contagem de fungos, bactérias psicrótróficas, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes. De uma forma geral, independente do tratamento, pôde-se observar comportamento semelhante nas características dos pinhões, em relação ao aumento da perda de massa, dos açúcares redutores, da concentração de oxigênio e da deterioração fisiológica. Além disso, foi observada a redução da acidez e da concentração de dióxido de carbono, bem como a manutenção dos parâmetros de cor e a ausência de crescimento de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva. Entretanto, distintos comportamentos foram observados no teor de vitamina C e firmeza. O processamento mínimo não elevou a taxa respiratória dos pinhões, porém não freou o processo de maturação das sementes. Dos revestimentos avaliados, a quitosana possibilitou a obtenção de pinhões com maior teor de vitamina C, além de menor deterioração fisiológica e contagem de microrganismos psicrótróficos. Assim, este estudo contribuiu para o estímulo ao consumo do pinhão, sendo a técnica do processamento mínimo, aliada ao uso de revestimento comestível, uma alternativa de processamento para aumentar a vida útil do produto e propiciar maior segurança microbiológica para essa semente.

Palavras chaves: *Araucaria angustifolia*; quitosana; xantana; óleo essencial de cravo-da-índia.

Abstract

MOREIRA, Michele Krüger Vaz. 2018. 111f. **Conservation of minimally processed pinions by using edible coatings with antimicrobial characteristics.** 2018. 105f. Dissertation (Master Degree in Nutrição e Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2018.

The pinion, *Araucaria angustifolia* seed, has high energy and nutritional value, being an important carbohydrates and fiber source, beyond significant amounts of potassium and vitamin C. Although it presents significant nutritional value, its consumption still little expressive due the long cooking time, because its hard to peel, and susceptible to sprouting process, larvae infestation and fungal deterioration. Thus, this study aimed to evaluate the conservation of minimally processed pinions by edible coverings with antimicrobial characteristics. The pinions were selected, washed, sanitized with sodium dichloroisocyanurate (2 g.L^{-1}) for 15 minutes, rinsed, sanitized again, centrifuged and submitted to the different treatments: Treatment A – Control (no treatment pinions), Treatment B – Chitosan (1,5% p/v) and glycerol (1,0%, glycerol p/v); Treatment C – Xanthan Gum (0,5% p/v), clove essential oil (0,2% p/v), Tween 80 (0,1% p/v) e glycerol (1% p/v). Afterwards, they were dried under forced ventilation, packed in polyethylene terephthalate (PET) and stored at 4 °C, for 9 days. It were performed mass loss assessments, total titratable acidity, reducing sugars, ascorbic acid content, firmness, color, physiological deterioration, respiratory rate, fungal count, psychrotrophic bacterias, positive *Staphylococcus* coagulase and thermotolerant coliforms. In a general way, regardless of the treatment, it was possible to observe a similar behavior in the characteristics of the pinions, in relation to the increase in mass loss, in reducing sugars, in oxygen concentration and in physiological deterioration. In addition, it was observed the reduction of acidity, carbon dioxide concentration, as well as the maintenance of color parameters and the absence of growth of thermotolerant coliforms and positive *Staphylococcus* coagulase. However, different behaviors were observed in vitamin C content and firmness. The minimum processing did not increase the respiratory rate of the pinions, but did not restrain the process of seed maturation. Of the covers evaluated, the chitosan made possible to obtain pine nuts with higher levels of vitamin C, as well as less physiological deterioration and counts of psychrotrophic microorganisms. Thus, this study contributes to the stimulation of pinion consumption, with the minimum processing technique combined with the use of edible coating, a processing alternative to increase product lifespan and provide greater microbiological safety for this seed.

Key Words: *Araucaria angustifolia*; Chitosan; Xanthan; Clove essential oil

Lista de Figuras

Figura 1	<i>Araucaria angustifolia</i>	57
Figura 2	Pinha (planta feminina) de <i>Araucaria angustifolia</i> com pinhões internamente.....	58
Figura 3	Parte externa e interna do pinhão com casca.....	59
Figura 4	Pinhão cozido com casca e sem casca.....	59
Figura 5	Pinhão deteriorado pela presença de larva.....	62
Figura 6	Pinhão com orifício ocasionado pela presença de larva. Pinhão deteriorado com presença de larva. Pinhão descascado deteriorado. Pinhão descascado com deterioração avançada.....	62
Figura 7	Pinhões com brotamento.....	63
Figura 8	Pinhão deteriorado com presença de larva. Pinhão adequado para o consumo.....	63
Figura 9	Fluxograma do processamento de vegetais MP.....	65
Figura 10	Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	75
Figura 11	Açúcares redutores (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	77

Figura 12	Vitamina C ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C , U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	78
Figura 13	Acidez total titulável (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C , U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	80
Figura 14	Oxigênio (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4°C , U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	81
Figura 15	Dióxido de carbono (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia(OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4°C , U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	82
Figura 16	Firmeza (N) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C , U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais	

	representam o erro padrão da média.....	83
Figura 17	Cor (L*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	84
Figura 18	Cor (a*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	85
Figura 19	Cor (b*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	86
Figura 20	Deterioração fisiológica (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	87
Figura 21	Contagem de microrganismos psicrotróficos (Log UFC.g ⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....	89

Figura 22 Contagem de Fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4°C, U.R 90% A 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o erro padrão da média.....

Lista de Tabelas

Tabela 1	Composição centesimal do pinhão cozido.....	60
----------	---	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

DRIS	Dietary Reference Intakes
MP	Minimamente processado
OEC	Óleo essencial de cravo-da-índia
PET	Polietileno tereftalato
TACO	Tabela brasileira de composição de alimentos
U.R	Umidade relativa

Sumário

1	Projeto de pesquisa.....	17
2	Relatório de campo.....	52
3	Introdução.....	53
3.1	Objetivos.....	56
3.1.1	Objetivo geral.....	56
3.1.2	Objetivo específico.....	56
3.2	Hipóteses.....	56
4	Revisão bibliográfica.....	57
4.1	Pinhão (<i>Araucaria angustifolia</i>).....	57
4.1.1	Composição nutricional.....	59
4.1.2	Conservação da semente.....	61
4.2	Vegetais minimamente processados.....	64
4.3	Revestimentos comestíveis.....	67
4.3.1	Quitosana.....	67
4.3.2	Goma xantana.....	68
4.3.3	Óleo essencial de cravo-da-índia.....	69
5	Material e métodos.....	70
5.1	Material.....	70
5.2	Métodos.....	70
5.2.1	Processamento mínimo dos pinhões.....	70
5.2.2	Avaliações.....	71
5.2.2.1	Perda de massa.....	71

5.2.2.2	Acidez total titulável.....	71
5.2.2.3	Teor de vitamina C.....	71
5.2.2.4	Açúcares redutores.....	72
5.2.2.5	Firmeza.....	72
5.2.2.6	Cor.....	72
5.2.2.7	Taxa respiratória.....	72
5.2.2.8	Deterioração fisiológica.....	73
5.2.3	Análises microbiológicas.....	73
5.2.3.1	Quantificação de coliformes termotolerantes.....	73
5.2.3.2	Quantificação de microrganismos psicotróficos.....	73
5.2.3.3	Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	73
5.2.3.4	Enumeração de fungos.....	74
5.2.4	Análise estatística.....	74
6	Resultados e discussão.....	75
6.1	Perda de massa.....	75
6.2	Açúcares redutores.....	76
6.3	Vitamina C.....	78
6.4	Acidez total titulável.....	79
6.5	Atividade respiratória.....	80
6.6	Firmeza.....	82
6.7	Cor.....	83
6.8	Deterioração fisiológica.....	86
6.9	Análises microbiológicas.....	87

6.9.1	Quantificação de coliformes termotolerantes e enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	87
6.9.2	Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios.....	88
6.9.3	Enumeração de fungos.....	90
7	Conclusão.....	92
	Referências.....	93
	Apêndice.....	106

1 Projeto de pesquisa

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS**



Conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas

Michele Krüger Vaz Moreira

Pelotas, julho de 2017.

MICHELE KRÜGER VAZ MOREIRA

Conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas

Projeto de Qualificação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Orientadora – Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges

Coorientadores – Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça

– Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra

Michele Krüger Vaz Moreira

Pelotas, julho de 2017.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Márcia de Mello Luvielmo

Resumo

O pinhão apresenta alto valor energético e nutricional, sendo fonte de carboidratos e fibras, além de quantidades significativas de potássio e vitamina C. Embora apresente significativo valor nutricional, seu consumo ainda é pouco expressivo, por ser um produto com tempo de cocção longo e apresentar um difícil descasque. A comercialização dos pinhões na forma minimamente processada (MP) é uma alternativa para facilitar e estimular o seu consumo. Entretanto, as sementes apresentam elevado grau de perecibilidade, sendo facilmente deterioradas por fungos durante a estocagem, susceptíveis ao processo de brotamento e infestação por larvas. Assim, este projeto tem por objetivo avaliar a conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas, observando o efeito dos revestimentos quanto ao processamento mínimo. Os pinhões serão classificados, lavados, sanitizados com cloro orgânico, enxaguados e descascados. Os seguintes tratamentos serão avaliados: Tratamento A - Controle (pinhões sem tratamento); Tratamento B – Quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0%, glicerol p/v); Tratamento C - Goma xantana (0,5% p/v), óleo essencial de cravo-da-índia (0,2% p/v), Tween 80 (0,1% p/v) e glicerol (1% p/v). Após, serão secos e acondicionados em bandejas com tampa de Polietileno Tereftalato (PET), armazenadas a 4° C, durante 9 dias. Serão realizadas avaliações de perda de massa, pH, acidez total titulável, açúcares redutores, teor de ácido ascórbico, deterioração fisiológica, taxa respiratória, contagem de fungos, bactérias psicrotróficas, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes. Como resultado espera-se obter um revestimento comestível que possa estender a vida de prateleira dos pinhões minimamente processados, através do retardo da perda de massa, manutenção da cor, pH, acidez, firmeza, teor de ácido ascórbico e açúcares redutores, além da inibição da deterioração microbiana.

Palavras chave: Quitosana; Xantana; Óleo essencial de cravo-da-índia.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição centesimal do pinhão cozido	27
Tabela 2. Delineamento experimental para avaliação de pinhões minimamente processados diante de dois tratamentos distintos e um controle	36
Tabela 5. Cronograma de atividades	41
Tabela 6. Orçamento do projeto	42

Sumário

1 Introdução.....	23
2 Revisão bibliográfica	26
2.1 Pinhão.....	26
2.2 Vegetais minimamente processados.....	27
2.3 Revestimento comestível.....	30
2.3.1 Quitosana.....	31
2.2.2 Goma Xantana.....	31
2.2.3 Óleo essencial de cravo-da-índia.....	32
3 Objetivos	33
3.1 Objetivo geral.....	33
3.2 Objetivos específicos	33
4 Hipótese	34
5 Material e métodos	35
5.1 Aquisição da amostra.....	35
5.2 Processamento.....	35
5.3 Delineamento experimental.....	36
5.4 Avaliações.....	36
5.4.1 Perda de massa.....	36
5.4.2 pH.....	37
5.4.3 Acidez total titulável.....	37
5.4.4 Teor de ácido L-ascórbico.....	37
5.4.5 Açúcares redutores.....	37
5.4.6 Firmeza.....	37
5.4.7 Cor.....	38
5.4.8 Taxa respiratória.....	38
5.4.9 Deterioração fisiológica.....	38

5.5 Análise microbiológica.....	38
5.5.1 Quantificação de coliformes termotolerantes.....	39
5.5.2 Quantificação de microorganismos psicotróficos.....	39
5.5.3 Pesquisa de <i>Salmonella</i> ssp.	39
5.5.4 Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	39
5.5.5 Enumeração de fungos.....	40
5.6 Análise estatística.....	40
6 Resultados e impactos esperados	40
7 Cronograma de atividades	41
8 Recursos financeiros.....	41
9 Orçamento	42
10 Outros projetos.....	43
11 Referências bibliográficas	44

1 Introdução

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia*, que pertence à família *Araucariaceae*. Tal planta é nativa da Mata Atlântica do sul do Brasil; no entanto, também é encontrada em países como Chile, Argentina e Paraguai. No Brasil, sua maior incidência ocorre no estado do Paraná. Outros estados, como Santa Catarina e Rio Grande do Sul, possuem uma produção expressiva, sendo os municípios de São Joaquim e São Francisco de Paula, destaques na produção de pinhão nos respectivos estados (CONAB, 2014).

A *Araucaria angustifolia* é uma gimnosperma com característica dioica, ou seja, há produção de plantas masculinas, as quais produzem o mingote e de plantas femininas, produtoras das pinhas, onde internamente encontra-se o pinhão (BRDE, 2005).

O pinhão possui um alto valor energético e nutricional, representando uma rica fonte de carboidratos e fibras, além de quantidades significativas de alguns minerais e vitaminas, como ferro, fósforo, magnésio, potássio e vitamina C (TACO, 2011). Tais características conferem a essa semente uma boa alternativa para compor uma dieta equilibrada. Embora apresente significativo valor nutricional, seu consumo ainda é muito pouco expressivo, dentre as causas podem-se citar: o difícil descasque do produto e o longo tempo de cocção, além da falta de industrialização no processo de obtenção do pinhão (DO AMARANTE et al., 2007; ZORTÉA-GUIDOLIN et al., 2017). Além disso, dentre outros motivos estão a sazonalidade da produção, responsável pela oscilação significativa dos preços e o seu elevado grau de perecibilidade, que, em virtude da alta atividade de água das sementes, são facilmente atacadas por fungos durante a estocagem (BALBINOTI et al., 2008) e susceptíveis ao processo de brotamento e infestação por larvas (OLIVEIRA, 2008), o que impede a estocagem para a comercialização por períodos maiores (DO AMARANTE et al., 2007). O congelamento é um método de conservação muito utilizado porém, no que se refere à semente de araucária, existem registros onde estas apresentaram sensação de esfarelarem ao serem degustadas (FRECCIA et al., 2013).

Estudos que abordem características e formas de conservação da semente de *Araucária angustifolia* são escassos. Os poucos trabalhos que existem tratam,

principalmente, da farinha de pinhão e não da semente em sua forma *in natura* (CAPELLA et al., 2009; CLADERA-OLIVERA et al., 2009).

Em virtude da intensa rotina de trabalho, a praticidade no preparo dos alimentos tem sido uma questão determinante no momento da compra. Dessa maneira, vegetais minimamente processados, os quais são produtos pré-preparados por meio de operações, como descasque, corte, sanitização, centrifugação, acondicionamento e armazenamento sob refrigeração, minimizam o tempo de preparo de refeições. Estes produtos podem representar uma alternativa para quem necessita otimizar o tempo de preparação e busca uma alimentação de melhor qualidade, visto que estes produtos oferecem maior praticidade, por não necessitar de processamento adicional, e um melhor aproveitamento dos vegetais, reduzindo as perdas (GOMES et al., 2005).

Entretanto, o processamento mínimo pode ocasionar algumas modificações aos produtos, tornando-os mais susceptíveis a alterações, no caso do pinhão e dos demais vegetais que possuem casca, em razão da remoção desta, sua proteção natural. Dentre as principais alterações observadas em vegetais minimamente processados, estão o aumento da taxa respiratória, a perda de água, de nutrientes, de firmeza, alteração da cor, desenvolvimento microbiano, entre outros (AMARANTE et al., 2007; VAROQUAUX; WILEY, 1997).

Com objetivo de preservar a qualidade e, ao mesmo tempo, estender o tempo de prateleira, de forma natural e segura, podem ser utilizados os revestimentos comestíveis. Estes são definidos como uma fina camada de material comestível, aplicados e formados diretamente na superfície do produto. São utilizados para inibir a migração da umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas e lipídeos; introduzir aditivos como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando assim as características intrínsecas, a integridade mecânica e o manuseio de produtos alimentícios recobertos com esse tipo de material (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997). Diversos polissacarídeos têm sido utilizados com este propósito, como alginatos, fécula de mandioca, xantana, amido modificado, gelana, quitosana, pectina, carragena, etc, (BORGES et al., 2016, CHEVALIER et al., 2016; SENA et al., 2016); entretanto, não há relatos na literatura sobre a aplicação em pinhões.

A quitosana tem sido um dos polímeros mais estudado, principalmente, devido à sua ação antimicrobiana (ASSIS; ALVES, 2002; COMA et al., 2002; MORETTI, 2007). É obtida, geralmente, a partir da desacetilação da quitina em meio

alcalino e sua estrutura é formada por unidades de β -(1–4)-2-acetamido-D-glucose e β -(1–4)-2-amino-D-glucose (ELSABEE; ABDON, 2013).

Já a goma xantana é um polissacarídeo sintetizado por uma bactéria fitopatogênica do gênero *Xanthomonas*. Estruturalmente, é formada por unidades de β -D glicose, constituindo a cadeia principal e, a cadeia lateral, apresenta uma cadeia trissacarídea, que possui uma unidade de ácido glicurônico entre duas unidades de D-manose (GARCÍA-OCHOA et al., 2000); entretanto, não apresenta ação antimicrobiana. Esse polímero pode ser utilizado em conjunto com uma substância que apresente ação antimicrobiana, como o óleo essencial de cravo-da-índia (TRAJANO et al., 2009; ASCENÇÃO; MOUCHREK FILHO, 2013; MEDEIROS et al., 2016).

Diante desta perspectiva, a comercialização de sementes de *Araucaria angustifolia* minimamente processadas pode representar uma alternativa para o estímulo ao consumo desse alimento de alto valor nutricional e, conseqüentemente, a contribuição econômica para seus produtores.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Pinhão

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia*, que pertence à família das *Araucariaceae*. Tal planta, também conhecida como pinheiro-do-paraná ou pinheiro brasileiro, é nativa da Mata Atlântica do sul do Brasil, característica em regiões serranas ou em planaltos com elevadas altitudes e temperaturas medianas (CONAB, 2014).

A *Araucaria angustifolia* é uma gimnosperma com característica dioica, produzindo árvores masculinas e femininas. As plantas masculinas são mais predominantes e produzem o mingote, já as plantas femininas produzem as pinhas, onde, em seu interior, estão os pinhões (BRDE, 2005).

O estado do Paraná é responsável pela maior produção de pinhão no país, atingindo em 2015, 3.220 ton, seguido dos estados de Santa Catarina com produção de 3.192 ton e Rio Grande do Sul com 762 ton (IBGE, 2017).

A extração de pinhão, entre os meses de abril a junho, possui grande importância econômica para os produtores rurais, tanto por garantir uma renda, quanto por ser uma opção de alimento para as famílias que realizam a colheita (BRDE, 2005).

Em virtude da exploração descontrolada no passado, a *Araucaria angustifolia* encontra-se ameaçada de extinção (ZANDEVALLI, 2004; BRDE, 2005; CONAB, 2005; MUCCILLO, 2009). Dessa forma, há necessidade de uma extração consciente para preservação da espécie e, ao mesmo tempo, para a garantia de subsistência das famílias que exploram o pinhão.

O pinhão possui alto valor energético e nutricional, representando uma fonte importante de carboidratos e fibras, além de possuir quantidades significativas de alguns minerais, como ferro, fósforo, magnésio e, também, de vitamina C (Tabela 1). Quando submetido à cocção, juntamente da casca, apresenta quantidades significativas de flavonoides (CORDENUSI et al., 2004). Não apresenta proteínas do glúten, representando uma alternativa de consumo para as pessoas que tenham a doença celíaca (OLIVEIRA, 2008) e possui um baixo índice glicêmico, se mostrando um bom alimento para pessoas diagnosticada com diabetes (CORDENUSI et al., 2004). Tais características conferem a essa semente uma boa alternativa para compor uma dieta equilibrada.

Tabela 1. Composição centesimal do pinhão cozido

Substâncias alimentares	Pinhão cozido
Valor energético (kcal/100g)	174
Proteínas (g/100g)	3,0
Carboidratos (g/100g)	43,9
Lipídeos (g/100g)	0,7
Fibra alimentar (g/100g)	15,6
Cálcio (mg/100g)	16
Magnésio (mg/100g)	53
Fósforo (mg/100g)	166
Ferro (mg/100g)	0,8
Potássio (mg/100g)	727
Vitamina C (mg/100g)	27,7

Fonte: Taco, 2011.

Embora apresente significativo valor nutricional, o pinhão ainda é pouco empregado na culinária brasileira, necessitando de maior divulgação e valorização, além de incentivos relacionados a processos tecnológicos para a conservação da semente, por esta não possuir um amplo período de comercialização (DOS SANTOS et al., 2002; DO AMARANTE et al., 2007). Outros fatores que influenciam no baixo consumo estão relacionados ao longo tempo de cocção (CONAB, 2014), elevado grau de perecibilidade que, em virtude da alta atividade de água, possibilita que as sementes sejam facilmente acometidas por fungos durante a estocagem (BALBINOTI et al., 2008), e, também, a grande susceptibilidade ao processo de brotamento e infestação por larvas (OLIVEIRA, 2008).

Estudos que abordem características e formas de conservação da semente de *Araucária angustifolia* são escassos. Os poucos trabalhos que existem tratam, principalmente, da farinha de pinhão (CAPELLA et al., 2009; CLADERA-OLIVERA et al., 2011), e da conservação sob diferentes temperaturas (AMARANTE et al., 2007).

A necessidade de ampliar a bibliografia a respeito dessa semente pode refletir em aumento do consumo de pinhão resultando em incentivos aos produtores e maior geração de renda (OLIVEIRA, 2008).

2.2 Vegetais minimamente processados

De acordo com a *International Fresh Cut Producers Association* (IFPA), os vegetais minimamente processados (MP) são frutas ou hortaliças modificadas fisicamente, mas que mantêm o seu estado fresco, ou seja, são frutas ou hortaliças,

ou a combinação destas, que tenham sido fisiologicamente alteradas, mas que, ainda, permanecem no estado fresco.

Nos últimos tempos, as mudanças ocasionadas na estrutura familiar fez com que as famílias buscassem por alternativas para otimizar o tempo na execução de tarefas rotineiras. Dessa forma, a alimentação também sofreu mudanças influenciadas por este novo cenário. Assim, a busca por alimentos com maior praticidade e, ao mesmo tempo, com qualidade nutricional se tornou prática na vida das famílias modernas. Diante disso, os vegetais minimamente processados, tornaram-se uma boa alternativa para esse público (CENCI, 2011).

Os vegetais MP apresentam uma ascendente participação no mercado de produtos frescos. O crescimento real desses produtos ocorreu na década de 50, nos Estados Unidos, com o surgimento das redes de *fast food* e, no Brasil, sua comercialização iniciou a partir da década de 90; porém, nos últimos anos vem ocorrendo uma evolução significativa no incremento de vendas de vegetais MP (CENCI, 2011; MALVEZZI et al., 2015). Há uma tendência crescente para o consumo de alimentos mais saudáveis, assim como a adesão de hábitos de vida mais conscientes (SANTOS; OLIVEIRA, 2012; MORENO et al., 2016). Em 2014, o Ministério da Saúde lançou o novo Guia Alimentar para População Brasileira, que incentiva o consumo de vegetais MP, os quais recebem um processamento mínimo, no entanto não são adicionados de sal, açúcar, óleo ou qualquer outro tipo de ingrediente. A recomendação reforça, ainda mais, a importância da disponibilidade de vegetais MP para a promoção à saúde.

O processo mínimo varia de acordo com o vegetal, mas, de uma forma geral, inclui etapas como seleção, lavagem, sanitização, descasque, corte, centrifugação ou drenagem e embalagem (KOBILIZ, 2008).

Quanto menor o intervalo entre a colheita e o processamento, melhor será a qualidade do produto minimamente processado. Esses produtos devem ser armazenados sob refrigeração, normalmente, entre 0 °C e 5 °C, a fim de expandir a sua duração. O aumento excessivo da temperatura faz com que a taxa de respiração dos vegetais também se eleve, acima da taxa de permeabilidade a gases dos materiais da embalagem, impedido uma conservação otimizada (CENCI, 2011). Nesse sentido, o armazenamento sob refrigeração exerce papel fundamental na conservação de vegetais MP, em virtude de minimizar as transformações

ocasionadas, tanto por reações bioquímicas, quanto por microrganismos (VISSOTO et al., 1999; MORETTI, 2007).

Dentre as principais alterações observadas em vegetais MP, em função do descasque e corte, listam-se o aumento da taxa respiratória, uma maior perda de água, de nutrientes, de firmeza, associados a alteração da cor, desenvolvimento microbiano, entre outros (VAROQUAUX; WILEY, 1997).

As mudanças na coloração e textura podem influenciar negativamente, já que estes são atributos de grande relevância para os consumidores no momento da compra (COSTA et al., 2011). Além disso, segundo Varoquaux e Wil (1997), o aumento na taxa respiratória de 3 a 7 vezes, observado em vegetais MP, está intimamente ligado ao processo de deterioração e, segundo Cenci, (2011), mudanças nas características sensoriais. Outrossim, esses vegetais são mais suscetíveis ao ataque de microrganismos em virtude da perda da sua proteção natural e, também, em consequência de uma maior manipulação, sendo necessária a adoção de medidas preventivas, como por exemplo, as Boas Práticas de Fabricação - BPF, assim como cautela nos métodos de conservação, na escolha de embalagens e no procedimento de estocagem, visando a minimizar os riscos de contaminação (CENCI, 2006; KOBLITZ, 2008; CENCI, 2011).

No Brasil, não existe legislação específica para frutas e hortaliças minimamente processadas que abordem parâmetros físico-químicos. Entretanto, segundo a Resolução RDC 12, de 2 de janeiro de 2001, que dispõe a respeito do Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001), os vegetais minimamente processados podem ser inseridos nos grupos de alimentos designados como frutas, hortaliças, raízes e tubérculos (descascados ou selecionados ou fracionados), branqueados, sanificados, refrigerados ou congelados, para consumo direto.

As análises que devem ser realizadas dependem do produto. De uma forma geral, as análises preconizadas nesta legislação são: coliformes a 45 °C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Bacillus cereus*. Além disso, recomenda-se também a contagem de microrganismos psicotróficos nos vegetais minimamente processados, visto que estes são armazenados em temperaturas de refrigeração.

Ainda não há, na literatura, registros sobre processamento mínimo utilizando pinhão. Tal fato motiva a elaboração do presente trabalho.

2.3 Revestimentos comestíveis

O uso de tecnologias de manutenção pós-colheita é primordial para maximizar o tempo de comercialização de alimentos. A busca pela conservação faz com que a indústria se preocupe em encontrar métodos que ofereçam, de maneira segura e sustentável, alimentos saudáveis e de boa qualidade. Dessa maneira, o uso de filmes e revestimentos à base de polímeros não tóxicos, tem aumentado sua aplicabilidade em alimentos com o objetivo de preservação da qualidade e consequente aumento de vida de prateleira (ASSIS; BRITO, 2014).

Há distinção entre os termos filmes e revestimentos. Os filmes são formados por uma fina película preparada separadamente do alimento e, após, aplicado. Já os revestimentos, recobrimentos, películas ou coberturas são aplicados diretamente no alimento, através do recobrimento ou imersão, em uma solução que, após secagem, forma uma fina camada de proteção (ASSIS; BRITO, 2014).

Os revestimentos comestíveis são utilizados para inibir a migração da umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas e lipídeos; introduzir aditivos, como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando, assim, as características intrínsecas, a integridade mecânica e o manuseio de produtos alimentícios recobertos com esse tipo de material (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997). Devem apresentar características como transparência e aderência, além de serem insípidos e inodoros, a fim de não interferirem no sabor dos alimentos (ASSIS, FORATO, BRITO, 2008).

Em termos de pesquisa, tem sido muito avaliados na preservação de vegetais pós-colheita, principalmente, no ramo dos minimamente processados, por estes apresentarem maior suscetibilidade à deterioração (BALDWIN et al., 1995; CHEVALIER, 2016), melhorando ou substituindo algumas funções realizadas pelas camadas da epiderme natural (ASSIS, FORATO, BRITO, 2008).

Os revestimentos comestíveis podem ser compostos de carboidratos, lipídeos e/ou proteínas (CAO et al., 2007). Dentre os carboidratos, pode-se citar a utilização de alginato, fécula de mandioca, xantana, amido modificado, gelana, quitosana, pectina, carragena, entre outros (BORGES et al., 2016, CHEVALIER et al., 2016; SENA et al., 2016).

2.3.1 Quitosana

A quitosana é obtida, geralmente, a partir da desacetilação da quitina, encontrada no exoesqueleto de crustáceos ou em paredes celulares de fungos,

entre outros. Estruturalmente, é formada por unidades de β -(1-4)-2-acetamido-D-glucose e β -(1-4)-2-amino-D-glucose (ELSABEE; ABDON, 2013), sendo um polímero biodegradável, atóxico, biocompatível e antimicrobiano (DUTTA et al., 2009; ASSIS; BRITO, 2014).

Tal polímero tem sido extensamente utilizado em diversos vegetais minimamente processados, por reduzir a perda de massa (SHIEKH et al., 2013; DE ARAÚJO; SHIRAI, 2016), a taxa respiratória (GHAOUTH et al., 1991; CAMILI et al., 2007), a incidência de microrganismos (VILLADIEGO, 2004; BOTREL et al., 2007) e por promover a manutenção da cor (VILLADIEGO, 2004; SOUZA et al., 2011). No entanto, influência no teor de sólidos solúveis totais, acidez e pH tem sido menos relatada (VARGAS et al., 2006).

2.3.2 Goma Xantana

A xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por espécies de bactérias do gênero *Xanthomonas*. Estruturalmente, a cadeia principal consiste em unidades de β -D glicose em ligação (1 \rightarrow 4), a posição O-3 do resíduo da glicose é ocupada por uma cadeia trissacarídea lateral que possui uma unidade de ácido glicurônico entre duas unidades de D-manose. Cerca da metade dos grupos terminais da D-manose contém um resíduo de ácido pirúvico ligado, via grupamento ceto, nas posições 4 e 6 do açúcar com uma distribuição não conhecida. A unidade D-manose ligada à cadeia principal contém um grupo acetil na posição O-6. A presença dos grupamentos acetato e piruvato conferem ao polissacarídeo a possibilidade de ter grupos aniônicos dependendo do pH do meio (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Essa goma proporciona alta viscosidade, em uma ampla faixa de temperatura e pH, mesmo na presença de sais (LUVIELMO; SCAMPARINI 2009), não apresentando características tóxicas, o que oferece segurança para o uso no ramo de alimentos (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Diversos estudos têm apresentado os benefícios do uso da goma xantana como revestimento comestível interferindo positivamente na redução da perda de massa (CORTEZ-VEGA et al., 2013; PIZATO et al., 2013), luminosidade (CORTEZ-VEGA et al., 2013) e firmeza (LEITE et al., 2015).

A goma xantana vem sendo utilizada como revestimento comestível juntamente com outros compostos que complementem a funcionalidade desta goma

(CASSU; FELISBERTI, 1997). Como a xantana não apresenta ação antimicrobiana, a utilização de extratos ou óleos essenciais para suprir essa carência, melhora e amplia sua aplicabilidade.

2.3.3 Óleo essencial de cravo-da-índia

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L., *Caryophyllus aromaticus* L. ou *Eugenia caryophyllata* Thumb) é o botão floral do craveiro-da-índia, uma planta de porte arbóreo com copa alongada característica e que pode atingir em média 8-10 metros de altura, a qual pertence à família Myrtaceae (AFFONSO et al., 2012). É cultivado em vários países tropicais, inclusive no Brasil, onde sua maior produção se concentra no estado da Bahia (DE OLIVEIRA et al., 2009). Tal planta possui um odor forte aromático e sabor característico (SILVESTRI et al., 2010). Apresenta, em sua composição, cerca de 90 % de óleo essencial, sendo o componente eugenol o que está presente em maior concentração (PAOLI et al., 2007).

O óleo essencial de cravo-da-índia apresenta forte ação antibacteriana frente a diversos microrganismos de interesse na indústria de alimentos, como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens* e *Yersinia enterocolitica* (TRAJANO et al., 2009). Assim como, ação antifúngica frente a diversos gêneros de fungos (ASCENÇÃO; MOUCHREK FILHO, 2013; MEDEIROS et al., 2016).

Em função da atividade antimicrobiana, os óleos essenciais têm sido adicionados a revestimentos comestíveis, assim como por reduzir da taxa respiratória e a perda de massa (PERDONES et al., 2012; BORGES et al., 2013; AZARAKHSH et al., 2014; FRAZÃO et al., 2017).

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar a conservação de pinhões minimamente processados (MP) com a utilização de revestimentos comestíveis com ação antimicrobiana.

3.2 Objetivos específicos

Realizar processamento mínimo dos pinhões;

Aplicar os revestimentos comestíveis à base de quitosana ou goma xantana e óleo essencial de cravo-da-índia nos pinhões MP;

Avaliar parâmetros físicos e químicos dos pinhões MP,

Avaliar parâmetros microbiológicos, através da contagem de fungos, bactérias psicrófilas, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes nos pinhões.

4. Hipóteses

O processamento mínimo é um método possível de ser aplicado em pinhões.

A aplicação de revestimentos comestíveis reduz a perda de massa, a taxa respiratória, propicia a manutenção da cor, pH, acidez, firmeza, teor de ácido ascórbico e açúcares redutores, durante nove dias de armazenamento refrigerado.

A utilização de goma xantana associada ao óleo essencial de cravo-da-índia ou de quitosana, como revestimento comestível, reduz a deterioração microbiana de pinhões minimamente processados e amplia a vida útil do produto.

5. Material e métodos

5.1 Aquisição da amostra

As amostras de pinhão (*Araucaria angustifolia*) serão adquiridas de um produtor na cidade de Vacaria, no estado do Rio Grande do Sul, em maio de 2017.

5.2 Processamento

Os pinhões serão selecionados, optando-se por aqueles sem indícios de deterioração ou ataques de fungos. Depois disso, serão lavados, inicialmente com água corrente, com objetivo de retirar as sujidades aparentes. Logo em seguida, serão colocados em imersão em solução de dicloroisocianurato de sódio (2 g.L^{-1}) por 15 minutos, a fim que sejam sanitizados. Após esta etapa, os pinhões serão enxaguados com água e descascados manualmente, com auxílio de uma faca. Após o descasque, serão novamente sanitizados, da mesma maneira do primeiro processo, enxaguados e centrifugados por 30 segundos.

Para os revestimentos serão preparadas soluções de quitosana (Polymar) e de goma xantana (Shandong Fufeng). A solução de quitosana será preparada em solução de ácido acético (1,5%) e a goma xantana em solução aquosa, ambas à temperatura ambiente, sob agitação constante até a completa dissolução, seguido de aquecimento a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e posterior resfriamento. Na solução de goma xantana, serão adicionados o emulsificante tween e o óleo essencial de cravo-da-índia e, para ambas soluções, o plastificante glicerol.

Os seguintes tratamentos serão avaliados: **Tratamento A** - Controle (pinhões MP sem tratamento); **Tratamento B** – Pinhões MP com revestimento de quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0% p/v); **Tratamento C** - Pinhões MP com revestimento de goma xantana (0,5% p/v), Tween 80 (0,1% p/v), óleo essencial de cravo-da-índia (0,2% p/v) e glicerol (1% p/v).

Os pinhões serão totalmente submersos nas soluções por 1 minuto e, em seguida drenados, por 2 a 3 minutos para que o excesso de solução seja eliminado. Após, serão secos em ar forçado, em ambiente refrigerado. Por fim, as amostras serão acondicionadas em embalagem de Polietileno tereftalato - PET, padronizando 10 pinhões por embalagem e armazenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 9 dias. As análises serão realizadas em triplicata após 1, 3, 6 e 9 dias de armazenamento.

O delineamento experimental utilizado será inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 x 4, sendo 3 tratamentos (A, B e C) e 4 períodos de avaliação (1, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado), conforme Tabela 1. Cada tratamento será composto de 280 unidades de pinhão.

5.3 Delineamento experimental

A Tabela 1 apresenta o delineamento experimental que será realizado.

Tabela 2. Delineamento experimental para avaliação de pinhões minimamente processados diante de dois tratamentos distintos e um controle

Variáveis independentes			Variáveis dependentes
Tratamento	Amostra	Tempo (dias)	
1	Controle	1	Perda de massa
		3	pH
		6	Acidez
		9	Cor
2	Pinhões revestidos com quitosana	1	Firmeza
		3	Teor de ácido ascórbico
		6	Açúcares redutores
		9	Taxa respiratória
		1	Deterioração fisiológica
		3	Fungos
		6	Bactérias psicotróficas
		9	Salmonella spp.
			<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva
			Coliformes termotolerantes
3	Pinhões revestidos com goma xantana e óleo essencial de cravo da Índia	1	
		3	
		6	
		9	

3 tratamentos x 4 períodos de avaliação x 14 variáveis dependentes x 3 repetições (no mínimo) = 504 avaliações

5.4 Avaliações

5.4.1 Perda de massa

A perda de massa será obtida relacionando-se a diferença entre a massa inicial do pinhão minimamente processado e a massa obtida ao final de cada tempo

de armazenamento, de acordo com a equação 1. Os resultados serão expressos em porcentagem de perda de massa.

$$\text{Perda de massa (\%)} = \left[\frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final})}{(\text{massa inicial})} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

5.4.2 pH

O pH será determinado em uma suspensão preparada com 10 g de amostra em 100 mL de água destilada, com o auxílio de pHmetro (Analyser) (IAL, 2008).

5.4.3 Acidez total titulável

A acidez total titulável será determinada por titulação potenciométrica de 10 g de amostra homogeneizada com 100 mL de água destilada. A amostra será titulada usando-se solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até uma faixa de pH (8,2-8,4). Os resultados serão expressos em porcentagem (IAL, 2008).

5.4.4 Teor de ácido L- ascórbico

O pinhão será triturado em 20g e serão transferidos para um erlenmeyer de 300 mL, adicionados 50 mL de água, 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 20%, 1 mL da solução de iodeto de potássio a 10% e 1 mL da solução de amido a 1%. A amostra será titulada com solução de iodato de potássio 0,02 M até coloração rosada (IAL, 2008).

5.4.5 Açúcares redutores

A partir dos pinhões triturados, 10 g da amostra será pesada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de água. O volume deverá ser completado e a amostra filtrado com auxílio de um filtro de papel e um funil. O filtrado será transferido para uma bureta. Em erlenmeyer, serão adicionados 5 mL de cada uma das soluções de Fehling A e B e 40 mL de água. Sob ebulição, a solução de Fehling deverá ser titulada até que esta passe de azul a incolor (no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho de Cu₂O) (adaptado de IAL, 2008).

5.4.6 Firmeza

As medidas de firmeza dos pinhões serão determinadas utilizando-se um texturômetro (Stable Micro Systems modelo TA.XTplus) parâmetros. Os resultados serão expressos em Newton.

5.4.7 Cor

A cor será determinada utilizando-se um colorímetro Minolta CR 400. No padrão *C.I.E L*a*b**, a coordenada L^* expressa o grau de luminosidade da cor medida ($L^* = 100 =$ branco; $L^* = 0 =$ preto), a coordenada a^* expressa o grau de variação entre o vermelho (+60) e o verde (-60) e a coordenada b^* expressa o grau de variação entre o azul (-60) e o amarelo (+60). Os valores a^* e b^* serão utilizados para calcular o ângulo Hue [$\arctan (b^*/a^*)$] e o Croma [$(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$].

O Índice de Escurecimento (IE) será calculado de acordo com Palou et al. (1999), segundo a Equação 1:

$$IE = [100 (X - 0,31)]/0,172 \quad (1)$$

em que:

$$X = (a^* + 1,75L)/(5,645L + a^* - 3,02b^*).$$

5.4.8 Taxa respiratória

Para a avaliação do teor de CO_2 e O_2 contidos no interior das embalagens, lacradas, será utilizado o analisador portátil de gases Oxybaby 6.0, previamente calibrado por amostragem do ar atmosférico. Os valores serão expressos em porcentagem de CO_2 e O_2 .

5.4.9 Deterioração fisiológica

A deterioração fisiológica será determinada por inspeção visual dos pinhões que apresentarem alguma alteração de sua aparência.

5.5 Análises microbiológicas

A avaliação microbiológica será realizada através da contagem padrão de aeróbios psicrótróficos, fungos, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes, segundo APHA (2001).

As análises microbiológicas serão, de acordo com os procedimentos propostos por Downes e Ito, (2001). Para todas as amostras serão realizadas

diluições seriadas em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição 10^{-3} e a partir dessas, as análises serão realizadas em duplicata.

5.5.1 Quantificação de coliformes termotolerantes

Para a enumeração de termotolerantes será utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes será realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação a 35°C por 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes será realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a 45,5°C por 48 horas. Os resultados serão expressos em NMP.g⁻¹

5.5.2 Quantificação de microrganismos psicrotróficos

A quantificação de microrganismos psicrotróficos será efetuada por plaqueamento *pour plate* das diluições com adição do meio Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas serão incubadas a 7°C por 10 dias. O resultado será expresso em UFC.g⁻¹.

5.5.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. será realizado um pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 horas, seguida de enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 horas e Caldo Tetracionato, a 37°C por 24 horas. Em seguida será realizada a semeadura em placas de ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Hektoen-Enteric (HE), sendo ambos incubados por 24h a 37°C. Colônias típicas serão submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease, a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentarem reação bioquímica característica serão submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar.

5.5.4 Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

Serão inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird Parker, em duplicata e em seguida as placas serão incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. As colônias serão enumeradas e no mínimo cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípica serão selecionadas para realização de teste de produção de coagulase livre.

5.5.5 Enumeração de fungos

Para a contagem de fungos (bolores e leveduras), será utilizado o método de plaqueamento direto em superfície de Ágar Batada Dextrose. Diluições decimais serão inoculadas por espalhamento e submetidas à incubação, a 25°C. Serão realizadas contagens aos três e aos cinco dias de incubação.

5.6 Análise estatística

Os resultados obtidos serão submetidos à análise de variância e à comparação de médias entre os tratamentos será realizada pelo Teste de Tukey com nível de significância de 5 %, utilizando-se o programa STATISTIX 10. Para a descrição das variáveis em função dos períodos de armazenamento, serão realizadas análises de regressão polinomial.

6. Resultados e impactos esperados

Como resultado, espera-se obter um revestimento comestível que possa estender a vida útil dos pinhões minimamente processados, através do retardo da perda de massa, manutenção da cor, pH, acidez, firmeza, teor de ácido ascórbico e açúcares redutores, além da inibição da deterioração microbiana.

Durante o decorrer deste projeto, haverá a participação de alunos da graduação e do mestrado, o que contribuirá para a formação de recursos humanos.

Ao final de 12 meses, conforme cronograma do projeto, os resultados serão publicados em encontro científico da área de alimentos e, ao final do projeto, os resultados serão submetidos à publicação em periódico especializado da área.

7. Cronograma de Atividades

As atividades serão realizadas de acordo com o exposto na Tabela 3.

Tabela 3. Cronograma das atividades

Atividades	Meses											
	2	4	8	10	12	14	16	18	20	22	24	
Revisão da literatura	X	x	x	x	x	x	x	x	x	X	x	
Testes de metodologia	X	x	x									
Análises			x	x	x	x	x	x	x			
Análise estatística								x	x			
Relatório										x	x	
Divulgação dos resultados					x						x	

8. Recursos financeiros

O projeto será desenvolvido com recursos próprios e do PROAP.

9. Orçamento

O orçamento previsto para execução do projeto está exposto na Tabela 4.

Tabela 4. Orçamento do projeto

Descrição	Quantidade	Valor Total (R\$)
Placas de petri descartável	250 placas	123,75
Papel toalha	1 Pacote	14,50
Ponteiras de 200 microlitros	200 unidades	20,00
Ponteiras de 300 microlitros	200 unidades	20,00
Ácido sulfúrico	100 ml	11,90
Ácido acético 25ml	2 unidades	10,00
Fenolftaleína	25g	26,50
Ácido tartárico	250 g	46,65
Sulfato de cobre	1000g	34,50
Ágar para PCA	500g	315,29
Ágar batata	500g	268,00
Peptona	500 g	262,40
Álcool 70%	1000 ml	5,00
Álcool 92,8%	1000 ml	6,34
Algodão	1 rolo	15,50
Papel alumínio	1 rolo	4,90
Goma Xantana	500 g	21,90
Goma Quitosana	1000g	80,00
NaOH	1000 g	48,45
Tween 80	1 L	54,80
Ácido Acético	1 L	23,55
Papel Filtro	1Pct	4,55
Fita crepe	1 rolo	5,00
Embalagem PET	144	65,00
Água sanitária	2000 ml	7,00
Meio Baird-Parker	70g	57,40
Plasma de coelho	30ml	210,00
Caldo Lauril Sulfato Triptose	50g	27,90
Caldo EC	50g	34,00
Microtubos de Eppendorff (1,5ml)	50 unidades	1,63
TOTAL		1.826,41

10. Outros projetos

- Revestimento comestível à base de goma xantana combinado ao ácido oléico ou ao óleo essencial de hortelã-pimenta na conservação de morangos - 5.07.02.125
- Maçãs minimamente processadas revestidas com goma tara – 5.07.02.123
- Revestimento comestível à base de goma xantana em sinergismo com goma guar e/ou quitosana em mamão e abóbora minimamente processados - 5.07.02.124
- Revestimentos de metilcelulose em batata da variedade BRS Ana submetida à fritura - 5.07.00.083
- Conservação de morangos pelo uso de extratos vegetais e óleos essenciais - 5.07.01.088
- Controle do escurecimento enzimático em maçã minimamente processada 4080 e 4720
- Utilização de gelatina e cloreto de cálcio na conservação da physalis - 5144
- Revestimento de inulina e probióticos em morangos minimamente processados – 6257

11. Referências bibliográficas

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AMARANTE, C. V. T; MOTA, C. S.; MEGGUER, C. A.; IDE, G. M. Conservação pós-colheita de pinhões [sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p 346-351, 2007.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEO ESSENCIAL *Syzygium aromaticum* (CRAVO DA ÍNDIA). **Cadernos de Pesquisa São Luís**, v. 20, n. especial, p. 137-144, 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC, 2001. 676 p.

ASSIS, O. B. G.; ALVES, H. C. **Metodologia mínima para a produção de filmes comestíveis de quitosana e avaliação preliminar de seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico: São Carlos- SP, 2002. 5 p.

ASSIS, O. B. G.; DE BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

ASSIS, O. B. G.; DE BRITTO, D. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique. **Polymer International**, v. 60, n. 6, p. 932-936, 2011.

BALBINOT, R.; GARZEL, J. C. L; WEBER, K. S.; RIBEIRO, A. B. Tendências de consumo e preço de comercialização do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.), no estado do Paraná. **Revista Ambiência**, v. 4, n. 3, p. 463-472, 2008.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 509-524, 1995.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; NOGUEIRA, D.; HARTWIG, E. S.; RUTZ, J. K. Conservation of minimally processed apples using edible coatings made of turnip extract and xanthan gum. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-8, 2016.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BRDE - Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. Agência de Florianópolis. Gerência de Planejamento. Cultivo da araucaria angustifolia: Viabilidade econômico-financeira e alternativas de incentivo. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p.

CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215-221, 2007.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1153-1162, 2007.

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALDI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 135-142, 2009.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Poly (vinyl alcohol) and poly (vinyl pyrrolidone) blends: miscibility, microheterogeneity and free volume change. **Polymer**, v. 38, n. 15, p. 3907-3911, 1997.

CENCI, S. A.; GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F. **Boas práticas de processamento mínimo de vegetais na agricultura familiar**. Nascimento Neto F. Recomendações básicas para a aplicação das boas práticas agropecuárias e de fabricação na agricultura familiar. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 59-63, 2006.

CENCI, Sergio Agostinho. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.

CHEVALIER, R. C.; SILVA, G. F. A.; SILVA, D. M.; PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W. R. Utilização de revestimento comestível à base de quitosana para aumentar a vida útil de melão minimamente processado. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 3, n. 3, p. 130-138, 2016.

CLADERA-OLIVERA, F.; MARCZAK, L. D. F.; NORENA, C. P. Z.; PETTERMANN, A. C. Modeling water adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) flour and thermodynamic analysis of the adsorption process. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 3, p. 826-843, 2009.

COMA, V.; MARTIAL-GROS, A.; GARREAU, S.; COPINET, A.; SALIN, F.; DESCHAMPS, A. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. **Journal of food science**, v. 67, n. 3, p. 1162-1169, 2002.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Pinhão (semente)**. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_09_12_36_06_pinhaos_ementesetembro_2014.pdf. Acesso em: 28 out. 2016.

CORDENUNSI, B. R.; DE MENEZES, E. W.; GENOVESE, I. G.; COLLI, C.; DE SOUZA, A. G.; LAJOTO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3412-3416, 2004.

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

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

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

ELSABEE, M. Z.; ABDU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 4, p. 1819–1841, 2013.

FRECCIA, C. F.; PERES, L. G.; RAMOS, A. P.; CARLOS, E. B.; PALHANO, W. C.; RECH, C. A.; SCHMIDT-BELLINI, J.; SEIBERT, E. **Conservação de pinhões em diferentes tipos de acondicionamento e seus efeitos sobre a qualidade pós-colheita**. 2º Simpósio de Integração Científica e Tecnológica do Sul Catarinense – SICT-Su, 2013.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GHAOUTH, A. E.; ARUL, J.; PONNAMPALAN, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1618-1631, 1991.

GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F.; CENCI, S. A. **Hortalças minimamente processadas**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF: 2005. 38 p.

HARTWIG, E. S.; NOGUEIRA, D.; MENDONÇA, C. R. B.; SILVA, J. D. S.; ALVES, M. A. M.; BORGES, C. D. Influência da forma de aplicação de extrato de nabo e goma xantana na redução do escurecimento enzimático de maçãs minimamente processadas. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Florianópolis-SC, 2014.

IAL-INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home>. Acesso em: 25 de abril de 2017.

KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. **Bioquímica de Alimentos-teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, D. E. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, p. 61-74, 1997.

LEITE, B. S. F.; BORGES, C. D.; CARVALHO, P. G. B.; BOTREL, N. Revestimento Comestível à base de goma xantana, compostos lipofílicos e/ou cloreto de cálcio na conservação de morenagos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 1027-1036, 2015.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 5, n. 1, p. 50-67, 2009.

MALVEZZI, B. Z.; ESCAVANAQUI, G. R.; TEIXEIRA, G.; LIMA, J. D. M.; BUENO, V. G. C.; TROVA, E. C. V.; TROVA, R. V.; GONÇALVES, M. G. C. Pesquisa mercadológica sobre o consumo de alimentos minimamente processados- Mogi Mirim, 2015. **Revista Universitas**, v. 8, n. 15, p. 135-149, 2015.

MEDEIROS, F. C. M.; GOUVEIA, F. M.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F.; MENEZZI, C. H. S. D. Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 114, p. 87-93, 2016.

MORENO, L. B.; SCHERWINSKI, R.; DA SILVA, J. M. T.; SCALON, S. P. Q.; CARNEVALLI, T. O. Conservação de repolho minimamente processado sob efeito de diferentes embalagens, tempo de estocagem e temperatura. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 2, p. 68-74, 2016.

MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Embrapa Hortaliças: Brasília-DF, 2007. p. 153-172.

MUCCILLO, Roberta Cruz Silveira Thys. **Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. 2009. 156 f. Tese (Doutorado em Engenharia)-Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 2011.

OLIVEIRA, Florencia Cladera. **Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão**. 2008 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; DE OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

PAOLI, S.; GIANI, T. S.; PRESTA, G. A.; PEREIRA, M. A.; FONSECA, A. S.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; SANTOS-FILHO, S. D.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of Clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the Labeling of Blood Constituents with Technetium-99m and on the Morphology of Red Blood Cells. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 175-182, 2007.

PERDONES, A., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHIRALT, A., VARGAS, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 70, p. 32-41, 2012.

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

PORTE, A.; MAIA, L. H. Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados. **Boletim do Centro Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 105-118, 2001.

SANTOS, A. J.; CORSO, N. M.; MARTINS, G.; BITTENCOURT, E. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. **Floresta**, v. 32, n. 2, p. 163-169, 2002.

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

SENA, E. O. A.; COUTO, H. G. S. A.; PAIXÃO, A. R. C, SILVEIRA, M. P. C; OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; CARNELOSSI, M. A. G. Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de pimentão verde (*capsicum annum* L.). **Scientia Plena**, v. 12, n. 8, p. 1-9, 2016.

SHIEKH, R. A.; MALIK, M. A.; AL-THABAITI, S. A.; SHIEKH, M. A. Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits. **Food Science Tchnology**, v. 19, n. 2, p. 139-155, 2013.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SOUZA, M. L.; MORGADO, C. M. A.; MARQUES, K. M.; MATTIUZ, C. F. M.; MATTIUZ, B. Pós-colheita de mangas' Tommy Atkins' recobertas com quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 337-343, 2011.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

VAROQUAUX, P.; WILEY, R.C. Cambios biológicos y bioquímicos en frutas y hortalizas refrigeradas minimamente procesadas. In: WILEY, R.C. **Frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. p. 221-262.

VARGAS, M., ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GNÁZALES-MARTÍNEZ, C. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, v. 41, p. 164-171, 2006.

VILLADIEGO, Alba Manuela Durango. **Desenvolvimento de um revestimento comestível antimicrobiano a base de amido de inhame com quitosana na conservação da cenoura minimamente processada**. 2004. 241 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2004.

VISSOTO, F. Z.; KIECBUSH, T. G.; NEVES FILHO, L. C. Pré- resfriamento de frutas e hortaliças com ar forçado. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 106-114, 1999.

ZANDAVALLI, R. B.; DILLENBURG, L. R.; DE SOUZA, P. V. D. Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. **Applied Soil Ecology**, v. 25, n. 3, p. 245-255, 2004.

ZORTÉA-GUIDOLIN, M. E. B.; DEMIATE, I. M.; GODOY, R. C. B.; SCHEER, A. P.; GREWELL, D.; JANE, J. L. Structural and functional characterization of starches from Brazilian pine seeds (*Araucaria angustifolia*). **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 19-26, 2017.

2. Relatório de campo

Em virtude de problemas relacionados à exiguidade de tempo, não foi possível realizar todas as análises microbiológicas no mesmo momento, sendo necessário o congelamento das amostras para posterior avaliação. Dessa forma, a análise de *Salmonella* ssp., não foi realizada, já que o congelamento poderia interferir nos resultados, em função da sua sensibilidade a baixas temperaturas.

3 Introdução

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia*, que pertence à família Araucariaceae. Tal planta é nativa da Mata Atlântica do sul do Brasil; no entanto, também é encontrada em países como Argentina e Paraguai. No Brasil, sua maior incidência ocorre no estado do Paraná. Outros estados, como Santa Catarina e Rio Grande do Sul, possuem uma produção expressiva, sendo os municípios de São Joaquim e São Francisco de Paula, destaques na produção de pinhão nos respectivos estados (CONAB, 2014).

A *Araucaria angustifolia* é uma gimnosperma com característica dioica, ou seja, há produção de plantas masculinas, as quais produzem o mingote e de plantas femininas, produtoras das pinhas, onde internamente encontra-se o pinhão (BRDE, 2005).

O pinhão possui um alto valor energético e nutricional, representando uma rica fonte de carboidratos e fibras, além de apresentar quantidades significativas de alguns minerais e vitaminas, como ferro, fósforo, magnésio, potássio e vitamina C (TACO, 2011). Além disso, não apresenta proteínas do glúten, sendo uma alternativa de consumo para as pessoas que tenham a doença celíaca (OLIVEIRA, 2008) e, ainda, possui um baixo índice glicêmico, se mostrando um bom alimento para pessoas diagnosticadas com diabetes (CORDENUSI et al., 2004). Tais características conferem a essa semente uma boa alternativa para compor uma dieta equilibrada.

Embora apresente significativo valor nutricional, seu consumo ainda é muito pouco expressivo, dentre as causas podem-se citar: o difícil descasque do produto e o longo tempo de cocção, além da falta de industrialização no processo de obtenção do pinhão (AMARANTE et al., 2007; ZORTÉA-GUIDOLIN et al., 2017). Além disso, dentre outros motivos estão a sazonalidade da produção, responsável pela oscilação significativa dos preços e o seu elevado grau de perecibilidade, que, em virtude da alta atividade de água e umidade (50,5%) das sementes, são facilmente acometidas por fungos durante a estocagem (BALBINOT et al., 2008). Outros problemas estão relacionados ao processo de brotamento e à infestação de larvas, os quais aumentam as perdas na aquisição das sementes, quando adquiridas com casca (OLIVEIRA, 2008).

Há na literatura estudos de conservação do pinhão pelo frio (AMARANTE et al., 2007; OLIVERA, 2008); entretanto, o congelamento ocasiona o seu esfarelamento (FRECCIA et al., 2013). Outros trabalhos tratam da produção de farinha de pinhão e não da semente em sua forma *in natura* (CAPELLA et al., 2009; CLADERA-OLIVERA et al., 2009).

Em virtude da intensa rotina de trabalho, a praticidade no preparo dos alimentos tem sido uma questão determinante no momento da compra. Dessa maneira, vegetais minimamente processados, os quais são produtos pré-preparados por meio de operações, como descasque, corte, sanitização, centrifugação, acondicionamento e armazenamento sob refrigeração, minimizam o tempo de preparo de refeições. Esses produtos podem representar uma alternativa para quem necessita otimizar o tempo de preparação e busca uma alimentação de melhor qualidade, visto que esses produtos oferecem maior praticidade, e um melhor aproveitamento dos vegetais, reduzindo as perdas (GOMES et al., 2005).

Entretanto, o processamento mínimo pode ocasionar algumas modificações aos produtos, tornando-os mais susceptíveis a alterações, no caso do pinhão e dos demais vegetais que possuem casca, em razão da remoção desta, sua proteção natural. Dentre as principais modificações observadas em vegetais minimamente processados, estão o aumento da taxa respiratória, a perda de água, de nutrientes, de firmeza, alteração da cor, desenvolvimento microbiano, entre outros (SANTOS, 2010; KLUGE; PRECZENHAK, 2016; GHIDELLI; PÉREZ-GAGO, 2016; MIRANDA et al., 2017).

Com objetivo de preservar a qualidade e, ao mesmo tempo, estender a vida útil, de forma natural e segura, podem ser utilizados os revestimentos comestíveis. Esses, são utilizados para inibir a migração da umidade, reduzir a taxa respiratória e preservar as vitaminas (ARAUJO; SHIRAI, 2016); e, ainda, para introduzir aditivos, como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando assim, as características intrínsecas dos produtos alimentícios revestidos (PÉREZ-GAGO et al., 2005). Os revestimentos comestíveis podem ser compostos de carboidratos, lipídeos e/ou proteínas (CAO et al., 2007). Dentre os carboidratos, pode-se citar a utilização de alginato, fécula de mandioca, xantana, amido modificado, gelana, quitosana, pectina, carragena, entre outros (BORGES et al., 2016, CHEVALIER et al., 2016; SENA et al., 2016); entretanto, não há relatos na literatura sobre a aplicação em pinhões.

A quitosana tem sido um dos polímeros mais estudados, principalmente, devido à sua ação antimicrobiana (MORETTI, 2007; SAHIN et al., 2016; DIVYA; SMITHA; JISHA, 2018). Por outro lado, a goma xantana vem sendo utilizada como revestimento comestível, juntamente com outros compostos que complementem a funcionalidade desta goma (FREITAS, et al., 2013; PIZATO, et al., 2013; SHARMA; RAO, 2015). Como a xantana não apresenta ação antimicrobiana, a utilização de extratos ou óleos essenciais para suprir essa carência, melhora e amplia sua aplicabilidade. Desse modo, esse polímero pode ser utilizado em conjunto com uma substância que apresente ação antimicrobiana, como o óleo essencial de cravo-da-índia (TRAJANO et al., 2009; ASCENÇÃO; MOUCHREK FILHO, 2013; MEDEIROS et al., 2016). Não existem registros sobre processamento mínimo em pinhões, o que impulsiona a elaboração do presente trabalho.

Diante desta perspectiva, a comercialização de sementes de *Araucaria angustifolia* minimamente processadas pode representar uma alternativa para o estímulo ao consumo desse alimento de alto valor nutricional e, conseqüentemente, a contribuição econômica para seus produtores.

3.1 Objetivos

3.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de revestimentos comestíveis com ação antimicrobiana em pinhões minimamente processados armazenados sob temperatura de refrigeração.

3.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar processamento mínimo dos pinhões;
- Aplicar os revestimentos comestíveis à base de quitosana e goma xantana aliada ao óleo essencial de cravo-da-índia nos pinhões minimamente processados;
- Avaliar parâmetros físicos e químicos dos pinhões minimamente processados;
- Avaliar parâmetros microbiológicos, através da contagem de fungos, bactérias psicotróficas, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em pinhões minimamente processados.

3.2 Hipóteses

- O processamento mínimo é um método possível de ser aplicado em pinhões.
- A aplicação de revestimentos comestíveis reduz a perda de massa, a taxa respiratória, propicia a manutenção da cor, acidez, firmeza, teor de ácido ascórbico, açúcares redutores e deterioração fisiológica, durante nove dias de armazenamento refrigerado.
- A utilização de sanitização em conjunto com revestimento comestível de goma xantana associada ao óleo essencial de cravo-da-índia ou de quitosana, inibe o desenvolvimento microrganismos patogênicos dos grupos dos *Staphylococcus* coagulase positiva e dos coliformes termotolerantes e reduz a deterioração microbiana ocasionada por bactérias psicotróficas e fungos em pinhões minimamente processados e amplia a vida útil do produto.

4 Revisão bibliográfica

4.1 Pinhão (*Araucaria angustifolia*)

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia* (Figura 1), que pertence à família das Araucariaceae. Tal planta, também conhecida como pinheiro-do-paraná ou pinheiro brasileiro, é nativa da Mata Atlântica do sul do Brasil, característica em regiões serranas ou em planaltos com elevadas altitudes e temperaturas medianas (CONAB, 2014).

A *Araucaria angustifolia* é uma gimnosperma com característica dioica, ou seja, há as árvores com órgãos sexuais masculinos e há aquelas com órgãos sexuais femininos. As plantas masculinas são mais predominantes e produzem o mingote, já as plantas femininas produzem as pinhas (Figura 2), onde, em seu interior, estão os pinhões (BRDE, 2005).



Figura 1: *Araucaria angustifolia*
Fonte: Imagem www.floresefolhagens.com.br

O estado do Paraná é responsável pela maior produção de pinhão no país, atingindo em 2016, 3.183 toneladas, seguido dos estados de Santa Catarina, com produção de 2.663 toneladas e Rio Grande do Sul, com 805 toneladas (IBGE, 2018).



Figura 2: Pinha (planta feminina) de *Araucaria angustifolia* com pinhões internamente
 Fonte: Imagem www.bemparana.com.br

A extração de pinhão, entre os meses de abril a junho, possui grande importância econômica para os produtores rurais, tanto por garantir uma renda, quanto por ser uma opção de alimento para as famílias que realizam a colheita (BRDE, 2005). Tal colheita é realizada de forma artesanal e familiar, através da arrecadação das pinhas que se desprendem das árvores naturalmente ou a partir da derrubada das pinhas imaturas, com auxílio de uma vara de bambu, ou ainda através da escalada nos pinheiros (CONAB, 2014). No entanto, em função da espécie de *Araucaria angustifolia* estar ameaçada de extinção, existem algumas normas que regulamentam a extração do pinhão, como por exemplo, a Portaria Normativa DC-20 de 27/09/76, que permite a colheita das pinhas somente a partir de 15 de abril (BRDE, 2005).

Os pinhões apresentam formato cônico ou cônico cilíndrico podendo apresentar tamanhos variados, entre 3 a 8 centímetros de comprimento e o peso médio de 8,5 g, dependendo do local onde é cultivado. A casca pode representar cerca de 30% do peso inicial (BRDE, 2005; CLADERA-OLIVERA et al., 2005).

Os pinhões são consumidos, na maioria das vezes, na forma assada ou cozida. No entanto, existem formas de utilizá-lo na culinária, mas pouco exploradas (CONAB, 2014). Em virtude da exploração descontrolada no passado, a *Araucaria angustifolia* encontra-se ameaçada de extinção (ZANDEVALLI, 2004; BRDE, 2005; CONAB, 2005; MUCCILLO, 2009). Dessa forma, há necessidade de uma extração consciente para a preservação da espécie e, ao mesmo tempo, para a garantia de subsistência das famílias que exploram o pinhão.



Figura 3: Parte externa do pinhão com casca (esquerda) e parte interna do pinhão com casca (direita)

Fonte: CORDENUNSI et al., 2004



Figura 4: Pinhão cozido com casca (1) e sem casca (2)

Fonte: CORDENUNSI et al., 2004 (Adaptado)

4.1.1 Composição nutricional

As sementes apresentam alto valor energético e nutricional, representando uma fonte importante de carboidratos e fibras, além de possuir quantidades significativas de alguns minerais, como ferro, fósforo, potássio, magnésio e, também,

de vitamina C (Tabela 1). Em 100 gramas de pinhão cozido é possível obter 1/4 do valor diário recomendado de fósforo, 1/3 da quantidade de vitamina C e metade da quantidade indicada de fibras (TACO, 2011; DRIS, 2014). Os carboidratos representam quase metade da sua composição (43,9%), sendo o principal deles o amido (34%). Além disso, possui baixo conteúdo de proteínas e lipídeos (Tabela 1). (GAMA et al., 2010; TACO, 2011).

Tabela 1. Composição centesimal do pinhão cozido

Substâncias alimentares	Pinhão cozido Taco (2011)	Pinhão cozido Cordenunsi et al. (2004)	VD Dris (2014)	
			H	M
Valor energético (kcal/100g)	174	-	-	-
Proteínas (g/100g)	3,0	3,31	56	46
Carboidratos (g/100g)	43,9	-	130	130
Lipídeos (g/100g)	0,7	1,26	-	-
Fibra alimentar (g/100g)	15,6	-	38	25
Cálcio (mg/100g)	16	15,8	1000	1000
Magnésio (mg/100g)	53	52,0	400	310
Fósforo (mg/100g)	166	93,3	700	700
Ferro (mg/100g)	0,8	0,67	8	18
Potássio (mg/100g)	727	-	4700	4700
Vitamina C (mg/100g)	27,7	-	90	75
Umidade (%)	50,5	-	-	-

VD= Valor diário recomendado

- = Valor não mencionado pela fonte

H= Homens (19 a 30 anos)

M= Mulheres (19 a 30 anos)

Quando submetido à cocção, juntamente da casca, apresenta quantidades significativas de flavonoides, substâncias importantes para prevenção de doenças cardiovasculares (CORDENUSI et al., 2004), além de compostos fenólicos com atividade antioxidante, como catequina, epicatequina, quercetina e apigenina importante para inibição de mecanismos oxidativos associados a doenças degenerativas e câncer (SOUZA et al., 2014).

As sementes não apresentam proteínas do glúten, representando uma alternativa de consumo para as pessoas que tenham a doença celíaca (OLIVEIRA, 2008) e, ainda, possuem um baixo índice glicêmico, se mostrando um bom alimento para pessoas diagnosticadas com diabetes (CORDENUSI et al., 2004). Segundo Freitas (2002), a digestão do amido é mais lenta que a da sacarose, fazendo com que o pinhão, em razão de ser um alimento predominantemente amiláceo diminua a glicemia pós-prandial, resultando em uma absorção mais lenta da glicose. Tais características conferem a essa semente uma boa alternativa para compor uma dieta equilibrada.

Embora apresente significativo valor nutricional, o pinhão ainda é pouco empregado na culinária brasileira, necessitando de maior divulgação e valorização, além de incentivos relacionados a processos tecnológicos para a conservação da semente, por esta não possuir um amplo período de comercialização (SANTOS et al., 2002; AMARANTE et al., 2007).

Outros fatores que influenciam no baixo consumo estão relacionados ao longo tempo de cocção (CONAB, 2014), elevado grau de perecibilidade, em razão de ataque de fungos e larvas (BALBINOTI et al., 2008; OLIVEIRA, 2008).

4.1.2 Conservação da semente

A semente de araucária possui elevado grau de perecibilidade, devido à alta atividade de água, que possibilita que as sementes sejam facilmente acometidas por fungos durante a estocagem (BALBINOTI et al., 2008). Além disso, essas possuem grande susceptibilidade a infestação por larvas (Figura 5 e 6) e ao processo de brotamento (Figura 7), o que aumenta a possibilidade de perdas quando da aquisição de sementes com casca (OLIVEIRA, 2008). A Figura 8, apresenta as

diferenças entre uma semente de pinhão deteriorada e uma em bom estado, ideal para consumo.



Figura 5: Pinhão deteriorado com presença de larva



Figura 6: Pinhão com orifício ocasionado pela presença de larva (1); pinhão deteriorado com presença de larva (2); pinhão descascado deteriorado (3); pinhão descascado com deterioração mais avançada (4)



Figura 7: Pinhões com brotamento



Figura 8: Pinhão deteriorado com presença de larva (1) e pinhão adequado para o consumo (2)

Estudos que abordem características e formas de conservação da semente de *Araucaria angustifolia* são poucos e artigos que relatem o processamento mínimo em pinhões, não existem. Os poucos trabalhos tratam, principalmente, da farinha de pinhão (CAPELLA et al., 2009; CLADERA-OLIVERA et al., 2011), e da conservação sob diferentes temperaturas (AMARANTE et al., 2007; OLIVERA, 2008). A necessidade de ampliar a bibliografia a respeito dessa semente pode refletir em aumento do consumo de pinhão, resultando em incentivos aos produtores e maior geração de renda (OLIVEIRA, 2008).

4.2 Vegetais minimamente processados

De acordo com a *International Fresh Cut Producers Association* (IFPA), os vegetais MP são frutas ou hortaliças modificadas fisicamente, mas que mantêm o seu estado fresco, ou seja, são frutas ou hortaliças, ou a combinação destas, que tenham sido fisiologicamente alteradas, mas que, ainda, permanecem no estado fresco (IFPA, 2001).

Nos últimos tempos, as mudanças ocasionadas na estrutura familiar fizeram com que as famílias buscassem por alternativas para otimizar o tempo na execução de tarefas rotineiras. Dessa forma, a alimentação também sofreu mudanças influenciadas por este novo cenário. Assim, a busca por alimentos com maior praticidade e, ao mesmo tempo, com qualidade nutricional se tornou prática na vida das famílias modernas. Diante disso, os vegetais minimamente processados, tornaram-se uma boa alternativa para esse público (CENCI, 2011).

Os vegetais minimamente processados apresentam uma ascendente participação no mercado de produtos frescos. O crescimento real desses produtos ocorreu na década de 50, nos Estados Unidos, com o surgimento das redes de *fast food* e, no Brasil, sua comercialização iniciou a partir da década de 90; porém, nos últimos anos percebe-se uma evolução significativa no incremento de vendas de vegetais minimamente processados (CENCI, 2011; MALVEZZI et al., 2015). Há uma tendência crescente para o consumo de alimentos mais saudáveis, assim como a adesão a hábitos de vida mais conscientes (SANTOS; OLIVEIRA, 2012; MORENO et al., 2016). Em 2014, o Ministério da Saúde lançou o novo Guia Alimentar para População Brasileira, que incentiva o consumo de vegetais minimamente processados, os quais recebem um processamento mínimo, no entanto, não são adicionados de sal, açúcar, óleo ou qualquer outro tipo de ingrediente. A recomendação reforça ainda mais a importância da disponibilidade de vegetais minimamente processados para a promoção à saúde.

O processo mínimo varia de acordo com o vegetal, mas, de uma forma geral, inclui etapas como seleção, lavagem, sanitização, descasque, corte, centrifugação ou drenagem e embalagem (KOBILIZ, 2008). A figura 9 descreve um fluxograma de processamento mínimo.

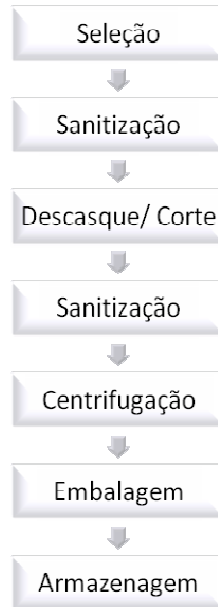


Figura 9: Fluxograma de vegetais minimamente processados

Quanto menor o intervalo entre a colheita e o processamento, melhor será a qualidade do produto minimamente processados. Esses produtos devem ser armazenados sob refrigeração, normalmente, entre 0 °C e 5 °C, a fim de expandir a sua duração (CENCI, 2011).

A utilização de frio é um dos métodos mais antigos empregados para conservar produtos, devido proporcionar a inibição total ou parcial de agentes responsáveis por causar alterações nos alimentos. Dessa forma, a refrigeração diminui a velocidade das reações químicas e enzimáticas, minimizando as perdas ocasionadas pela atividade fisiológica ou por outras reações químicas. A cada 10 °C que a temperatura diminui, a velocidade dos processos se reduz a metade ou a um terço (ORDÓÑEZ, 2005). No caso dos vegetais minimamente processados, o armazenamento sob temperatura de refrigeração é primordial para manutenção da qualidade e segurança do alimento (CENCI, 2006).

O aumento excessivo da temperatura faz com que a taxa de respiração dos vegetais também se eleve, acima da taxa de permeabilidade a gases dos materiais da embalagem, impedido uma conservação otimizada (CENCI, 2011).

Nesse sentido, o armazenamento sob refrigeração exerce papel fundamental na conservação de vegetais minimamente processados, em virtude de minimizar as transformações ocasionadas, tanto por reações bioquímicas, quanto por microrganismos (VISSOTO et al., 1999; MORETTI, 2007).

Dentre as principais alterações observadas em vegetais minimamente processados, em função do descasque e corte, listam-se o aumento da taxa respiratória, uma maior perda de água, de nutrientes, de firmeza, associados à alteração da cor, desenvolvimento microbiano, entre outros (VAROQUAUX; WILEY, 1997; PORTE; MAIA, 2001).

As mudanças na coloração e textura podem influenciar negativamente, já que estes são atributos de grande relevância para os consumidores no momento da compra (COSTA et al., 2011). Além disso, segundo Varoquaux e Wiley (1997), o aumento na taxa respiratória de 3 a 7 vezes, observado em vegetais minimamente processados, está intimamente ligado ao processo de deterioração e, segundo Cenci, (2011), mudanças nas características sensoriais. Outrossim, esses vegetais são mais suscetíveis ao ataque de microrganismos em virtude da perda da sua proteção natural e, também, em consequência de uma maior manipulação, sendo necessária a adoção de medidas preventivas, como por exemplo, as Boas Práticas de Fabricação - BPF, bem como a cautela nos métodos de conservação, na escolha de embalagens e no procedimento de estocagem, visando a minimizar os riscos de contaminação (CENCI, 2006; KOBBLITZ, 2008; CENCI, 2011).

No Brasil não existe legislação específica para frutas e hortaliças minimamente processados que aborde parâmetros físico-químicos. Entretanto, segundo a Resolução RDC 12, de 2 de janeiro de 2001, que dispõe a respeito do Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001), os vegetais minimamente processados podem ser inseridos nos grupos de alimentos designados como frutas, hortaliças, raízes e tubérculos (descascados ou selecionados ou fracionados), branqueados, sanificados, refrigerados ou congelados, para consumo direto.

As análises que devem ser realizadas dependem do produto. De uma forma geral, as análises preconizadas nessa legislação são: coliformes a 45 °C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Bacillus cereus*. Além disso, recomenda-se também a contagem de microrganismos psicrotóxicos nos vegetais minimamente processados, visto que estes são armazenados em temperaturas de refrigeração e também a contagem de fungos.

Ainda não há, na literatura, registros sobre processamento mínimo utilizando pinhão. Tal fato motiva a elaboração do presente trabalho.

4.3 Revestimentos comestíveis

O uso de tecnologias de manutenção pós-colheita é primordial para maximizar o tempo de comercialização de alimentos. A busca pela conservação faz com que a indústria se preocupe em encontrar métodos que ofereçam, de maneira segura e sustentável, alimentos saudáveis e de boa qualidade. Dessa maneira, o uso de filmes e revestimentos à base de polímeros não tóxicos, tem aumentado sua aplicabilidade em alimentos, com o objetivo de preservação da qualidade e consequente aumento de vida de prateleira (ASSIS; BRITO, 2014).

Há distinção entre os termos filmes e revestimentos. Os filmes são formados por uma fina película preparada separadamente do alimento e, após, aplicado. Já os revestimentos, recobrimentos, películas ou coberturas são aplicados diretamente no alimento, através da aspersão sobre a superfície do alimento ou imersão em uma solução que, após secagem, forma uma fina camada de proteção (ASSIS; BRITO, 2014).

Os revestimentos comestíveis são utilizados para inibir a migração da umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas e lipídeos; introduzir aditivos, como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando, assim, as características intrínsecas, a integridade mecânica e o manuseio de produtos alimentícios recobertos com esse tipo de material (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997). Devem apresentar características como transparência e aderência, além de serem insípidos e inodoros, a fim de não interferirem no sabor dos alimentos (ASSIS et al., 2008).

Em termos de pesquisa, tem sido muito avaliados na preservação de vegetais pós-colheita, principalmente, no ramo dos minimamente processados, por estes apresentarem maior suscetibilidade à deterioração (BALDWIN et al., 1995; CHEVALIER, 2016), melhorando ou substituindo algumas funções realizadas pelas camadas da epiderme natural (ASSIS et al., 2008).

Os revestimentos comestíveis podem ser compostos de carboidratos, lipídeos e/ou proteínas (CAO et al., 2007). Dentre os carboidratos, pode-se citar a utilização de alginato, fécula de mandioca, xantana, amido modificado, gelana, quitosana, pectina, carragena, entre outros (BORGES et al., 2016, CHEVALIER et al., 2016; SENA et al., 2016).

4.3.1 Quitosana

A quitosana é obtida, geralmente, a partir da desacetilação da quitina, encontrada no exoesqueleto de crustáceos ou em paredes celulares de fungos, entre outros. Estruturalmente, é formada por unidades de β -(1-4)-2-acetamido-D-glucose e β -(1-4)-2-amino-D-glucose (ELSABEE; ABDON, 2013), sendo um polímero biodegradável, atóxico, biocompatível e antimicrobiano (DUTTA et al., 2009; ASSIS; BRITO, 2014).

Tal polímero tem sido extensamente utilizado em diversos vegetais minimamente processados, por reduzir a perda de massa (SHIEKH et al., 2013; ARAÚJO; SHIRAI, 2016), a taxa respiratória (GHAOUTH et al., 1991; CAMILI et al., 2007), a incidência de microrganismos (VILLADIEGO, 2004; BOTREL et al., 2007) e por promover a manutenção da cor (VILLADIEGO, 2004; SOUZA et al., 2011). No entanto, a influência no teor de sólidos solúveis totais, acidez e pH tem sido menos relatada (VARGAS et al., 2006).

4.3.2 Goma Xantana

A xantana é um polissacarídeo extracelular produzido por espécies de bactérias do gênero *Xanthomonas*. Estruturalmente, a cadeia principal consiste em unidades de β -D glicose em ligação (1 \rightarrow 4), a posição O-3 do resíduo da glicose é ocupada por uma cadeia trissacarídea lateral que possui uma unidade de ácido glicurônico entre duas unidades de D-manose. Cerca da metade dos grupos terminais da D-manose contém um resíduo de ácido pirúvico ligado, via grupamento ceto, nas posições 4 e 6 do açúcar com uma distribuição não conhecida. A unidade D-manose ligada à cadeia principal contém um grupo acetil na posição O-6. A presença dos grupamentos acetato e piruvato conferem ao polissacarídeo a possibilidade de ter grupos aniônicos dependendo do pH do meio (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Essa goma proporciona alta viscosidade, em uma ampla faixa de temperatura e pH, mesmo na presença de sais (LUVIELMO; SCAMPARINI 2009), não apresentando características tóxicas, o que oferece segurança para o uso no ramo de alimentos (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Diversos estudos têm apresentado os benefícios do uso da goma xantana como revestimento comestível interferindo positivamente na redução da perda de massa (CORTEZ-VEGA et al., 2013; PIZATO et al., 2013), luminosidade (CORTEZ-VEGA et al., 2013) e firmeza (LEITE et al., 2015).

A goma xantana vem sendo utilizada como revestimento comestível juntamente com outros compostos que complementem a sua funcionalidade (CASSU; FELISBERTI, 1997). Como a xantana não apresenta ação antimicrobiana, a utilização de extratos ou óleos essenciais para suprir essa carência melhora e amplia sua aplicabilidade.

4.3.3 Óleo essencial de cravo-da-índia

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L., *Caryophyllus aromaticus* L. ou *Eugenia caryophyllata* Thumb) é o botão floral do craveiro-da-índia, uma planta de porte arbóreo com copa alongada característica e que pode atingir em média 8 a 10 metros de altura, que pertence à família Myrtaceae (AFFONSO et al., 2012). É cultivado em vários países tropicais, inclusive no Brasil, onde sua maior produção se concentra no estado da Bahia (OLIVEIRA et al., 2009). Tal planta possui um odor forte aromático e sabor característico (SILVESTRI et al., 2010). Apresenta, em sua composição, cerca de 90% de óleo essencial, sendo o componente eugenol o que está presente em maior concentração (PAOLI et al., 2007).

O óleo essencial de cravo-da-índia apresenta forte ação antibacteriana frente a diversos microrganismos de interesse na indústria de alimentos, como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens* e *Yersinia enterocolitica* (TRAJANO et al., 2009), assim como, ação antifúngica frente a diversos gêneros de fungos (ASCENÇÃO; MOUCHREK FILHO, 2013; MEDEIROS et al., 2016).

Em função da atividade antimicrobiana, os óleos essenciais têm sido adicionados a revestimentos comestíveis, além de reduzir a taxa respiratória e a perda de massa (PERDONES et al., 2012; BORGES et al., 2013; AZARAKHSH et al., 2014; FRAZÃO et al., 2017).

5. Material e métodos

5.1 Material

As amostras de pinhão (*Araucaria angustifolia*) foram adquiridas de um produtor na cidade de Vacaria, no estado do Rio Grande do Sul, em maio de 2017. As sementes foram coletadas, embaladas em saco de estopa e encaminhadas para a cidade de Pelotas – RS, sendo o processamento realizado dois dias após a coleta.

5.2 Métodos

5.2.1 Processamento mínimo dos pinhões

Os pinhões foram selecionados, em função da presença de deterioração ou fungos aparentes. Em seguida, foram lavados com água, sanitizados em solução de dicloroisocianurato de sódio (2 g.L^{-1}) por 15 min, enxaguados com água e descascados manualmente. Após o descasque, foram novamente sanitizados, enxaguados e centrifugados por 30 seg.

A solução de quitosana (Polymar) foi preparada em solução de ácido acético (Synth) (1,5%) e a goma xantana (Shandong Fufeng Fermentation) em solução aquosa, ambas à temperatura ambiente, sob agitação constante até a completa dissolução, seguido de aquecimento a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ e posterior resfriamento. Na solução de goma xantana, foram adicionados o emulsificante Tween 80 (Synth) e o óleo essencial de cravo-da-índia e, para ambas soluções, o plastificante glicerol (Synth). O óleo essencial de cravo-da-índia foi extraído de acordo com a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010), por meio do processo de hidrodestilação por arraste a vapor com o auxílio do equipamento Clevenger, durante 3 h e acondicionados em frasco âmbar em temperatura de congelamento ($-18 \text{ }^\circ\text{C}$) até o momento da sua utilização.

Os seguintes tratamentos foram avaliados: Tratamento A - Controle (pinhões minimamente processados sem revestimento); Tratamento B – Pinhões minimamente processados com revestimento de quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0% p/v); Tratamento C - Pinhões minimamente processados com revestimento de goma xantana (0,5% p/v), Tween 80 (0,1% p/v), óleo essencial de cravo-da-índia (0,2% p/v) e glicerol (1% p/v).

Os pinhões foram totalmente submersos nas soluções por 1 min e, em seguida drenados, por 2 a 3 min para que o excesso de solução fosse eliminado. Após, foram secos em ar forçado, em ambiente refrigerado a 17 °C. Por fim, as amostras foram acondicionadas em embalagem de Polietileno tereftalato - PET, padronizando 20 pinhões por embalagem e armazenadas a 4 °C, com umidade relativa (U.R) de 90% a 95%, durante 9 dias. As análises foram realizadas, em triplicata após 1, 3, 6 e 9 dias de armazenamento.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 x 4, sendo 3 tratamentos (A, B e C) e 4 períodos de avaliação (1, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado). Cada tratamento foi composto de 280 unidades de pinhão.

5.2.2 Avaliações

5.2.2.1 Perda de massa

A perda de massa foi obtida relacionando-se a diferença entre a massa inicial do pinhão minimamente processado e a massa obtida ao final de cada tempo de armazenamento, de acordo com a equação 1. Os resultados foram expressos em porcentagem de perda de massa.

$$\text{Perda de massa (\%)} = \left[\frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final})}{(\text{massa inicial})} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

5.2.2.2 Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada por titulação potenciométrica de 10 g de amostra homogeneizada com 100 mL de água destilada. A amostra foi titulada usando-se solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até uma faixa de pH (8,2-8,4). Os resultados foram expressos em porcentagem (IAL, 2008).

5.2.2.3 Teor de vitamina C

A amostra foi triturada e 20 g transferida para um erlenmeyer de 300 mL, adicionado de 50 mL de água, 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 20%, 1 mL da solução de iodeto de potássio a 10% e 1 mL da solução de amido a 1%. A amostra

foi titulada com solução de iodato de potássio 0,02 M até coloração rosada. Os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra (IAL, 2008).

5.2.2.4 Açúcares redutores

A partir dos pinhões triturados, 10 g da amostra foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com água e a amostra filtrada com auxílio de um filtro de papel e um funil. O filtrado foi transferido para uma bureta. Em erlenmeyer, foram adicionados 5 mL de cada uma das soluções de Fehling A e B e 40 mL de água. Sob ebulição, a solução de Fehling foi realizada a titulação até que esta passe de azul a incolor. Os resultados foram expressos em porcentagem de açúcares redutores, em glicose (adaptado de IAL, 2008).

5.2.2.5 Firmeza

As medidas de firmeza dos pinhões foram determinadas utilizando-se o texturômetro TA.XT plus 40855 (Stable Microsystems, Godalming, U.K.), utilizando como ponteira a lamina de corte HDP/BS e a plataforma-base HDP/90. O teste realizado foi de compressão para medir a firmeza ou força para ocasionar a ruptura do fruto. Os parâmetros operacionais utilizados foram: velocidade de pré-teste de $1,50 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, velocidade de teste de $1,00 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, velocidade pós-teste de $10,00 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, distância de 4 mm e força de acionamento de 0,147 N. A firmeza obtida foi automaticamente registrada mediante o *software Texture Exponent 32*. A leitura foi realizada na região central equatorial do pinhão, com vinte repetições, sendo os resultados expressos em Newton (N).

5.2.2.6 Cor

A cor foi determinada utilizando-se um colorímetro (Minolta CR 400). No padrão *C.I.E L*a*b**, a coordenada L^* expressa o grau de luminosidade da cor medida ($L^* = 100 = \text{branco}$; $L^* = 0 = \text{preto}$), a coordenada a^* expressa o grau de variação entre o vermelho (+60) e o verde (-60) e a coordenada b^* expressa o grau de variação entre o azul (-60) e o amarelo (+60). Foram realizadas oito repetições.

5.2.2.7 Taxa respiratória

Para a avaliação do teor de CO_2 e O_2 contidos no interior das embalagens, lacradas, foi utilizado o analisador portátil de gases Oxybaby 6.0, previamente

calibrado por amostragem do ar atmosférico. Os valores foram expressos em porcentagem de CO₂ e O₂.

5.2.2.8 Deterioração fisiológica

A deterioração fisiológica foi determinada por inspeção visual dos pinhões que apresentarem alguma alteração de sua aparência, como por exemplo a presença de pontos escuros. Os resultados foram expressos em porcentagem.

5.2.3 Análises microbiológicas

A avaliação microbiológica foi realizada através da contagem padrão de microrganismos psicotróficos aeróbios, fungos, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes, segundo Downes e Ito (2001).

Para todas as análises de psicotróficos e fungos, foram realizadas diluições seriadas em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição 10⁻⁵ e para enumeração de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, as diluições foram até 10⁻³. Todas as análises foram realizadas em duplicata para cada diluição.

5.2.3.1 Quantificação de coliformes termotolerantes

Para a enumeração de termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes foi realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação a 35 °C por 48 h. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a 45,5 °C por 48 h. Os resultados foram expressos em NMP.g⁻¹

5.2.3.2 Quantificação de microrganismos psicotróficos aeróbios

A quantificação de microrganismos psicotróficos foi efetuada pelo método de semeadura em superfície utilizando-se Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas a 7 °C por 10 dias. O resultado foi expresso em Log. UFC.g⁻¹.

5.2.3.3 Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva

Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird Parker, com incubação a 37 °C por 24 a 48

h. As colônias foram enumeradas e, no mínimo, cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípica foram selecionadas para realização de teste de produção de coagulase livre. O resultado foi expresso em Log. UFC.g⁻¹.

5.2.3.4 Enumeração de fungos

Para a contagem de fungos (bolores e leveduras), foi utilizado o método de plaqueamento direto em superfície de Ágar Batata Dextrose. Diluições decimais foram inoculadas por espalhamento e submetidas à incubação, a 25 °C. Foram realizadas contagens aos três e aos cinco dias de incubação. O resultado foi expresso em Log. UFC.g⁻¹.

5.2.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e à comparação de médias entre os tratamentos foi realizada pelo Teste de Tukey com nível de significância de 5%, utilizando-se o programa STATISTIX 10. Para a avaliação do tempo de armazenamento foi avaliado o intervalo de confiança a 95%.

6 Resultados e discussão

6.1 Perda de massa

Ao analisar os dados de perda de massa em relação ao tempo, pode-se observar que houve aumento significativo dos valores durante o armazenamento, em todos os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figura 10). Entretanto, não se observou influência dos revestimentos, visto que, de um modo geral, ao término do armazenamento, não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) nos valores de perda de massa entre os tratamentos (Apêndice A).

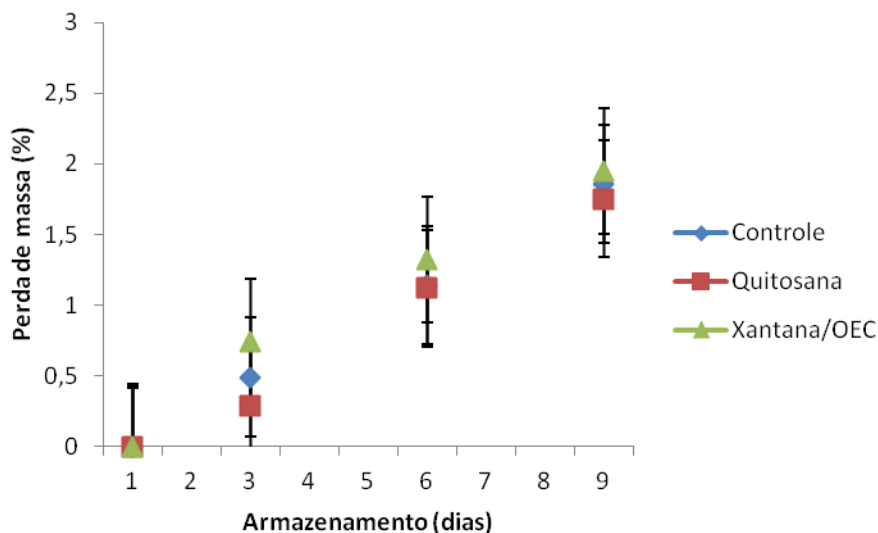


Figura 10: Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

A perda de massa está relacionada à perda de umidade do vegetal, que é um processo natural pós-colheita. Em vegetais minimamente processados, essa supressão tende a ser maior em razão da retirada da casca e do corte, os quais, geralmente, acarretam em aumento da taxa respiratória (BALDWIN et al., 1995; BASTOS, 2006). É conveniente utilizar técnicas que minimizem a perda de peso, já que esta interfere na aparência e textura do produto (ANSORENA; MARCOVICH; ROURA, 2011). Fatores como temperatura de armazenamento, embalagem utilizada e revestimentos comestíveis podem influenciar nessa perda. Embora haja ocorrido o aumento da perda de massa em todos os tratamentos, o maior percentual observado foi de 1,95% do peso inicial. Dessa forma, o armazenamento das

sementes em câmara fria com controle de temperatura e umidade relativa pôde ter influenciado positivamente para a obtenção de percentuais menores de perda de massa.

Amarante et al. (2007) observaram aumento da perda de massa em pinhões *in natura*, armazenados em distintas temperaturas; entretanto, temperaturas entre 0 °C e 10 °C possibilitaram a redução nas perdas.

O tipo de embalagem também pode influenciar no controle da perda de massa. Moreira et al. (2017), ao comparar distintas embalagens no armazenamento de pinhões minimamente processados armazenados a 4 °C por 15 dias, concluíram que a utilização de embalagens de polietileno tereftalato (PET), possibilitaram a menor perda de massa.

Os revestimentos comestíveis podem atuar como uma barreira aos gases e ao vapor de água (SILVA; VIEIRA, 2017); entretanto, neste estudo os revestimentos não conferiram barreira a perda de massa.

Na literatura não há estudos que analisem o uso de revestimentos em pinhões minimamente processados; no entanto, a eficiência do revestimento para reduzir a perda de massa parece depender da concentração do revestimento e das características do vegetal.

Junior et al. (2010) avaliaram a perda de massa em mamão minimamente processado adicionados de revestimentos à base de quitosana (0,5%), e os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre o grupo controle e o que recebeu o tratamento. Contrário a esse, foi demonstrado que em brócolis minimamente processado o revestimento de quitosana (2%) foi eficaz na manutenção da perda de massa em razão da diminuição da permeabilidade ao vapor de água (ARAÚJO; SHIRAI, 2016).

No que se refere ao uso de xantana como revestimento, Cortez-Vega et al. (2013), ao avaliar este polímero na concentração de 0,5%, como revestimento em mamão minimamente processado, observaram redução na perda de massa. No entanto, um estudo sobre a utilização do revestimento à base de goma xantana (0,5%) em maçãs minimamente processadas, realizado por Freitas et al. (2013), não encontrou influência dessa goma na perda de massa em relação ao grupo controle.

6.2 Açúcares redutores

De acordo com a análise dos dados de açúcares redutores (Figura 11), pode-se observar aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos valores, independente do tratamento avaliado. Ao término do armazenamento, a porcentagem de açúcares redutores nos pinhões revestidos com quitosana foi significativamente superior aos revestidos com goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia, apresentando percentuais de 0,72 e 0,42, respectivamente. Contudo, ambos sem distinção significativa ($p \geq 0,05$) em relação à amostra controle (0,65%) (Apêndice B).

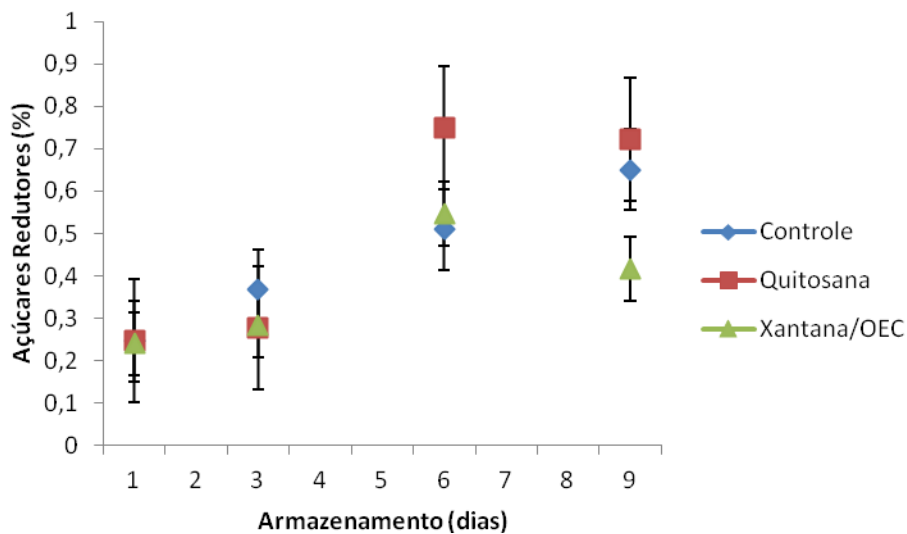


Figura 11: Açúcares redutores (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

Os carboidratos representam 50% da composição do pinhão, sendo o amido o principal. O amido é formado basicamente por dois polímeros, amilose e amilopectina e a degradação dos carboidratos tem como produto final a glicose (FRANCO, CIACCO, TAVARES, 1998). O ligeiro aumento observado pode ser decorrente da conversão de amido em açúcares solúveis em função do processo de maturação (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008; SILVA; VIEIRA, 2017).

No estudo realizado por Jesus et al. (2015), também pode-se observar incremento dos açúcares redutores em pinhões *in natura* durante o armazenamento, à temperatura ambiente em diferentes embalagens. Além disso, Costa (2014) ao avaliar a influência do armazenamento no comportamento de açúcares em pinhões, constatou o aumento de açúcares solúveis e o decréscimo no teor de amido,

confirmando o comportamento inverso entre os teores de açúcar e amido, resultante do processo de maturação.

6.3 Vitamina C

De uma forma geral, houve influência do tempo no teor de vitamina C nos pinhões minimamente processados (Figura 12). Pode-se observar que no término do armazenamento, o teor de vitamina C na amostra controle, permaneceu constante, mas nos pinhões revestidos com quitosana houve aumento significativo ($p \leq 0,05$), apresentando no final $38,79 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$. Para os revestidos com goma xantana observou-se redução ($p \leq 0,05$) e valor final observado foi de $16,04 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Ao analisar os resultados em cada tempo de avaliação (Apêndice C), pode-se observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos até o 6º dia de análise; porém, no 9º dia de armazenamento, os pinhões revestidos com quitosana apresentaram maiores teores de ácido ascórbico ($p \leq 0,05$) em comparação aos demais tratamentos.

De acordo com a tabela TACO (2011), o pinhão apresenta teor de vitamina C de $27,7 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, estando os valores iniciais obtidos no presente estudo condizentes com a tabela de composição de alimentos.

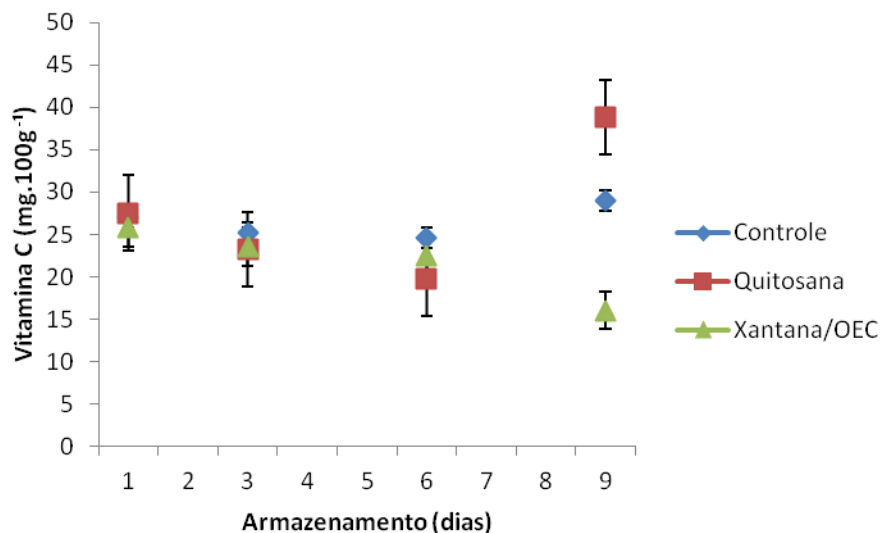


Figura 12: Vitamina C ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

Segundo Koblitz (2008), a quantidade dessa vitamina pode aumentar ou diminuir durante o amadurecimento, estando o aumento relacionado à liberação de açúcares precursores da biossíntese do ácido ascórbico, durante o processo de degradação da parede celular. Em contrapartida, a diminuição ocorre devido à oxidação do ácido, sendo catalisada pela ação de enzimas como ácido ascórbico oxidase e peroxidases (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O oxigênio presente na embalagem não ocasionou a oxidação da vitamina nas amostras controle. Possivelmente, o aumento no teor de vitamina C nos pinhões adicionados de quitosana esteja relacionado à maior concentração de açúcares observados ao término do armazenamento. Já no tratamento adicionado de goma xantana, era esperado a manutenção dos valores, em função dos revestimentos comestíveis poderem atuar como uma barreira ao oxigênio reduzindo a oxidação da vitamina C (ARAÚJO; SHIRAI, 2016; HAERTEL, 2013); entretanto, não se observou este comportamento no tratamento adicionado de goma xantana e óleo essencial de cravo-da-índia.

6.4 Acidez total titulável

Através da análise dos dados, é possível constatar que houve diminuição significativa da acidez, com relação ao tempo, entre o primeiro e último dia de armazenamento para todos os tratamentos avaliados ($p \leq 0,05$) (Figura 13).

Os valores de acidez oscilaram entre os tratamentos mas, de uma forma geral, os pinhões revestidos com quitosana apresentaram percentuais significativamente maiores de acidez ($p \leq 0,05$), desde o início do armazenamento em relação aos demais (Apêndice D). No nono dia de análise, as sementes revestidas com quitosana obtiveram $2,30\% \pm 0,05$ de acidez, enquanto que as revestidas com xantana/OEC apresentaram $1,64 \pm 0,00$. Esses resultados podem ser explicados, em função de ter-se utilizado ácido acético para a dissolução desse polímero.

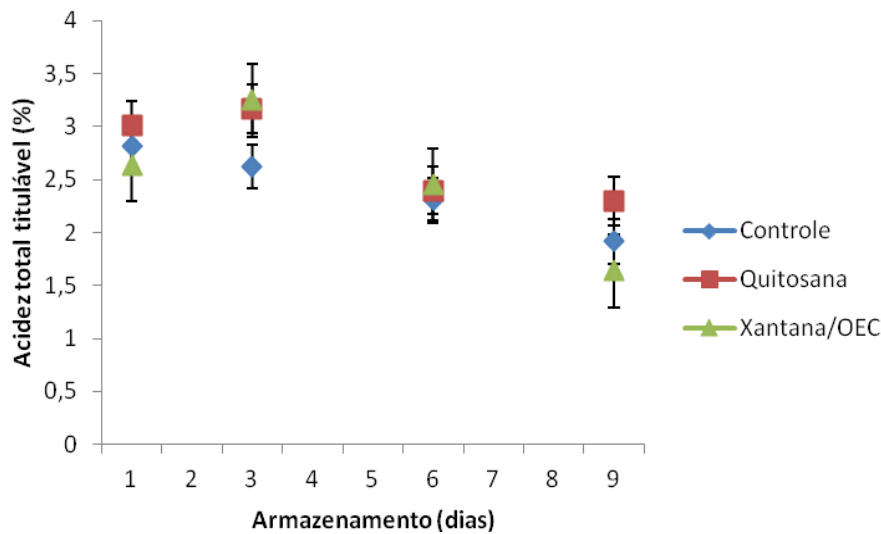


Figura 13: Acidez total titulável (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

A acidez está relacionada à presença de ácidos orgânicos que são consumidos, em razão da utilização de substratos no processo respiratório, ou ainda da conversão em açúcares. Assim, a acidez tende a decrescer com o avanço da maturação, podendo ocorrer um pequeno aumento com o avanço desse processo (CHITARRA, CHITARRA, 2005). O aumento da acidez pode estar relacionado com a degradação da parede celular em função do metabolismo (SIQUEIRA, 2012).

A redução da acidez observada neste estudo para todos os tratamentos pode estar relacionada ao maior teor de açúcares obtido em todos os tratamentos.

Ao contrário do encontrado no presente estudo, Oliveira (2008) observou uma leve tendência de aumento da acidez de pinhões *in natura* armazenados sob refrigeração e congelamento, porém por período superior, variando de 2 a 9 meses.

6.5 Atividade respiratória

As sementes de araucária apresentaram ao longo do tempo, independente do tratamento recebido, um incremento nos níveis de oxigênio (O₂) (Figura 14), e uma diminuição nos níveis de gás carbônico (CO₂) (Figura 15), com diferenças significativas, ao se comparar o primeiro dia de armazenamento em relação aos demais ($p \leq 0,05$). Não se observou diferenças significativas nos perfis dos gases em relação aos distintos tratamentos ($p \geq 0,05$) (Apêndice E e F).

A respiração pode ser definida como a degradação oxidativa de substâncias complexas (amido, açúcares, lipídeos, proteínas, ácidos) em moléculas mais simples (CO_2 e H_2O), com produção de energia e geração de moléculas usadas em reações de síntese (KOBBLITZ, 2008).

Assim, os resultados demonstram que o processamento mínimo não elevou a taxa respiratória, como era esperado, e a influência dos revestimentos não foi percebida, visto que não houve diferenças em relação à amostra controle. Com isto, o aumento na concentração de açúcares, apresentado na Figura 11, pode estar relacionado ao processo de maturação, em função da hidrólise enzimática do amido e também pela conversão dos ácidos em açúcares.

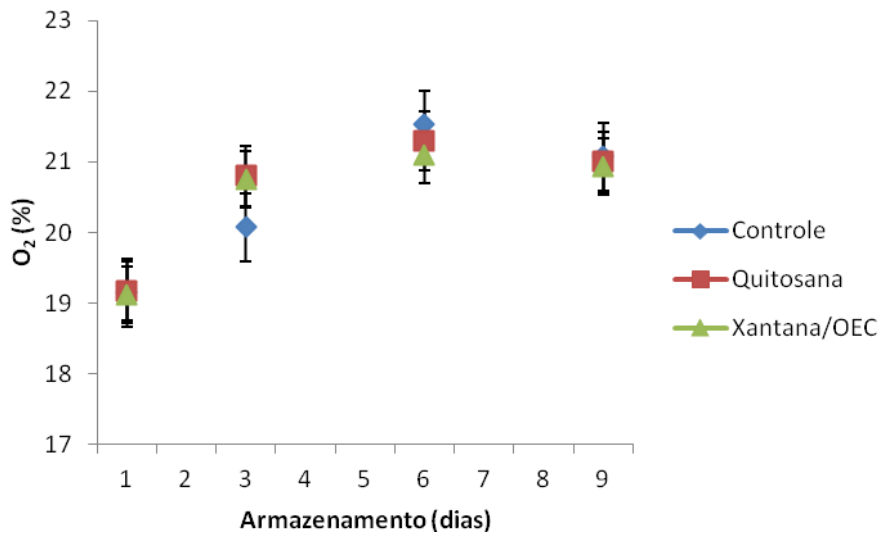


Figura 14: Oxigênio (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

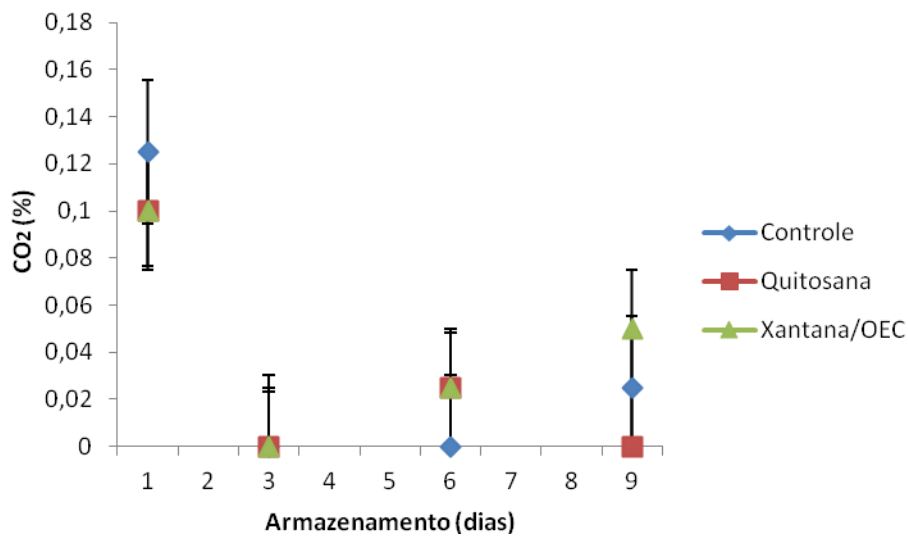


Figura 15: Dióxido de carbono (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4 °C, U.R. de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

Amarante et al. (2007) demonstraram a influência da temperatura na taxa respiratória de pinhões. Baixas taxas respiratórias foram observadas quando as sementes foram armazenadas em temperaturas entre 2° e 10° C. As sementes tendem a diminuir sua atividade metabólica em temperaturas mais baixas devido à diminuição da respiração (COSTA, 2014).

6.6 Firmeza

Quando avaliada a firmeza dos pinhões minimamente processados, é possível observar que houve uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) na força de corte até o sexto dia, com posterior manutenção para a amostra controle. Porém, para os pinhões adicionados de revestimentos, observou-se redução até o sexto dia, com posterior aumento significativo da firmeza ($p \leq 0,05$) (Figura 16). De uma forma geral, não se observou diferenças significativas entre os tratamentos (Apêndice G).

A firmeza, que mede a resistência do produto ao ser esmagado, é um parâmetro importante já que está relacionada à qualidade do alimento (GUINÉ; ALEMIRA; CORREA, 2014; GUINÉ et al., 2015). No estudo realizado por Jesus et al. (2015), com pinhões, também pode-se observar diminuição da firmeza ao longo do armazenamento. Os vegetais minimamente processados tendem a perder água dos

tecidos, ocasionando perda de massa, alterações na textura e, conseqüentemente, na qualidade do produto (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). A atuação das enzimas pectinases também colabora para a redução da firmeza de vegetais (KOBELITZ, 2008). Entretanto, não foi encontrada na literatura nenhuma pesquisa de atividade desta enzima em pinhões.

O aumento da firmeza pode, também, estar relacionado com a perda de umidade em razão da formação de uma crosta na superfície do vegetal (KOBELITZ, 2008), sendo este comportamento intensificado pela presença dos revestimentos.

No presente estudo foram encontrados valores médios de 20,14 N, 19,13 N, 21,47 N, respectivamente para os grupos controle, quitosana e xantana/OEC. Tais valores obtidos no presente estudo são superiores aos relatados por Costa et al. (2011) com pinhão *in natura* (13,26 a 18,92 N) e aproximados (20,75 N) aos encontrados por Costa (2014) e Guidolin (2016).

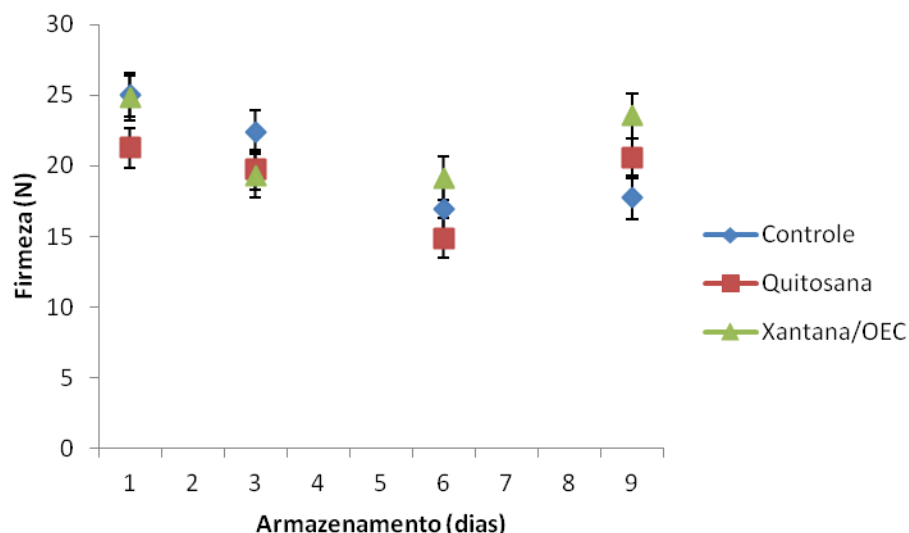


Figura 16: Firmeza (N) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

6.7 Cor

No que se refere à coordenada L^* , que representa o grau de luminosidade, distintos comportamentos foram observados entre os grupos avaliados. Para as amostras controle, não houve variação significativa dos resultados ao longo do tempo ($p \geq 0,05$). Os pinhões revestidos com quitosana, apresentaram valores que oscilaram, o que impossibilitou a determinação de uma tendência. No entanto, para

aqueles revestidos com goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia houve aumento significativo da luminosidade ($p \leq 0,05$) (Figura 17). Ao término do armazenamento não houve distinção na luminosidade dos pinhões controle e revestidos com xantana ($p \geq 0,05$) (Apêndice H).

Independente da amostra, os resultados indicam a coloração branca dos pinhões. Os resultados demonstram que no pinhão parece não haver atividade da enzima polifenoloxidase. Além disso, a maior degradação da vitamina C (e consequente produção de pigmento melanoidina) observada no tratamento dos pinhões com goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia, parece não ter influenciado nos valores de luminosidade, conforme demonstra a Figura 17.

No que se refere aos valores de a^* , que representa o grau de variação entre as cores verde e o vermelho, não foi observada diferença estatística ao longo do tempo de armazenamento ($p \geq 0,05$) (Figura 18), assim como em função do tratamento (Apêndice I). Dessa forma, os valores indicam que as amostras apresentaram tendência ao vermelho, atingindo valores no término do armazenamento de $84,27 \pm 0,80$, $80,12 \pm 2,15$ e $83,88 \pm 1,25$ para os grupos controle, quitosana e xantana/OEC, respectivamente.

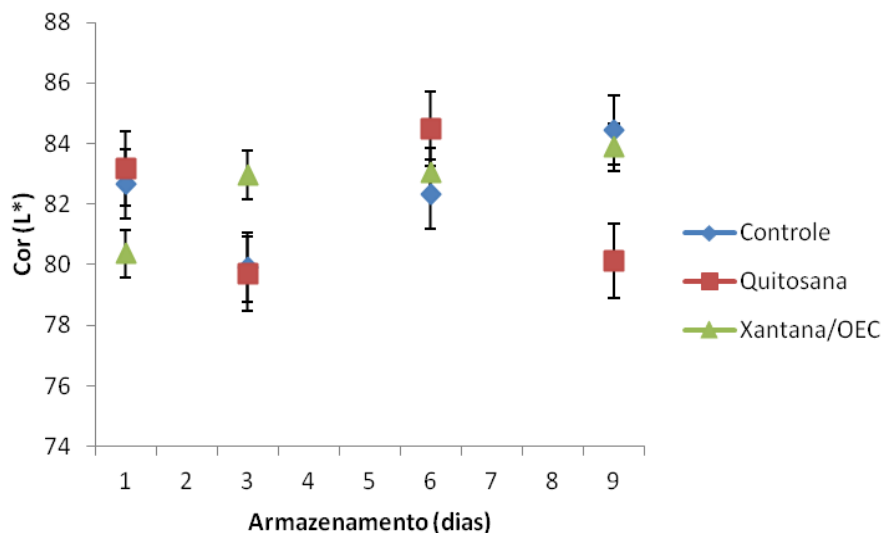


Figura 17: Cor (L^*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

Ao avaliar a coordenada b^* , que reflete a variação entre o amarelo e o azul, todas as sementes tenderam a cor amarela, sendo que o fator tempo e os tratamentos não influenciaram nos resultados ao término do armazenamento ($p \geq 0,05$) (Figura 19, Apêndice J).

Costa et al. (2011), ao estudarem a cor da polpa de pinhões oriundos de duas cidades, também encontraram tendência à coloração vermelha e à coloração amarela. Além disso, ao avaliar a cor da polpa de pinhões da cidade de Guarapuava-PR, obtiveram valores de 81,09 para a coordenada L^* , 0,72 para a coordenada a^* e 17,78 para a coordenada b^* , valores próximos aos obtidos neste estudo. Outro estudo realizado por Costa (2014) encontrou valores iniciais de 81,50, 4,30 e 16,65 para as coordenadas L^* , a^* e b^* , respectivamente. Com exceção da coordenada a^* , esses resultados também foram aproximados aos encontrados no presente estudo.

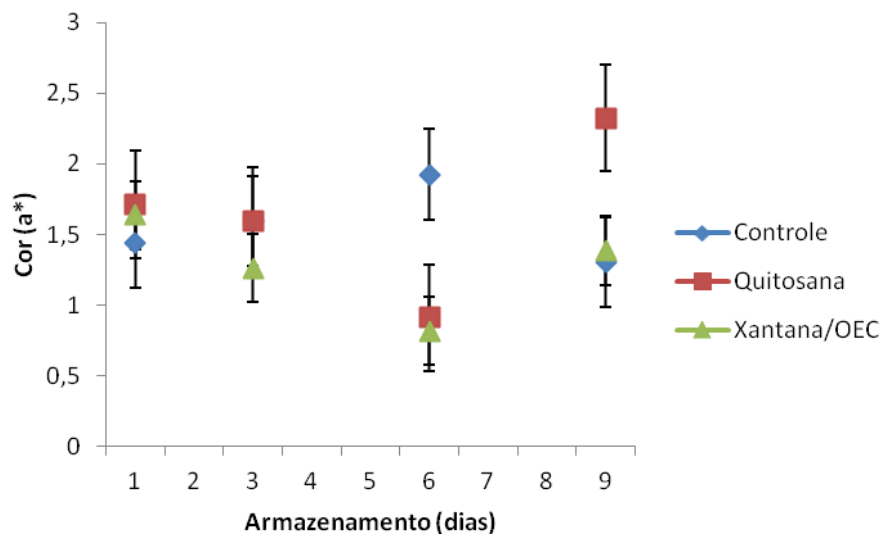


Figura 18: Cor (a^*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

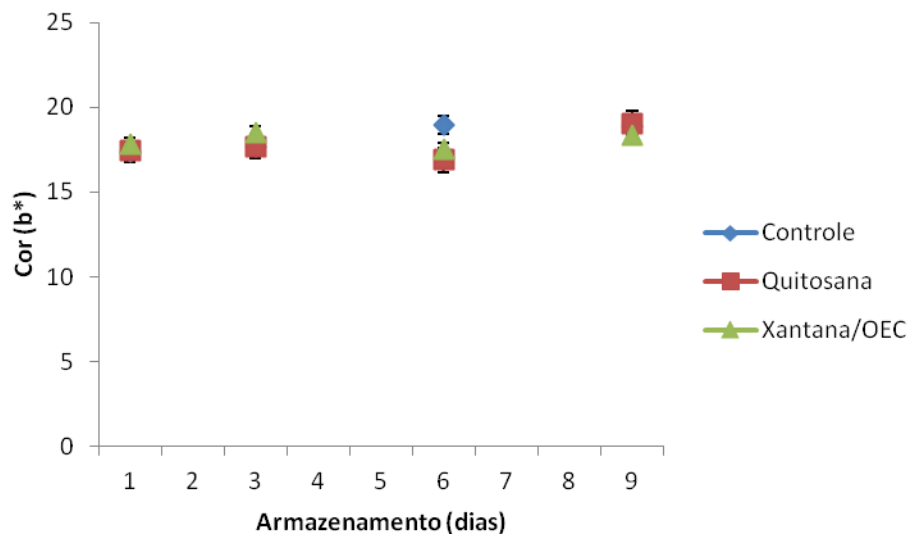


Figura 19: Cor (b*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

A literatura é limitada no que se refere à avaliação de cor de pinhões. No entanto, as variações nas colorações das polpas das sementes de pinhão, sofrem alterações de acordo com a localidade onde são cultivadas (COSTA et al., 2011).

6.8 Deterioração fisiológica

Houve aumento significativo da deterioração das sementes de *Araucaria angustifolia* em relação ao tempo ($p \geq 0,05$), independente da amostra (Figura 20). Em relação aos tratamentos utilizados, foi possível observar que as amostras que não receberam tratamento apresentaram maior percentual de deterioração, em todos os pontos analisados (Apêndice L). Os pinhões revestidos com quitosana apresentaram menores valores em relação aos revestidos com xantana e óleo essencial de cravo-da-índia ($p \leq 0,05$).

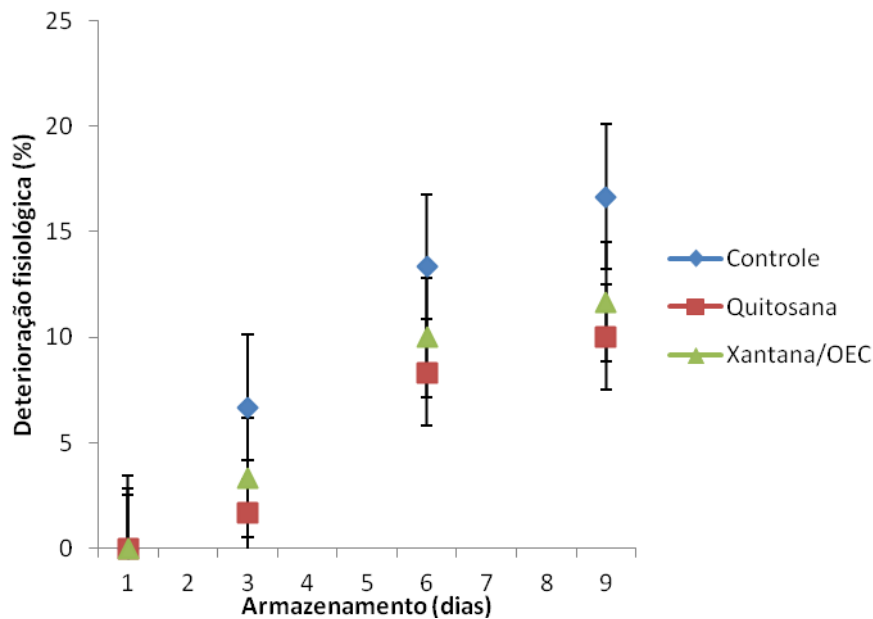


Figura 20: Deterioração fisiológica (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

A deterioração é um processo natural pós-colheita que varia de acordo com a matéria-prima, variedades destas e, também, ao lote dos produtos, podendo ocorrer por ação de microrganismos, reações bioquímicas, físicas e, também, fisiológicas (COSTA, 2014).

As sementes de *Araucaria angustifolia*, após submetidas ao processamento mínimo, em função da retirada da casca, ficaram mais expostas e susceptíveis a modificações, por exemplo, relacionadas a sua aparência. Durante os nove dias de armazenamento, foi possível observar alguns pontos nas sementes avaliadas, que representavam sinais de deterioração, os quais não eram encontrados nos pinhões recém processados. O revestimento à base de quitosana (1,5%), mostrou-se efetivo em relação a esta análise, o que culminou em melhor aspecto visual, atributo importante no momento de compra de um produto. Entretanto, essa alteração não influenciou nos parâmetros de cor.

6.9 Análises microbiológicas

6.9.1 Quantificação de coliformes termotolerantes e de *Staphylococcus coagulase positiva*

Não foi observada a presença de coliformes termotolerantes, assim como de *Staphylococcus coagulase* positiva nas amostras analisadas. Isso demonstra que a higienização das superfícies e utensílios com o sanitizante à base de cloro e as Boas Práticas de Fabricação associados aos revestimentos foram efetivos para evitar tais microrganismos.

A contaminação de alimentos por esses microrganismos, traz consequências para saúde do consumidor, podendo causar diversas infecções, no trato gastrointestinal no caso dos coliformes dependendo da espécie presente, que podem se estender para outras partes do organismo (FERREIRA et al., 2016). No caso do *Staphylococcus coagulase* positiva o problema seria as intoxicações alimentares causadas pelo consumo de enterotoxinas termorresistentes produzidas por estas bactérias nos alimentos, onde o tratamento térmico não seria capaz de inativar estas toxinas. Dessa forma, o alimento que não recebe o processamento seguro pode representar um veículo para patógenos e de toxinas bacterianas (SCHERER et al., 2016). No presente estudo, as sementes apresentaram segurança para o consumo em relação a estas bactérias.

6.9.2 Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios

Não foi observado crescimento de microrganismos psicrotróficos até o terceiro dia de análise, independente do tratamento avaliado. Porém, houve aumento do crescimento dos microrganismos psicrotróficos nos pinhões minimamente processados ($p \leq 0,05$) (Figura 21). Os pinhões da amostra controle e aqueles revestidos por xantana e óleo essencial de cravo-da-índia, apresentaram crescimento significativamente superior no nono dia de análise ($p \leq 0,05$) em relação aos pinhões revestidos com quitosana (Apêndice M). O óleo essencial de cravo-da-índia adicionado no revestimento de goma xantana não foi efetivo para reduzir o crescimento desses microrganismos.

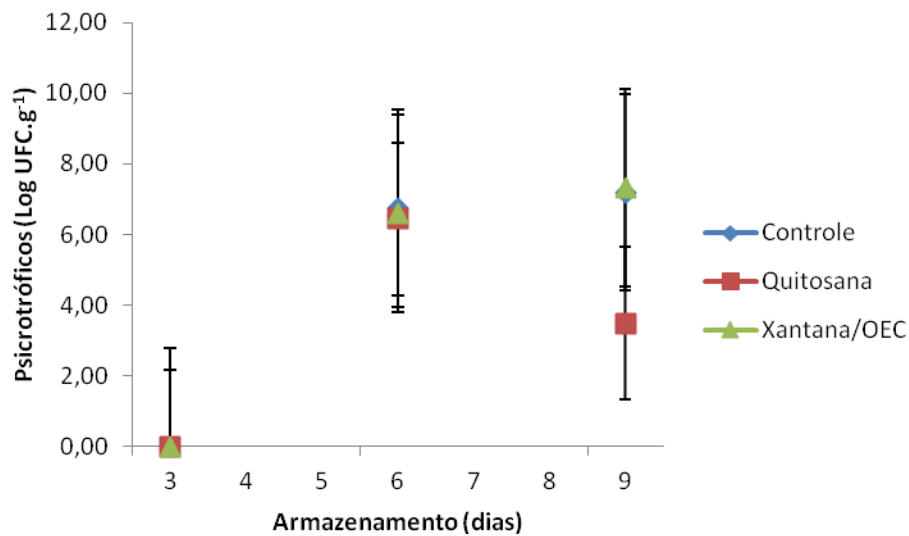


Figura 21: Contagens de microrganismos psicotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

A ação antimicrobiana da quitosana ainda não está bem esclarecida. No entanto, a mudança da permeabilidade celular em razão de interação eletrostática, que ocasiona uma mudança na permeabilidade, perda de eletrólitos e de componentes proteicos intracelulares das bactérias, pode auxiliar a entender esse efeito (DEVLIEGHERE; VERMEULLEN; DEBEVERE, 2004). Com o passar do tempo, ocorre a diminuição da atividade antimicrobiana da quitosana em razão do esgotamento dos grupos aminos, unidos às células bacterianas, que se tornam indisponíveis para ligarem-se a outras superfícies celulares (SUDARSHAN et al, 1992).

Estudos com uso de quitosana em vegetais minimamente processados têm evidenciado proteção frente a microrganismos psicotróficos em diversos produtos hortícolas como alho (BOTREL et al., 2007), brócolis (MOREIRA; ROURA; PONCE, 2011) e abóbora (SOARES, 2015). Porém, Freitas et al. (2013), ao estudar maçãs minimamente processadas, observaram que o recobrimento à base de goma xantana estimulou o crescimento de psicotróficos.

A presença de *Pseudomonas sp.*, principal psicotrófico encontrado em alimentos conservados sob refrigeração, é responsável por reduzir o tempo de vida útil desses alimentos, em função da degradação de proteínas e lipídios, devido à produção de proteases e lipases (GARG, CHUREY e SPLITTSTOESSER, 1990).

Ainda não há legislação específica quanto à contagem de microrganismos psicotróficos para vegetais minimamente processados. No entanto, há relatos que quantidades superiores a 6 Log UFC.g⁻¹, podem interferir na qualidade nutricional, sensorial, oferecer riscos à saúde, tornando o alimento impróprio para o consumo humano (CARUSO; CAMARGO, 1984). No final dos nove dias de armazenamento, as contagens foram 7, 6 e 7 Log UFC.g⁻¹ para os tratamentos controle, quitosana e xantana/OEC, respectivamente. Assim, os pinhões referentes ao tratamento controle e revestidos com goma xantana, estariam impróprios para consumo ao término do armazenamento.

Como não há relatos do processamento mínimo em pinhões, o presente estudo pode estabelecer o período máximo de nove dias de armazenamento para pinhões revestidos com quitosana (1,5%), mantendo-se seguros para o consumo.

6.9.3 Enumeração de fungos

Não houve aumento significativo na contagem de fungos durante o armazenamento dos pinhões minimamente processados ($p \geq 0,05$). Ao término deste, todos os revestimentos apresentaram contagens de fungos semelhantes e sem diferença estatística ($p \geq 0,05$) (Figura 22).

Valores aproximados foram encontrados por Santos et al. (2005), ao estudar abacaxi minimamente processado e também por Rocha et al., (2010), ao estudar carambolas minimamente processadas. Já no estudo realizado por Pinheiro et al. (2005), valores superiores foram obtidos entre 2 a 7 Log UFC.g⁻¹ em diversos frutos minimamente processados, o que evidencia que as contagens dependem da matéria-prima. Além disso, Norte (2015), ao estudar a utilização de xantana juntamente com óleo essencial de cravo-da-índia em pimentões minimamente processados, também não encontrou eficiência no que tange o crescimento de fungos e justificou devido à alta volatilidade dos óleos essenciais e alta capacidade de oxidação destes.

A RDC n° 12, que trata sobre padrões microbiológicos para alimentos, não dispõe de parâmetros para esses microrganismos, o que dificulta estabelecer limite desses. No entanto, somente contagens de fungos filamentosos e leveduras acima de 5 Log UFC.g⁻¹ impedem o consumo de alimentos, devido às alterações sensoriais e na aparência (SOARES, 2015). No presente estudo, as maiores contagens

encontradas foram 4 Log UFC.g⁻¹, representando segurança para o consumo desses pinhões.

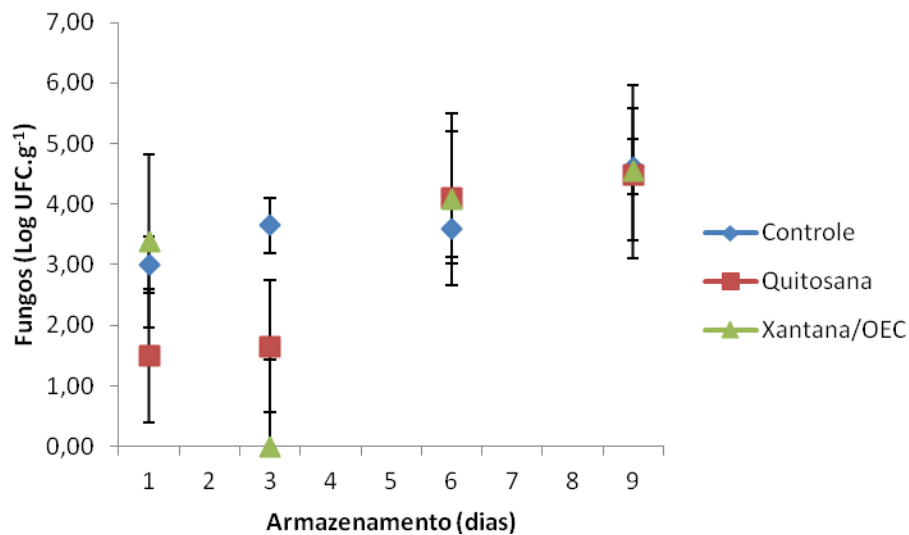


Figura 22: Contagens de fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%

Um dos principais fungos que acomete as sementes de pinhão é o *Penicillium* sp. (BIZI et al., 2004; FRECCIA et al., 2013; HENNIPMAN et al., 2017). Esse é considerado um fungo de armazenamento, podendo ser um indicador de deterioração de sementes e grãos (CARDOSO FILHO et al., 2011). Além disso, algumas de suas espécies produzem uma grande variedade de micotoxinas as quais, quando consumidas frequentemente, mesmo em baixas quantidades, podem trazer lesões irreversíveis aos rins, fígado, cérebro, além de apresentar atividade teratogênica (COUNSIL, 2003).

7 Conclusão

Foi possível realizar o processamento mínimo dos pinhões, mas técnicas que auxiliem no descasque devem ser desenvolvidas, para facilitarem na execução desta etapa.

De uma forma geral, independente do tratamento, pôde-se observar comportamento semelhante nas características dos pinhões, em relação ao aumento da perda de massa, dos açúcares redutores, da concentração de oxigênio e deterioração fisiológica. Além disso, foi observada a redução da acidez e da concentração de dióxido de carbono, bem como a manutenção dos parâmetros de cor e a ausência de crescimento de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positivo. Entretanto, distintos comportamentos foram observados no teor de vitamina C e firmeza. O processamento mínimo não elevou a taxa respiratória dos pinhões; porém, não freou o processo de maturação das sementes. Dos revestimentos avaliados, a quitosana possibilitou a obtenção de pinhões com maior teor de vitamina C, além de menor deterioração fisiológica e contagem de microrganismos psicotróficos. Assim, este estudo contribuiu para o estímulo ao consumo do pinhão, sendo a técnica do processamento mínimo, aliada ao uso de revestimento comestível, uma alternativa de processamento para aumentar a vida útil do produto e propiciar maior segurança microbiológica para esta semente.

Referências

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo-da-índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Cadernos de Pesquisa São Luís**, v. 20, n. especial, p. 137-144, 2013.

ASSIS, O. B. G.; ALVES, H. C. **Metodologia mínima para a produção de filmes comestíveis de quitosana e avaliação preliminar de seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico: São Carlos- SP, 2002. 5 p

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

AMARANTE, C. V. T.; MORA, C. S.; MEGGUER, C. A.; IDE, G. M. Conservação pós-colheita de pinhões [sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 346-351, 2007.

ANSORENA, M. R.; MARCOVICH, N. E.; ROURA, S. I. Impact of edible coatings and mild heat shocks on quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.) during refrigerated storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 59, p. 53-63, 2011.

ARAÚJO, V. R.; SHIRAI, M. A. Aplicação de revestimento comestível de quitosana em brócolis minimamente processado. **Boletim do Centro de Pesquisas de Processamento de Alimentos**, v. 34, n. 2, p. 1-10, 2016.

AZARAKHSH, N.; OSMAN, A.; GHAZALI, H. M.; TAN, C. P.; ADZAHAN, N. M. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 88, p. 1-7, 2014.

BALBINOT, R.; GARZEL, J. C. L.; WEBER, K. S.; RIBEIRO, A. B. Tendências de consumo e preço de comercialização do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.), no estado do Paraná. **Revista Ambientia**, v. 4, n. 3, p. 463-472, 2008.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 509-524, 1995.

BASTOS, Maria do Socorro Rocha. Frutas Minimamente Processadas: Aspectos de Qualidade e Segurança. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Fortaleza-CE, 2006.

BIZI, R. M.; JUNIOR, A. G.; AUER, C. G.; GOMES, N. S. B. Fungos associados a sementes de araucária coletadas em três municípios do estado do Paraná. **III EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA Embrapa Florestas**, p. 05-08, 2004.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; NOGUEIRA, D.; HARTWIG, E. S.; RUTZ, J. K. Conservation of minimally processed apples using edible coatings made of turnip extract and xanthan gum. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-8, 2016.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; NOGUEIRA, D.; PINTO, E. M.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1071-1083, 2013.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde**, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRDE - Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. Agência de Florianópolis. Gerência de Planejamento. **Cultivo da araucaria angustifolia: Viabilidade econômico-financeira e alternativas de incentivo**. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p.

CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215-221, 2007.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1153-1162, 2007.

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALDI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 135-142, 2009.

CARDOSO FILHO, F. C.; CALVET, R. M.; PEREYRA, C. M.; ROSA, C. A. R.; TORRES, A. M.; MURATORI, M. C. S. Ocorrência de aspergillus spp., penicillium spp. e aflatoxinas em amostras de farinha de milho utilizadas no consumo humano, Piauí, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 3, p. 443-447, 2011.

CARUSO, J. G. B.; CAMARGO, R. Microbiologia de alimentos. In: Camargo R, editor. **Tecnologia dos produtos agropecuários alimentos**. São Paulo: Nobel; 1984. p. 35-49.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Poly (vinyl alcohol) and poly (vinyl pyrrolidone) blends: miscibility, microheterogeneity and free volume change. **Polymer**, v. 38, n. 15, p. 3907-3911, 1997.

CENCI, S. A.; GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F. **Boas práticas de processamento mínimo de vegetais na agricultura familiar**. Nascimento Neto F. Recomendações básicas para a aplicação das boas práticas agropecuárias e de fabricação na agricultura familiar. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 59-63, 2006.

CENCI, Sergio Agostinho. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.

CHEVALIER, R. C.; SILVA, G. F. A.; SILVA, D. M.; PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W. R. Utilização de revestimento comestível à base de quitosana para aumentar a vida útil de melão minimamente processado. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 3, n. 3, p. 130-138, 2016.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 2005. 735p.

CLADERA-OLIVERA, F.; MARCZAK, L. D. F.; NORENA, C. P. Z.; PETTERMANN, A. C. Modeling water adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) flour and thermodynamic analysis of the adsorption process. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 3, p. 826-843, 2009.

COMA, V.; MARTIAL-GROS, A.; GARREAU, S.; COPINET, A.; SALIN, F.; DESCHAMPS, A. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. **Journal of food science**, v. 67, n. 3, p. 1162-1169, 2002.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Pinhão (semente)**. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_09_12_36_06_pinhaos_ementesetembro_2014.pdf. Acesso em: 05 jan. 2018.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY - CAST. Micotoxins: riskc in plant, animal and humans systems. **Ames: CAST**, 2003. 109p.

CORDENUNSI, B. R.; DE MENEZES, E. W.; GENOVESE, I. G.; COLLI, C.; DE SOUZA, A. G.; LAJOTO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3412-3416, 2004.

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

COSTA, F. J. O. G.; BARTOLOMEU, D. A. F. S.; LEIVAS, C. S.; ALBERTI, A.; GODOY, R. C. B.; WASZCZYNSKYJ, N. Caracterização de sementes de pinhão (*Araucaria angustifolia*) de diferentes procedências, do estado do Paraná. **Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 11, 2011.

COSTA, Fernanda Janaína de Oliveita Gomes da Costa. **Avaliação, caracterização de pinhão (sementes de *araucaria angustifolia*) nativas do estado do Paraná e seu uso em um produto alimentício**. 2014. 146 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, 2014.

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

DIETARY REFERENCE INTAKES FOR CALCIUM. Washington: **The National Academies Press**; 2014.

DIVYA, K.; SMITHA, V.; JISHA, M. S. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 572-577, 2018.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

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

ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 4, p. 1819–1841, 2013.

FERREIRA, C. C.; GREGÓRIO, E. L.; COSTA, J. D.; PAULA, R. B. O.; NETA, H. A. G. A.; FONTES, M. D. Análise de coliformes termotolerantes e Salmonella sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte- MG. **HU Revista**, v. 42, n. 4, p. 307-313, 2016.

FIGURA 1. Imagem da *Araucaria angustifolia*. Disponível em <<https://www.floresefolhagens.com.br/araucaria-araucaria-angustifolia/>>. Acesso em: 03 jun. 2018.

FIGURA 2. Imagem da Pinha (planta feminina) de *Araucaria angustifolia* com pinhões internamente. Disponível em: <<https://www.bemparana.com.br/noticia/ufpr-lanca-concurso-para-premiar-pinhas-gigantes-->>>. Acesso em: 30 jul. 2018.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO C. F.; TAVARES, D. Q. **The structure of waxy corn starch: Effect of granule size.** *Starch/Stärke*, v. 50, n. 5, p. 193-198, 1998.

FRAZÃO, G. G. S.; BLANK, A. F.; SANTANA, L. C. L. A. Optimisation of edible chitosan coatings formulations incorporating *Myrcia ovata* Cambessedes essential oil with antimicrobial potential against foodborne bacteria and natural microflora of mangaba fruits. *LWT - Food Science and Technology*, v. 79, p. 1- 10, 2017.

FRECCIA, C. F.; PERES, L. G.; RAMOS, A. P.; CARLOS, E. B.; PALHANO, W. C.; RECH, C. A.; SCHMIDT-BELLINI, J.; SEIBERT, E. **Conservação de pinhões em diferentes tipos de acondicionamento e seus efeitos sobre a qualidade pós-colheita.** 2º Simpósio de Integração Científica e Tecnológica do Sul Catarinense – SICT-Su, 2013.

FREITAS, I. R.; CORTEZ-VEGA, W. R.; PIZATO, S.; PRENTICE-HERNANDEZ, C.; BORGES, C. D. Xanthan gum as a carrier of preservative agents and calcium chloride applied on fresh-cut apple. **Journal of Food Safety**, v. 33, p. 229-238, 2013.

FREITAS, M. C. J. Amido Resistente: propriedades funcionais. **Nutrição Brasil**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 40-48, 2002.

GAMA, T. M. M. T. B.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C.; ZANETTE, F.; CÓRDOVA, K. R. V. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão nativo (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 161- 178, 2010.

GARCIA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GARG, N.; CHUREY, J. J.; SPLITTSTOESSER, D. F. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 8, p. 701-703, 1990.

GHAOUTH, A. E.; ARUL, J.; PONNAMPALAN, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1618-1631, 1991.

GHIDELLI, C.; PÉREZ-GAGO, M. B. Recent advances in modified atmosphere packaging and edible coatings to maintain quality of fresh-cut fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, p. 662-679, 2016.

GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F.; CENCI, S. A. **Hortaliças minimamente processadas**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF: 2005. 38 p.

GUIDOLIN, Manoela Estefânea Boff Zórtea. **Caracterização da estrutura fina do amido de sementes de *araucaria angustifolia* (bertoloni) otto kuntze (pinhão) e produção de extrusados**. 2016. 160 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Federal do Paraná, 2016.

GUINÉ, R. P. F.; ALMEIDA, C. F. F.; CORREIA, P. M. R. Evaluation of preservation conditions on nuts properties. **9th Baltic Conference on Food Science and Technology**, p. 271–275, 2014.

GUINÉ, R. P. F.; ALMEIDA, C. F. F.; CORREIA, P. M. R.; MENDES, M. Modelling the influence of origin, packing and storage on water activity, colour and texture of almonds, hazelnuts and Walnuts using artificial neural networks. **Food Bioprocess Technol**, v. v, p. 1113-1125, 2015.

HAERTEL, Alessandra Oliveira da Silva. **Compostos bioativos e características físico-químicas de morangos cv. Camarosa minimamente processados submetidos a revestimentos à base de gelatina, xantana e óleo de canola**. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos)- Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2013.

HENNIPMAN, H. S.; SANTOS, A. F.; VIEIRA, E. S. N.; AUER, C. G. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de araucária durante armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 643-654, 2017.

IAL-INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/289#resultado>. Acesso em: 16 de maio de 2018.

IFPA. **International fresh-cut produce association**. Disponível em: <http://www.fresh-cuts.org>. Acesso em: 25 mar. 2017.

JESUS, A. M. F.; COSTA, J. O. G.; GODOY, R. C. B.; WASCZYNSKYJ, N. Alterações físico-químicas ocorridas em pinhões armazenados a granel. **XIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Embrapa Florestas, p. 85-86, 2015.

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

KLUGE, R. A.; PRECZENHAK, A. P. Betalaínas em beterrabas minimamente processadas: Perdas e formas de preservação. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, v. 17, n. 2, p. 175-192, 2016.

KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. **Bioquímica de Alimentos-teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, D. E. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, p. 61-74, 1997.

LEITE, B. S. F.; BORGES, C. D.; CARVALHO, P. G. B.; BOTREL, N. Revestimento Comestível à base de goma xantana, compostos lipofílicos e/ou cloreto de cálcio na conservação de morangos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 1027-1036, 2015.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 5, n. 1, p. 50-67, 2009.

MALVEZZI, B. Z.; ESCAVANAQUI, G. R.; TEIXEIRA, G.; LIMA, J. D. M.; BUENO, V. G. C.; TROVA, E. C. V.; TROVA, R. V.; GONÇALVES, M. G. C. Pesquisa mercadológica sobre o consumo de alimentos minimamente processados- Mogi Mirim, 2015. **Revista Universitas**, v. 8, n. 15, p. 135-149, 2015.

MEDEIROS, F. C. M.; GOUVEIA, F. M.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F.; MENEZZI, C. H. S. D. Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 114, p. 87-93, 2016.

MIRANDA, A. L. S.; MARQUES, D. R. P.; PASSOS, L. P.; OLIVEIRA, I. R. N. Efeito do tipo de embalagem e do tempo de armazenamento nas qualidades físico-químicas de cenoura minimamente processada. **The Journal of Engineering and Exact Sciences - JCEC**, v. 3, n. 6, p. 807-812, 2017.

MOREIRA, M. D. R.; ROURA, S. I.; PONCE, A. Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2335-2341, 2011.

MOREIRA, M. K. V.; BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; GANDRA, E. A.; RODRIGUES, P. V.; MELO, F. S. N. Conservação de pinhões minimamente processados pelo uso de diferentes embalagens. In: Armistrong Martins da Silva; Cybelle de Oliveira Dantas; Anabelle de Oliveira Sousa; Luciano Gomes Barbosa Junior; Lucas da Silva Nascimento. (Org.). **Encontro Nacional da Agroindústria**. 1ed. Bananeiras: Editora dos Autores, 2017, v. 1, p. 674-681.

MORENO, L. B.; SCHERWINSKI, R.; DA SILVA, J. M. T.; SCALON, S. P. Q.; CARNEVALLI, T. O. Conservação de repolho minimamente processado sob efeito de diferentes embalagens, tempo de estocagem e temperatura. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 2, p. 68-74, 2016.

MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Embrapa Hortaliças: Brasília-DF, 2007. p. 153-172.

MUCCILLO, Roberta Cruz Silveira Thys. **Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. 2009. 156 f. Tese (Doutorado em Engenharia)-Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

OLIVEIRA, Florencia Cladera. **Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão**. 2008 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; DE OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

PAOLI, S.; GIANI, T. S.; PRESTA, G. A.; PEREIRA, M. A.; FONSECA, A. S.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; SANTOS-FILHO, S. D.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of Clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 175-182, 2007.

PEREZ-GAGO, M. B.; SERRA, M.; ALONSO, M.; MATEOS, M.; RIO, M. A. D. Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 77-85, 2005.

PERDONES, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, 70: 32-41, 2012.

PINHEIRON. M. S.; FIGUEIREDO, E. A. T.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de fortaleza. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 153-156, 2005.

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

PORTE, A.; MAIA, L. H. Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados. **Boletim do Centro Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 105-118, 2001.

ROCHA, T. M.; JUNIOR, M. F.; SABAA-SRUR, A. U. O.; SOARES, C. M. Qualidade microbiológica de carambola (*averrhoa carambola l.*) minimamente processada: benefícios da aplicação de revestimentos comestíveis. **Embrapa Agroindústria de Alimentos**, 2010.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; HIPÓLITO, A.; DI VENERI, D.; SALARMO, M. Effects of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, p. 1862-1866, 2002.

SAHIN, A.; ÇARKCIOGLU, E.; DEMIRHAN, B.; CANDOGAN, K. Chitosan edible coating and oxygen scavenger effects on modified atmosphere packaged sliced sucuk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, p. 1-8, 2016.

SANTOS, A. J.; CORSO, N. M.; MARTINS, G.; BITTENCOURT, E. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. **Floresta**, v. 32, n. 2, p. 163-169, 2002.

SANTOS, J. C. B.; BOAS, E. V. B. V.; PRADO, M. E. T.; PINHEIRO, A. C. M. Avaliação da qualidade do abacaxi “pérola” minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciência e agrotecnologia**, v. 29, n. 2, p. 353-361, 2005.

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

SANTOS, T. B. A.; SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 2, p. 141-146, 2010.

SENA, E. O. A.; COUTO, H. G. S. A.; PAIXÃO, A. R. C.; SILVEIRA, M. P. C.; OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; CARNELOSSI, M. A. G. Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de pimentão verde (*Capsicum annuum* L.). **Scientia Plena**, v. 12, n. 8, p. 1-9, 2016.

SHARMA, S.; RAO, T. V. R. Xanthan gum based edible coating enriched with cinnamic acid prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut pears. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 791-800, 2015.

SCHERER, K.; GRANADA, C. E.; STÜLP, S.; SPEROTTO, R. A. Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Ambiente e Água**, v. 11, n. 3, p. 665-675, 2016.

SHIEKH, R. A.; MALIK, M. A.; AL-THABAITI, S. A.; SHIEKH, M. A. Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits. **Food Science Technology**, v. 19, n. 2, p. 139-155, 2013.

SILVA, I. C. P.; VIEIRA, S. L. V. Alimentos minimamente processados: Práticas de produção e riscos de contaminação. **Arquivos do Mudi**, v. 21, n. 1, p. 26-38, 2017.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SIQUEIRA, Ana Paula de Oliveira. **Uso de coberturas comestíveis na conservação pós-colheita de goiaba e maracujá-azedo**. 2012. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias Agropecuárias). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2012.

SOARES, Ariana de Souza. **Impregnação a vácuo de revestimento comestível de quitosana em abóbora minimamente processada**. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 2015.

SOUZA, M. L.; MORGADO, C. M. A.; MARQUES, K. M.; MATTIUZ, C. F. M.; MATTIUZ, B. Pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' recobertas com quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 337-343, 2011.

SOUZA, M. O.; BRANCO, C. S.; SENE, J.; DALLAGNOL, R.; AGOSTINI, F.; MOURA, S.; SALVADOR, M. Antioxidant and antigenotoxic activities of the brazilian pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Antioxidants**, v. 3, p. 24-37, 2014.

SUDARSAN, N. R.; HOOVER, D. G.; KNORR, D. Antibacterial action of chitosan. **Food Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 257-272, 1992.

TACO- **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas, SP: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p. Disponível em: <http://www.cfn.org.br/wpcontent/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2018.

TOIVONEN, P. M. A.; BRUMMELL, D. A.; Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v 48, p. 1-14, 2008.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. D.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

VARGAS, M., ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GNÁZALES-MARTÍNEZ, C. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, p. 164-171, 2006.

VAROQUAUX, P.; WILEY, R.C. Cambios biológicos y bioquímicos en frutas y hortalizas refrigeradas minimamente procesadas. In: WILEY, R.C. **Frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, p. 221-262, 1997.

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

VILLADIEGO, Alba Manuela Durango. **Desenvolvimento de um revestimento comestível antimicrobiano a base de amido de inhame com quitosana na conservação da cenoura minimamente processada**. 2004. 241 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2004.

VISSOTO, F. Z.; KIECBUSH, T. G.; NEVES FILHO, L. C. Pré- resfriamento de frutas e hortaliças com ar forçado. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 106-114, 1999.

ZANDAVALLI, R. B.; DILLENBURG, L. R.; DE SOUZA, P. V. D. Growth responses of *Araucaria angustifolia* (*Araucariaceae*) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. **Applied Soil Ecology**, v. 25, n. 3, p. 245-255, 2004.

ZORTÉA-GUIDOLIN, M. E. B.; DEMIATE, I. M.; GODOY, R. C. B.; SCHEER, A. P.; GREWELL, D.; JANE, J. L. Structural and functional characterization of starches from Brazilian pine seeds (*Araucaria angustifolia*). **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 19-26, 2017.

Apêndices

Apêndice A - Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	0,00 A	0,05 ±0,01 B	1,14 ±0,14 A	1,86 ±0,19 A
Quitosana	0,00 A	0,29 ±0,04 B	1,12 ±0,05 A	1,75 ±0,23 A
Xantana/OEC	0,00 A	0,74 ±0,07 A	1,32 ±0,29 A	1,95 ±0,43 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice B. Açúcares redutores (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	0,25 ±0,01 A	0,37 ±0,08 A	0,51 ±0,04 B	0,65 ±0,11 AB
Quitosana	0,25 ±0,01 A	0,28 ±0,01 A	0,75 ±0,03 A	0,72 ±0,15 A
Xantana/OEC	0,24 ±0,01 B	0,28 ±0,01 A	0,55 ±0,08 B	0,42 ±0,06 B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice C. Vitamina C ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	27,04 ±0,90 A	25,13 ±1,66 A	24,59 ±2,02 A	27,37 ±0,56 B
Quitosana	27,52 ±1,63 A	23,24 ±2,67 A	19,77 ±3,75 A	38,79 ±2,18 A
Xantana/OEC	25,87 ±1,15 A	23,54 ±0,40 A	22,56 ±2,18 A	16,04 ±1,10 C

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice D. Acidez total titulável (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	2,81 ±0,19 AB	2,62 ±0,05 B	2,30 ±0,05 A	1,91 ±0,09 B
Quitosana	3,01 ± 0,00 A	3,16 ±0,14 A	2,40 ±0,06 A	2,30 ±0,05 A
Xantana/OEC	2,64 ±0,09 B	3,25 ±0,14 A	2,45 ±0,09 A	1,64 ±0,00 C

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice E. Oxigênio (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	19,15 ±0,06 A	20,25 ±0,55 A	21,52 ±0,50 A	21,07 ±0,50 A
Quitosana	19,17 ±0,10 A	20,80 ±0,08 A	21,30 ±0,24 AB	21,00 ±0,08 A
Xantana/OEC	19,10 ±0,10 A	20,75 ±0,06 A	21,10 ±0,00 B	20,92 ±0,10 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice F. Dióxido de carbono (%) na atmosfera de armazenamento de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados em embalagem de polietileno tereftalato (PET) sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	0,12 ±0,05 A	0 ±0,00 A	0,00 ±0,05 A	0,02 ±0,00 A
Quitosana	0,10 ±0,00 A	0 ±0,00 A	0,02 ±0,05 A	0,00 ±0,00 A
Xantana/OEC	0,10 ±0,00 A	0 ±0,00 A	0,02 ±0,05 A	0,05 ±0,06 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice G. Firmeza (N) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	25,02 ±10,19 A	22,36 ±8,80 A	16,98 ±7,36 AB	18,43 ±7,87 A
Quitosana	21,27 ±8,61 A	19,91 ±8,91 A	14,88 ±6,15 B	20,56 ±7,55 A
Xantana/OEC	24,82 ±9,42 A	19,32 ±7,33 A	19,13 ±6,80 A	23,54 ±11,23 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice H. Cor (L^*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	82,66 ±2,13 AB	79,90 ±4,90 A	82,34 ±1,73 A	84,27 ±0,80 A
Quitosana	83,18 ±0,99 A	79,70 ±4,67 A	84,48 ±2,06 A	80,12 ±2,15 B
Xantana/OEC	80,36 ±2,70 B	82,96 ±0,93 A	83,07 ±0,78 A	83,88 ±1,25 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apêndice I. Cor (a*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	1,44 ±0,18 A	1,60 ±0,65 A	2,16 ±1,27 A	1,30 ±0,82 A
Quitosana	1,71 ±1,06 A	1,60 ±0,65 A	0,91 ±0,89 AB	2,32 ±0,84 A
Xantana/OEC	1,64 ±0,67 A	1,19 ±0,29 A	0,81 ±0,17 B	1,11 ±0,92 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

Apêndice J. Cor (b*) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	17,37 ±1,02 A	17,70 ±1,52 A	18,95 ±1,03 A	18,87 ±1,36 A
Quitosana	17,47 ±1,78 A	17,70 ±1,52 A	16,91 ±0,71 B	19,06 ±2,79 A
Xantana/OEC	17,85 ±1,38 A	18,51 ±0,72 A	17,54 ±0,53 B	18,40 ±0,41 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

Apêndice L. Deterioração fisiológica (%) de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia, armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	1,67±0,01 A	6,67 ±0,02 A	13,33 ±0,01 A	16,67 ±0,01 A
Quitosana	0,00 ±0,00 B	1,67 ±0,01 C	8,33 ±0,01 C	10,00 ±0,01 C
Xantana/OEC	0,00 ±0,00 B	3,33 ±0,01 B	10,00 ±0,01 B	11,67 ±0,01 B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

Apêndice M. Contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	0,00 ±0,00 A	0,00 ±0,00 A	6,75 ±0,08 A	7,19 ±0,18 A
Quitosana	0,00 ±0,00 A	0,00 ±0,00 A	6,44 ±0,01 A	3,48 ±4,92 B
Xantana/OEC	0,00 ±0,00 A	0,00 ±0,00 A	6,60 ±0,12 A	7,32 ±0,00 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Fisher (p≤0,05).

Apêndice N. Contagens de microrganismos fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia (OEC), armazenados sob refrigeração a 4 °C, U.R de 90% a 95%, por 9 dias

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	1	3	6	9
Controle	3,00 ±0,00 A	3,65 ±0,07 A	3,59 ±0,16 A	4,62 ±0,03 A
Quitosana	1,50 ±2,12 A	1,65 ±2,33 B	4,11 ±0,05 A	4,49 ±0,04 A
Xantana/OEC	3,39 ±0,12 A	0,00 ±0,00 A	4,08 ±0,18 A	4,54 ±0,03 A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).